

## 고압 이산화탄소에 의한 *Leuconostoc* sp.의 살균 효과

홍석인 · 박완수 · 변유량\*

한국식품개발연구원, \*연세대학교 생명공학과 및 생물산업소재연구센터

### Effect of High Pressure Carbon Dioxide on Inactivation of *Leuconostoc* sp.

Seok-In Hong, Wan-Soo Park and Yu-Ryang Pyun\*

Korea Food Research Institute

\*Department of Biotechnology and Bioproducts Research Center, Yonsei University

#### Abstract

Inactivation of *Leuconostoc* sp. isolated from kimchi using carbon dioxide under pressure was investigated in terms of operating parameters in order to evaluate its feasibility as a novel nonthermal process. Inactivation rates increased with increasing pressure, temperature and exposure time, but with decreasing working volume. Microbial reduction of 3 log cycles was achieved within 150 min under a CO<sub>2</sub> pressure of 60 kg/cm<sup>2</sup> at 30°C. It was confirmed that microbial inactivation by the high pressure CO<sub>2</sub> was governed essentially by the characteristics of CO<sub>2</sub> mass transfer and thus penetration of CO<sub>2</sub> into cells was a rate limiting step to determine efficiency of the inactivation process. The experimental results suggested that the high pressure CO<sub>2</sub> treatment could be used as one of the effective nonthermal methods for preserving foods.

Key words: high pressure CO<sub>2</sub>, nonthermal process, *Leuconostoc* sp.

## 서 론

가열 공정은 가장 일반적인 식품의 살균방법으로서 현재까지도 폭넓게 사용되고 있으나, 열처리에 따른 영양성분의 손실은 물론 식품 자체의 향미에도 좋지 않은 영향을 미치는 근본적 문제점을 갖고 있다. 이에 최근 들어 소비자들의 자연 지향적 요구에 부응하기 위해 최소 가공한 신선 식품이 점차 보급되면서 이들 제품의 보존을 위한 제한적 열처리법 개발에 많은 관심을 기울이게 되었다. 이와 관련하여 기존 가열 살균 공정에 의한 미생물의 완전한 사멸보다는 몇 가지 개별 공정을 복합 적용하므로써 미생물의 점진적 감소를 지향하는 소위 hurdle concept<sup>(1)</sup>의 도입이 제안되었다. 이는 온도, 수분 활성, pH, 산화-환원 전위, 보존제 및 길항관계의 식물체 군과 같은 여러 인자들을 적절히 조합하여 식품의 안정성을 얻고자 하는 것으로서 식물체 혹은 미생물 유래 항균제와 같은 천연 보존 시

스템과 식품의 비가열 살균 분야가 주 연구 대상이다. 현재 식품의 살균을 목적으로 연구되고 있는 비가열 처리법에는 전기장이나 자기장을 이용한 전자기 조사, 마이크로파, 적외선 또는 자외선을 이용한 전자파 조사, 이온화 조사, 광 펄스, 초고압, 기체 가압, CO<sub>2</sub> 처리 등이 있다<sup>(2)</sup>.

비가열 처리방법의 하나로 근래에 새롭게 주목을 받기 시작한 기체 가압처리는 미생물을 수십 기압 이상의 압력으로 가압하여 균체 내에 기체를 용해시킨 후 대기압까지 급속히 감압하는 방법으로 가압시 세포 내에 용해된 기체가 감압시에 급속히 세포 외부로 방출되므로써 세포의 기능적 손실을 유발하여 살균 효과를 볼 수 있다. 이는 1950년대초 Fraser<sup>(3)</sup>에 의해 처음 시도되었고 그 후 열과 전단력의 발생을 최소한 억제하면서 미생물 세포 내에 존재하는 효소와 DNA 단백질을 효과적으로 회수할 수 있는 방법으로 검토되어 왔다. 선행 연구결과<sup>(4,7)</sup>를 종합해 보면 사용 기체는 물에 대해 용해도가 높은 CO<sub>2</sub>나 NO<sub>2</sub>가 가장 효과적이고, 30~40°C의 처리 온도에서도 충분한 균체 파괴가 가능하며, 건조 상태보다 습윤 상태의 세포에 처

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

리했을 때 매우 효과적인 것으로 밝혀졌다.

이와 같은 세포내 물질의 효율적인 회수라는 관점에서 벗어나 미생물의 살균 측면에서 기체 가압시 조절인자 (압력, 온도, 접촉 시간, 미생물의 수분함량 등)의 영향을 검토한 연구결과가 보고된 것은 비교적 최근이다<sup>(8,21)</sup>. 이전의 기체 가압처리와는 달리 급속한 감압을 행하지 않았으나 수심에서 수백 기압 범위의 CO<sub>2</sub>를 사용하여 미생물에 대한 살균 효과를 확인하였다. 살균을 목적으로 기체 가압처리를 처음 실행한 Kamihira 등<sup>(9)</sup>은 200 atm, 35°C의 초임계 CO<sub>2</sub>가 *Bacillus* 세균 포자를 제외한 빵 효모, 대장균 등 4종류의 습윤 미생물에 대해 생존수 비율 10<sup>5</sup>~10<sup>7</sup>까지 살균 가능하다는 사실을 밝혀 내었다. 이때 대기압까지의 감압에는 약 20분이 소요되어 이전의 순간 감압 처리와는 명백하게 구별되었다. 이와 유사한 결과는 Lin 등<sup>(15-17)</sup>, Nakamura 등<sup>(18)</sup>, Isenschmid 등<sup>(19)</sup>, Ballestra 등<sup>(20)</sup>, 홍 등<sup>(21)</sup>의 다른 연구진에 의해서도 보고된 바 있으며, 더욱이 혈청 단백질 분말<sup>(10)</sup>, 과일을 포함한 고수분 식품 및 향신료<sup>(11)</sup>, 셀러리<sup>(12)</sup>, 계육과 계란<sup>(13)</sup>, 오렌지 주스<sup>(14)</sup>의 살균에도 고압 CO<sub>2</sub>가 효과적으로 이용될 수 있다고 알려져 있다.

한편 고압 CO<sub>2</sub> 처리에 의한 미생물 살균에는 주로 초임계 CO<sub>2</sub>가 사용되어 왔으며 수심 기압 수준의 기체 상태에서의 연구 사례는 매우 드물다. 따라서 비교적 저압 조건에서 미생물의 살균 가능성 및 이에 대한 체계적인 해석이 이루어져 있지 않은 상태이다. 또한 실험에 사용된 미생물도 아직까지는 몇몇 균주에 국한되어 있어 다양한 미생물의 균주에 따른 살균 효과 여부가 확인되어 있지 않다. 이에 본 연구에서는 가열 살균을 대체하여 식품의 신선도를 유지하면서 효과적으로 미생물을 사멸시킬 수 있는 새로운 비가열 살균 기술로서 고압 CO<sub>2</sub> 처리를 고찰하고자 김치에서 분리한 *Leuconostoc* sp. 젖산균을 대상 미생물로 온도, 압력, 작업용량, 처리시간, 감압속도 등의 가압 조절인자를 달리하여 이 균주에 미치는 고압 CO<sub>2</sub>의 살균 효과를 검토하였다.

### 재료 및 방법

#### 젖산균 배양

김치 숙성과정 중 발효 중기단계에서 분리한 *Leuconostoc* sp. 균주를 순수 배양하여 사용하였다<sup>(22)</sup>. 이 균주는 M17G agar (DIFCO Lab., UK) slant와 plate를 이용하여 25°C에서 48시간 배양한 다음 0°C에 보관하였다. 균주의 생리적 상태를 동일하게 유지하기 위해

보관용 agar plate에서 2~3 백균이를 취하여 150 mL 삼각플라스크에 들어 있는 70 mL의 M17G broth (DIFCO Lab., UK)에 접종한 후 25°C에서 24시간 전 배양하였다. 이러한 전배양액 2 mL을 동일량의 M17G broth에 다시 접종하여 같은 조건에서 배양한 것을 실험에 사용하였으며, 이때 최종 균체농도는 6.1×10<sup>8</sup>~1.4×10<sup>9</sup> CFU/mL 수준이었다. 본 실험에 사용된 젖산균 시료액은 동일한 방법으로 매번 새로이 배양한 것을 이용하였다.

#### 기체 가압처리 시스템

내용량 140 mL의 원통형 고압용기(G7 Science, Seoul)를 주문 제작하여 기체 가압처리용으로 사용하였으며, 실험 장치의 전체적인 개략도는 Fig. 1에 나타난 바와 같다. 고압용기와 이에 연결되는 배관 및 고압에 노출되는 모든 부품은 스테인레스강(type 316)을 사용하여 구성하였다. Chromel-alumel 탐침형 열전쌍(K-type, Shane Corp., Seoul)과 압력 센서(PCDR 922, Druck, England)를 고압용기 상단에 Union-type fittings으로 연결하여 용기 내부의 온도와 압력을 측정하였고, silica gel (60/80 mesh, Alltech, USA)이 채워진 line filter를 기체 배출구에 연결하여 필요에 따라 감압속도를 조절할 수 있도록 하였다. 균체 배양액에 대한 기체 가압처리 후 70% 에탄올 희석액을 이용하여 매번 실험 장치를 세척하였다.

#### 기체 가압처리

젖산균 배양액 70 mL을 고압용기에 넣고 완전히 밀폐시킨 다음, 일정한 온도(20~50°C)로 유지되는 항온수조(TE-8J, TECHNE, England)에 용기가 충분히 잠기도록 하였다. 일반적으로 기체 가압 처리시 작업용량(고압용기의 내부용량에 대한 시료액의 비율)은

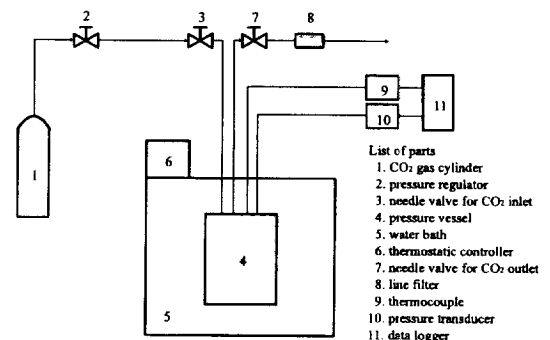


Fig. 1. Schematic diagram of the experimental apparatus for high pressure CO<sub>2</sub> treatment.

50%로 고정하였으나, 작업용량의 영향을 살펴보는 실험에서는 시료액을 50~120 mL로 달리하여 조절하였다. 시료액의 온도가 평형에 도달하였을 때 모든 배관과 연결 부위를 확인한 후, 가스통에서 고압용기로 순도 99%의 상업용 CO<sub>2</sub>를 주입하여 목적하는 압력(20~60 kg/cm<sup>2</sup>)까지 가압시켰다. 이때 용기 내부의 압력은 가스통에 장착된 압력 조절기와 고압용기에 연결된 needle valves를 이용하여 적절히 조절하였다. 일정 시간 가압처리된 시료액은 감압 후 즉시 용기에서 꺼내어 생균수 측정에 사용되었다.

### 생균수 측정

기체 가압처리를 마친 적산균 시료액을 필요한 경우 멸균된 0.1% peptone (DIFCO Lab., UK) 수용액에 단계별로 희석한 후 M17G agar에 0.1 mL씩 도말하였다. 이를 25°C에서 48시간 동안 평판배양한 다음 생성된 colony를 계수하여 생균수를 측정하였다. 가압처리에 따른 균체의 생존율은 초기 생균수(N<sub>0</sub>)에 대한 처리 후 생균수(N)의 비율로 표시하였으며, 이는 3회 이상의 반복 실험결과를 평균하여 나타내었다.

## 결과 및 고찰

### 압력의 영향

고압 CO<sub>2</sub> 처리에 영향을 미치는 주요 인자는 사용 압력, 온도, 처리 용량, 시간 등의 가압 조절인자와 수분함량, pH, 미생물의 균종, 생육 조건 및 단계 등의 환경인자로 구분할 수 있다. 특히 가압 조절인자는 CO<sub>2</sub>의 물질전달 특성에 직접적인 영향을 미치므로 미생물의 사멸은 물론 생물활성 변화를 크게 좌우한다<sup>(16,21)</sup>. 압력 조건에 따른 *Leuconostoc* sp.의 생균수 감소를 Fig. 2에 나타내었다. 그림에서 보듯이 일정 온도에서 CO<sub>2</sub> 압력을 증가시키에 따라 미생물 사멸율이 증가하였다. 즉, 10<sup>3</sup> 만큼 생균수를 감소시키는데 30 kg/cm<sup>2</sup>에서 약 240분이 소요되었으나 60 kg/cm<sup>2</sup>에서는 150분 가량 소요되어 가해지는 압력이 높아질수록 동일 수준의 살균 효과를 얻는데 필요한 처리시간이 단축되었다. 일반적으로 고압 CO<sub>2</sub> 처리시 사용 압력은 시료액에 대한 CO<sub>2</sub>의 용해 속도 및 용해도를 좌우하므로 압력이 높을수록 CO<sub>2</sub> 가용화가 촉진되어 미생물 세포와의 접촉 가능성이 더 높아진다. 각 사멸곡선을 살펴보면 초기에는 기울기가 매우 느리다가 일정한 시점에서 급격히 감소하는 형태를 갖는데, 이는 미생물 세포에의 CO<sub>2</sub> 확산 과정이 전체적인 사멸 속도를 결정짓는 주요 반응 단계임을 의미한다<sup>(16,17)</sup>. 따라서 일단 CO<sub>2</sub>가

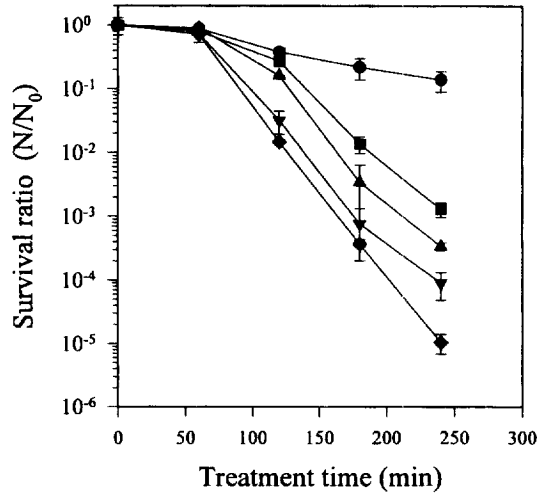


Fig. 2. Reduction of *Leuconostoc* sp. cells as a function of pressure during high pressure CO<sub>2</sub> treatment. Experiments were carried out with a working volume of 50% at 30°C. ●—●: 20 kg/cm<sup>2</sup>, ■—■: 30 kg/cm<sup>2</sup>, ▲—▲: 40 kg/cm<sup>2</sup>, ▼—▼: 50 kg/cm<sup>2</sup>, ◆—◆: 60 kg/cm<sup>2</sup>.

세포 내부로 침투하여 임계농도 수준에 도달하면 세포의 생리체계를 교란시키거나 마비시키므로써 사멸 효과를 나타내는 것으로 생각된다. 특히 효소 활성의 저해는 물론 세포막의 구조 및 기능에 대한 손상으로 말미암아 세포벽을 파괴하지 않고도 미생물의 사멸을 기대할 수 있다<sup>(15-17,21)</sup>.

### 온도의 영향

가해지는 압력이 일정한 상태에서 미생물의 사멸율은 온도에 따라 매우 민감하게 달라진다. Fig. 3에 나타내었듯이 처리 온도의 증가에 따라 생균수 감소가 급격히 일어나므로써 50 kg/cm<sup>2</sup>의 CO<sub>2</sub> 압력 조건에서 10<sup>1</sup> 만큼의 감균 효과를 얻기 위해 20°C에서 150분이 걸린 반면 50°C에서는 약 15분 정도 걸렸다. 압력과 마찬가지로 온도 변화는 CO<sub>2</sub>의 물질전달 특성과 밀접한 상관관계가 있어, 온도가 높아질수록 용액내 CO<sub>2</sub> 확산이 촉진되고 아울러 세포막의 유동성이 증진되어 세포내 CO<sub>2</sub> 침투가 더욱 용이해 질 것이다<sup>(16,23)</sup>. 그러나 지나친 온도 증가는 가열 효과를 유발시켜 영양분의 손실은 물론 식품 고유의 맛과 향미에 나쁜 영향을 미치게 되므로 결과적으로 비가열 처리로서의 장점을 잃을 수 있다.

### 작업용량의 영향

고압 CO<sub>2</sub> 처리에 의한 미생물 살균은 기본적으로

CO<sub>2</sub>의 세포내 침투에 의해 좌우되므로 CO<sub>2</sub>의 물질전달 속도가 향상되면 살균 효율이 증진된다. 이러한 측면에서 CO<sub>2</sub> 가압 처리시 압력용기 내에 적절한 교반이 이루어질 경우 미생물의 사멸율은 현저하게 증가할 수 있다<sup>(15,16)</sup>. 그러나 교반을 하지 않는 경우, 미생물의 살균 효과는 시료 용량에 영향을 받아 Fig. 4에서

보는 바와 같이 용량이 작을수록 상대적으로 더 빠르게 생존수가 감소하였다.

감압속도 및 가압/감압 반복의 영향

한편 고압 CO<sub>2</sub> 처리 중 가해진 압력을 갑자기 해제하면 미생물의 사멸속도가 더욱 커질 수 있다고 한다<sup>(15,18)</sup>. Nakamura 등<sup>(18)</sup>은 40 atm 이하의 기체 압력을 순간 감압하여 빵 효모를 물리적으로 파괴시킬 수 있다고 보고하였다. 이들에 의하면 세포내에 흡수된 CO<sub>2</sub> 기체가 순간적인 감압으로 급격히 팽창하여 세포 내외에 압력 구배를 형성하므로서 결과적으로 미생물이 파괴된다고 한다. 또한 Lin 등<sup>(15,17)</sup>은 초임계 CO<sub>2</sub> 처리시 가압과 감압을 반복하므로서 살균 효율을 향상시킬 수 있다고 주장하였다. 즉, 반복된 감압은 세포 내에서 초임계 유체의 팽창을 유발하여 세포내 물질의 추출을 촉진시키므로서 미생물의 사멸을 가속화한다고 하였다. 이를 바탕으로 고압 CO<sub>2</sub> 처리중 반복적인 감압이나 급격한 감압을 행했을 때 젖산균의 살균 효과가 향상되는지를 살펴본 결과 Fig. 5와 같이 나타났다. 그림에서 보듯이 선행 연구자들의 보고와는 달리 전혀 중대 효과를 기대할 수 없었는데, 이는 아마도 적절한 교반이 이루어지지 않은 상태에서 미생물과 접촉할 CO<sub>2</sub>의 용존 농도가 충분치 않은데 부분적인 원인이 있을 것으로 판단된다. Arreola 등<sup>(14)</sup>도 급격한 감압이

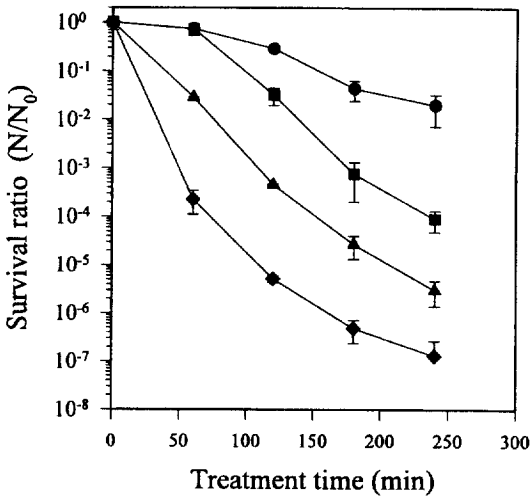


Fig. 3. Reduction of *Leuconostoc* sp. cells as a function of temperature during high pressure CO<sub>2</sub> treatment. Experiments were carried out with a working volume of 50% at 50 kg/cm<sup>2</sup> of CO<sub>2</sub>. ●—●: 20°C, ■—■: 30°C, ▲—▲: 40°C, ◆—◆: 50°C.

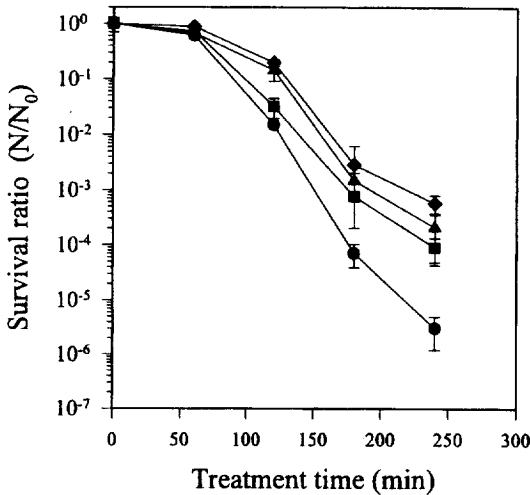


Fig. 4. Reduction of *Leuconostoc* sp. cells as a function of working volume during high pressure CO<sub>2</sub> treatment. Experiments were carried out under a CO<sub>2</sub> pressure of 50 kg/cm<sup>2</sup> at 30°C. ●—●: 36%, ■—■: 50%, ▲—▲: 71%, ◆—◆: 86%.

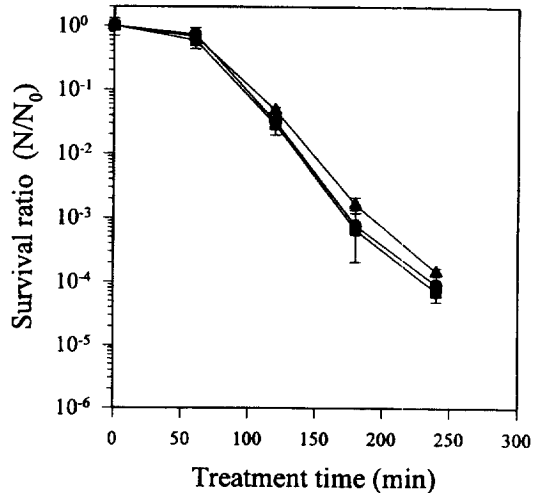


Fig. 5. Reduction of *Leuconostoc* sp. cells when applying the repetitious release of pressure or the line filter to the outlet of CO<sub>2</sub>. Experiments were carried out with a working volume 50% at 50 kg/cm<sup>2</sup> of CO<sub>2</sub> pressure and 30 °C. R(3) denotes that CO<sub>2</sub> in pressure vessel was released and recharged three times during a complete process. ●—●: Control, ■—■: R(3), ▲—▲: +Filter.

미생물의 감소에 그다지 영향을 미치지 않는다고 하였다.

#### 고유 사멸속도에 대한 영향

고압 CO<sub>2</sub> 처리에 따른 미생물의 살균과정에서 생존 수 감소가 급격히 일어나는 부분의 직선 기울기를 고유 사멸속도(specific death rate, kd)로 정의하고, 이에 대한 가압 조절인자들의 영향을 종합적으로 살펴보았다. Fig. 6에 나타낸 바와 같이 압력과 온도의 상승은 일정한 범위 내에서 고유 사멸속도를 증가시켰으나 그 이상에서는 크게 증가하지 않았으며, 작업용량의 경우 고유 사멸속도를 서서히 감소시켰다. 이는 가압 조절인자가 살균 효율에 영향을 미칠 수 있는 범위의 한정성을 의미하는 것은 아니지만, 가압 조절인자 가운데에서도 압력과 온도가 살균 효율에 더 큰 영향을 미칠 수 있음을 나타내는 것이다. 또한 미생물에 대한 고압 CO<sub>2</sub> 처리시 일정한 살균 효과가 기대되는 가압 조건 이상에서는 고유 사멸속도의 증가보다 사멸 지연시간(lag time)의 감소가 더 현저하다는 사실을 실험 결과(Fig. 2, 3)를 통해서 알 수 있었다. 결국 고압 CO<sub>2</sub>에 의한 미생물 살균은 기본적으로 CO<sub>2</sub>의 세포내 침투에 의해 좌우되며, 따라서 세포 내부로의 CO<sub>2</sub> 전달 과정이 전체적인 살균 효율을 결정짓는 가장 중요한

단계임을 다시 한 번 확인할 수 있었다.

보고된 바에 의하면 고압 CO<sub>2</sub>의 미생물 살균 효과는 CO<sub>2</sub> 용해에 따른 균체내 pH 감소, 가압/감압시 CO<sub>2</sub>에 의한 세포막의 기능적 또는 물리적 손상, 세포막이나 세포벽의 지질성분 추출에 따른 생리체계 교란 등의 여러 요인에 기인한 것으로 생각되나<sup>(15-19,21)</sup>, 아직까지 그 기작은 분명하게 입증되지 않은 상태이다. 한 가지 분명한 것은 CO<sub>2</sub>가 물과 지방에 매우 잘 용해되는 특성을 갖고 있으며 그 용해도는 압력과 온도 조건에 따라 현저하게 달라진다는 사실로서 고압 CO<sub>2</sub> 처리의 미생물 살균 효과를 설명하는 가장 기본적인 근거가 될 것으로 판단된다. 이를 기초로 정확한 살균 기작을 밝히기 위하여 고압 CO<sub>2</sub>로 처리된 미생물 세포의 다양한 생리특성 변화와 같은 보다 심층적인 연구를 현재 진행중에 있다. 아울러 실제 식품에 대한 고압 CO<sub>2</sub> 처리의 적용성 및 살균 효율의 향상 가능성에 대해서도 확인하고 있다.

## 요 약

가열 살균을 대체하여 식품의 신선도를 유지하면서 효과적으로 미생물을 사멸시킬 수 있는 새로운 비가열 살균기술로서 고압 CO<sub>2</sub> 처리를 고찰하고자 하였다. 이를 위해 김치에서 분리한 *Leuconostoc* sp.를 대상 미생물로 가압 조절인자를 달리하여 이 균주에 미치는 고압 CO<sub>2</sub>의 살균 효과를 검토하였다. 사용 압력과 온도, 처리시간이 증가할수록, 이에 반해 작업용량은 감소할수록 균체의 사멸율이 증가하였으며, 30°C, 60 kg/cm<sup>2</sup>의 CO<sub>2</sub> 가압 조건에서 젖산균 배양액을 10<sup>3</sup> 만큼 감균하는데 약 150분이 소요되었다. 실험 결과로부터 고압 CO<sub>2</sub>에 의한 미생물 살균은 기본적으로 CO<sub>2</sub>의 세포내 침투에 의해 좌우되며, 따라서 세포 내부로의 CO<sub>2</sub> 전달 과정이 전체적인 살균 효율을 결정짓는 가장 중요한 단계임을 확인할 수 있었다.

## 문 헌

1. Leistner, L. and Gorris, L.G.M.: *Food Preservation by Combined Processes*. Final Report FLAIR Concerted Action No. 7, Subgroup B, EUR 15776 EN. p.1 (1995)
2. Mertens, B. and Knorr, D.: Developments of nonthermal processes for food preservation. *Food Technol.*, **46**, 124 (1992)
3. Fraser, D.: Bursting bacteria by release of gas pressure. *Nature*, **167**, 33 (1951)
4. Foster, J.W., Cowan, R.M. and Maag, T.A.: Rupture of bacteria by explosive decompression. *J. Bacteriol.*, **83**, 330 (1962)

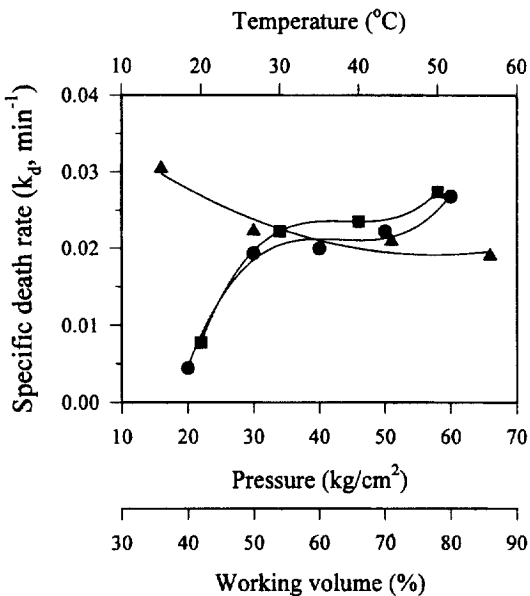


Fig. 6. Dependence of the specific death rate of *Leuconostoc* sp. cell on the operating parameters during high pressure CO<sub>2</sub> treatment. ■—■: Temperature, ●—●: Pressure, ▲—▲: Working volume.

5. Castor, T.P. and Hong, G.T.: Critical fluid disruption of microbial cells. Proceedings of 2nd International Symposium on Supercritical Fluids in Boston, p.139 (1991)
6. Lin, H.M., Chan, E.C., Chen, C. and Chen, L.F.: Disintegration of yeast cells by pressurized carbon dioxide. *Biotechnol. Prog.*, **7**, 201 (1991)
7. Lin, H.M., Yang, Z. and Chen, L.F.: An improved method for disruption of microbial cells with pressurized carbon dioxide. *Biotechnol. Prog.*, **8**, 165 (1992)
8. Stahl, E. and Rau, G.: Hochdruck-behandlung von Mikroorganismen. *Naturwissenschaften*, **72**, 144 (1985)
9. Kamihira, M., Taniguchi, M. and Kobayashi, T.: Sterilization of microorganisms with supercritical carbon dioxide. *Agric. Biol. Chem.*, **51**, 407 (1987)
10. Taniguchi, M., Suzuki, H., Sato, M. and Kobayashi, T.: Sterilization of plasma powder by treatment with supercritical carbon dioxide. *Agric. Biol. Chem.*, **51**, 3425 (1987)
11. Haas, G.J., Prescott, H.E., Dudley, Jr. E., Dik, R., Hintlian, C. and Keane, L.: Inactivation of microorganisms by carbon dioxide under pressure. *J. Food Safety*, **9**, 253 (1989)
12. Kühne, K. and Knorr, D.: Effects of high pressure carbon dioxide on the reduction of microorganisms in fresh celery. *European Food Science*, **41**, 55 (1990)
13. Wei, C.I., Balaban, M.O., Fernando, S.Y. and Peplow, A.J.: Bacterial effect of high pressure CO<sub>2</sub> treatment on foods spiked with *Listeria* or *Salmonella*. *J. Food Protection*, **54**, 189 (1991)
14. Arreola, A.G., Balaban, M.O., Wei, C.I., Peplow, A.J., Marshall, M. and Cornell, J.: Effect of supercritical carbon dioxide on microbial populations in single strength orange juice. *J. Food Quality*, **14**, 275 (1991)
15. Lin, H.M., Yang, Z. and Chen, L.F.: Inactivation of *Saccharomyces cerevisiae* by supercritical and subcritical carbon dioxide. *Biotechnol. Prog.*, **8**, 458 (1992)
16. Lin, H.M., Yang, Z. and Chen, L.F.: Inactivation of *Leuconostoc dextranicum* with carbon dioxide under pressure. *Chemical Engineering Journal*, **52**, B29 (1993)
17. Lin, H.M., Cao, N. and Chen, L.F.: Antimicrobial effect of pressurized carbon dioxide on *Listeria monocytogenes*. *J. Food Sci.*, **59**, 657 (1994)
18. Nakamura, K., Enomoto, A., Fukushima, H., Nagai, K. and Hakoda, M.: Disruption of microbial cells by the flash discharge of high-pressure carbon dioxide. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **58**, 1297 (1994)
19. Isenschmid, A., Marison, I.W. and von Stockar, U.: The influence of pressure and temperature of compressed CO<sub>2</sub> on the survival of yeast cells. *J. Biotechnol.*, **39**, 229 (1995)
20. Ballestra, P., Silva, A.A.D. and Cuq, J.L.: Inactivation of *Escherichia coli* by carbon dioxide under pressure. *J. Food Sci.*, **14**, 275 (1996)
21. Hong, S.I., Park, W.S. and Pyun, Y.R.: Inactivation of *Lactobacillus* sp. from kimchi by high pressure carbon dioxide. *Lebensm. Wiss. u. Technol.*, **30**, (1997) (in press)
22. 홍석인, 박노현, 구영조 : 초기 진공조건이 유연포장 김치의 품질변화에 미치는 영향. *한국식품과학회지*, **28**, 190 (1996)
23. Kaneda, T.: Iso- and Anteiso-fatty acids in bacteria: biosynthesis, function, and taxonomic significance. *Microbiol. Rev.*, **55**, 288 (1991)

---

(1997년 8월 29일 접수)