KOREAN J. FOOD SCI. TECHNOL. Vol. 44, No. 3, pp. 312~316 (2012)

KOREAN JOURNAL OF
한국식품과학회지
FOOD SCIENCE AND TECHNOLOGY
©The Korean Society of Food Science and Technology

막걸리에 접종한 *Bacillus subtilis*의 초고압에 대한 저항력

이은정 · 김주성 · 오세욱[1] · 김윤지*
한국식품연구원 융합기술연구본부, [1]국민대학교 식품영양학과

The Resistance of *Bacillus subtilis* in *Makgeolli* to Hydrostatic Pressure

Eun-Jung Lee, Joo-Sung Kim, Se-Wook Oh[1], and Yun-Ji Kim*
Division of Convergence Technology, Korea Food Research Institute
[1]*Department of Foods and Nutrition, Kookmin University*

Abstract In order to understand the effect of hydrostatic pressure (HP) on *Bacillus subtilis* isolated from *makgeolli*, the survival of *B. subtilis* after HP treatment (400 MPa for 5 min) in various substrates including phosphate buffer, tryptone soya broth at pH 7 and 4, and *makgeolli* at pH 4 was evaluated depending on bacterial forms (spores and vegetative cells) and adaptation conditions (25°C for 3 h, or 10°C for 24 h). Spores were generally resistant to HP (<1 log reduction) regardless of conditions. In contrast, vegetative cells were generally susceptible to HP (up to 3 log reduction-except *makgeolli*) and were more susceptible after 3 h at 25°C compared to 24 h at 10°C. In vegetative cells inoculated *makgeolli* (7 log CFU/mL), the colonies were not detected after 24 h at 10°C. Consequently, *B. subtilis* in *makgeolli* easily existed as spores and the spores were resistant to HP. Results demonstrate that HP was more promising in the inactivation of vegetative cells.

Keywords: *Bacillus subtilis*, *makgeolli*, hydrostatic pressure

서 론

막걸리는 누룩과 전분을 사용하는 자연 발효 알코올 음료로 진균류, 효모, 유산균과 호기성균 등 다양한 미생물이 존재한다(1). 막걸리 내의 세균은 일반적으로 acid producing bacteria group, *Micrococcus* group, *Bacillus* group으로 보고되고 있다(2). 그 중 *B. subtilis*는 막걸리 내 호기성 세균 중 다량 분포하는 주요 세균으로 알려져 있다(1). 그러나 *B. subtilis*의 막걸리 내에서 형태나 증식여부와 역할에 대한 서로 다른 연구결과가 존재하고 있다. 막걸리 변질과 관련해서 Kho 등(3)은 *B. subtilis*가 막걸리 저장 기간이 증가함에 따라 증식하였으며 부패의 원인균으로 보고하였다. 이와 유사하게 *B. subtilis*는 막걸리에서 부패균인 *Pseudomonas* sp.의 출현과 함께 급격하게 증가하였다는 보고가 있다(2). 반면 Shin과 Cho(4)는 막걸리 내 *B. subtilis*의 발효 기간 중 균수 증가를 관찰할 수 없는 것으로 포자 상태로 존재하거나 불리한 환경조건으로 증식하지 않는 것으로 예상하였다. 또한 Lee 등(5)은 60°C 열처리에 생존한 막걸리 포자 형성균은 저장 기간 중 거의 증식하지 않았다고 보고하였다. 이처럼 *B. subtilis*는 막걸리 발효 전반에 걸쳐 존재하는 주요 미생물이지만 막걸리에서 역할은 불명확한 상황이다.

*Corresponding author: Yun-Ji Kim, Division of Convergence Technology, Korea Food Research Institute, Seongnam, Gyeonggi 463-746, Korea
Tel: 82-31-780-9085
Fax: 82-31-780-9160
E-mail: yunji@kfri.re.kr
Received December 19, 2011; revised March 23, 2012;
accepted April 3, 2012

막걸리 유통기한은 통상적으로 10°C 이하에서 7-10일이며, 열처리 공정으로 상온에서 6-8개월까지 저장 기간을 늘린 제품이 나오고 있다(5). 그러나 열처리 공정으로 인해 발효과정에서 생성된 향미의 감소와 탄산의 소실 등 관능적 품질에 문제가 있어 이를 보완하는 공정이 추가적으로 요구된다. 따라서 관능적 품질을 유지하면서 식품의 저장성을 향상시킬 수 있는 비열 처리 기술을 막걸리에 적용하여 저장 기간 연장효과와 pathogen에 대한 안전성 평가가 수행되었다(6-9). 막걸리 미생물 사멸효과에서 비열 처리 기술은 진균류와 효모류에 우수한 제어 효과를 나타냈지만, 세균의 저감 효과는 제한적이었다(7-9). 그러나 아직까지 막걸리 내 주요 세균이면서 포자 생성균인 *B. subtilis*에 관한 연구는 미미한 상황이다. 따라서, 막걸리의 저장성 향상을 위한 비열 처리 기술 적용 시 *B. subtilis*에 대한 평가가 필요하다고 판단된다.

다양한 비열 처리 기술 중 초고압은 물이나 오일을 매개로 압력을 순간적으로 균일하게 시료에 전달해서 미생물을 제어하는 기술로 천연의 맛과 향미, 신선도 유지에 뛰어난 기능이 알려져 있다(10,11). 또한 페트병이나 플라스틱필름에 포장한 후 처리할 수 있어 공정이 간편한 장점이 있다. 따라서 막걸리 페트병 포장 후 마지막 공정으로 초고압 기술을 적용할 수 있기 때문에 경제적이고 편리한 기술로 판단된다. 초고압을 이용한 *B. subtilis* 제어에 대한 연구들을 살펴보면 영양세포 또는 포자 상태에 따라 제어효과는 다르게 나타난다. *B. subtilis* 영양세포의 경우 50°C 이하의 온도에서 400 MPa 가량의 처리 조건으로 완전한 inactivation 또는 6 log cycle 의 저감 효과가 보고되었다(12-14). 하지만 *B. subtilis* 포자를 살균하기 위한 조건으로 600 MPa 이상 80°C 이상의 고온고압이 필요한 것으로 보고되었고(15-17), 저온 저압을(100 MPa, 65-85°C) 이용한 경우 3-12 시간 처리를 이용한 보고가 있다(18). 위 연구들은 *B. subtilis* 영양세포의 경우 초고압

처리만으로 쉽게 제어되지만 *B. subtilis* 포자의 경우 초고압 처리 시 열처리를 병용하였고, 저감효과는 크지 않았다. 따라서 다양한 환경에서의 *B. subtilis*에 대한 이해가 초고압을 이용한 막걸리 살균법에 중요한 요소로 작용하는 것으로 판단된다.

*B. subtilis*는 포자 생성균으로 영양조건, pH, 온도 등의 환경에 따라 상태가 변할 수 있다. 따라서 영양 유무(buffer 또는 broth)에 대한 효과와 시판 막걸리의 유통 온도(10 또는 25°C)와 pH 조건(pH 4)을 고려하여 기질의 종류와 pH 그리고 adaptation 조건을 설정하였다. 이러한 기준으로 설정된 각 기질인 phosphate buffer(pH 7과 4), tryptone soya broth(TSB, pH 7과 4), 그리고, 막걸리에 막걸리 유래의 *B. subtilis*의 포자와 영양세포를 각각 접종하여 adaptation 조건(25°C, 3 h 또는 10°C, 24 h)에 따른 초고압(400 MPa, 5 min, 상온)에 의한 사멸 효과를 측정하였다. 또한 *B. subtilis* 접종 막걸리의 저장 온도(10 또는 25°C)에 따른 균수 변화와 열 안정성을 측정하였다.

재료 및 방법

재료 및 균주

S사에서 판매 중인 막걸리를 구입하여 사용하였다. 균주 접종을 위한 멸균막걸리는 121°C에서 15분간 열처리하여 준비하였다. *B. subtilis* MB 18-5는 한국식품연구원 우리술연구회에서 막걸리에서 분리한 균을 분양받아 사용하였다. 영양세포 배양을 위해서 tryptone soya broth(TSB, Oxoid, Basingstoke, Hampshire, England)에서 30°C, 약 15 h 동안 배양하여 *B. subtilis* 간균을 얻었다. *B. subtilis* 포자를 얻기 위해, plate count agar(PCA, BD, Sparks, MD, USA)에 균체를 도말하여 30°C, 약 24 h 배양하였고, 상온에서 7일 후에 scrapper로 균체를 모았다. 이를 phosphate buffered saline(PBS, pH 7)으로 세척한 후 *B. subtilis* spore suspension(Merck Co., Darmstadt, Germany)에 현탁하였다.

초고압 조건

시판 막걸리의 초고압에 의한 균수변화를 측정하기 위해, 막걸리를 300 mL 페트병에 소분하여 초고압기(Quintus food processor 6, ABB Autoclave Systems Inc., Columbus, OH, USA)를 이용하여 300, 400, 500 MPa에서 5 min 처리 하였다. 이 때 대조구는 대기압(0.1 MPa) 하에서 10°C 냉장 보관을 하였다. 초고압기 내부의 초기 온도는 25°C로 유지하였다. 가압 속도는 약 20 s/100 MPa이었고, 감압은 5초 이내에 이루어졌다.

다양한 기질에서의 adaptation 조건 별 초고압 처리조건

1 N HCl로 pH를 조절한 buffer(pH 7과 4), TSB(pH 7과 4), 멸균막걸리를 준비하였고, *B. subtilis* 영양세포와 포자를 각각 9 log CFU/mL 수준의 현탁액으로 만들어 시료 100 mL당 균주 1 mL의 현탁액을 접종하여 7 log CFU/mL 수준으로 접종하였다. 이를 polyethylene 팩에 담아 adaptation을 위해 25°C, 3 h 또는 10°C, 24 h 동안 항온 처리한 다음 초고압기(Quintus food processor 6)를 이용하여 400 MPa에서 5분간 처리하였다. 이 때 대조구는 대기압(0.1 MPa) 하에서 25°C, 3 h 또는 10°C, 24 h 항온처리만 하였다.

*B. subtilis*를 접종한 멸균 막걸리의 저장 조건

막걸리에 접종한 *B. subtilis*의 저장 온도에 따른 균수변화를 측정하기 위하여 멸균막걸리 100 mL 당 9 log CFU/mL 수준의 포자와 영양세포 10 mL을 원심분리하고(10,000×g, 3 min) 침전물인 균주를 접종하여 최종 농도 8 log CFU/mL 수준으로 접종하였다. 접종 직후, 10°C 또는 25°C에서 3시간 후 균수 변화를 측정하였고, 이 후 저장 12일까지의 변화를 관찰하였다. 막걸리 내 포자를 계수하기 위하여 각 저장 일에서 70°C에서 30분간 열처리를 하여 균수 변화를 측정하였다.

생균수 측정

*B. subtilis*를 접종한 시료의 균수 측정은 일반세균측정 방법을 이용하여 측정하였다. 시료를 10배 희석 단계에 따라 멸균된 0.85% NaCl 용액에 희석한 후 PCA에 도말하였다. 시료를 도말한 PCA는 30°C에서 24 h 배양하여 colony를 단위 부피당 생균수로(log CFU/mL) 나타내었다. 내열성 포자 수는 열처리(70°C, 30 min) 후 일반세균측정 방법으로 산출하였다.

통계처리

*B. subtilis*를 접종한 후 각각의 기질에서 adaption 조건에 따른 균수 변화 비교와 초고압에 의한 균수 변화 비교에 대한 유의차 검증을 위해서 SAS statistical program(SAS Institute Inc., Cary, NC, USA)을 이용하여 ANOVA를 통해 분석하였다. 처리구 간의 유의차는 Duncan multiple range test에 의해 비교되었다($p<0.05$). 2 반복으로 2차에 걸친 실험을 수행하였고 평균값과 표준편차 값을 나타내었다.

결과 및 고찰

초고압에 의한 시판 막걸리의 균수 변화

시판 막걸리를 300, 400, 500 MPa로 초고압 처리하여 생균수 변화를 관찰하였다(Fig. 1). 시판 막걸리의 생균수는 7.7 log CFU/mL 수준이었고, 300 MPa 처리 시 3.3 log CFU/mL로 4 log CFU/mL 이상의 저감효과가 나타났다. 그러나 400과 500 MPa로 처리 압력이 상승하여도 추가적인 저감효과가 관찰되지 않았다. 이는 Lim 등(9)의 보고에서 처리 압력의 증가에 따른 막걸리 내 세균의 저감 효과의 차이가 관찰되지 않았다는 결과와 유사하였다.

B. subtilis 포자의 adaptation condition에 따른 초고압에 의한 균수 변화

B. subtilis 포자를 접종하여 25°C, 3 h adaptation을 거친 뒤 초고압에 의한 균수변화를 살펴보면 다음과 같았다(Table 1). 각 기질에 7 log CFU/mL 수준으로 *B. subtilis* 포자를 접종하였고, 25°C, 3 h adaptation 후 각 기질에 생존하고 있는 균수는 6.2-6.4 log CFU/mL수준으로 관찰되었다. 초고압에 의한 저감효과는 buffer(pH 4)와 TSB(pH 7과 4)에서 대조구 보다 유의적으로 저감하였지만($p<0.05$) 0.6 log CFU/mL 이하로 미미하였다. 반면 buffer pH 7, 막걸리에서 대조구와 초고압 처리구 간의 균수 차이는 유의적이지 않았다($p>0.05$). 7 log CFU/ml 수준의 포자를 각 기질에 접종한 후 10°C, 24 h adaptation을 거친 뒤 초고압에 의한 균수 변화를 살펴보면 다음과 같았다(Table 1). 포자를 접종한 시료의 10°C, 24 h adaptation에 의한 균수 변화를 25°C, 3 h adaptation과 비교하면, buffer(pH 7과4)와 TSB(pH 4)에 접종한 시료에서 10°C, 24 h adaptation에 의해 균수의 유의적 감소가 관찰되었지만($p<0.05$), 감소된 균수는 0.6 log CFU/mL 수준으로 낮게 나타났다. TSB(pH 7)과 막걸리에서는 adaptation 조건에 따른 균수 변화의 유의적 차이는 관찰되지 않았다($p>0.05$). 10°C, 24 h adaptation 이후 초고압 처리군과 대조군과의 유의적 차이는 관찰되지 않았다($p>0.05$). 따라서 *B. subtilis* 포자는 영양 유무와 pH

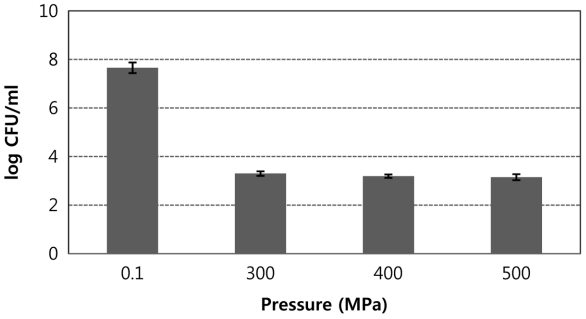

Fig. 1. The changes of hydrostatic pressure–induced colony counts in a *makgeolli* purchased from Market. Non-treatment is the sample of 0.1 MPa (atmospheric pressure).

조건에 상관없이 환경 적응력이 강한 것으로 나타났고 초고압에 대한 저항력도 높은 것으로 나타났다. 이는 세균의 포자는 5-10°C의 온도에서는 981 MPa로 처리하더라도 완벽하게 제어되지 않았다는 연구 결과와 일치한다(19). 또한 TSB(pH 7)에서의 초고압에 의한 균수 변화가 25°C, 3 h adaptation 조건에서는 0.6 log CFU/mL의 저감 효과가 있었던 반면 10°C, 24 h adaptation 조건에서 초고압에 의한 저감효과가 관찰되지 않은 것은 영양조건과 pH가 적합한 환경이라도 저온에서는 *B. subtilis*가 영양세포로 전환되지 않고 포자로 존재하는 것으로 추측된다. 이를 확인하기 위해서, 포자를 TSB(pH 7)에 접종한 후 25°C, 3 h 이후에 광학현미경으로 관찰 결과 일부 영양세포가 관찰되었지만, 10°C, 24 h 저장 후 모두 포자상태로 관찰되었다(data not shown). 또한 *B. subtilis*는 효소 생산 능력이 탁월한 균주로(20-22) 초고압에 의해 활성이 변화하지 않았지만 생리활성 물질의 변화로 막걸리 품질에 영향을 줄 수 있을지에 대한 연구는 더 필요한 것으로 사료된다.

B. subtilis 영양세포의 adaptation condition에 따른 초고압에 의한 균수 변화

B. subtilis 영양세포를 각 기질에 7 log CFU/ml 수준으로 접종한 후 25°C, 3 h adaptation 후 초고압에 의한 균수변화를 살펴보면 다음과 같았다(Table 1). 영양세포가 접종된 다양한 기질에서 25°C에서 3 h 동안 adaptation 후 균수는 3.5-6.5 log CFU/mL수준으로 다르게 나타났다. 즉, TSB보다는 buffer에서, pH 7보다 pH 4에서 생존율이 낮게 나왔고 막걸리에서 가장 낮은 수준인 3.5 log CFU/mL로 관찰되었다. 400 MPa 초고압에 의해서 buffer(pH 7과 4)와 TSB(pH 7과 4)에서 2.2-3.2 log CFU/mL의 저감 효과가 관찰되었고 막걸리에서는 1 log CFU/mL 이하의 저감효과가 측정되었다. 모든 시료에서 초고압에 의한 저감효과는 통계적으로 유의하였다($p<0.05$). 영양세포 7 log CFU/mL을 각 기질에 접종 후 10°C, 24 h adaptation으로 변화된 균수와 초고압에 의한 효과에 대한 결과를 살펴보면 다음과 같았다(Table 1). Adaptation에 의한 균수 변화를 살펴보면, 25°C, 3 h adaptation시 균수 보다 10°C, 24 h adaptation에 의해 buffer(pH 7과 4), TSB(pH 7과 4)에서 2 log CFU/mL 가량 유의적으로 감소하였고($p<0.05$), 막걸리에서는 detection limit(2 log CFU/mL) 이하로 검출되지 않았다. 초고압에 의한 생균수 감소가 유의적으로 나타났으나 TSB(pH 7)에서 저감효과는 1.6 log CFU/mL 수준으로 관찰되었고, buffer (pH 7과 4), TSB(pH 4)에서 저감효과는 모두 0.4 log CFU/mL이하로 미미하였다. 즉, 10°C, 24 h adaptation 이후 초고압에 의한 저감효과는 25°C, 3 h adaptation 이후 초고압에 의한 저감 효과보다 낮게 관찰되었다. 따라서 낮은 온도(10°C) 환경에서는 영양세포가 환경 적응력이 상대적으로 약해서 많은 수의 균 손실이 관찰되었지만 초고압에 대한 저항력이 상대적으로 높아진 것으로 나타났다. 이는 영양세포의 sporulation에 의한 것으로 사료된다. 특히 TSB(pH 7)에서의 결과로 영양과 pH가 성장에 유리한 조건이라도 저온(10°C) 환경에서 적응력이 약하고, 생존한 균들

Table 1. The changes of hydrostatic pressure-induced colony counts depending on forms of *Bacillus subtilis* for inoculation and adaptation times in various substrates[1)] (Unit: log CFU/mL)

B. subtilis form[2)]	Adaptation[3)] / Substrates[4)] \ Treatment	25°C for 3 h		10°C for 24 h	
		Non-treatment	HP-treatment	Non-treatment	HP-treatment
Spore	Buffer (pH 7)	6.37±0.23[5)aA]	6.33±0.14[aA]	6.18±0.09[abB]	6.13±0.15[abB]
	Buffer (pH 4)	6.25±0.12[aA]	6.04±0.20[bB]	5.68±0.13[cC]	5.76±0.12[bC]
	TSB (pH 7)	6.18±0.16[aA]	5.40±0.18[cB]	6.10±0.36[abA]	5.99±0.13[bA]
	TSB (pH 4)	6.26±0.22[aA]	5.96±0.16[bB]	5.95±0.06[bcB]	5.91±0.04[bB]
	Sterilized-*makgeolli*	6.29±0.07[aA]	6.31±0.05[aA]	6.41±0.36[aA]	6.47±0.34[aA]
Vegetative cell	Buffer (pH 7)	5.60±0.18[bA]	2.85±0.09[bD]	3.57±0.24[bB]	3.27±0.22[aC]
	Buffer (pH 4)	4.70±0.13[dA]	2.53±0.04[cBC]	2.70±0.30[cB]	2.43±0.09[dC]
	TSB (pH 7)	6.48±0.07[aA]	3.20±0.23[aC]	4.54±0.09[aB]	2.91±0.19[cD]
	TSB (pH 4)	5.32±0.13[cA]	2.78±0.14[bD]	3.46±0.33[bB]	3.11±0.10[bC]
	Sterilized-*makgeolli*	3.50±0.25[eA]	2.90±0.30[bB]	N.D.[6)]	N.D.

[1)]Spore was harvested after 7 days in plate count agar (BD, Sparks, MD, USA), and vegetative cell was harvested after activation at 30°C for 15 hr in TSB.
[2)]Harvested spore and vegetative cell were inoculated in various substrates at 7 log CFU/mL, respectively.
[3)]Hydrostatic pressure (400 MPa) was treated after storage at 25°C for 3 h or at 10°C for 24 h to adapt to environments.
[4)]Buffer and TSB are phosphate buffer and tryptone soya broth, respectively. pH value was adjusted by 0.1 N HCl.
[5)]All values are mean±SD of two replications.
[6)]N.D. means 'not detected'.
[a-e]means within a same column of same *B. subtilis* form with different letters are significantly different ($p<0.05$).
[A-D]means within a same row with different letters are significantly different ($p<0.05$).

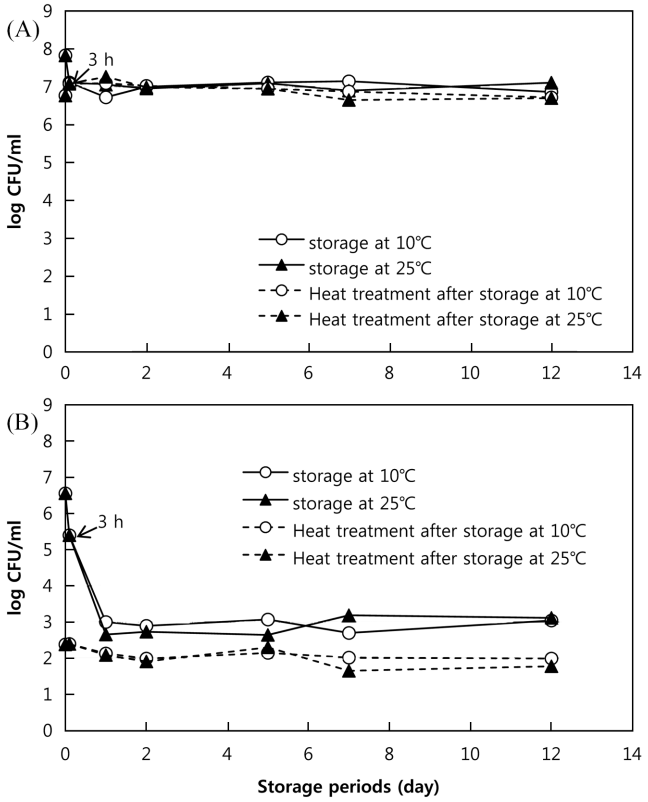

Fig. 2. Changes of colony counts in *Bacillus subtilis* (spore (a) and vegetative cell (b)) inoculated in sterilized-*makgeolli* during storage at 10 and 25°C. Heat treatment was performed at 70°C for 30 min to enumerate the number of spores. The inoculation level was 8 log CFU/mL.

은 압력 저항력이 증가한 것을 알 수 있었다.

B. subtilis 포자와 영양세포를 접종한 막걸리의 저장 온도와 배양시간에 따른 균수 변화

B. subtilis 포자와 영양세포를 멸균된 막걸리에 각각 접종한 후 10, 25°C에서 저장 기간 동안 균수 변화를 관찰하였다(Fig. 2). 영양세포의 경우 막걸리 내에서 적응이 어려운 것으로 나타나 *B. subtilis*의 포자와 영양세포는 멸균된 막걸리에 각각 8 log CFU/mL 수준으로 접종하였다. 포자를 접종한 Fig. 2(A)의 결과를 살펴보면, 접종 직후 검출된 균수는 8 log CFU/mL에 근접하였지만 3시간 이후 1 log CFU/mL 가량의 감소가 관찰되었고 저장 12일까지 그 수준이 유지되었다. 70°C, 30 min의 열처리에 의한 균수는 저장 온도에 상관없이 7 log CFU/mL 수준으로 관찰되었다. 따라서 내열성이 있는 포자 상태로 유지되는 것을 알 수 있었다.

영양세포를 접종한 Fig. 2(B)의 경우, 접종 직후 6.5 log CFU/mL로 관찰되었고, 3시간 이후 1 log CFU/mL가량의 감소가 관찰되었다. 그리고 저장 1일에 3 log CFU/mL 수준의 균수가 측정되었고 저장 12일까지 그 수준이 유지되었고, 70°C, 30 min의 열처리에 의해 1 log CFU/mL 수준의 균수 저감이 관찰되었다. 이는 환경에 적응한 영양세포가 일부 존재하는 것으로 예상할 수 있으나 저장 12일까지 균의 증식은 관찰되지 않았다. Kim 등(23)의 연구 결과에 의하면 포자는 형성 조건(온도, 배지, 배양시간)에 따라 포자의 열저항성이 다르게 나타날 수 있었다. 따라서 막걸리에 *B. subtilis* 영양세포를 접종하여 적응한 균은 열저항성이 약한 포자로 존재할 가능성이 있다고 사료된다. 결론적으로, 막걸리 내에서 *B. subtilis*는 상온에서 생장하지 않았고 대부분 포자 상태로 존재하였다. 이는 막걸리를 55-60°C 열처리에 의해 생존한 균들은 포자 생성균들로 저장 기간 중에 거의 증식하지 않았다는 보고와 일치하였다(2,24). 또한 좁쌀탁주의 초고압 처리에 의한 미생물 사멸효과에 대한 연구에서 세균의 완전한 사멸이 이루어지지 않은 원인이 내압성, 내열성 포자형성 균주로 인한 것으로 예측한 연구와 일치하였다(7).

요 약

막걸리에서 분리된 *B. subtilis*의 특성을 파악하고자 영양유무(buffer와 TSB), pH(pH 7과 4, 막걸리 pH 4), adaptation 조건에 따라 초고압에 의한 저감 효과를 살펴보았다. *B. subtilis* 포자는 영양유무, pH에 관계없이 환경 적응력이 있었고, 초고압에 의한 저감효과도 미미하게 관찰되었다. *B. subtilis* 영양세포는 영양유무와 pH에 따라 대조구(non-treatment)의 균수 차이가 관찰되었고, 초고압에 의한 저감 효과도 다르게 나타났다. *B. subtilis* 영양세포는 저온에서 영양과 pH가 불리한 환경에서 endospore를 형성하여 적응을 하게 되고 초고압에 의한 저감효과는 감소하는 것으로 나타났다. 특히 막걸리에 접종한 경우는 buffer(pH 4)와 TSB(pH 4)보다 적응력이 약한 것으로 관찰되었다. *B. subtilis* 포자를 접종한 막걸리의 저장 실험 결과, 내열성이 있으며 균의 증식은 관찰되지 않았다. 결론적으로, 막걸리에서 *B. subtilis*는 대부분 포자상태로 존재하며, 포자는 초고압에 대한 저항력이 큰 것을 알 수 있었다. 그러나 초고압은 영양세포 사멸에 효과적이었다.

감사의 글

본 연구는 한국식품연구원 주요사업의 지원으로 수행되었으며 이에 감사 드립니다.

문 헌

1. Yu TS, Kim J, Kim HS, Hyun JS, Ha HP, Park MG. Bibliographical study on microorganism of traditional Korean *nuruk* (since 1945). J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 27: 789-799 (1998)
2. Lee ZS, Lee TW. Studies on the microflora of *takju* brewing. Korean J. Microbiol. 8: 116-133 (1970)
3. Koh CM, Choi TJ, Lew J. Microbiological studies on the *takju* (*makgeolli*) brewing: The Korean local wine. Korean J. Microbiol. 11: 167-174 (1973)
4. Shin YD, Cho DH. A study on the microflora changes during *takju* brewing. Korean J. Microbiol. 8:53-64 (1970)
5. Lee CH, Tae WT, Kim GM, Lee HD. Studies on the pasteurization conditions of *takju*. Korean J. Food Sci. Technol. 23: 44-51 (1991)
6. Lee KB, Kim JH. Studies on radiation preservation of fermented Korean rice-wine (*takju* and *yakju*). Korean J. Microbiol. 7: 45-56 (1969)
7. Lee JW, Jung JJ, Choi EJ, Kang ST. Changes in quality of UV sterilized Takju during storage by honeycomb type-UV sterilizer. Korean J. Food Sci. Technol. 41: 652-656 (2009)
8. Jwa MK, Lim S, Mok C, Park YS. Inactivation of microorganisms and enzymes in foxtail millet *takju* by high hydrostatic pressure treatment. Korean J. Food Sci. Technol. 33: 226-230 (2001)
9. Lim S, Jwa MK, Mok C, Park YS, Woo GJ. Changes in microbial counts, enzyme activity and quality of foxtail millet *takju* treated with high hydrostatic pressure during storage. Korean J. Food Sci. Technol. 36: 233-238 (2004)
10. Lee KJ, Choi SD. Application of biological industry using high

hydrostatic pressure (HHP) system. Korean J. Biotechnol. Bioeng. 23: 362-368 (2008)
11. Rendueles E, Omer MK, Alvseike O, Alonso-Calleja C, Capita R, Prieto M. Microbiological food safety assessment of high hydrostatic pressure processing: A review. LWT-Food Sci. Technol. 44: 1251-1260 (2011)
12. Heinz V. Knorr D. High pressure inactivation kinetics of *Bacillus subtilis* cells by a three-state-model considering distributed resistance mechanisms. Food Biotechnol. 10: 149-161 (1996)
13. Moerman F, Mertens B, Demey L, Huyghebaert A. Reduction of *Bacillus subtilis*, *Bacillus stearothermophilus*, and *Streptococcus faecalis* in meat batters by temperature-high hydrostatic pressure pasteurization. Meat Sci. 59: 115-125 (2001)
14. Gao YL, Jiang HH. Optimization of process conditions to inactivate *Bacillus subtilis* by high hydrostatic pressure and mild heat using response surface methodology. Biochem. Eng. J. 24: 43-48 (2005)
15. Sale AJH, Gould GW, Hamilton WA. Inactivation of bacterial spores by hydrostatic pressure. J. Gen. Microbiol 60: 323-334 (1970)
16. Sonoike K. High pressure sterilization technology: Subject for the application to food. J. Jpn. Soc. Food Sci. Technol. 44: 522-530 (1997)
17. Wilson MJ, Baker R. High temperature/ultra-high pressure sterilization of foods. United States Patent 6086936 (2000)
18. Islam MS, Inoue A, Igura N, Shimoda M, Hayakawa I. Inactivation of *Bacillus* spores by the combination of moderate heat and low hydrostatic pressure in ketchup and potage. Int. J. Food Microbiol. 107: 124-130 (2006)
19. Nakayama A, Yano Y, Kobayashi S, Ishikawa M, Sakai K. Comparison of pressure resistances of spores of 6 *Bacillus* strains with their heat resistances. Appl. Environ. Microb. 62: 3897-3900 (1996)
20. Lim SI, Kim HK, Yoo JY. Characteristics of protease produced by *Bacillus subtilis* PCA 20-3 isolated from Korean traditional *meju*. Korean J. Food Sci. Technol. 32: 154-160 (2000)
21. Kang KJ, Jeoung JH, Cho JI. Inhibition of aflatoxin-producing fungi with antifungal compound produced by *Bacillus subtilis*. J. Fd Hyg. Safety 15: 122-127 (2000)
22. Chang JH, Shim YY, Kim SH, Chee KM, Cha SK. Fibrinolytic and immunostimulating activities of *Bacillus* spp. Strains isolated from chungkuk-jang. Korean J. Food Sci. Technol. 37: 255-260 (2005)
23. Kim SJ, Jun JH, Tahk H, Baek SY, Lee SY. Effect of factors on the sporulation of *Bacillus cereus* and their thermal resistance. J. Fd. Hyg. Safety 24: 256-261 (2009)
24. Bae SM, Kim HJ, Oh TK, Kho YH. Preservation of *takju* by pasteurization. Korean J. Appl. Microbiol. Biotech. 18: 322-325 (1990)