

염농도가 다른 새우젓에 존재하는 유해가능 세균의 초고압 살균

목철균 · 송기태

경원대학교 공과대학 식품생물공학과

High Hydrostatic Pressure Sterilization of Putrefactive Bacteria in Salted and Fermented Shrimp with Different Salt Content

Chulkyoon Mok and Ki-Tae Song

Department of Food and Bioengineering, Kyungwon University

Abstract

This study was conducted to enhance the storage stability and the wholesomeness of salted and fermented shrimp manufactured with different salt levels by high hydrostatic pressure sterilization. The effects of high hydrostatic pressure treatment on the putrefactive bacteria in the fermented shrimps were investigated and the sterilization kinetics was analyzed. The initial microbial counts of the fermented shrimp with 8%, 18% salt aged for 6 weeks at 20°C were 1.6×10^3 , 1.4×10^4 CFU/g for bacteria grown on *Vibrio* selective media, 9.3×10^3 , 1.7×10^5 CFU/g for bacteria grown on *Staphylococcus* selective media, respectively, and null for bacteria grown on *Salmonella* selective media. The degree of the sterilization increased with the magnitude of the pressure and the treatment time. The fermented shrimp pressurized at 6,500 atm for 10 min had no detectable bacteria grown on *Vibrio* and *Staphylococcus* selective media at 10^2 CFU/g detecting limit. High hydrostatic pressure sterilization could be analyzed by first order reaction kinetics. The D_p values of the bacteria grown on *Vibrio* selective media of the fermented shrimp at 18% salt were higher than those at 8% salt, while those of the bacteria grown on *Staphylococcus* selective media showed an inverse trend. The z_p values of 8% salt fermented shrimp were higher than those of 18% salt for both bacteria grown on *Vibrio* selective media and *Staphylococcus* selective media. High hydrostatic pressure treatment could be applied for the sterilization of the fermented shrimp, and the optimum high pressure sterilization condition was 10 min treatment at 6,500 atm.

Key words : salted and fermented shrimp, high hydrostatic pressure, sterilization kinetics

서 론

젓갈류 식품은 선어나 일반 가공원료로서 상품가치가 낮은 소형어패류나 그 부산물 같은 부패되기 쉬운 어패류의 근육, 내장 또는 생식소를 염장 발효시켜 독특한 감칠맛을 내도록 한 것으로 부식으로 또는 다른 식품의 맛을 향상시키기 위한 부재료로 널리 사용되어왔고^(1,2) 소금만으로 손쉽게 가공할 수 있는 장점 때문에 수산자원의 저장 및 이용수단으로 활용되고 있다⁽³⁾.

젓갈의 발효 및 숙성과정에서 독소등 유독한 물질이나 유해 미생물의 생육을 억제하기 위해 온도, pH, 수분활성, 염농도 등 다양한 환경조건이 고려될 수 있으나 현실적으로 인위적 조절이 용이한 환경인자는 숙성온도와 염농도라 할 수 있다. 젓갈류의 종류와 제법에 따라 다르나 일반적으로 젓갈류 제품에서 발견되는 주요 미생물들은 *Micrococcus*속, *Brevibacterium*속, *Sarcina*속, *Leuconostoc*속, *Bacillus*속, *Pseudomonas*속, *Flavobacterium*속 및 각종 효모류 등으로 알려져 있으며, 젓갈의 이상발효 및 부패에 관여하는 미생물은 *Vibrio*속, *Achromobacter*속, *Bacteroides*속 등의 세균류와 *Saccharomyces*속의 효모류 등으로 보고되어 있다⁽¹⁾.

최근 소비자들의 건강에 대한 관심이 높아짐에 따라 식품의 안전성과 위생성이 강조되고 있으며 고품질 식품을 선호하는 경향이 증가되고 있다. 그러나 젓

Corresponding author : Chulkyoon Mok, Department of Food & Bioengineering, Kyungwon University, San 65, Bokjungdong Sujung-ku, Sungnam, Kyunggi-do, 461-701, Korea.
Tel : 82-342-750-5403
Fax : 82-342-750-5273
E-mail : mokck@mail.kyungwon.ac.kr

같은 제조시 어패육의 부패를 방지하기 위해 과량의 소금을 첨가하므로 염 함량이 지나치게 높아 건강상 문제점으로 대두되고 있다. 따라서 고염에 의해 야기 되는 성인병 예방을 위하여 식염함량을 낮추고 재래 식 젓갈에 비하여 풍미등 기호도면에서 손색이 없는 저식염 젓갈을 제조할 필요가 있다⁽⁴⁾. 그러나 저염 젓갈은 유해 세균의 발육에 의한 위해 가능성이 있으므로 젓갈에 존재하는 유해가능 세균의 사멸이 필요하다.

가장 일반적인 식품의 살균방법으로서 폭넓게 사용되고 있는 방법은 가열살균이나 열에 의한 영양성분의 손실은 물론 향, 맛, 조직감 변화 등을 야기하는 문제점을 갖고 있다. 또한 젓갈은 대개 조리하지 않고 식용하는 식품이므로 열에 의한 살균은 불가능하기 때문에 초고압 공정과 같은 비가열 살균기술⁽⁵⁾ 적용이 요구된다. 초고압공정은 미생물을 수백 기압 이상의 압력으로 가압한 후 대기압까지 급속히 감압하는 방법으로 감압 시 세포내 수분의 급속한 세포 외로의 방출에 의한 기능적 손실을 야기하여 미생물을 사멸시키며^(6,7) 미생물 사멸과 더불어 단백질의 변성 및 효소의 불활성화를 달성할 수 있는 공정이다⁽⁸⁾. 또한 고압 처리에 영향을 미치는 중요한 요인 중에서 압력, 온도, 처리용량, 시간 등은 미생물사멸 뿐만 아니라 생물활성 변화도 크게 좌우한다⁽⁹⁻¹³⁾.

본 연구는 저염발효 새우젓의 위생성 향상을 목적으로 비가열 살균방법인 초고압 공정을 이용하여 새우젓에 존재하는 유해가능 세균의 사멸패턴을 조사하고 저염발효 새우젓의 최적 초고압 살균조건을 확립하기 위하여 수행되었다.

재료 및 방법

새우

목포산 새우(*Acetes chinensis*)를 3% 식염수로 세척하고, 어체 중량의 3, 8, 18, 30%(w/w)수준으로 식염을 첨가하여 잘 혼합한 다음, 진공 포장하여 20°C에서 6주간 발효하였다.

초고압 처리

20°C에서 6주간 발효한 새우젓을 50g씩 플라스틱 파우치(Nylon+LLDPE)에 담아 진공 포장한 후 pressure medium으로 증류수가 채워진 초고압기(MFP-7000, Mitsubishi Heavy Industries Co., Japan)의 processing chamber(Fig. 1)에 넣고, 상온(17°C)에서 처리압력 및 처리시간을 각각 3,500, 4,500, 5,500, 6,500기압과 5, 10, 20, 30, 40분으로 달리하여 처리하였다.

Fig. 1. Schematic diagram of high pressure machine.

미생물수 측정

새우젓 20g과 멸균수 180 mL를 멸균백에 넣고 stomacher를 사용하여 60초간 균질화한 후 희석하여 각각의 배지에 분주하여 plate count method로 생균수의 변화를 조사하였다. 유해가능 세균은 각각의 선택 배지를 사용하여 검출하였다. TCBS agar(Difco Co.)에서 검출된 균을 *Vibrio* 선택배지 검출균으로, Baird parker agar base(Difco Co.)를 사용하여 검출된 균을 *Staphylococcus* 선택배지 검출균으로, Desoxycholate citrate agar(Difco Co.)에서 검출된 균을 *Salmonella* 선택배지 검출균으로 정의하였으며 각 균수의 측정은 2회 반복하였다.

D_p값 및 z_p값 측정

미생물수를 1/10로 감소시키는데 필요한 초고압 처리시간을 나타내는 D_p값은 일정압력에서 시간을 달리 하여 초고압 처리한 후 미생물의 생존율(survival rate; N/N₀)을 반대수그래프에 작도하여 얻어진 직선의 회귀 방정식의 기울기의 역수를 취하여 계산하였다. 또한 처리시간을 1/10로 단축시키는데 필요한 압력증가량을 나타내는 z_p값은 처리압력별 log(D_p)를 작도하여 얻어진 직선 회귀식의 기울기의 역수를 취하였다⁽¹⁴⁾.

결과 및 고찰

새우젓의 초기균수

염농도에 따른 새우젓의 초기균수를 보면 Table 1에

Table 1. Initial microbial counts of salted and fermented shrimp with respect to salt levels (unit : CFU/g)

Microorganism	Salt level (%)			
	3	8	18	30
Bacteria grown on <i>Salmonella</i> selective media	n.d.*	n.d.	n.d.	n.d.
Bacteria grown on <i>Vibrio</i> selective media	2.0×10^2	1.6×10^3	1.4×10^4	n.d.
Bacteria grown on <i>Staphylococcus</i> selective media	n.d.	9.3×10^3	1.7×10^5	5.0×10^2

*not detectable at 100× dilution.

Fig. 2. Effect of high pressure treatment on bacterial counts grown on *Vibrio* selective media of 3% salt fermented shrimp.

서 보는 바와 같이 *Salmonella* 선택배지 검출균은 모든 염농도에서 검출되지 않았으며 *Vibrio* 선택배지 검출균은 염농도 3%에서는 10^2 CFU/g, 8%에서는 10^3 CFU/g, 18%에서는 10^4 CFU/g 수준으로 검출되었고 30%에서는 검출되지 않았다. 또한 *Staphylococcus* 선택배지 검출균은 염농도 3%에서는 검출되지 않았고 8%에서는 10^3 CFU/g, 18%에서는 10^5 CFU/g, 30%에서는 10^2 CFU/g 수준으로 검출되어 염농도 18%에서 가장 많은 균이 존재하였다. 새우젓은 통상 염농도를 20% 내외로 하여 제조하는데 이 수준의 염농도에서 유해가능 세균의 발현은 최대를 보였으며 이는 목⁽¹⁵⁾ 등의 연구결과에서 나타난 바와 같이 염농도 18%에서는 전체적으로 많은 미생물수를 보이는 것과 일치된 결과로 생각된다. 따라서 새우젓 제조를 위한 염농도의 조절이 필요하며, 제조한 새우젓의 유해가능 세균의 살균이 필요한 것으로 사료된다.

유해가능 세균의 초고압 살균

Fig. 3. Effect of high pressure treatment on bacterial counts grown on *Vibrio* selective media of 8% salt fermented shrimp.

Fig. 4. Effect of high pressure treatment on bacterial counts grown on *Vibrio* selective media of 18% salt fermented shrimp.

새우젓의 안전성과 위생성 향상을 위하여 질병을 일으킬 수 있는 유해가능 세균의 살균이 필요한데 새우젓은 비가열 식용 식품이므로 가열살균은 적용이 불가능하므로 초고압 공정을 이용하여 이들 유해가능 세균의 사멸패턴을 조사하였다.

염농도 3%로 제조한 새우젓은 3,500기압 이상에서 5분 이상 처리하면 *Vibrio* 선택배지 검출균은 모두 10^2 CFU/g 수준에서는 검출되지 않았다(Fig. 2). 염농도 8%로 제조한 새우젓에서는 Fig. 3과 같이 처리압력과 시간이 증가할수록 균수는 감소하여 3,500기압과 4,500기압에서는 20분 이상, 5,500기압에서 10분 이상 처리하면 사멸시킬 수 있었으며 6,500기압에서는 5분간 처리로 사멸시킬 수 있었다.

반면에 염농도 18%로 제조한 새우젓은 Fig. 4에 나타난 바와 같이 3,500 및 4,500기압에서는 40분간 처리하여도 사멸되지 않고 $10^2 \sim 10^3$ CFU/g 수준으로 존재

Fig. 5. Effect of high pressure treatment on bacterial counts grown on *Staphylococcus* selective media of 8% salt fermented shrimp.

Fig. 6. Effect of high pressure treatment on bacterial counts grown on *Staphylococcus* selective media of 18% salt fermented shrimp.

하여 *Vibrio* 선택배지 검출균의 내압성을 보여주며 완전히 사멸시키기 위해서는 5,500기압에서는 30분 이상, 6,500기압에서 10분 이상의 초고압 처리가 필요한 것으로 나타났다.

Staphylococcus 선택배지 검출균은 염농도 3%로 제조한 새우젓에서는 발견되지 않았다. 염농도를 8%로 하여 제조한 새우젓에서는 처리 전에 9.3×10^3 CFU/g의 *Staphylococcus* 선택배지 검출균이 존재하였는데 Fig. 5에서 보는 바와 같이 3,500기압과 4,500기압에서는 40분간 처리해도 초기 균수와 큰 차이가 없이 10^3 CFU/g수준으로 존재하여 *Staphylococcus* 선택배지 검출균의 내압성이 확인되었으며, 5,500기압에서는 20분 이상, 6,500기압에서는 10분 이상 처리하면 10^2 CFU/g수준에서는 검출되지 않았다. 염농도 18% 새우젓에서도 마찬가지로 3,500기압과 4,500기압에서 40분간 처리했을 때에는 1 log cycle 수준의 감소를 보였고, 5,500기압에서 30분 이상, 6,500기압에서 10분 이상 처

Fig. 7. Effect of high pressure treatment on bacterial counts grown on *Staphylococcus* selective media of 30% salt fermented shrimp.

Fig. 8. Kinetics of hydrostatic pressure sterilization at 4,500 atm of *Vibrio* bacteria in salted and fermented shrimp.

리하면 10^2 CFU/g수준에서는 검출되지 않았다(Fig. 6). 염농도 30% 새우젓은 Fig. 7에서 보는 바와 같이 3,500기압 10분 이상, 또는 4,500기압 이상에서 5분 이상 처리하면 10^2 CFU/g수준에서는 검출되지 않았다.

이상의 결과는 *Vibrio* 선택배지 검출균과 같은 그래 음성 세균은 *Staphylococcus* 선택배지 검출균과 같은 그래 양성 세균이나 효모류 등에 비해 초고압 처리를 통해 더 많이 사멸된다는 기존의 보고^(16,17)와 같은 경향을 보여주고 있으며, 임⁽¹⁸⁾등이 고찰한 바와 같이 소금함량이 미생물의 내압성과 관련이 있음을 시사하고 있다.

D_{10} 값 및 z_p 값

염농도 3%와 30%에서는 초기균수가 낮았으며 초고압 처리시 낮은 압력에서도 단시간내에 사멸되어 염농도 8%와 18%의 새우젓을 사용하여 초고압처리에 의한 새우젓에 존재하는 유해가능 세균의 살균기작을 조사하였다. 초고압 처리에 따른 미생물 사멸은 Fig. 8

Table 2. D_p -value of salted and fermented shrimp with 8 and 18% salt (unit : min)

Microorganism	Salt level (%)	Pressure(atm)			
		3,500	4,500	5,500	6,500
Bacteria grown on <i>Vibrio</i> selective media	8	23.47	15.43	9.90	N/A*
	18	126.58	38.91	10.64	2.69
Bacteria grown on <i>Staphylococcus</i> selective media	8	370.37	63.69	21.60	9.03
	18	108.70	49.02	11.51	1.82

*Not applicable because sterilization was accomplished within 5 min.

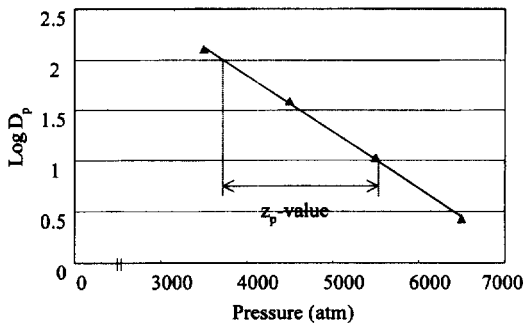


Fig. 9. Semilogarithmic plot of D_p versus hydrostatic pressure for *Vibrio* bacteria in salted and fermented shrimp.

에서 보는 바와 같이 1차 반응으로 해석할 수 있었으며, 미생물 생존율 회귀직선으로부터 미생물 수를 1/10로 감소시키는데 필요한 처리시간을 나타내는 D_p 값 (decimal reduction time)을 계산한 결과 Table 2과 같이 처리압력이 높아짐에 따라 D_p 값이 낮아졌다. *Vibrio* 선택배지 검출균은 염농도 8%에서보다 18%에서 높은 D_p 값을 보였으며 *Staphylococcus* 선택배지 검출균은 염농도 18%에서보다 8%에서 높은 D_p 값을 보여 압력에 대한 내성이 큰 것으로 나타났으나, 염농도 18%로 제조한 새우젓에서는 두 미생물의 D_p 값의 뚜렷한 차이는 없었다. 이는 염함량에 따라 발현하는 미생물의 종류가 다르기 때문으로 사료되며, 균의 동정 및 균종별 사멸패턴에 대한 후속 연구가 요구된다.

한편 압력에 대한 D_p 값의 변화를 보면 Fig. 9과 같이 대수관계를 보였으며 회귀방정식으로부터 압력이 초고압살균시간에 미치는 영향을 나타내는 지표인 z_p 값을 계산하여 Table 3에 나타내었다.

Vibrio 선택배지 검출균은 염농도 18%에서 보다 8%에서 높은 z_p 값을 보여 압력에 대해 영향을 덜 받는 것으로 나타났으며 *Staphylococcus* 선택배지 검출균은

Table 3. z_p -value of salted and fermented shrimp with 8 and 18% salt

Microorganism	Salt level(%)	z_p -value(atm)
Bacteria grown on <i>Vibrio</i> selective media	8	2,320
	18	1,790
Bacteria grown on <i>Staphylococcus</i> selective media	8	1,880
	18	1,680

염농도 8%와 18%에서 비슷한 z_p 값을 보였다. 염농도 18%인 새우젓에서는 *Staphylococcus* 선택배지 검출균이 *Vibrio* 선택배지 검출균에 비하여 낮은 z_p 값을 보여 압력에 대하여 영향을 많이 받음을 알 수 있었다. 이는 염농도에 따라 고압에 대한 민감성이 달라짐을 의미하며 이에 관한 면밀한 검토가 이루어져야 할 것으로 생각된다.

이상의 결과를 토대로 초고압 살균공정은 새우젓의 유효기능 세균에 적용할 수 있는 살균방법으로 매우 효과적이며, 새우젓의 위생성과 저장성을 향상시킬 수 있음을 확인하였다. 최적 초고압살균 조건은 3~5 log cycle의 감소효과를 나타내어 유효기능 세균의 살균에 충분한 압력으로 확인된 6,500기압, 10분 처리하는 것이었다.

요 약

열처리에 의한 식품의 성분변화 손실을 줄이기 위한 비열처리 기술중 하나로 새롭게 주목받고 있는 초고압 처리를 적용하여 저염발효 새우젓의 저장성을 증진시키고자 하였다. 염농도 8%로 20°C에서 6주간 발효한 새우젓의 *Vibrio* 선택배지 검출균은 1.6×10^3 CFU/g, *Staphylococcus* 선택배지 검출균은 9.3×10^3 CFU/g이었고 18%의 새우젓에서의 *Vibrio* 선택배지 검출균은 1.4×10^4 CFU/g, *Staphylococcus* 선택배지 검출균은 1.7×10^5 CFU/g이었다. 새우젓을 압력 3,500~6,500기압, 시간 5~40분의 범위로 초고압 살균하였을 때 압력과 처리시간이 증가할수록 살균효과가 증가되었으며 사멸패턴은 1차반응으로 확인되었다. 압력을 6,500기압으로 고정하고 10분 동안 처리하였을 때 유효기능 세균은 본 연구방법의 검출한계인 10^2 CFU/g 수준에서는 검출되지 않았다. *Vibrio* 선택배지 검출균의 D_p 값은 염농도 8%보다 18%에서 더 높았으며 *Staphylococcus* 선택배지 검출균은 18%보다 8%에서 더 높은 값을 보였다. *Vibrio* 선택배지 검출균과 *Staphylococcus* 선택배지 검출균 모두 염농도 8%에서의 z_p 값이

염농도 18% 경우보다 높은 값을 보였다. 초고압 공정은 저염발효 새우젓의 살균에 응용될 수 있었으며 최적 고압살균조건은 6,500기압에서 10분간 처리하는 것이었다.

감사의 글

본 연구는 1998년도 한국과학재단 특정과제(98-0402-01-01-3) 연구비의 지원에 의하여 수행된 연구과제의 일부로서 지원에 감사드립니다. 또한 초고압설비 사용에 협조해 주신 (주)풀무원 기술연구소 생물공학팀에 감사드립니다.

문헌

1. Kim, Y.M. Production technology and quality control of fermented sea-foods. *Bulletin of Food Technology* 9: 65-86 (1996)
2. Kim, B.M. and Lee, S.G. Manufacture technology of salted and fermented products. pp. 254-257. In: *Sea-food Processing*. Jinroyungusa Co., Seoul, Korea (1995)
3. Yu, T.J., Lee, S.G. and Kim, D.J. Processing of sea-foods. pp. 302-303. In: *Food Processing*. Moonwundang Co., Seoul, Korea (1990)
4. Oh, S.W., Lee, N.H., Kim, Y.M., Nam, E.J. and Jo, J.H. Salt penetration properties of anchovy (*Engraulis japonica*) muscle immersed in brine. *Korean J. Food Sci. Technol.* 29: 1196-1201 (1997)
5. Mertens, B. and Knorr, D. Developments of nonthermal process for food preservation. *Food Technol.* 46: 124 (1992)
6. Hoover, D.G., Metrick, C., Papneau, A.M., Farkas, D.F. and Knorr, D. Biological effects of high hydrostatic pressure on food microorganisms. *Food Technol.* 43: 99 (1989)
7. Metrick, C., Hoover, D.G. and Forkas, D.F. Effect of high hydrostatic pressure on heat-resistant and heat-sensitive of *Salmonella*. *J. Food Sci.* 54: 1547 (1989)

8. Morild, E. The theory of pressure effects on enzyme. *Adv. Protein Chem.* 34: 93 (1981)
9. Lin, H.M., Yang, Z. and Chen, L.F. Inactivation of *Leuconostoc dextranicum* with carbon dioxide under pressure. *Chemical Engineering Journal* 52: B29 (1993)
10. 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: 681-685 (1997)
11. Hong, S.I., Park, W.S. and Pyun, Y.R. Effect of high pressure carbon dioxide on inactivation of *Leuconostoc* sp. *Korean J. Food Sci. Technol.* 29: 1202-1207 (1997)
12. Barbosa-Canovas, G. V., Pothakamury, U.R., Palou, E. and Swanson, B. G. High hydrostatic pressure food processing, pp. 9-52. In: *Nonthermal Preservation of Foods*. Marcel Dekker Inc, New York, USA (1998)
13. Mertens, B. Hydrostatic pressure treatment of food, pp. 135-158. In: *New Methods of Food Preservation*. Gould, G.W. (eds.). Chapman & Hall Co., London, England (1995)
14. Sohn, K.H., Chang, C.K., Kong, U.Y. and Lee, H.J. High pressure inactivation of *Candida tropicalis* and its effects on ultrastructure of the cells. *Korean J. Food Sci. Technol.* 28: 587-592 (1996)
15. Mok, C., Song, K.T., Lee, S. K., Park, J.H, Woo, G.J. and Lim, S. Microbial changes of salted and fermented shrimp by high hydrostatic pressure treatment. *Korean J. Food Sci. Technol.* (in press)
16. Lee, D.U., Park, J.Y., Kang, J.I. and Yeo, I.H. Effect of high hydrostatic pressure on the shelf-life and sensory characteristics of *Angelica keiskei* juice. *Korean J. Food Sci. Technol.* 28: 105-108 (1996)
17. Styles, M.F., Hoover, D.G. and Farkas, D.F. Response of *Listeria monocytogenes* and *Vibrio parahaemolyticus* to high hydrostatic pressure. *J. Food. Sci.* 56: 1404 (1991)
18. Lim, S., Yang, M.S., Kim, S.H., Mok, C. and Woo, G.J. Changes in quality of low salt fermented anchovy by high hydrostatic pressure treatment. *Korean J. Food Sci. Technol.* 32: 111-116 (2000)

(1999년 11월 10일 접수)