

## 加工食品의 耐熱性腐敗菌 分布 調査研究

(第1報) 地域別 芽胞形成菌 調査

具英祖·申東禾·金正玉·閔丙善

(農漁村開發公社 食品研究所)

(1978년 4월 6일 수리)

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

Part 1. Survey on regional distribution of spore forming bacteria

by

Koo Young-Jo, Shin Dong-Hwa, Kim Choung-Ok, Min Byoung-Yong

Food Research Institute

Agriculture and Fishery Development Corporation, Seoul

(Received April 6, 1978)

### Summary

Heat resistant putrefactive microorganisms causing spoilage of canned and processed foods were surveyed in the compost on mushroom growing bed, casing soil, raw mushrooms and canned products before sterilization at canneries located at 8 places including Buyo in Chung-Cheung-Do and monitored the total count and spore formers from the sample taken.

The 9 strains of most severe heat resistant among the selected 140 spore formers were selected and determined D and Z value by TDT method.

The most strong heat resistant strain was No. F-10, facultative thermophile, which was isolated from raw mushroom in Buyo area and it's Z value was 21.1°F (M/15 phosphate buffer solution) and  $D^{250}$  was 6.6 min.

### I. 緒論

통조림제조 등 加熱保存食品에서 耐熱性腐敗細菌의 汚染으로 因하여 品質의 變化 및 食中毒을 이르키는 등 商品價值의 下落 및 衰失을 招來하게 된다.

따라서 腐敗細菌의 分離 및 热抵抗性이 일찍부터 연구되어 細菌胞子의 耐熱性과 pH에 대해서 Bigelow (1920)<sup>(1)</sup>, *B. botulinus*의 热抵抗性에 대하여 Weiss (1921)<sup>(2)</sup>, flatsour균의 간이 검출법은 Williams(1936)<sup>(3)</sup>, *Cl. botulinus* 아포의 검출법에 대하여 Anderson (1951)<sup>(4)</sup>, 식품중의 협기성균 혹은 Clostridium속균 검

출법에 대하여 Mossel (1956)<sup>(5)</sup>, 과 Wheaton(1961)<sup>(6)</sup>, 아스파라가스 원료중 热抵抗性菌의 동향에 대하여 Mercer(1960)<sup>(7)</sup>, 등에 의하여 腐敗菌의 热抵抗程度와 加熱條件이決定되었으며, 이들보다 열저항성이 높다는 호열성 토양균에 관한 연구로는 토양중 호기성 호열성 芽胞의 지역별, 토양성분별 수량적 분포에 대하여 Fields(1972)<sup>(8)</sup>, 土壤試料를 직접 사용하여 토양균의 종식 및 열저항정도를 D-value로 나타낸 Fields(1974)<sup>(9)</sup>, 토양중 중온성 협기성균, 통기성균 및 *Cl. botulinus*, *Cl. tetani*분포에 대하여 Smith(1975)<sup>(10)</sup>, 공기중의 热抵抗芽胞菌의 수집방법 및 이의 열저항에 대하여 Puleo (1975)<sup>(11)</sup>등의 여러 報告가 있다.

우리나라에 있어서 食品腐敗性細菌의 연구는 1963년 초반부터 시작하여 주로 통조림 살균조건 결정에 집중되었고 외국에서 설정한 Z-value를 도입하였다. 張建型(1963)<sup>(12)</sup> 등은 *Clostridium butyricum*을 기준균으로 생선통조림의 살균조건을, 崔英洛(1964)<sup>(13)</sup> 등은 *Bacillus subtilis* 등 특정균의 F 및 Z value를 산정하였으며, 李啓湖(1965)<sup>(14,15)</sup> 등이 토양 및 부폐통조림에서 부폐세균을 분리, 열저항성을 시험하여 *Bacillus subtilis* 및 *Clostridium botulinum* Type E가 열저항성이 있는 균으로 보고하였다.

이와 같이 몇 가지 報告밖에 없는 實情이며 加熱殺菌에 있어서 溫度의 高低와 時間의 長短이 食品의 品質에 大影響을 줌으로 우리나라 여전에서 食品原料가 製培되는 地域의 土壤 및 加工工程中에서 耐熱性腐敗菌을 分離 이들의 數量的 分布와 热抵抗程度를 究明하여 加工工程上에서 發生하는 耐熱菌의 消長에 관한 實際의 研究를 實施하여 통조림 및 高溫殺菌處理食品의 處理基準을 設定하고 加工工程上의 理想의 措置方案等 殺菌條件決定에 科學의 根據를 提示하며 앞으로 新製品開發에 基礎資料를 提供코자 地域別 洋松茸 통조림 製造工場의 原料洋松茸, 堆肥, 覆土 및 殺菌前製品에 對한 細菌의 消長에 對하여 調査하고 耐熱性芽胞形成菌을 分離, 이들에서 耐熱性이 強한 菌을 選拔하여 热抵抗程度를 究明하여 報告한다.

## II. 試驗材料 및 方法

### 1. 試驗材料

(1) 洋松茸 堆肥 : 洋松茸栽培舍 菌床 10군데에서 採取 混合하여 使用하였다.

(2) 覆土 : 洋松茸栽培床 覆土 10군데에서 100g 정도 씩 採取, 混合하여 使用하였다.

(3) 栽培床의 洋松茸 : 栽培床 3곳에서 無作為로 採取하여 使用하였다.

(4) 原料洋松茸 : 加工工場에 撈入되는 洋松茸를 無作為로 採取하여 使用하였다.

(5) 殺菌前 洋松茸통조림 : 當日 撈入 原料로 加工한 통조림과 前日 撈入하여 水浸移越 保藏시킨 原料로 加工한 것을 區分하여 각 2岳 씩 供試하였다.

### 2. 試驗方法

#### (1) 試液調製

稀釋方法<sup>(10)</sup> 堆肥, 覆土 및 洋松茸는 50g을 取하여 滅菌된 0.1% pepton液 450ml로稀釋, 3分鐘 振盪하여 이液을 試液으로 하였으며 통조림의 境遇는 液汁을 바로 供試하였다.

Spore former의 試液處理<sup>(8,16)</sup> Mesophilic spore formers와 Clostridium屬은 10倍로 稀釋된 試液을 100 ml screw cap bottle에 取하여 80°C에서 14分(定溫到達時間 8分包含)處理하여 生長細胞를 죽여 供試하였고 Thermophilic spore formers는 100°C에서 38分(定溫到達時間 8分包含) 處理, 急冷하여 供試하였다.

#### (2) 接種方法

Total count, aerobic and anaerobic mesophiles 및 aerobic thermophiles는 한 稀釋培數에 2個의 Petri dish에 pour plate method<sup>(9)</sup>로, Clostridium屬은 稀釋된 試液 1ml를 타원형관(Miller-Prikett oval cross section tube)<sup>(6)</sup>에 넣고 殺菌冷却된 培地 15ml 정도를 혼들지 않고 조용히 tube 가득히 넣어 凝固시켰다.

#### (3) 培養方法

##### 培地

- ① Total count(aerobes and anaerobes) : Brain Heart infusion ager(Difco)
- ② Aerobic mesophiles : Plate count agar (Oxoid社 製品)
- ③ Anaerobic mesophiles : Reinforced clostralidial medium (Oxoid社 製品)
- ④ Aerobic thermophiles : Dextrose tryptone agar<sup>(8)</sup> (Bromcresol purple 0.04g/l첨가)
- ⑤ Anaerobic thermophiles : Liver Broth<sup>(9)</sup>

##### ⑥ Clostridium屬<sup>(6)</sup> :

⑦ 基礎培地	Distilled water	1l
	Tryptone(Difco)	15g
	Yeast extract(Difco)	10g
	Bacto agar	15g
	pH (0.1 N NaOH)	7.0±1
⑧ Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (1급시약)	10g	
Distilled water		100ml
⑨ Iron citrate		5g
Distilled water		100ml
⑩ 120°C, 20分 殺菌한 基礎培地 100ml에 millipore filter로 無菌濾過한 ⑧⑨液 각 1ml씩을 混合한 後 이 培地에서 黑斑點을 나타내는 colony를 Clostridium屬으로 推定하였다.		

##### 培養溫度 및 時間

Total count 및 mesophiles : 35°C, 24~48時間

Aerobic thermophiles : 65°C, 24~48時間

Anaerobic thermophiles : 65°C, 72~96時間

Clostridium屬 : 35°C, 5~10日間

培養狀態 : Aerobic condition은 接種된 Plate를 그대로 培養器에서 培養하였으며 Anaerobic condition은

catalyst가 들어있는 anaerobic jar(Baird and Tatlock Ltd)에 넣고 75cm정도의 진공으로 하고 수소 gas를 3回反復置換하여 密封, 氧氣性 狀態를 維持하였다.

#### (4) 耐熱性細菌의 分離 및 選別

釣菌 墓純分離保管 : 菌數測定時 한 Sample에서 各處理別로 菌數量 세고 난 各 plate에서 形態學의 으로 差異가 나는 獨立 colony 2~3個씩을 各 plate에서 釣菌하여 Aerobes는 plate count agar slant에 Anaerobes는 R.C.M slant에 純粹分離培養하여 4°C 冷藏庫에 保管, 다음 試驗에 供하였다.

耐熱性細菌 選別 : 保管中인 純粹分離菌을 保管培地 slant에서 2~3週間 充分히 sporulation하여 여기에 5ml의 殺菌된 neutral phosphate buffer solution을 注加하여 suspension을 만들어 1 tube에 2개씩 TDT tube(外徑 7mm, 길이 100mm)에 1ml씩 取하여 105°C 110°C, 115°C에서 5分間 热處理하여 選拔하였다.

#### (5) 耐熱性 芽胞形成菌의 热抵抗性試驗

Sporulation: Aerobic mesophiles와 aerobic thermophiles는 Plate count agar slant에서 2週間 培養, sporulation시켰으며 Anaerobic mesophiles<sup>(17)(18)</sup>는 tube slant에 接種하여 35°C anaerobic jar에서 3週間 培養하여 sporulation시켰으며 使用培地 組成은 다음과 같다.

##### ① Soybean-casein Digest Agar Medium

(General Biochem, Co.) 4%

Meat extract (Difco.) 1%

##### ② Brain heart in fusion (Difco) 0.45%

$\text{Na}_2\text{HPO}_4$  50ppm

Bacto agar 1.5%

spore suspension의 調製<sup>(19)</sup> : 充分히 sporulation시켜 保管中인 slant를 M/15 phosphate buffer solution

으로 洗滌, 이 液을 glass wool로 濾過하고 3,000 r.p.m으로 5分間 遠心分離하여 上液을 버리고 M/15 phosphate buffer solution으로 3回反復 洗滌하고 芽胞濃度가  $10^6 \sim 10^7/\text{ml}$ 되게 懸吊시켜 screw cap bottle에 넣어 4°C冷藏庫에 貯藏하였다.

保管中인 spore suspension을 TDT tube(外徑 7mm, 길이 100mm)에 1ml씩 分注하여 即時 propane gas burner flame上에서 完全히 密封, 供試하였다.

熱抵抗性 試驗<sup>(20)</sup> : 密封하여 保管中인 spore suspension tube를 oil bath(Sam Ik Science Co.)上에서 各溫度別로 一定時間 热處理한 후 急冷시켜 0.1% peptone液으로 稀釋, 準備된 回復培地의 petri dish에 pour plate method로 接種, 培養, 生存菌數로 溫度別 D-value를 測定하였으며 各溫度別 D-value로 semi log paper에 plot하여 Z value를 求하였다.

回復培地는 Aerobic mesophile, aerobic thermophile은 Plate count agar (Oxoid)에 0.1% Yeast extract (Difco)를 添加하여 使用하였고 anaerobic mesophile은 R.C.M(Oxoid)을 使用하였다.

## III. 試驗結果 및 考察

### 1. 地域別 洋松茸 載培床 堆肥의 細菌數

原料 洋松茸에 附着될 수 있는 廉敗性 細菌 汚染原의 하나인 載培床 堆肥를 地域別로 採取, 細菌의 數量的 分布를 調査한 結果는 Table 1. 과 같다.

Table 1.에서 보는 바와 같이 total aerobes는  $6.1 \times 10^7 \sim 1.5 \times 10^8$ (平均  $3.8 \times 10^8$ ), total anaerobes는  $1.6 \times 10^6 \sim 3.3 \times 10^8$ (平均  $8.8 \times 10^7$ ), Aerobic mesophiles는  $3.9 \times 10^6 \sim 6.9 \times 10^7$ (平均  $3.0 \times 10^7$ ), Anaerobic mesop-

Table 1. Bacterial count of the compost on mushroom growing bed by regional groups

Classification		Total count		Mesophiles			Thermophiles	
		aerobes	anaerobes	aerobes	anaerobes	clostridium	aerobes	anaerobes
Chung Cheong Do	Buyo ①	$6.2 \times 10^7$	$2.9 \times 10^7$	$4.2 \times 10^7$	$6.7 \times 10^6$	$0.3 \times 10^1$	$1.9 \times 10^6$	$1.6 \times 10^3$
	Buyo ②	$8.1 \times 10^7$	$7.7 \times 10^6$	$6.4 \times 10^7$	$1.9 \times 10^5$	$<10^1$	$5.2 \times 10^6$	$1.7 \times 10^3$
Chun Ra Do	Kimje	$6.1 \times 10^7$	$1.6 \times 10^6$	$3.9 \times 10^6$	$2.5 \times 10^5$	$<10^1$	—	$1.5 \times 10^3$
	Cheongup	$5.0 \times 10^8$	$3.2 \times 10^7$	$1.5 \times 10^7$	$1.0 \times 10^6$	$<10^1$	—	$2.1 \times 10^4$
	Suncheon	$2.3 \times 10^8$	$3.5 \times 10^7$	$1.8 \times 10^7$	$2.4 \times 10^8$	$<10^1$	$2.4 \times 10^5$	$2.1 \times 10^3$
Kyeung Sang Do	Chinyang ②	$4.9 \times 10^8$	$3.3 \times 10^8$	$6.9 \times 10^7$	$6.3 \times 10^4$	$<10^1$	$3.0 \times 10^4$	$3.6 \times 10^3$
	Chinyang ④	$1.6 \times 10^6$	$2.1 \times 10^6$	$6.6 \times 10^6$	$4.3 \times 10^6$	$<10^1$	$2.3 \times 10^5$	$4.4 \times 10^3$
	Eulju	$1.5 \times 10^6$	$5.8 \times 10^7$	$2.9 \times 10^7$	$2.7 \times 10^6$	$<10^1$	$3.2 \times 10^4$	$7.5 \times 10^3$
Standard deviation		$4.8 \times 10^8$	$1.2 \times 10^8$	$2.5 \times 10^7$	$2.4 \times 10^6$			$6.6 \times 10^3$

\* Number of bacteria/1g of samples

Table 2. Bacterial count of casing soil on mushroom growing bed by regional groups.

Classification		Total count		Mesophiles			Thermophiles	
		aerobes	anaerobes	aerobes	anaerobes	clostridium	aerobes	anaerobes
Chung Cheong Do	Buyo	$5.1 \times 10^7$	$2.5 \times 10^6$	$1.8 \times 10^6$	$3.2 \times 10^4$	<10 <sup>1</sup>	$1.9 \times 10^6$	$2.3 \times 10^2$
Chun Ra Do	Kimje	$4.5 \times 10^6$	<10 <sup>1</sup>	$1.2 \times 10^6$	$8.3 \times 10^3$	$3.3 \times 10^1$	$2.1 \times 10^2$	$1.5 \times 10^3$
	Cheongup	$4.7 \times 10^6$	<10 <sup>1</sup>	$1.8 \times 10^6$	$8.1 \times 10^3$	<10 <sup>1</sup>	$6.8 \times 10^3$	$4.4 \times 10^2$
	Suncheon	$3.3 \times 10^6$	$5.5 \times 10^7$	$3.9 \times 10^4$	$1.0 \times 10^2$	<10 <sup>1</sup>	$3.6 \times 10^6$	$2.9 \times 10^3$
Kyeung Sang Do	Chinyang	$8.1 \times 10^7$	$8.1 \times 10^6$	$7.3 \times 10^6$	$6.3 \times 10^3$	$3.3 \times 10^0$	$1.4 \times 10^6$	—
	Eulju	$1.2 \times 10^8$	$9.9 \times 10^6$	$5.5 \times 10^6$	$3.8 \times 10^6$	<10 <sup>1</sup>	$2.7 \times 10^4$	$1.1 \times 10^4$
Standard deviation		$1.2 \times 10^6$		$3.2 \times 10^6$	$1.5 \times 10^5$		$8.3 \times 10^5$	

※ Number of bacteria/1g of samples

hiles는  $2.4 \times 10^3 \sim 6.7 \times 10^6$ (평균  $1.3 \times 10^6$ ), aerobic thermophiles는  $3.0 \times 10^4 \sim 5.2 \times 10^6$ (평균  $1.2 \times 10^6$ ), anaerobic thermophiles는  $1.5 \times 10^3 \sim 2.1 \times 10^4$ (평균  $5.4 \times 10^3$ )이고 Clostridium屬은 忠淸道( $0.3 \times 10^1/g$ )이외 地域에서는 10倍稀釋試液에서 檢出되지 않았으며 Total count는 慶尙道>全羅道>忠淸道 順이었으나 Mesophile 및 Thermophile spore formers는 地域別로 別差異가 없었다.

## 2. 地域別 洋松茸菌床覆土 細菌數

原料洋松茸의 腐敗性細菌 汚染原의 하나인 洋松茸菌床覆土를 地域別로 採取, 細菌의 數量的 分布를 調査한 結果는 Table 2. 와 같다.

Table 2.에서 보는 바와 같이 Total count, mesophile 및 thermophile은 地域別로 別差異가 없었으며 Clostridium屬은 10倍稀釋試液에서 忠淸道地域은 檢出되지 않았으나 全羅道, 慶尙道地域에서는 檢出되었다.

一般細菌 總菌數는 洪淳佑(1974)<sup>(21)</sup>등이 調査한 우리나라 全國土壤의 平均細菌數  $9.5 \times 10^5/g$  및 陸昌洙(1968)<sup>(22)</sup>가 調査한 忠北大 근처 田畠土壤의 平均細菌數  $1.6 \times 10^6/g$ 보다 많은 경향이 있다.

Aerobic mesophiles는 Smith(1975)<sup>(10)</sup>가 調査한 美國의 Virginia의 作物栽培地 土壤의 平均細菌數  $9.0 \times 10^6/g$ 과 거의 비슷하였으며 Anaerobic mesophiles는 Smith(1975)가 調査한 美國 몇개 주의 作物栽培地 土壤의 平均細菌數  $2.57 \times 10^6/g$ 보다 적은 경향이 있다.

Aerobic thermophiles는 Fields(1972)<sup>(8)</sup>가 調査한 美國 California의 asparagus 栽培地 土壤의 平均細菌數  $6.0 \times 10^4/g$ 과 거의 비슷하였으며 Fields(1974)<sup>(9)</sup>등이 調査한 美國內 10개 주의 一般土壤의 平均  $1.6 \times 10^6/g$ 보다 많은 경향이 있다.

Anaerobic thermophiles는 Fields(1974)등이 調査한 美國의 9개 주 一般土壤의 平均  $123/100g$ 보다 많은 경향

Table 3. Bacterial count of raw mushroom by regional groups.

Classification		Total count		Mesophiles			Thermophiles	
		aerobes	anaerobes	aerobes	anaerobes	clostridium	aerobes	anaerobes
Chung Cheung Do	Buyo ①	$6.2 \times 10^6$	$6.9 \times 10^4$	$2.1 \times 10^6$	$3.2 \times 10^2$	$3.3 \times 10^0$	$6.0 \times 10^3$	$1.5 \times 10^2$
	Buyo ②	$2.8 \times 10^7$	$1.0 \times 10^6$	$1.5 \times 10^6$	$7 \times 10^1$	<10 <sup>1</sup>	$4.3 \times 10^3$	$1.1 \times 10^1$
	Buyo ③	$2.2 \times 10^6$	$4.1 \times 10^6$	$2.6 \times 10^3$	$4.0 \times 10^2$	$1.0 \times 10^1$	$1. \times 10^4$	$1.5 \times 10^2$
	Buyo ④	$5.1 \times 10^6$	$4.1 \times 10^4$	$4.1 \times 10^3$	$2.1 \times 10^2$	$1.0 \times 10^1$	$9 \times 10^1$	$1.5 \times 10^2$
	Buyo ⑤	$6.6 \times 10^6$	$2.3 \times 10^4$	$1.7 \times 10^3$	$1.6 \times 10^2$	$5 \times 10^0$	$4.7 \times 10^1$	$1.4 \times 10^1$
Chun Ra Do	Kimje	$2.3 \times 10^6$	$2.6 \times 10^8$	$3.1 \times 10^5$	<10 <sup>3</sup>	$3.3 \times 10^0$	$5 \times 10^2$	—
	Cheongup	$9.8 \times 10^6$	$1.3 \times 10^6$	>10 <sup>9</sup>	<10 <sup>3</sup>	$3.3 \times 10^0$	<10 <sup>2</sup>	—
Kyeung Sang Do	Chinyang	$6.2 \times 10^6$	$4.8 \times 10^6$	$3.4 \times 10^3$	<10 <sup>1</sup>	<10 <sup>1</sup>	$2.7 \times 10^6$	—
	Eulju	$1.3 \times 10^7$	$6.0 \times 10^5$	$6 \times 10^1$	<10 <sup>1</sup>	<10 <sup>1</sup>	$3 \times 10^1$	$1.5 \times 10^1$
Standard deviation		$3.3 \times 10^6$	$4.3 \times 10^8$	..	..	..	..	..

※ Number of bacteria/1g of samples

이었다.

### 3. 地域別 原料洋松茸 細菌數

原料洋松茸를 地域別로 採取, 細菌의 數量的 分布를 調査한 結果는 Table 3. 과 같다.

Table 3.에서 보는 바와 같이 aerobes는  $2.2 \times 10^6 \sim 9.8 \times 10^9$ (平均  $1.3 \times 10^9$ ), anaerobes는  $2.3 \times 10^4 \sim 1.3 \times 10^9$ (平均  $1.7 \times 10^8$ ), aerobic mesophiles는  $1.5 \times 10^3 \sim >10^0$ (平均  $4.0 \times 10^4$ ), anaerobic mesophiles는  $<10^1 \sim 3.2 \times 10^2$ (平均  $2.3 \times 10^2$ ), aerobic thermophiles는  $9 \times 10^1 \sim 1.5 \times 10^4$ (平均  $3.5 \times 10^3$ ), anaerobic thermophiles는  $1.1 \times 10^1 \sim 1.5 \times 10^2$ (平均  $8.1 \times 10^1$ )이었다.

Total count와 aerobic mesophiles는 忠淸道보다 慶尙道, 全羅道地域에서 많이 나타났으나 그 외에는 地域別로 別差異를 볼 수 없었다. *Clostridium*屬은 10倍稀釋試液에서 慶尙道에서는 檢出되지 않았으며 忠淸道와 全羅道에서는 檢出되었다.

### 4. 洋松茸 加工工程中 細菌數 變化

忠淸南道 扶餘地域의 農開公 扶餘事業所에 對한 洋松茸 加工工程中 細菌數 變化를 汚染原別로 試驗한 結果는 Table 4. 과 같다.

Table 4.에서 보는 바와 같이 原料洋松茸의 一般細菌

Table 4. Bacterial count of each steps of mushroom processing line from raw mushroom to end products.

Classification	Total count		Mesophiles			Thermophiles	
	aerobes	anaerobes	aerobes	anaerobes	<i>Clostridium</i>	aerobes	anaerobes
The compost after pasteurization	$6.2 \times 10^7$	$2.9 \times 10^7$	$4.2 \times 10^7$	$9.4 \times 10^6$	$3 \times 10^1$	$1.8 \times 10^6$	$1.6 \times 10^8$
The compost after spawning	$8.1 \times 10^7$	$7.7 \times 10^6$	$8.7 \times 10^7$	$1.9 \times 10^6$	$<10^1$	$5.2 \times 10^6$	$1.7 \times 10^8$
Casing soil	$5.1 \times 10^7$	$2.5 \times 10^6$	$1.8 \times 10^6$	$3.2 \times 10^4$	$<10^1$	$1.9 \times 10^6$	$2.3 \times 10^1$
Raw mushroom	$8.4 \times 10^6$	$1.3 \times 10^5$	$2.4 \times 10^6$	$2.3 \times 10^2$	$5.6 \times 10^0$	$5.0 \times 10^6$	$9.5 \times 10^1$
Syrup before filling	$4 \times 10^0$	neg	$0.5 \times 10^0$	neg.	$<10^1$	$0.2 \times 10^0$	neg
Before sterilization of can	$2.6 \times 10^6$	$4.4 \times 10^6$	$7.3 \times 10^1$	$2.4 \times 10^1$	$<10^1$	$5.4 \times 10^1$	$6.5 \times 10^1$

※ Number of bacteria/1g or 1ml of samples

Table 5. Comparison of the bacterial count in can just before sterilization at buyo factory.

Classification	Raw material		Can, filled with the mushroom at same day	Can, filled with the mushroom over night
	aerobes	anaerobes		
Total count	aerobes	anaerobes	$2.85 \times 10^5$ a	$4.9 \times 10^6$ b
			$2.16 \times 10^5$ a	$8.63 \times 10^6$ b
Mesophiles	aerobes	anaerobes	$1.11 \times 10^2$ a	$3.4 \times 10^1$ c
			$2.0 \times 10^1$ a	$2.9 \times 10^1$ a
Thermophiles	aerobes	anaerobes	$5.27 \times 10^1$ a	$5.63 \times 10^1$ a
			$1.1 \times 10^0$ a	$1.2 \times 10^1$ b

a. Average of 3 replications. Averages followed by same letter are not significantly different at the 5% level of probability.

汚染은 堆肥와 覆土에 比하여 많이 減少한 것을 볼 수 있으며 製品으로 통조림된 것의 殺菌前 Total count가 原料洋松茸과 비슷하게 나타난 것은 加工工程中 많은 細菌의 增殖 및 汚染이 있는 것으로 思料되며 mesophiles 및 thermophiles의 spore count는 原料洋松茸보다 상당히 減少하였다.

### 5. 原料洋松茸 移越保藏에 따른 殺菌前 洋松茸를 조립 製品의 細菌數 比較

扶餘地域의 農開公 扶餘事業所에 對하여 當日搬入原料洋松茸를 加工하였을 때와 하루 保藏한原料로 加工하였을 때를 區分하여 殺菌前 통조림 製品을 採取, 이들에 對하여 細菌 汚染度를 比較 試驗한 結果는 Table 5. 과 같다.

Table 5.에서 보는 바와 같이 原料洋松茸를 加工工場에 搬入後 하루 保藏시켰을 때에 當日搬入原料를 加工하였을 때보다 Total count에서 有意의으로 많은 汚染度를 나타냈으며 통조림 腐敗의 主原因인 anaerobic spore formers에서 mesophiles는 別差異가 없었으나 thermophiles는 有意의 差異를 보였다. 加工前에 洋松茸를 長時間 保藏하는 것은 細菌의 增殖 및 汚染이 될 수 있는 더 많은 條件을 주는 結果가 된다고 볼 수

있다.

#### 6. 耐熱性 芽胞形成菌의 热抵抗性

一般芽胞形成菌數 測定時 140菌株를 分離保管하였으며 이 중에서 耐熱성이 強한 9菌株를 選拔하여 热抵抗性을 試験한 結果는 Table 6, 7, 8. 과 같다.

Table 6. 에서 보는 바와 같이 가장 耐熱성이 強한 mesophilic spore former A-47(扶餘地方, 煮熟後 하루 移越保藏한 原料로 加工한 殺菌前 洋松茸통조림에서 分離)은 Esty. J. R (1922)<sup>(23)</sup> 등이 試験한 Cl. botulinum ( $Z=18$ ,  $F=2.78$ )보다 Z value는 크나  $D_{250}$ 이 작게 나타났다.

Table 7에서 보는 바와 같이 anaerobic mesophile D-23, D-29(扶餘地方 農家栽培洋松茸에서 分離)은 Cl. botulinum의 Z value와 比較하여 큰 값이나  $D_{250}$ 은 Cl. botulinum의 2.78보다 크게 낮은 값이다.

Table 8. 및 Fig 1,2에서 보는 바와 같이 가장 耐熱性이 強한 thermophilic sporeformer F-10(扶餘地方 直營菌床에서 採取한 原料洋松茸에서 分離)은 Cl. botulinum의 Z value와  $D_{250}$ 이 2.78보다 크게 낮은 값이다.

Table 6. Thermal resistance of aerobic mesophiles

Strain	D value			Z value	$D_{250}$
	109°C	111°C	115°C		
A-15	min 5.3	min 3.7	min 1.4	°F 19.6	min 0.38
A-37	2.25	1.0	—	11.4	—
A-47	7.2	5.4	2.05	20.0	0.62

Table 7. Thermal resistance of anaerobic mesophiles

Strain	D value			Z value	$D_{250}$
	100°C	104.5°C	107°C		
D-23	min 3.6	min 3.2	min 2.3	°F 57.0	min 0.9
D-29	6.0	4.9	3.9	68.5	1.75

Table 8. Thermal resistance of aerobic thermophiles

Strain	D value			Z value	$D_{250}$
	115°C	118°C	120°C		
F-10	min 21.9	min 10.9	min 8.2	°F 21.1	min 6.6
F-17	18.4	8.3	3.6	12.8	3.1
F-18	15.4	3.7	2.8	12.1	1.7
E-11	20.3	9.1	2.6	9.1	2.0

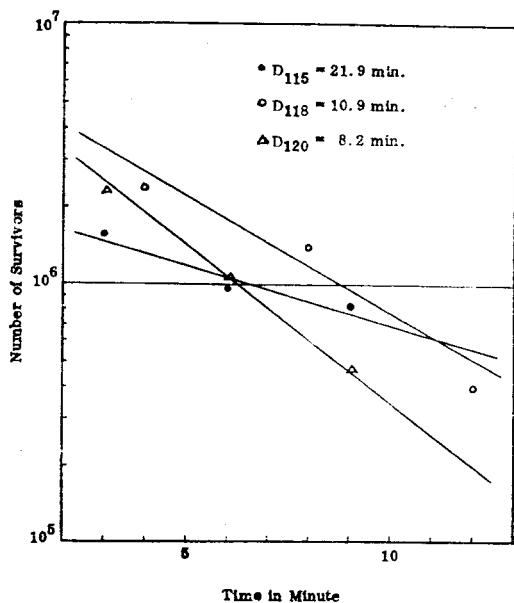


Fig. 1. Death rate curve of F-10 (aerobic thermophile)

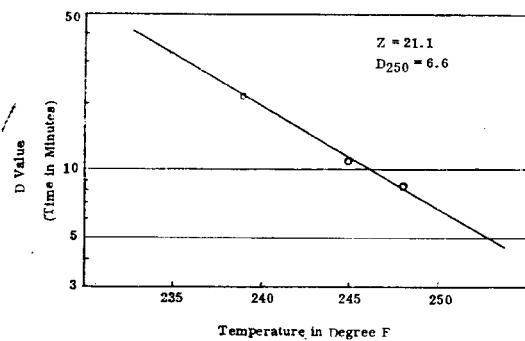


Fig. 2. Thermal death time curve of F-10 (aerobic thermophile)

um보다 Z value와  $D_{250}$ 이 크게 나타났으며 Fields (1974)<sup>(9)</sup> 등이 美國 9個州의 土壤에서 調査한 것 중 제일 热抵抗이 強한 California soil  $D_{121}^{\circ}\text{C}=6$  minutes, Minnesota와 Mississippi soil  $D_{121}^{\circ}\text{C}=6.0$  minutes보다 크게 나타났으며 더욱 이 菌이 facultative이므로 좀 더 研究할 必要가 있다고 思料되었다.

#### 要 約

통조림 및 加熱保存食品의 腐敗原因인 耐熱性腐敗菌에 對하여 忠淸南道 扶餘 等 全國 8個地域의 洋松茸加工工場을 中心으로 洋松茸菌床堆肥, 覆土, 原料洋松茸

및 殺菌前통조림製品에 對하여 一般細菌 및 芽胞形成菌 消長에 對하여 調査하고 芽胞形成菌 140菌株를 分離保管하였으며 이 중에서 耐熱性이 強한 芽胞形成菌 9菌株를 分離選拔, 이들에 對하여 D-value와 Z-value를 求하였다.

이 중 가장 耐熱性이 強한 菌株는 aerobic thermophile spore former F-10(扶餘地方 原料洋松茸에서 分離)으로  $Z=21.1F$ (in M/15 phosphate buffer solution),  $D_{250}=6.6$  minute이 있다.

### 참 고 문 헌

1. Bigelow, W. D. & Esty, J. R.: *J. Infectious Disease* 27, 602 (1920)
2. Harry Weiss: *J. Infectious Disease* 28, (1921)
3. Williams, O. B.: *Food Res.* 1, 217(1936)
4. Anderson, A. A.: *J. Bact.* 62, 425 (1951)
5. Mossel, D.A.A. etc.: *J. Appl. Bact.* 19, (1), 142-154 (1956)
6. Wheaton, E., and G. B. Pratt.: *J. Food Sci.* 26, 261-268 (1961)
7. Mercer, W. A., Rose, W. W., Regier, L. W. & Chapman, J. E.: *National Canners Assoc., Berkeley, Calif.* (1960)
8. M. L. Field: *J. Food Sci.* 37, 783-784 (1972)
9. M. L. Field & P. P. Chen Lee: *40*, (2), 384 (1974)
10. Louis Ds. Smith: *Appl. Microbiol.* 29, 590-594 (1975)
11. J. R. Pules, M. S. Favero: *Appl. Microbiol.* 30, (5), 786-790 (1975)
12. 장건형, 최춘언 등: 육군기술연구소보고, 2 (1963)
13. 최영락, 변재순, 최춘언, 장건형: 육군 기술연구 소 보고, 4, 11 (1964)
14. 이계호, 장건형: *Kor. Jour. Microbiol.* 3, (1), 11-14 (1965)
15. 이계호, 장건형: *Kor. Jour. Microbiol.* 4, (2) 15-18(1966)
16. Kneteman,A.: *J. Appl. Bact.* 20, (1), 101-107(1957)
17. E. W. Sommer: *J. Infectious Disease* 46, 85-114 (1930)
18. Gibbs, B. M., Hirsch, A.: *J. Appl. Bact.* 19, (1), 129-141 (1956)
19. Howard Reynolds, M. Kaplan: *Food Research* 17, 153-167 (1952)
20. Stumbo, C. R.: *Thermobacteriology in Food Processing*, Academic Press, 93-120 (1973)
21. 홍순우, 최영길: *Kor. J. Microbiol.* 12, (1), 15-24(1974)
22. 육창수: 충북대 학논문집 135-138 (1968)
23. Esty, J. R. & Meyer, K. F.: *J. Infectious Diseases*, 31, 650 (1922)