

Chapter 6 미생물의 성장과 환경

[미생물 성장측정, 환경인자(영양소, 환경인자), 식품저장]

2. 미생물의 성장에 미치는 환경요인

* 미생물의 성장은 물리화학적 환경조건에 따라 큰 영향을 받는다.

* 미생물 성장에 대한 환경적요인 분석 목적 :

- 자연계에 미생물의 분포확인, 미생물의 활성을 조절, 유해한 미생물의 제거방법개발

* **미생물의 대사와 증식에 미치는 요인 :**

영양물질, 수분, pH, 산소, 온도 및 저해물질

1) 영양물질

- 미생물 생육에 필요한 영양물질 : 생합성과 에너지 생산에 사용되는 물질
 - 에너지원, 탄소원, 질소원, 비타민류 및 무기염류
 - 미생물에 따라 에너지원, 탄소원, 질소원 등으로 이용되는 물질의 종류가 다르다 (Why : 미생물의 대사합성 능력의 차이)
- 미생물의 성장에 이용되는 영양분의 형태에 따라 독립영양균(autotrophs)과 종속영양균(heterotrophs)으로 분류된다.
- **영양요구성(auxotroph) : 탄소원 외에 하나 이상의 영양소를 요구하는 경우**

① 탄소원(carbon sources)

- 미생물은 유기탄소 원으로 에너지와 세포구성성분을 합성하여 성장한다.
- 효모, 곰팡이, 세균 등의 탄소원으로 Glucose, fructose, sucrose, maltose 등의 이당류가 이용된다.
- **Lactose는 장내세균과 일부 젖산균만 이용, 효모는 이용하지 못한다.**
- 다당류(전분과 pectin)는 가수분해 균(amylase, pectinase)에 의해서 이용함
ex) 곰팡이, 방선균, 부패균
- **대부분의 효모나 일부세균들은 탄소원으로 다당류를 이용하지 못함**
- 섬유소 : 일부 곰팡이, 방선균, 세균에 의하여 분해
- 유기산 및 주정 : 일부호기성균 이용
- **미생물 배양하는 경우 당농도 : 세균(0.5-2%), 효모와 곰팡이(2-5%), 발효공업(10% 이상)**

② 질소원

- 단백질(효소), 핵산(DNA, RNA)의 원료로서 세포의 성장에 필수적으로 배지 중의 질소량에 따라 미생물의 성장이 지배된다.
- **아미노산이나 암모니아는 대부분의 미생물(곰팡이, 세균)이 이용할 수 있다**

- **질산염**은 암모니아로 환원시킬 수 있는 곰팡이나 일부세균은 이용하지만, **효모는 이용하지 못한다.**

- **Peptone**이나 **단백질**은 가수분해하는 균주에 의하여 저분자 peptide나 아미노산으로 분해되어 이용

ex) *Aspergillus*, *Penicillium*(곰팡이), *Bacillus*, *Proteus* (부패세균)

- **효모, 일부 젖산균** : 단백질 분해효소를 분비하지 **않음**

- **미생물 생육에 필요한 질소원의 양** : 0.1 ~ 0.5% N 정도면 **충분**

- **발효공업에서 질소원** : **암모늄염이 이용**

ex) 황산암모늄, 요소, 대두박, 면식박, 효모 추출물, 옥수수 침지액

③ 무기염류

- 다량원소 : P, S, Mg, K, Na, Ca

- 미량원소 : Fe, Mn, Co, Zn, Cu, Mo, Cl

- 무기이온은 **효소의 활성화**에 관여, 독소와 다른 **2차대사산물**의 생산에 이용

- 미생물배지로 **peptone, 효모즙, 맥아즙** 등을 사용하는 경우 무기염류를 따로 첨가할 필요가 없다.

- 인공합성배지에는 무기염류를 첨가해야 함

ex) 구연산발효(*Aspergillus niger*) : Cu, Zn, Fe

Cu 이온은 Penicillin, riboflavin생산을 저해

④ 비타민류

- Vit B1, B2, B6, pantothenic acid, p-aminobenzoic acid, B₁₂, nicotin산, 엽산

- **세균, 곰팡이, 효모** : **비타민 합성능력을 함유**

- 발효공업에 사용되는 비타민 원 : **효모추출물, 옥수수침지액**

- 미생물 배양시 **고기추출물, peptone, 맥아즙** 등을 사용하는 경우 비타민 풍부

◎ 성장인자(growth factor)

- 탄소원, 질소원, 무기성분의 **성장인자 (아미노산, 염기, 비타민)**를 외부로부터 공급받아야 성장가능

ex) **젖산균** : **vit B군을 주지 않으며 성장하지 못함**

S. cerevisiae : pantothenic acid를 필요, 맥주 하면발효효모는 biotin을 요구

⑤ 영양물질로서의 식품

- 식품은 미생물의 **성장에 요구되는 많은 영양소를 함유**하고 있음

- 식품의 성분차이에 따라 **식품에 성장 가능한 미생물의 종류가 결정**됨

- 식품의 성분차이가 **미생물의 증식과 부패 중에 형성되는 부산물**에도 영향

2) 수분 (Moisture content)

○ **물은 용매작용, 화학반응, 세포의 pH를 조절, 온도조절, 조직에서 운반체로서 작용**

○ 식품에서 물은 결합수와 자유수로 존재, **미생물은 자유수를 대사 활동에 이용**

- 결합수 : 용매작용, 화학반응에 참여하지 못함

① 수분활성도(water activity, aw)와 미생물의 성장

- 수분활성도(aw) : 화학반응이나 미생물의 성장에 이용 가능한 수분량
- 미생물의 최적 aw 0.99, 식품건조, 설탕, 소금 등의 용질을 첨가하면 aw 감소
- 미생물의 성장에 있어서 세균은 효모보다 높은 aw를 요구하며, 곰팡이가 가장 낮은 aw를 요구한다.
- 식품 특유의 증기압(P) > 수증기압(P₁) : 식품의 수증기 증발
- 아주 높은 aw(1.00 근처)에서는 미생물의 성장이 제한되며, aw의 감소에 따라 성장률이 감소한다.
- 호염성(halophilic), 내건성(xerotolerant)미생물은 낮은 aw를 갖는다.

② 식품의 aw와 미생물의 성장

- 가공되지 않은 식품의 aw : 0.98-0.99 (미생물 성장 가능)

<표 미생물의 성장에 요구되는 최소 수분활성도> p 127 참조

미 생 물	최소 수분활성도
대부분의 부패세균	0.90 - 0.91
<i>Bacillus cereus</i>	0.92 - 0.95
<i>Escherichia coli</i>	0.94 - 0.97
<i>Lactobacillus</i>	0.90 - 0.96
<i>Sallmonella</i>	0.93 - 0.96
<i>Staphylococcus</i>	0.83 - 0.92
호염성(halophilic) 세균	0.71
대부분의 효모	0.87 - 0.94
내삼투압성(osmotolerant) 효모	0.62 - 0.78
<i>Hansenula</i>	0.89 - 0.90
<i>Debaryomyces</i>	0.87 - 0.91
<i>Zygosaccharomyces rouxii</i>	0.62 - 0.81
대부분의 곰팡이	0.70 - 0.80
내건성(xerotolerant) 곰팡이	0.61
<i>Aspergillus</i>	0.68 - 0.88
<i>Penicillium</i>	0.78 - 0.90

- 병원성 세균은 삼투압에 대한 저항성이 약하다.

- 곰팡이가 삼투압에 잘 견디며 세균의 발육은 aw 0.95이하에서 정지하나 곰팡이는 성장이 가능하다

- 밀가루, 두류, 건조육, 인스턴트식품 등의 건조식품은 aw 0.61 이하 되게 건조

- 설탕조림식품은 aw 0.72이하 되게 설탕을 첨가해야한다

- 용액의 증기압은 삼투압이 커짐에 따라 감소한다. 같은 농도에서는 분자량이 적은 당이 높은 삼투압을 나타낸다.

- 효모의 성장을 방지하기 위하여 설탕은(60-70%), 포도당은(45-50%)의 농도가 필요하다.

- 소금의 농도가 증가하면 삼투압은 증가하고, 소금의 포화용액은 aw 약 0.8 정도

이며, 약 3%의 소금을 가지고 있는 바닷물은 0.98의 aw를 나타낸다.

- 호염성균과 비호염성균의 기준은 2% NaCl 존재로 성장여부를 판정

ex) 주요균주의 성장억제 NaCl 농도 : *Clostridium botulinum*(6.5-12%)

Staphylococcus aureus(15-20%),

내염성효모 : *Zygosaccharomyces rouxii*(18-20%)이상에서 성장

3) pH : $-\log[H^+]$

① 식품의 pH :

- 식품의 pH는 식품의 부패를 주도하는 미생물의 종류를 결정하게 된다.
- 식품에 존재하는 산의 종류도 중요한 기능을 한다.
- 단백질 식품은 과일이나 야채보다 큰 완충능을 가진다,
- 식품의 pH가 4.2이하인 경우 병원성균의 성장에 관한 한 안전 함
- 캔 식품에서 pH 4.6은 산성식품과 저산성식품을 구분하는 경계로서, 열처리 조건을 결정하는 데 중요한 기준이 된다.

ex) *Clostridium botulinum* 성장과 독소생성이 pH4.6이하에서 이루어지지 않음

<표 주요 식품의 pH 범위>

식품	pH	비고
달걀흰자위	7.6 - 9.5	가장 높은 pH를 가진 식품
적육색	5.3 - 6.4	도살시 조건에 영향을 받음
어류	6.8 - 8.0	부패하면 pH 상승
간 및 굴	6.8 - 5.1	해당과정으로 부패되면서 pH 감소
야채류	5.3 - 6.3	
과일	3.0 - 4.2	주로곰팡이와 효모에 의해 부패
라임(유자, 레몬)	1.8 - 2.0	주로곰팡이와 효모에 의해 부패

◎ 달걀의 albumin의 pH : 7.6(신선한 달걀)

- 공기 중에 방치하면 pH 상승 : 9.4 - 9.7
- pH 상승 : 미생물의 성장은 억제, 품질저하
- 보존법(pH 8.2로 유지) : CO₂ 조건에서 보관, 껍질에 기름을 바름

◎ 동물조직의 pH : 중성 (7.0 - 7.2)

- 도살 직후의 근육의 pH : 6.9 - 7.2 (혐기적 조건으로 대사산물 축적)
- 24시간 사후 경직 후의 pH : 5.4 - 5.6 (glycogen → 젖산)
- 낮은 pH를 갖는 생고기는 미생물학적으로 바람직하지만 높은 pH를 갖는 고기가 전반적으로 높은 품질을 갖는다.

ex) *Pseudomonas* : 고기부패균의 최소 pH는 5.6 (5.6이하 저장성 증가)

② 미생물에 대한 pH 영향

- 세균의 최적 pH : 7.0 - 8.0 예외) *Lactobacillus* (pH 4.2), *Vibrio* (pH 8.6)

- 곰팡이의 최적 pH : 5.0 - 6.0(2-8.5)

- 효모의 최적 pH : 4 - 6

◎ 기질의 pH 변화와 미생물의 성장

- 기질의 pH 변화 : 금속이온들의 용해도 및 세포막의 투과성에 영향을 준다

- 미생물에 대한 pH 독성은 해리되지 않은 산성 염기성 물질이 세포내로 유입

◎ 포자의 발아와 pH : 곰팡이 포자 pH 3- 7사이에서 발아

◎ 미생물의 성장과 pH : pH 4.2이하인 경우 병원성균의 성장에 안전

◎ 내염성과 pH : 병행함으로서 미생물성장억제 효과가 증대

◎ 효소의 생산과 pH :

- *Asp. oryzae* : 산성pH (산성 protease), 중성(중성 또는 알칼리성 protease)

표 4-7 미생물 성장의 pH 범위

미 생 물	최저 pH	최적 pH	최고 pH
세균(대부분)	4.5	6.5~7.5	9.0
<i>Acetobacter</i>	4.0	5.4~6.3	-
<i>Bacillus subtilis</i>	4.2~4.5	6.8~7.2	9.4~10
<i>Clostridium botulinum</i>	4.8~5.0	6.0~8.0	8.5~8.8
<i>Escherichia coli</i>	4.3~4.4	6.0~8.0	9.0~10
<i>Lactobacillus(most)</i>	3.0~4.4	5.5~6.0	7.2~8.0
<i>Pseudomonas(most)</i>	5.6	6.6~7.0	8.0
<i>Salmonella(most)</i>	4.5~5.0	6.5~7.5	8.0~9.6
<i>Staphylococcus aureus</i>	4.0~4.7	6.0~7.0	9.5~9.8
효모(대부분)	1.5~3.5	4.0~6.5	8.0~8.5
<i>Hansenula</i>	-	4.5~5.5	-
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	2.0~2.4	4.0~5.0	-
곰팡이(대부분)	1.5~3.5	4.5~6.8	8.0~11
<i>Aspergillus niger</i>	1.2	3.0~6.0	-
<i>Mucor</i>	-	3.0~6.1	9.2
<i>Penicillium</i>	1.9	4.5~6.7	9.3

③ pH 와 식품보존

- 산을 통한 부패미생물의 성장억제

- 같은 pH에서 무기산 보다는 유기산(초산, 젖산)이 억제효과가 크다

- [why] : 이온화되지 않은 유기산이 세포내로 들어가 세포내 pH 주도

◎ 균 배양액을 초산으로 산성화하여 성장억제농도측정

ex) *Salmonella*, *Staphylococcus*, *Bacillus cereus* : pH 4.9 (적정산도 0.04%)

Aspergillus niger : pH 4.1(적정산도 0.27%)

Saccharomyces cerevisiae : pH 3.1(산도 0.59%)

Sauce, pickle : 1.5-2.0% 초산용액 사용

◎ 탄산음료 등에 사용되는 식용산류 대장균에 대한 성장억제 효과

ex) 농도(0.02N), 온도(30°C) : tartaric acid>phosphoric acid>lactate> citrate)

◎ 젖산생성 식품 : 젖산 생성으로 부패세균의 생육 억제

◎ Propion 산 : 초산보다 미생물 성장억제 효과가 있다.

ex) Swiss cheese : *Propionibacterium shermanii*

빵의 ropiness (*Bacillus mesentericus*) 방지 : Na, Ca-propionate (0.18-1.25%)첨가

4) 산소 (p 135 참조)

* 산소요구도 혹은 산소에 대한 내성에 따라 미생물을 다음과 같이 분류

① 호기성균(aerobes) : ex) *Bacillus*, *Acetobacter*

- 산소가 없으면 생육하지 못하는 균

② 혐기성균(anaerobes) : ex) *Clostridium*, *Methanogen*

- 산소의 존재로 성장이 지연되는 균

③ 통성 혐기성균(facultative anaerobes) : ex) *Escherichia coli*

- 산소가 있거나 없거나 성장하는 균

④ 미호기성균(microaerophilic organism) : ex) *Lactobacillus*, *Streptococcus*

- 완전한 호기적·혐기적 조건하에서 생육하지 못하고 제한된 산소가 존재할 때 잘 성장하는 균

⑤ 내기성혐기성균 (aerotolerant anaerobes) : ex) *Clostridium perfringens*

- 절대 혐기성이지만 어느 정도 산소에 내성을 보임

◎ 미생물의 산소요구정도 측정 :

- 환원제(thioglycolate)를 함유한 한천배지를 사용하여 측정

* 곰팡이 : 절대호기성(obligate aerobe)

* 효모 : 혐기적 상태에서 알코올발효로 에너지 획득

호기적 조건에서 산소호흡으로 성장

◎ 활성산소 (ROS)와 항산화

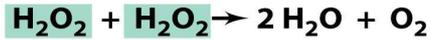
- 전자가 전자전달계의 여러 조효소와 작용하여 전달될 때 ROS (superoxide, peroxide) 생성 → 강력한 산화제로 세포손상과 세포사멸 유발

- 활성산소 : $O_2^{\cdot-}$, H_2O_2

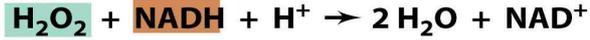
- 항산화 효소 : Superoxide dismutase(SOD), catalase

◎ 항산화효소 작용기작 :

(a) Catalase:



(b) Peroxidase:



(c) Superoxide dismutase:



(d) Superoxide dismutase/catalase in combination:



(e) Superoxide reductase:



Figure 6-28 Brock Biology of Microorganisms 11/e
© 2006 Pearson Prentice Hall, Inc.

◎ 식품의 산화-환원 전위

- 기질의 산화 정도가 많으면 : 큰 positive 전기전위 나타낸다.
 - 기질의 환원이 더 많으면 : 큰 음의 전기전위 나타낸다.
 - * 호기적 미생물 : 양의 산화-환원 전위(산화상태)에서 생육 산화-환원전위를 낮춘다(산소고갈)
 - * 혐기성 미생물 : 음의 산화-환원 전위(환원상태)에서 생육
 - * 고기의 Eh(-200), 간 고기(ground meat)의 Eh(+200)
 - 공기의 접촉이 많아지는 혼합 및 마쇄를 할 경우 또 증가
 - * 통조림 식품 : 혐기성균, 통성혐기성균이 많음
 - 식품 중에 질산염이 들어 있으면 산소가 없는 상태에서도 호기성균 성장 가능
- ex) 과일주스의 Eh(+300 ~ +400) : 호기성균과 곰팡이에 의한 부패가 발생

TABLE 6.1		The Effect of Oxygen on the Growth of Various Types of Bacteria				
	a. Obligate Aerobes	b. Facultative Anaerobes	c. Obligate Anaerobes	d. Aerotolerant Anaerobes	e. Micro-aerophiles	
Effect of Oxygen on Growth	Only aerobic growth; oxygen required.	Both aerobic and anaerobic growth; greater growth in presence of oxygen.	Only anaerobic growth; ceases in presence of oxygen.	Only anaerobic growth; but continues in presence of oxygen.	Only aerobic growth; oxygen required in low concentration.	
Bacterial Growth in Tube of Solid Growth Medium						
Explanation of Growth Patterns	Growth occurs only where high concentrations of oxygen have diffused into the medium.	Growth is best where most oxygen is present, but occurs throughout tube.	Growth occurs only where there is no oxygen.	Growth occurs evenly; oxygen has no effect.	Growth occurs only where a low concentration of oxygen has diffused into medium.	
Explanation of Oxygen's Effects	Presence of enzymes catalase and superoxide dismutase (SOD) allows toxic forms of oxygen to be neutralized; can use oxygen.	Presence of enzymes catalase and SOD allows toxic forms of oxygen to be neutralized; can use oxygen.	Lacks enzymes to neutralize harmful forms of oxygen; cannot tolerate oxygen.	Presence of one enzyme, SOD, allows harmful forms of oxygen to be partially neutralized; tolerates oxygen.	Produce lethal amounts of toxic forms of oxygen if exposed to normal atmospheric oxygen.	

Copyright © 2004 Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings.

5) 온도

- * 미생물의 생존, 세포의 크기, 대사산물의 생산, 영양요구성, 효소반응, 세포의 화학조성에 영향을 미친다.
- * 미생물은 최적온도보다 훨씬 낮은 온도에서 살아남거나 성장하지만, 최적온도 이상에서 성장률은 급격히 감소한다.

① 미생물의 성장온도 : 미생물의 성장온도에 따른 분류

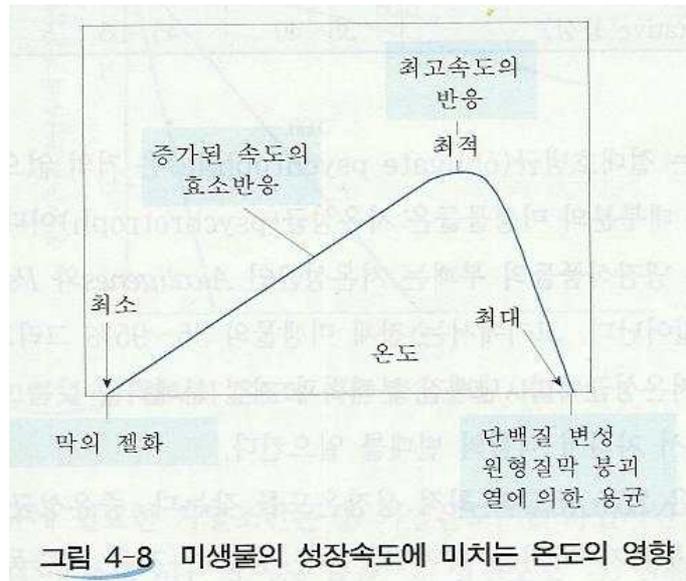
◎ 호냉성(psychrophilic) : 최적온도 (10 ~ 30℃)

- 0℃에서 잘 자라서 1-2주안에 집락형성

◎ 저온성균(psychrotroph) : 최적온도(25 ~ 30℃)

- 최적온도에 관계없이 낮은 온도(5℃이하)에서 성장 가능한 균
- 고기, 우유, 달걀 등 냉장식품 부패, 단백질 분해력과 지질분해력 함유

ex) *Alcaligenes*, *Pseudomonas*



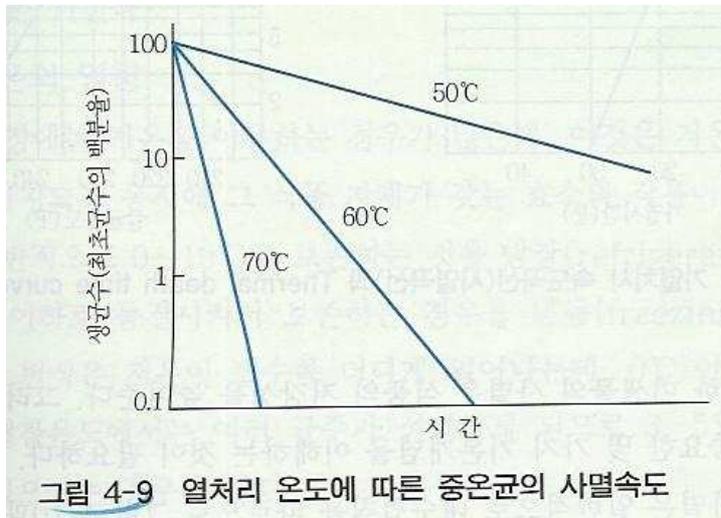
- ◎ 중온성균(mesophilic) : 최적온도(25 ~ 40℃)
 - *Salmonella, Staphylococcus, Clostridium, Shigella, Bacillus*
 - 식품의 부패 및 식중독 유발균
- ◎ 호열성균(thermophilic) : 최적온도(45 ~ 65℃)
 - *Bacillus, Clostridium*
 - 통조림 사업에 중요

② 고온의 영향

- 최고성장온도보다 10 ~ 15℃ 높은 온도에서 급속히 사멸된다.
- ex) 포자를 형성하지 않는 부패균, 병원균 : 60℃, 30 min 완전히 사멸
- 포자형성세균(*Bacillus, Clostridium*) : 100℃, 30min 생존
- ◎ **가압증기살균(autoclave) : 121℃, 1.5 atm, 15min**
- ◎ **식품의 살균에 필요한 가열조건 :**
 - 가열온도, 가열시간, 물(수증기)의 유무, 식품의 pH, 공존물질, 열전도도, 변패 미생물의 종류와 오염도 등을 고려한다.
 - 가열에 의한 영양소의 파괴를 최소한으로 하면서 가열살균 목적 달성함

◎ 우유의 가열살균

- **저온살균법(pasteurization) : 61.7℃, 30min**
- **고온단시간 살균법(HTST) : 71.7℃, 15초**
- **초고온순간살균법(UHT) : 138℃, 2초**
- ◎ 열처리에 의한 미생물의 사멸은 **식품의 저장성**을 높여준다
- ◎ 세균의 내열성은 중성 근처에서 가장 높다



열 저항성(D값)

- ✓ D 값이란 : 소정의 온도로 90%의 균을 사멸하는 데 소요되는 시간(분)
- ✓ 열 저항성에 영향을 미치는 요인
 - 세포의 생육주기, 생육온도, 환경의 pH, 수분활성도, 식품의 조성 (지방과 단백질)
- 정체기의 세포가 대수 증식기 보다 열 저항성이 높다
- 생육온도가 높을 수록, 최적 pH에서 열 저항성이 크다
- 지방과 단백질 함량이 높을수록, 건조 또는 당을 첨가함으로써 수분활성도가 낮아지면 열 저항성이 커진다.

③ 저온의 영향

- 냉장(refrigeration) : 0 ~ 10°C로 보존
- 냉동(freezing) : 0°C 이하로 동결보존
- 미생물의 성장은 억제되지만 살균적 효과는 거의 없다(-10°C 이하온도)
- 비병원성 세균, 세균포자 : 저온에 대한 저항성이 더욱 강하다

◎ 저온식품저장목적 : 미생물 성장이 저해, 식품자체가 갖는 효소의 작용이 억제

◎ 0°C 또는 그 이하의 온도에서 생육하는 균

- 저온성 세균 : *Flavobacterium*, *Pseudomonas*, *Micrococcus*
- 곰팡이 : *Penicillium*, *Cladosporium*, *Mucor* 속
- 효모 : *Candida* 속

ex) 결핵균 : 액체질소(-193°C)에서 40시간 이상 생존

6) 광선과 방사선

- * 방출 스펙트럼(emission spectrum) : 형광등(700nm), 백열전구(750-1000nm)
- * 직사광선 : 자외선(200-320nm), 가시광선(400-700nm), 적외선(750nm)
- * 대부분의 미생물은 밝은 곳보다 어두운 곳에서 잘 자란다.

① 방사선

- 직사광선은 비교적 살균력이 강하며 일반세균은 수분간 조사시 사멸되며 포자도 수 시간으로 죽게 된다.
- 살균력은 자외선영역이고, 가시광선과 적외선 영역은 살균력이 없다.
- 260nm : 살균력이 가장 강함, 핵산(DNA) 복제에 손상을 줌

◎ 광회복(Photoreactivation) :

- 자외선 조사로 증식력을 잃은 세균에 파장이 짧은 쪽의 가시광선(310 - 400nm)을 조사하면 일부세포가 다시 활성화되는 것

② 방사선 [X 선, 감마선(γ -ray), β -ray] 작용기작

- 방사선은 자외선보다 파장이 짧은 X선, γ -선 그리고 방사성동위원소에서 나오는 β 선으로 생체세포에 치사작용과 돌연변이 작용을 일으킨다
- 방사선에 의한 살균은 방사선동위원소 ^{60}Co 과 caesium 137에 의하여 발생되는 감마선(γ -ray)을 이용 식품의 새로운 저장살균법으로 실용화 되고 있음
- DNA 및 RNA 등에 손상을 주어 치사작용을 한다
- 생체내의 수분을 전리시켜 OH^- , H^+ 의 유리기의 강력한 산화제 작용
- 생육시기, 세포벽의 구조 및 미생물의 종류에 따라 감수성이 변화

◎ 전리방사선에 대한 감수성

- Gram 양성균과 음성균의 감수성 : 그람양성균이 강함
- 효모와 곰팡이의 감수성 : 효모가 감수성이 강함
- 용존산소의 증가가 감수성에 미치는 효과 : 미생물의 감수성을 높인다.
- 전리방사선에 대한 보호제 : glycerol, cysteine, glutathione
- 감작제(sensitizer) : 산소, SH기와 결합성을 가진 화합물
- 방사선에 대한 저항성은 하등한 것일수록 저항성이 강하다

ex) *E. coli* 생육시기에 따라 감수성이 다르다

◎ 방사선 조사단위 (gray, Gy)

- 그레이(Gy) : Kg당 1 joule의 흡수량을 나타낸다(rad의 100배)
- 식품조사량 : 0.05 ~ 30Gy, (최고 10kGy 까지 제한)
- 낮은 조사량 : 발아억제, 숙성 지연(생화학적, 호르몬의 기작 파괴)
- 높은 조사량 : DNA 손상, 세포분열 억제
- * 문제점 : 대량의 방사선은 식품에 불쾌한 조사취, 조직의 연화 등을 유발

표 4-11 방사선의 식품에의 이용

조사효과	적용량(kGy)	대상식품
발아억제	0.05 - 0.15	감자, 양파, 마늘
숙성지연	0.05 - 0.15	바나나, 토마토, 파파야
기생충사멸	0.1 - 0.3	돼지고기
해충사멸	0.1 - 1.0	곡류, 쌀, 일부과일 및 야채
부패지연(상온)	0.5 - 5	딸기
부패지연(냉장)	0.5 - 10	고기, 가금류, 어류
병원균 살균	2 - 10	고기, 가금류, 해산물, 건조식품
멸균	10 - 30	향신료, 특수 환자용 음식

7) 화학약품(살균제와 방부제)

- ◎ 항미생물 물질(antimicrobial agent) : 살균제, 소독제, 방부제, 화학요법제
 - 항균제(antibacterial agent), 항진균제(antifungal agent)
 - 항바이러스제(antiviral agent)
- ◎ Antimicrobial agent 작용기작
 - 살균작용(bacteriocidal action), 용균작용(bacteriolytic action)
 - 정균작용(bacteriostatic action)
- ◎ Antimicrobial agent 활성에 미치는 영향
 - 미생물의 종류, 포자의 유무, 온도, 배지조성 등
- ◎ 화학물질의 작용형태에 따라
 - 살균제(sterilizers) : 미생물 살균
 - 소독제(disinfectants) : 병원미생물의 살균
 - 방부제(antiseptics) : 미생물의 생리적 활동을 억제 및 저해
 - 식품 보존제(food preservatives) : 식품의 저장성을 증가

① 살균제

- ◎ 살균제의 종류 :
 - 중금속화합물 : 승홍($HgCl_2$), 질산은($AgNO_3$)
 - 염소화합물 : 상하수도 살균, 식품제조가공용 기계 및 포장의 소독
 - 요오드 화합물 : 상처부위, 수술대 소독
 - 산화제 : 할로젠화합물, 과산화수소, 과망간산칼륨
 - 알데히드(내시경소독), 알코올, 페놀류 화합물
 - 양이온 계면활성제, 색소류, 가스상 유기물
- ◎ 살균소독제의 작용기작 : 단백질변성 응고작용, 산화작용, 단백질 변성
 - 단백질변성응고작용 : 승홍, 질산은, 포르말린, phenol, alcohol
 - 산화작용 : 과산화수소, 과망간산칼륨, 표백분, NaOCl
 - 세균단백질과 화합물 형성 : 염소, 요오드
 - 단백질 변성 : 강산, 강염기

② 보존제

- * 미생물의 생육억제, 식품의 신선도 유지
- * 종류 : 안식향산 나트륨염, 소르빈산, dehydroacetic acid
프로피온산염, benzoic acid 등

표 보존제의 항균성

보존제	곰팡이	효모	호기성 포자형성균	혐기성 포자형성균	젖산균	Gram 양성균 [무포자]	Gram 음성균 [무포자]	비고
Benzoic acid	+	+	+	+	+	+	+	산성일수록 유효, pH6 이상에서는 실용성 없음
Sorbic acid	++	++	+	X	X	+	+	산성일수록 유효, pH7 이상에서는 실용성 없음
Dehydroxy-acetic acid	++	++	+	0	0	+	+	산성일수록 유효, 곰팡이, 효모에 강력
<i>o</i> -Hydroxybenzoic acid ester	++	++	++	+	+	++	+	pH의 영향없음 고형물의 존재시 효력저하
Propionic acid	+	X	+	X	X	0	0	산성일수록 유효효력은 전반적으로 약함

++; 매우강함, +; 보통, 0; 미약, x; 없음

8) 미생물 생육의 저해물질

- * 천연미생물 저해제 : 그람음성균 보다 그람양성균을 더 잘 저해한다.

① 동물성 식품에 함유된 저해물질

◎ 계란흰자 : 세균생육저해

- 효소저해제 : Lysozyme, ovomucoid
- Avidin (biotin과 결합), Conalbumin(철과 안정된 화합물 형성)
- 높은 pH

◎ 유가공품

- 양이온성 단백질 : 세포막의 투과도를 높여 세포의 누출을 야기
- Lactoperoxidase : 우유에 있는 peroxidase
- Lactoferrin (철결합단백질) : conalbumin과 유사한 기능
- Fatty acid : 단쇄지방산은 그람 음성보다 그람양성균의 생육을 저해

◎ 식품조직 : 천연미생물저해제 존재

② 식물성 식품의 미생물 저해제

- 식물성 추출물 : 항미생물효과, 촉진효과
- 항미생물효과 : Tomatin(토마토), anthocyanin 색소, tannin
- 양파, 생강 추출물 : thiosulfonate
- 과일 추출물 : Isoflavone

- 오렌지류의 정류 : 포자형성균 감염방지

[미생물 항생제 감수성 Test] : disk-diffusion method

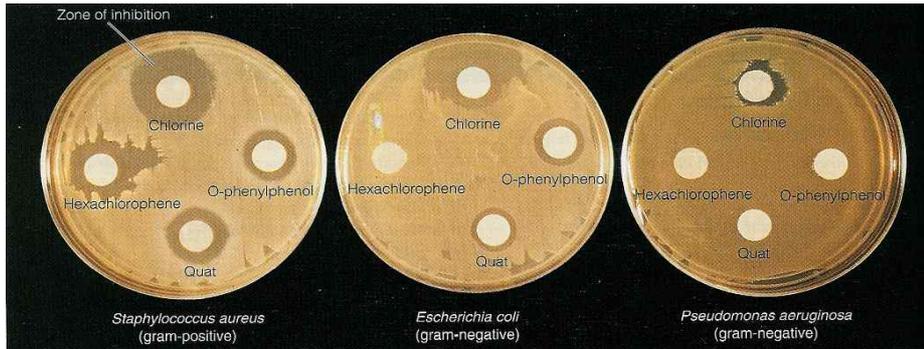


Fig. Evaluation of disinfectants by the disk-diffusion method

9) 미생물의 분리, 배양 및 보존방법

① 미생물의 분리

* 미생물을 순수배양하기 위해서는 단일 균주의 선별이 필수적이다

* 시료용액을 적당히 희석 → 고체배지에서 배양 → colony 선별

○ 선택배지(selective media)

- 배지조성을 달리한 특별한 배지를 사용하여 분리하고자 하는 미생물의 선별가능성을 증대

ex) 곰팡이 분리 : citric acid agar 배지

○ 감별배지(differential media)

- 특수한 생화학적 성분을 함유한 배지를 이용하여 미생물 대사의 결과로 colony의 차이가 배지에서 감지할 수 있는 방법이다

ex) 고체배지의 투명도 변화 : proteinase, hemolysin 등

pH 변화에 따른 지시약의 색깔변화 : EMB agar

ex) selective/differential : MacConkey agar

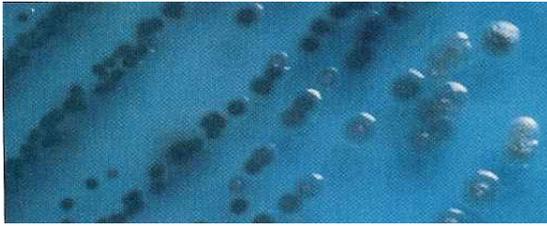
담즙산염 함유 : 그람양성균의 생육 억제

Lactose, pH 지시약 : *E. coli* 붉은색, *Salmonella* 무색

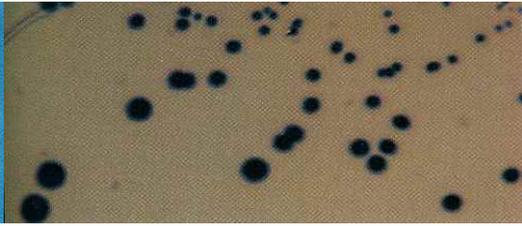
○ 농화배지(enrichment media)

- 여러 미생물이 섞여 있는 경우 배지에 한 종류의 미생물이 보다 잘 자랄 수 있게 물질을 첨가해서 원하는 미생물의 증식을 도모하는 방법

ex) 병원성균 분리 : 혈액첨가, *Shalmonella* : selenite broth 사용



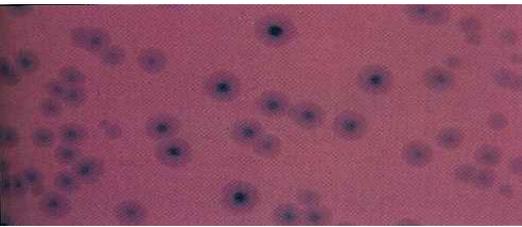
Pseudomonas agar P (PSP) medium
[*Pseudomonas aeruginosa*]



Tellurite-glycine medium
[*Staphylococcus aureus*]



Eosin methylene blue (EMB) medium
Escherichia coli



EMB medium
Enterobacter aerogenes

② 배지 (medium) : 액체배지, 고체배지(액체배지 + 한천)

- 합성배지(synthetic medium) : 화학적으로 알려진 영양분만으로 구성된 배지
- 복합배지(complex medium) : 화학적 조성이 규명되지 않은 유기물을 포함하는 배지 (ex) yeast extract)

③ 배양방법

: 배지조성, 통기조건, 온도, 배양기간 등을 최적화 할 수 있는 배양방법 선택

○ 회분배양 (batch culture) :

- 멸균배지에 균을 접종하여 배양하는 방법으로 배양 중 필요에 따라 산소 공급이나 pH 조절 외에 어떤 영양분도 첨가되지 않는다.
- 미생물 생육동안 배지의 조성이나 대사산물의 양이 계속적으로 변화게된다.
- 균주의 성장단계(4단계)를 확인할 수 있다.

○ 연속배양 (continuous culture) :

- 배양동안 지속적인 영양공급과 대사산물을 제거함으로써 미생물의 성장환경을 어느 정도 일정하게 유지가 가능(대수기의 성장상태 유지)

④ 미생물의 보존

: 분리한 미생물은 미생물의 특성을 유지하면서 생존해야하고, 오염되지 않은 상태로 보존되어야 한다.

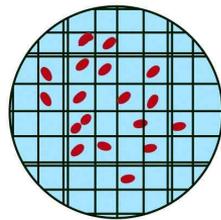
○ 냉장, 냉동보관 : 5℃, -20℃에서 보관

- 장기간 보존 : 액체질소보관, Deep freezer에 보관
- 액체질소보관 (-150~-198℃) : 정체기 까지 균을 배양 + 냉동 보호제
- * 냉동 보호제 : 10% glycerol, 우유, 혈청, sodium glutamate

○ 건조 상태로 보관

- 냉동건조법(**lyophilization**) : 균주를 냉동한 후 감압상태에서 건조하는 방법
- 건조토양보관법 : 곰팡이와 방선균 보관

10) Colony counter



Microscopic observation; all cells are counted in large square: 12 cells (in practice, several squares are counted and the numbers averaged.)

Figure 6-9 part 2, Brock Biology of Microorganisms 11/e © 2006 Pearson Prentice Hall, Inc.

To calculate number per milliliter of sample:
 12 cells x 25 large squares
 x 50 x 10³ = 1.5 x 10⁷

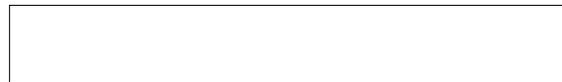
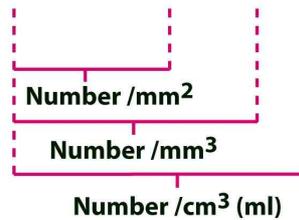


TABLE 7.5 Physical Methods Used to Control Microbial Growth			
Method	Mechanism of Action	Comment	Preferred Use
Heat			
1. Moist heat			
a. Boiling or flowing steam	Protein denaturation	Kills vegetative bacterial and fungal pathogens and almost all viruses within 10 min; less effective on endospores.	Dishes, basins, pitchers, various equipment
b. Autoclaving	Protein denaturation	Very effective method of sterilization; at about 15 psi of pressure (121°C), all vegetative cells and their endospores are killed in about 15 min.	Microbiological media, solutions, linens, utensils, dressings, equipment, and other items that can withstand temperature and pressure
2. Pasteurization			
	Protein denaturation	Heat treatment for milk (72°C for about 15 sec) that kills all pathogens and most nonpathogens.	Milk, cream, and certain alcoholic beverages (beer and wine)
3. Dry heat			
a. Direct flaming	Burning contaminants to ashes	Very effective method of sterilization.	Inoculating loops
b. Incineration	Burning to ashes	Very effective method of sterilization.	Paper cups, contaminated dressings, animal carcasses, bags, and wipes
c. Hot-air sterilization	Oxidation	Very effective method of sterilization, but requires temperature of 170°C for about 2 hr.	Empty glassware, instruments, needles, and glass syringes
Filtration			
	Separation of bacteria from suspending liquid	Removes microbes by passage of a liquid or gas through a screenlike material. Most filters in use consist of cellulose acetate or nitrocellulose.	Useful for sterilizing liquids (enzymes, vaccines) that are destroyed by heat

Copyright © 2004 Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings.

TABLE 7.5		Physical Methods Used to Control Microbial Growth (continued)	
Method	Mechanism of Action	Comment	Preferred Use
Cold			
1. Refrigeration	Decreased chemical reactions and possible changes in proteins	Has a bacteriostatic effect	Food, drug, and culture preservation
2. Deep-freezing (see Chapter 6, page 170)	Decreased chemical reactions and possible changes in proteins	An effective method for preserving microbial cultures, in which cultures are quick-frozen between -50° and -95°C .	Food, drug, and culture preservation
3. Lyophilization (see Chapter 6, page 170)	Decreased chemical reactions and possible changes in proteins	Most effective method for long-term preservation of microbial cultures; water removed by high vacuum at low temperature.	Food, drug, and culture preservation
High pressure	Alteration of molecular structure of proteins and carbohydrates	Preservation of colors, flavors, nutrient values.	Fruit juices
Desiccation	Disruption of metabolism	Involves removing water from microbes; primarily bacteriostatic.	Food preservation
Osmotic Pressure	Plasmolysis	Results in loss of water from microbial cells.	Food preservation
Radiation			
1. Ionizing	Destruction of DNA	Not widespread in routine sterilization.	Used for sterilizing pharmaceuticals and medical and dental supplies
2. Nonionizing	Damage to DNA	Radiation not very penetrating.	Control of closed environment with UV (germicidal) lamp

Copyright © 2004 Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings.