

단일 및 단계적 저온 열처리에 따른 *Clostridium sporogenes* Spores의 저감 효과

조현서 · 전은비* · 박신영†

거제수협가공공장 · *경상국립대학교 해양산업연구소(학생) · †경상국립대학교(교수)

Effects of Single and Stepwise Low-Temperature Heat Treatments on the Reduction of *Clostridium sporogenes* Spores

Hyeon-Seo JO · Eun Bi JEON* · Shin Young PARK†

Geje Fisheries Cooperative Processing Plant · *Institute of Marine Industry, Gyeongsang National University(student) · †Gyeongsang National University(professor)

Abstract

This study investigated the effects of low-heat treatments on the reduction of *Clostridium sporogenes* spores in suspension at 85°C and 90°C. At 85°C, the initial population (5.16 log CFU/mL) showed limited reduction (0.17–0.39 log CFU/mL) within 1 min, with reductions exceeding 1 log CFU/mL after 3 min and reaching 4.83 log CFU/mL after 15 min without complete inactivation. In contrast, treatment at 90°C resulted in greater inactivation, achieving complete spore inactivation after 15 min. Thermal inactivation data obtained at both temperatures were analyzed using a first-order kinetics model. The resulting D-values were 2.99 min at 85°C and 2.06 min at 90°C, with correlation coefficients (R^2) of 0.99 for both conditions, indicating a high degree of model fitness and reliable description of the spore inactivation behavior. In addition, based on the FDA-recommended thermal processing conditions for pathogen control, stepwise low-heat treatments (67°C for 5 min, 72°C for 1 min, and 75°C for 1 min) were applied to *C. sporogenes*. The initial spore population was 5.24 log CFU/mL, and reductions of 0.26, 1.46, and 3.06 log CFU/mL were achieved after sequential application of the respective heating steps. These findings confirm the high thermal resistance of *C. sporogenes* spores and demonstrate that both prolonged single-temperature and stepwise heating effectively enhance spore reduction.

Key words : *Clostridium sporogenes*, Stepwise heat treatment, Low-temperature thermal processing, D-value

I. 서론

*Clostridium sporogenes*는 식품 부패와 관련하여 환경 전반에 널리 분포하는 포자형성 혐기성 세균이다. 이 균은 불리한 환경 조건에서도 생존이 가능하며, 식품의 가공 및 저장 과정에서 미생물학적 위해 요인으로 작용할 수 있다. 또한 독소

를 생성하지 않으면서도 *Clostridium botulinum*과 유사한 생리적·형태학적 특성을 나타낸다(Koukou et al., 2022). 이러한 특성으로 인해 *C. sporogenes*는 보툴리눔균의 대리균(surrogate)으로서 식품 열처리 공정의 유효성을 평가하는 데 활용되어 왔다.

한편, 식중독은 병원성 세균 자체에 의해서만

† Corresponding author : 055-772-9143, sypark@gun.ac.kr

발생하는 것이 아니라, 이들이 생성하는 독소에 의해서도 유발될 수 있다. 특히 식품 중 *C. botulinum*이 생성하는 보툴리눔 신경독소의 존재는 식품 안전 측면에서 중요한 문제로 인식되고 있다(Ścieżyńska et al., 2012). *Clostridium* 속 세균은 다양한 식품군에서 특징적으로 관찰되며, 육류, 가금류, 어류 및 해산물뿐만 아니라 후추, 오레가노, 계피와 같은 향신료에서도 검출되는 것으로 알려져 있다. 이러한 식품을 대상으로 한 밀봉 포장은 혐기성 환경을 조성함으로써 *C. sporogenes*를 포함한 *Clostridium* 속 미생물의 증식 위험을 증가시킬 수 있다(Kręgiel et al., 2018; Pinto et al., 2024).

식품의 가공기술 가운데 열처리 공정은 저온살균, 고온살균, 초고온살균 등 처리 온도에 따라 구분되고 있으며, 식품의 저장성, 편의성 및 수송성 등의 품질을 향상시키기 위해 널리 활용되고 있다. 열처리의 주된 목적은 식중독 미생물을 불활성화시키는 것으로, 식품공정에서 가장 일반적으로 적용되는 제어 방법 중 하나이다(Xu et al., 2019). 식품의 안전성과 저장성을 확보하기 위해 열처리 공정은 일반적으로 D값과 z값으로 표현되는 살균 동역학적 지표에 근거하여 설정된다. 가장 널리 적용되는 공정은 이른바 ‘보툴리눔 쿡(botulinum cook)’으로 알려진 12-D 열처리 공정으로, 이는 공중보건적 안전성 요구를 충족시키는 데 효과적이다(Awuah et al., 2007; Fardella et al., 2021). 그러나 이러한 공정은 비타민을 포함한 영양 성분의 손실뿐만 아니라 색상, 향미 및 조직감 변화 등 관능적 품질 저하를 초래할 수 있다. 아울러 특정 식품을 제외하고는 열처리 조건에서의 온도와 시간에 대한 구체적인 기준이 명확히 제시되지 않은 경우가 많다.

불충분한 열처리는 식중독 미생물을 완전히 불활성화시키지 못할 뿐만 아니라, 미생물이 열 스트레스에 적응하도록 유도할 가능성이 있다(Chen, 2017). 이러한 약한 스트레스에 노출된 미생물은 이후 다른 스트레스 조건들에 노출되었을

때 교차저항(cross-resistance)을 나타내는 특성을 보이기도 한다(Beales, 2004). 최근에는 편의성과 함께 보다 고품질이며 영양적으로 우수한 식품에 대한 소비자 요구가 증가함에 따라 최소가공 식품(minimally processed foods)이 새로운 식품군으로 부각되고 있다. Avila-Gaxiola et al.(2016)은 통조림 파파야 껍데기를 대상으로 비타민 C 함량, 점도 및 색도를 품질 지표로 설정하여 단일 열처리 조건이 아닌 가변 온도 조건(75°C/19.0분, 80°C/8.5분, 90°C/10.7분, 96°C/20.8분)을 적용함으로써 여러 온도 단계의 조합에 따른 적정 가공 조건을 도출하였다. 이러한 가변 온도 열처리는 식품 표면과 내부 간의 온도 편차를 감소시키는 데 기여할 수 있는 것으로 보고되었으며, 충분한 저장성을 확보하는 동시에 장시간 고온 처리로 인한 식품 품질 저하를 완화할 수 있는 것으로 나타났다(Simpson et al., 2020). 이러한 단계적 열처리 방법은 적절한 조건이 적용될 경우 미생물 저감 측면에서의 적용 가능성을 함께 검토할 필요가 있다.

따라서 본 연구에서는 이와 관련한 기초연구로서, 85°C 및 90°C에서 각각 30초, 1분, 3분, 5분, 10분 및 15분 동안의 단일 열처리와 67°C/5분, 67°C/5분 + 72°C/1분, 67°C/5분 + 72°C/1분 + 75°C/1분의 단계적 열처리 조건에 따른 현탁액 상태의 *Clostridium sporogenes* 저감 효과를 조사하였다. 아울러 수학적 모델링을 활용하여 본 열처리 조건에서 해당 식중독균의 불활성화를 나타내는 사멸 지표(D-value)를 분석하였다.

II. 연구 방법

1. 살균 대상 미생물 및 시료준비

본 연구에서는 *C. sporogenes* KCTC 5654를 사용하였다. 균주는 Reinforced Clostridial Medium (RCM; BD/Difco Laboratories, Detroit, MI, USA)에 30%(v/v) glycerol을 첨가하여 균주 stock을 제조

한 후, -80°C 에서 보관하였다. 실험에 사용하기 위해 보존된 균주는 RCM 10 mL에 접종하여 37°C 에서 24시간 동안 CO_2 인큐베이터를 이용한 혐기 조건에서 증균 배양하였으며, 동일한 조건에서 2회 계대 배양을 수행하였다. 배양이 완료된 균주는 원심분리(5,400 rpm, 10분)를 통해 세포를 회수하였고, 상등액을 제거한 후 pellet을 멸균 펌프수에 재현탁하였다. 최종적으로 조제된 *C. sporogenes* 현탁액의 균수는 약 10^6 CFU/mL로 측정되었다.

2. 저온 열처리

*C. sporogenes*의 현탁액은 85°C 와 90°C 에서 각각 30초, 1분, 3분, 5분, 7분, 10분 및 15분 동안 단일 노출되었다. 또한 순차적 열처리는 미국 식품의약국(FDA, 2007)에서 제시한 온도와 시간을 기준으로 수행하였으며, $67^{\circ}\text{C}/5\text{분}$, $67^{\circ}\text{C}/5\text{분} + 72^{\circ}\text{C}/1\text{분}$, $67^{\circ}\text{C}/5\text{분} + 72^{\circ}\text{C}/1\text{분} + 75^{\circ}\text{C}/1\text{분}$ 의 순서로 수행하였다. 노출 시간은 내부 온도가 목표 온도에 도달했을 때부터 시작되었으며, 온도 측정 시간은 각각 67°C , 72°C , 75°C , 85°C , 90°C 에서 2.4분, 2.9분, 3.1분, 5.5분, 6.2분으로 기록되었다. 각각의 열처리된 현탁액은 즉시 얼음물에서 10분 동안 냉각되었다.

3. 미생물 계수

*C. sporogenes*의 계수를 위해 각 열처리 조건 후 얻어진 현탁액은 0.85%(w/v) 멸균 생리식염수를 이용하여 10배 단계 희석하였다. 희석된 시료 1 mL를 멸균 펠트리디시에 분주한 후, Tryptic Soy Agar(TSA; Difco, Detroit, MI, USA)를 주입하여 혼합하였다. 배지는 응고 후 CO_2 인큐베이터에서 30°C 로 설정하여 24-48시간 동안 배양하였다. 배양 후 배지 표면에 형성된 colony를 계수하였으며, 미생물 수는 log CFU/mL로 환산하여 나타내었다.

4. 미생물의 D-value

열처리에 의한 *C. sporogenes*의 저감화 효과를 정량적으로 평가하기 위해 first-order kinetics model을 적용하여 D-value를 산출하였다. D-value는 일정한 열처리 조건에서 *C. sporogenes*의 균수가 90%(1 log) 감소하는 데 필요한 시간(min)으로 정의된다. D-value의 계산식(1)과 각 변수의 의미는 다음과 같다.

$$\text{Log}\left(\frac{N_t}{N_0}\right) = -\frac{t}{D} \dots\dots\dots (1)$$

- N_0 : 열처리 이전 *C. sporogenes*의 초기 균수 (CFU/mL)
- N : 열처리 후 *C. sporogenes*의 잔존 균수 (CFU/mL)
- t : 열처리 시간 (min)
- k : 열처리에 따른 사멸 속도 상수 (min^{-1})

따라서 D-value는 사멸 속도 상수(k)로부터 산출될 수 있으며, 여기서 k 는 단위 시간당 미생물 감소 속도를 나타내는 지표로, 열처리에 의해 *C. sporogenes*가 감소하는 정도를 정량적으로 설명하는 데 활용된다.

5. 통계분석

모든 분석은 3회 반복으로 수행되었으며, 관찰된 실험 결과는 SPSS 25 (IBM SPSS Statistics, SPSS Inc., Chicago, IL, USA) 프로그램을 이용하여 분석하였다. 각 실험군 간의 차이가 통계적으로 유의미한 경우($P < 0.05$), 3회 반복 실험의 평균값은 다중위검정법(Duncan multiple-range test)을 통해 분석하였다. 온도와 처리시간에 따른 미생물 감소 효과를 비교하기 위해 two-way ANOVA를 수행하였다. 두 집단 간 비교가 필요한 경우에는 독립표본 t-test를 적용하였다. 회귀분석이 수행된 항목에 대해서는 결정계수(R^2)를 통해 모형 적합도를 평가하였다.

III. 연구 결과

1. 85℃ 및 90℃ 저온 열처리에 따른 *C. sporogenes*의 살균효과 및 D-value

85℃ 및 90℃의 온도에서 다양한 처리 시간으로 열처리를 수행하여 *C. sporogenes*의 저감 효과를 <Table 1>에 제시하였다. 85℃의 경우 초기 농도는 5.16 log CFU/mL였으며, 0.5분 및 1분 처리 시 각각 0.17 log 및 0.39 log CFU/mL로 미미한 감소를 나타냈다. 3분 이상 열처리 시에는 1 log 이상 저감화되는 경향을 보였으며, 5분, 7분, 10분 및 15분 처리에서 각각 1.94, 2.65, 3.72 및 4.83 log CFU/mL 감소가 관찰되었다. 이러한 결과는 처리 온도와 시간의 증가에 따라 유의적인 감소를 나타내었다($P<0.05$). 그러나 15분 처리 이후에도 해당 조건에서는 완전한 불활성화에는 도달하지 못하였다. 온도와 처리시간에 따른 log reduction 값을 대상으로 two-way ANOVA를 수행한 결과, 온도와 시간 모두에서 유의적인 차이가 나타났으며($P<0.05$), 동일 처리시간에서 90℃ 조건이 85℃보다 더 큰 감소를 보였다. 처리 시간 증가에 따라 0.5분, 1분, 3분, 5분, 7분, 10분에서 각각 0.44, 0.74, 1.65, 2.71, 3.80, 4.83 log CFU/mL로 감소하였으며, 15분 처리 시에는 모두 불활성화 되었다(5.04 log CFU/mL). Wachnicka et al.(2016)의 보고에 의하면 *C. botulinum* 포자는 균주 및 회수 조건에 따라 열 저항성이 크게 달라질 수 있으나, 일반적으로 90℃에서 10분간의 가열은 포자 수를 약 6-log 수준으로 감소시키는 것으로 보고되었다. 이와 유사하게, Wang et al.(2012)은 *C. perfringens* 포자를 90℃ 및 100℃의 물에서 10-30 분간 처리하였을 때 90% 이상의 포자가 불활성화된다고 보고하였다. 또한 Champidou et al.(2024)의 연구에 따르면 인산완충용액에서 *C. botulinum* 포자를 80℃로 처리했을 때 D80 값은 0.7-0.8분으로 나타났으며, 실제 식품 매트릭스에서도 78-85℃ 범위의 열처리를 통해 포자 불활성

화가 가능함을 제시하였다.

<Table 1> Effect of low-heat treatment (85℃ and 90℃) on the reduction of *Clostridium sporogenes* in the suspension

Low-heat treatment (min)	Mean±SD of <i>Clostridium sporogenes</i>	
	85℃	90℃
Control	5.16 ± 0.22 ^{aA}	5.16 ± 0.1 ^{8aA}
0.5	4.99 ± 0.34 ^{bA}	4.60 ± 0.23 ^{bA}
1	4.77 ± 0.18 ^{bA}	4.30 ± 0.28 ^{bB}
3	4.01 ± 0.24 ^{cA}	3.39 ± 0.24 ^{cB}
5	3.22 ± 0.11 ^{dA}	2.33 ± 0.30 ^{dB}
7	2.51 ± 0.24 ^{eA}	1.24 ± 0.17 ^{eB}
10	1.44 ± 0.17 ^{fA}	0.21 ± 0.26 ^{fB}
15	0.33 ± 0.17 ^g	-

Within the same column, means with different letters a-f for 85℃ and a-d for 90℃ differ significantly ($P<0.05$) by Duncan's multiple range test.

Within the same row, means with different letters (A,B) differ significantly ($P<0.05$) by t-test.

The data indicates means with standard deviations (three samples/treatment).

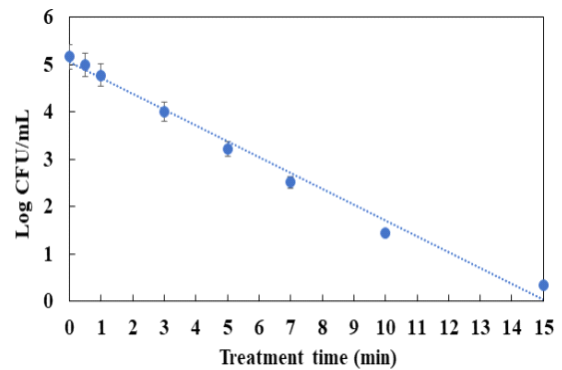
Clostridium 속 균주는 같은 종(species)일지라도 유전적 특성 및 포자 형성 조건에 따라 가열 처리 후 비활성화 동역학에 차이를 보일 수 있다. Lin et al.(2022)의 연구에서는 현탁액 조건에서 *C. perfringens* 포자를 80℃와 90℃에서 30분간 처리했을 때 각각 약 0.52 및 1.80 log CFU/mL의 감소가 관찰되었으며, 이는 본 연구결과보다 상대적으로 낮은 저감화 수준에 해당한다. 이러한 미생물의 열에 의한 사멸 정도 차이는 미생물의 생육 온도, 손상된 포자 회수율 및 배양에 따른 열 저항성 차이에 기인한 것으로 해석된다.

한편, 동일한 온도 범위에서 수행된 Jeon and Park(2024)의 연구에서는 *Listeria monocytogenes*를 대상으로 열처리를 수행한 결과, 각각 85℃/15분 및 90℃/7분 처리 시 완전한 불활성화가 달성되었다고 보고하였다. Park et al.(2022)의 연구에서

는 배 퍄레를 대상으로 70℃와 90℃에서 각각 15분 간 열수 처리를 했을 때, 일반세균수와 대장균이 모두 검출 한계 이하로 감소함을 확인하였다. 이는 비포자형성균을 대상으로 한 선행연구로 완전한 불활성화 결과는 배양 가능한 영양세포의 소실을 의미하는 것으로 해석될 수 있으며, 포자형성균의 경우 동일한 열처리 조건에서도 영양세포는 사멸되었을 수 있으나 내생 포자는 잔존했을 가능성을 배제할 수 없다. 비포자형성균과 포자형성균은 열에 반응하는 생리적 상태가 근본적으로 다르기 때문이다. 비포자형성균은 대사 활성 상태로 열에 의해 세포막 및 단백질이 빠르게 손상되는 반면, 내생 포자는 다층 구조의 코어(core), 펩티도글리칸으로 구성된 코텍스(cortex) 및 단백질성 포자외피로 이루어져 있으며, 특히 코어의 낮은 수분 함량과 DNA 보호 단백질의 존재로 인해 동일한 열처리 조건에서도 상대적으로 높은 내열성을 나타낸다(Setlow, 2014). 이러한 특성은 *Clostridium*속 포자가 일반적으로 높은 내열성을 갖는다는 기존 보고와도 일치한다. 이에 열처리 기준을 설정하기 위해서는 배지 또는 현탁액 조건에서 도출된 포자 불활성화 결과 보다 실제 식품 매트릭스, 식품의 조성, 수분함량 및 또는 생산 환경 조건을 고려하여 다양한 열처리를 수행함으로써 포자 저감 효과를 정량적으로 평가할 필요가 있다.

식품과학 및 공학 분야에서는 세균 및 포자의 불활성화를 정량적으로 평가하기 위해 일차 반응 속도(first-order kinetics) 모델이 일반적으로 사용된

다(Simpson et al., 2016). 본 연구에서는 85℃ 및 90℃ 조건에서 각각 0.5, 1, 3, 5, 7, 10, 15분 동안 *C. sporogenes*를 열처리한 후, 그 결과를 first-order kinetics model을 이용하여 분석하였다(<Table 2>). 또한 열처리에 따른 미생물의 불활성화는 일반적으로 처리 시간이 증가함에 따라 지수 함수적 감소 특성을 나타낸다. 이러한 특성으로 인해 생존 미생물 수를 반대수 좌표(semi-logarithmic scale)에 도시할 경우, colony forming unit(CFU)의 변화는 선형 관계로 표현될 수 있다([Fig. 1], [Fig. 2]). 이때 해당 직선의 기울기를 이용하여 초기 미생물 수 대비 90% 감소에 소요되는 시간인 D-value를 산출할 수 있다(Butscher, 2016; Choi et al., 2017). 1에 근접한 상관계수(R^2)는 모델 적용에 따른 D-value값이 사멸 패턴의 정확성을 보여주는 데 본 연구에서 85℃와 90℃ 조건 모두에서 R^2 값은 0.99로 나타나, 모델의



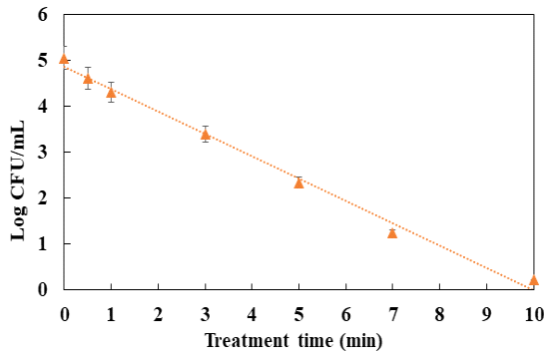
[Fig. 1] Effects of Low-Heat Treatment (85℃) on *Clostridium sporogenes* and Fitted Survival Curves from the First-Order Kinetics Model.

<Table 2> D-values of *Clostridium sporogenes* estimated using a first-order kinetics model at 85℃ and 90℃

Equation of first-order kinetic model			
Temperature	y=ax+b	Correlation coefficient (R ²)	D-values of low-heat treatment (min)
85℃	-0.334x + 5.0365	0.99	2.99 ± 0.04 ^a
90℃	-0.4851x + 4.8523	0.99	2.06 ± 0.02 ^b

Within the same row, means with different letters (a-b for each temperature).

The data indicates means with standard deviations (three samples/treatment).



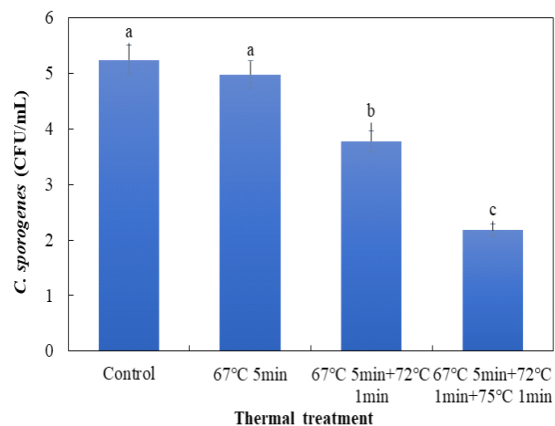
[Fig. 2] Effects of Low-Heat Treatment (90°C) on *Clostridium sporogenes* and Fitted Survival Curves from the First-Order Kinetics Model.

적합도가 매우 높은 것으로 확인되었다. 이에 따라 도출된 D-value는 85°C에서 2.99분, 90°C에서 2.06분으로, 처리 온도가 증가함에 따라 D-value가 감소하는 경향을 보였다. Redondo-Solano et al.(2016)은 *Clostridium difficile* 포자를 대상으로 한 연구에서 D-value가 85°C에서 4.93-5.95분, 90°C에서 1.16-1.76분 범위로 보고된 바 있다. 본 연구 결과는 90°C 조건에서는 유사한 수준을 보였으며, 85°C에서는 상대적으로 더 낮은 값을 나타냈다. 앞선 연구는 펩톤수 및 식품 내 조건에서 수행된 반면 본 연구는 현탁액 상태에서 진행되었기 때문에, 식품의 조성 차이에 따라 D-value에는 일부 차이가 나타날 수 있는 것으로 판단된다. 이러한 결과는 *C. sporogenes*의 생존률이 열처리 시간에 따라 선형적으로 감소함을 나타내며, 다양한 온도 조건에서의 미생물 저감화 효율성을 이해하는 데 중요한 정보를 제공한다.

2. 순차적 열처리에 따른 *C. sporogenes*의 살균효과

미국 식품의약국(FDA)의 *Fish and Fishery Products Hazards and Controls Guidance*에서는 수산물 및 수산물 가공품에서 병원성 미생물의 성장과 독소 형성을 제어하기 위한 시간-온도 지침

을 제시하고 있으며, *L. monocytogenes*의 경우 6-log 저감화를 달성하기 위한 열처리 조건으로 67°C에서 5분, 72°C에서 1분, 그리고 75°C에서 40초의 처리를 제안하고 있다(U.S. FDA, 2007). 다만, *L. monocytogenes*는 비포자성 세균으로, 포자를 형성하는 *Clostridium*속 미생물과는 내열 특성에서 차이를 보인다. 이에 본 연구에서는 FDA에서 제시한 병원성 미생물 제어를 위한 열처리 기준을 참고하되, 기존에 제안된 75°C에서 40초 처리 조건을 75°C에서 1분으로 조정하였다. 이러한 조건 하에서 *C. sporogenes*를 대상으로 수행한 열처리 저감화 효과를 [Fig. 3]에 제시하였다. 초기 *C. sporogenes*의 군수는 5.24 log CFU/mL로 측정되었다. 67°C/5분간 열처리한 결과, 군수는 4.98 log CFU/mL로 감소하여 0.26 log CFU/mL의 저감 효과가 나타났다. 이후 67°C/5분 처리 후 72°C/1분간 추가 열처리를 적용하였을 때, 군수는 3.78 log CFU/mL로 감소하여 총 1.46 log CFU/mL의 저감이 확인되었다. 또한 67°C/5분, 72°C/1분 처리에 이어 75°C/1분간 추가 처리한 경우에는 군수가 2.18 log CFU/mL로 감소하였으며, 이는 초기 군수 대비 3.06 log CFU/mL의 저감화 되었다.



[Fig. 3] Effect of sequential low-heat treatment (67°C for 5 min, 72°C for 1 min, 75°C for 1 min) on the reduction of *Clostridium sporogenes* in the suspension.

Jeon and Park(2024)은 *L. monocytogenes*를 대상으로 동일한 단계적 열처리를 적용한 결과 최종적으로 약 6 log CFU/mL 수준의 감소를 보고한 바 있다. 이에 비해 본 연구에서 사용한 *C. sporogenes*는 동일한 조건에서도 상대적으로 낮은 저감 수준을 보여, 포자 형성균이 비포자성 세균에 비해 높은 내열성과 열 저항성을 갖는다는 기존 보고와 유사한 경향을 나타냈다. 따라서 FDA에서 제시한 열처리 조건만으로는 완전한 불활성화에 한계가 있을 수 있음을 시사한다. 다만, 단계적으로 적용된 가열 처리에서도 미생물 감소가 지속적으로 나타났으며, 처리 단계가 증가함에 따라 생존율이 점진적으로 감소하는 경향을 보였다. 서론에서 언급한 바와 같이, 불충분한 열처리는 미생물의 열 스트레스 적응 및 교차저항을 유도할 가능성이 있으나, 본 연구의 단계적 가열 조건에서는 저온 처리 후 비교적 짧은 시간 간격으로 온도를 순차적으로 상승시킴으로써 세포 손상이 축적되는 동안 충분한 회복 및 적응이 이루어지기 전에 추가적인 열 스트레스가 가해졌을 가능성이 있다. 이러한 누적 손상은 세포막과 단백질 구조의 점진적인 변성을 유도하여 결과적으로 생존율 감소에 기여한 것으로 판단된다. Li et al.(2020)의 연구에 의하면 우유에 존재하는 호열성 미생물을 대상으로 80/85℃, 85/90℃, 80/90℃와 같은 유사한 온도에서 순차적 열처리를 적용한 경우보다 상대적으로 낮은 온도(73.5/125℃)에서 높은 온도로 순차적 열처리했을 때 검출 미량한계(1 log CFU/mL) 이하로 나타났다. 이는 단계적 가열이 미생물의 열 적응을 유도하기보다 세포 손상을 누적시키는 방식으로 작용할 수 있음을 뒷받침한다. 따라서 본 연구 결과는 최소가공수산물가공식품에서 포자 형성균 제어를 위한 열처리 조건 설정 및 단계적 가열 공정 설계에 기초자료로 활용될 수 있을 것으로 판단된다.

IV. 결 론

본 연구는 85℃ 및 90℃ 조건에서 다양한 열처리 시간이 *C. sporogenes*의 저감화에 미치는 영향을 평가하였다. 결과적으로, 85℃ 조건에서는 처리 시간이 증가함에 따라 군수가 점진적으로 감소하였으나 15분 처리 이후에도 완전한 불활성화에는 도달하지 못하였다. 반면, 90℃ 조건에서는 15분 처리 시 모든 균이 불활성화되었다. first-order kinetics 모델을 적용한 결과, D-value는 85℃ 및 90℃에서 각각 2.99분과 2.06분으로 나타났다. 두 조건 모두에서 R2값은 0.99로 나타나 모델의 적합성을 확인하였다. 또한 FDA의 지침에 따라 67℃/5분, 67℃/5분 + 72℃/1분, 그리고 67℃/5분 + 72℃/1분 + 75℃/1분의 조건을 *C. sporogenes*에 적용한 결과, 처리 단계가 추가됨에 따라 군수가 감소하는 경향을 보였으며 최종적으로 3.06 log CFU/mL의 저감화가 확인되었다. 종합적으로 본 연구는 포자 형성균인 *C. sporogenes*를 대상으로 열처리 온도, 처리 시간 및 단계적 가열 조건이 미생물 저감화에 미치는 영향을 정량적으로 제시하였다. 다만, 본 연구는 현탁액 조건에서 수행되었으므로 실제 식품의 조성 성분에 따라 미생물의 열 저항성과 사멸 효율이 달라질 수 있다. 따라서 향후 연구에서는 수산물가공식품(연육 기반 제품 등)과 같은 실제 식품 매트릭스를 고려한 추가 실험을 통해 열처리 공정의 적용 가능성을 검토할 필요가 있다.

References

- Avila-Gaxiola E, Delgado-Vargas F, Zazueta-Niebla J, Lopez-Angulo G, Vega-Garcia M and Caro-Correa J(2016). Variable retort temperature profiles for canned papaya puree. J Food Process Engineering, 39(1), 11~18.
<https://doi.org/10.1111/jfpe.12194>
- Awuah GB, Ramaswamy HS and Economides A(2007). Thermal processing and quality: principles and overview. Chemical Engineering and Processing, 46(6), 584-602.

- <https://doi.org/10.1016/j.cep.2006.08.004>
- Beales N(2004). Adaptation of microorganisms to cold temperatures, weak acid preservatives, low pH, and osmotic stress: A review. *Compr Rev Food Sci Food Saf.*, 3(1), 1~20.
<https://doi.org/110.1111/j.1541-4337.2004.tb00057.x>
- Butscher M(2016). Non-thermal plasma inactivation of microorganisms on granular food products. PhD Dissertation, ETH Zurich, Zurich, Switzerland.
- Champidou C, Ellouze M, Haddad N and Membre JM(2024). Modeling inactivation of non-proteolytic *Clostridium botulinum* type B spores in a plant-based fish alternative. *Front Microbiol.*, 15, 1509681.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1509681>
- Chen Z(2017). Stress responses of foodborne pathogens and implications in food safety. *J Food Microbiol Saf Hyg.*, 2, E103.
- Choi S, Puligundla P, and Mok C(2017). Effect of corona discharge plasma on microbial decontamination of dried squid shreds including physico-chemical and sensory evaluation. *LWT.*, 75, 323~328.
<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.08.063>
- Fardella M, Ramirez C, Caballero E, Sanchez E, Pinto M, Nunez H, Valencia P, Almonacid S and Simpson R(2021). Variable retort temperature profiles (VRTPs) and retortable pouches as tools to minimize furan formation in thermally processed food. *Foods.*, 10(9), 2205.
<https://doi.org/10.3390/foods10092205>
- Food and Drug Administration(FDA)(2007). *Foodborne Pathogenic Microorganisms and Natural Toxins Handbook: Listeria monocytogenes*. Silver Spring, MD, USA.
- Jeon EB and Park SY(2024). Effects of low-heat treatment on *Listeria monocytogenes* reduction. *JFMSE.*, 36(6), 1205~1212.
<https://doi.org/10.13000/JFMSE.2024.12.36.6.1205>
- Koukou I, Stergioti T, la Cour R, Gkogka E and Dalggaard P(2022). *Clostridium sporogenes* as surrogate for proteolytic *C. botulinum*: development and validation of extensive growth and growth-boundary model. *Food Microbiol.*, 107, 104060.
<https://doi.org/10.1016/j.fm.2022.104060>
- Kregiel D, Piatkiewicz A, Zakowska Z and Kunicka-Styczynska A(2018). Zanieczyszczenia mikrobiologiczne surowcow. In *Mikrobiologia Techniczna*. Libudzisz Z, Kowal K, and Zakowska Z, Eds. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warsaw, Poland, 2, 235~252.
- Li F, Hunt K, Buggy AK, Murphy KM, Ho QT, O'Callaghan TF, Butler F, Jordan K and Tobin JT(2020). The effects of sequential heat treatment on microbial reduction and spore inactivation during milk processing. *Int Dairy J.*, 104.
<https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2020.104648>
- Lin T, Bian H, Sun S, Wang X, Liu G and Wang D(2022). Inactivation of *Clostridium perfringens* C1 spores by the combination of mild heat and lactic acid. *Foods.*, 11(23), 3771.
<https://doi.org/10.3390/foods11233771>
- Park MK, Cho YS and Jang HW(2022). Optimization of hydrothermal treatment conditions for pear puree using the response surface methodology. *J Korean Soc Food Sci Nutr.*, 51(11), 1205~1214.
<https://doi.org/10.3746/jkfn.2022.51.11.1205>
- Pinto CA, Mousakhani Ganjeh A, Barba FJ and Saraiva JA(2024). Impact of pH and high-pressure pasteurization on the germination and development of *Clostridium perfringens* spores under hyperbaric storage versus refrigeration. *Foods.*, 13(12), 1832.
<https://doi.org/10.3390/foods13121832>
- Redondo-Solano M, Burson DE and Thippareddi H(2016). Thermal resistance of *Clostridium difficile* spores in peptone water and pork meat. *J Food Prot.*, 79(9), 1468~1474.
<https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-15-579>
- Sciezyńska H, Mackiw E, Maka L and Pawłowska K(2012). Nowe zagrożenia mikrobiologiczne w żywności. *Rocz Panstw Zakl Hig.*, 63, 397~402.
- Setlow P(2014). Germination of spores of *Bacillus* species: what we know and do not know. *J Bacteriol.*, 196(7), 1297~1305.
<https://doi.org/10.1128/JB.01455-13>
- Simpson R, Jimenez D, Almonacid S, Nunez H, Pinto M and Ramirez C, Vega O, Fuentes L and Angulo A(2020). Assessment and outlook of variable retort temperature profiles for the thermal processing of packaged foods: plant productivity, product quality, and energy consumption. *J Food Eng.*, 275, 109839.
<https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2019.109839>
- Simpson R, Nunez H and Ramirez C(2016). Principles

- of thermal processing of packaged foods. In Thermal Processing of Packaged Foods. Springer.
- Wachnicka E, Stringer SC, Barker GC and Peck MW(2016). Systematic assessment of nonproteolytic *Clostridium botulinum* spores for heat resistance. *Appl Environ Microbiol.*, 82(19), 6019~6029.
<https://doi.org/10.1128/AEM.01737-16>
- Wang G, Paredes-Sabja D, Sarker MR, Green C, Setlow P and Li YQ(2012). Effects of wet heat treatment on the germination of individual spores of *Clostridium perfringens*. *J Appl Microbiol.*, 113(4), 824~836.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2012.05387.x>
- Xu A, Chuang S, Scullen OJ, Huang L, Sheen S, Sheen LY, Johnson JR and Sommers CH(2019). Thermal inactivation of extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* suspended in ground chicken meat. *Food Control.*, 104, 269~277.
<https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2019.05.001>
-
- Received : 14 January, 2026
 - Revised : 11 February, 2026
 - Accepted : 18 February, 2026