

(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(51) Int. Cl. ⁶ A23L 3/005	(11) 공개번호 특2000-0016830
	(43) 공개일자 2000년03월25일
(21) 출원번호 10-1999-0004091	
(22) 출원일자 1999년02월06일	
(30) 우선권주장 1019980035303 1998년08월28일 대한민국(KR)	
(71) 출원인 변유량	
(72) 발명자 하구용	서울특별시 서대문구 연희동 117-14번지
	서울특별시용산구한남2동683-9020/2
	정태범
	서울특별시강남구신사동600-12/4
	신정규
	경기도수원시장안구조원동750-2013/4
	목철균
	서울특별시서대문구홍제1동82번지한양아파트106동206호
	변유량
	서울특별시서대문구연희동117-14
(74) 대리인 이한영	

심사청구 : 있음

(54) 고전압펄스전기장을이용한주류및식음료의비열살균방법

요약

본 발명은 고전압 펄스 전기장(high voltage pulsed electric fields)을 이용한 주류 및 식음료에 대한 비열 살균방법에 관한 것이다. 좀 더 구체적으로, 본 발명은 주류 또는 식음료를 넣은 용기에 순간적으로 특정 범위의 고전압 펄스 전기장을 가하여 이들의 변패에 작용하는 미생물을 비열 살균함으로써, 이들 주류 또는 식음료의 저장성을 연장시키는 동시에 품질을 향상시키는 방법에 관한 것이다. 본 발명의 비열 살균방법은 주류와 식음료를 전극 간격이 0.1 내지 1.0cm인 고전압 펄스 전기장 장치의 회분식 또는 연속식 처리 용기에 넣고, 실온에서 또는 저온 열처리 단계를 병용하여 전기장 세기 1 내지 200kV/cm, 보다 바람직하게는 5 내지 45kV/cm, 펄스폭 0.1μs 내지 1ms, 주파수 1Hz 내지 5kHz의 고전압 펄스를 1회 내지 5만회 적용시키는 단계를 포함한다. 이러한 본 발명의 비열살균방법을 이용하면, 약·탁주 등의 주류나 야채나 과일주스 등의 식음료에 대한 비열살균이 가능하게 되어, 주류 및 식음료의 품질이 변화되지 않으면서 신선도가 유지되어 이들을 장기간에 걸쳐 보관할 수 있다.

대표도

도1

명세서

도면의 간단한 설명

도 1은 본 발명의 고전압 펄스 전기장 처리를 한 약주 및 탁주의 저장 중 산도의 변화를 나타낸 그래프이다.

발명의 상세한 설명

발명의 목적

발명이 속하는 기술 및 그 분야의 종래기술

본 발명은 고전압 펄스 전기장(high voltage pulsed electric fields, 이하 'PEF'라 한다)을 이용한 주류 및 식음료에 대한 비열 살균방법에 관한 것이다. 좀 더 구체적으로, 본 발명은 약·탁주 등의 주류나 야채 및 과일주스 등의 식음료를 넣은 용기에 순간적으로 특정 범위의 고전압 펄스 전기장을 가하여

주류 및 식음료의 변패에 작용하는 미생물을 비열 살균함으로써, 이들 주류 및 식음료의 저장성을 연장시키는 동시에 품질을 향상시키는 방법에 관한 것이다.

감미, 산미, 신미, 고미 및 삼미 등의 맛이 고르게 조화된 약탁주는 우리의 전통주 가운데에서도 그 역사가 가장 오래된 것으로, 쌀을 주원료로 하고 누룩을 발효제로 하여 양조되었다. 그러나, 1938년경에 일본으로부터 아스퍼질러스 가와치(*Aspergillus kawachii*) 종균이 도입되고, 이의 입국(koji)이 약탁주의 양조에 적용되면서 전통적인 누룩의 사용이 점차 감소되었으며, 1963년에 정부의 양곡관리법 공포에 의하여 약탁주의 주원료인 쌀을 전량 소맥분으로 대체하게 되어, 전통적인 의미의 약탁주는 거의 사라지게 되었다. 그러다가, 1980년대에 들어 경제 발전과 함께 민속고유의 문화를 재조명하고 전통을 이어가자는 여론에 따라 전통 민속주의 생산이 가능하게 되었고, 1994년부터는 모든 법인에게 주류가 허용되면서 전통 민속주의 활성화가 한층 더 고조되었다.

그러나, 이러한 상황에도 불구하고, 전통주의 저장 기간이 짧고, 소비자의 기호에 맞는 품질 향상 및 제품 개발 노력이 미진하였던 결과, 소비량이 점차 감소되고 있는 실정이다. 과거에는 약탁주를 수작업과 옹기를 이용하여 발효하였으나, 현재는 자연적 오염 경로에 의존하였던 재래식 제법에서 탈피하여, 인위적으로 아스퍼질러스 가와치를 증자한 밀가루분이나 쌀에 접종시켜 누룩을 대체하고 사입할 때, 건조 분말 형태의 탁주 효모를 일정량 접촉시켜 약탁주를 제조하고 있다. 이러한 제조방법에 따르면, 고유의 전통적인 약탁주의 맛은 다소 희석되지만, 제조 방법이 간편하여 대량 생산이 가능하고 비교적 균일한 제품을 얻을 수 있다.

한편, 약탁주에는 유코(*Mucor*), 리조푸스(*Rhizopus*), 아스퍼질러스(*Aspergillus*) 속을 포함하는 곰팡이, 사카로마이세스(*Saccharomyces*), 피치아(*Pichia*), 캔디다(*Candida*), 토룰롭시스(*Torulopsis*) 및 한세놀라(*Hansenula*) 속을 포함하는 효모, 마이크로코코스(*Micrococcus*), 바실러스(*Bacillus*), 에어로박터(*Aerobacter*) 및 슈도모나스(*Pseudomonas*) 속을 포함하는 세균이 살아 있는 발효 식품인 관계로 저장 및 유통 기간 중에도 발효와 숙성이 계속 진행되고, 그에 따라 탄산가스가 발생하여, 유통기간이 길어질 경우에는, 초산 발효에 따라 산패 현상이 일어나는 등의 문제가 있었다. 이 때문에, 살균되지 않은 막걸리의 유통, 특히 비교적 유통 기간이 긴 소포장 제품의 경우에는, 막걸리의 신선도를 유지하기 위하여 주로 저온을 유지하면서 유통시키고 있는 형편이다.

이와 같이 약탁주의 부패와 산패의 원인은 발효액 중에 존재하는 잡균과 효모에 의한 것으로서, 곡자 또는 공기 중의 젖산균에 의하여 젖산이 생성되거나, 생성된 알콜이 초산균이나 낙산균에 의하여 초산이나 낙산이 생성되기 때문이다. 약탁주의 후발효에 주로 관여하는 것은 효모로서, 현재 약탁주 생성 공정에서 발효를 일으키는 효모는 사카로마이세스 세레비자에(*Saccharomyces cerevisiae*)로 알려져 있으며, 현재 시판되고 있는 종균이 사카로마이세스 세레비자에 분말상이다. 그러나, 시판 약탁주 중에는 사카로마이세스 세레비자에 이외에도 오염된 사카로마이세스 프레토리엔시스(*S. pretoriensis*), 사카로마이세스 로욱시(*S. rouxii*), 한세놀라 아노말라(*Hansenula anomala*), 피치아 폴리모르파(*Pichia polymorpha*) 등 몇 가지 효모가 혼합되어 있는 상태이며 제조 원료와 방법에 따라 차이가 있다.

한편, 약탁주는 발효 과정이 끝난 후에 살균 과정을 거치지 않고, 여과 과정이 철저하지 않기 때문에, 콜로이드성 고분자화물이 많이 현탁되어 있고, 이로 인하여 약탁주는 후숙에 의한 품질 향상을 기대하기 어려울 뿐만 아니라, 출고 후에 오히려 후발효가 계속 진행되어 3 내지 5일이면 변패되어 폐기 처분된다. 탁주의 저장 조건에 따른 미생물 및 이화학적 특성을 조사한 바에 의하면, 시판 탁주는 5 내지 10℃에서 36시간 품질이 유지되고, 30 내지 35℃에서는 6시간 이후 변질되기 시작하였으며, 생효모수는 고온에서 18시간 경과시 최고 값인 2.4×10^8 , 저온에서는 36시간 후 2.4×10^8 이 되었고, 저온 저장에서는 신선도가 3일간 연장되었다(참조: 정자훈 등, 한국농화학회지, 28:252(1989)). 이와 같이 약탁주의 현대화, 산업화를 위해서 무엇보다 중요한 것은 효모를 불활성화시키고, 일부 부패 세균을 사멸시켜 저장성을 향상시키는 것이다.

이러한 저장성의 문제점을 해결하기 위하여, 저온살균을 이용하여 잡균 또는 초산균을 사멸시키는 방법(참조: 대한민국 특허공고 제 72-237호), 감마선(γ -ray)과 가열처리를 병행하는 방법(참조: 이근배와 김종협, 한국미생물학회지, 7:46(1969)) 및 열 교환기를 이용하여 저온 살균하는 방법(참조: 이철호 등, 한국식품과학회지, 23:44(1991)) 등이 제시되었으며, 최근에는 테트라팩(Tetra-pak), 통조림 등에 포장한 살균 제품이 일부 시판되고 있다. 그러나, 이러한 방법들은 가열 처리에 의하여 일부 미생물을 가열시켜 저장시키는 것으로서, 제품의 저장성은 어느 정도 연장시킬 수는 있지만, 열처리에 따라 화독 냄새와 같은 강한 이취가 발생하고 쓴맛이 생기며, 변색, 청량감의 상실 및 층이 분리되는 등의 물리적 성상 변화가 일어나 상품성이 현저히 떨어지는 문제가 있다.

한편, 최근 소비자들의 건강과 천연 지향적인 가공 식품에 대한 선호가 증가함에 따라, 여러 식음료의 제조에 대한 관심이 높아지고 있다. 이러한 예로, 당근 등의 야채나 사과 등의 과실을 이용하여, 이들을 마쇄, 착즙하여 주스를 얻는 방법이 일반적으로 널리 사용되고 있다. 그러나, 이러한 야채나 과실을 이용한 주스의 제조공정은 일반적으로 주스 고유의 pH가 6.1 내지 6.3 정도의 중성범위에 위치하기 때문에, 매우 높은 온도에서 장시간 처리해야만 적절한 살균효과를 기대할 수 있다. 따라서, 이러한 방법에 의해 제조된 주스는 주스내의 단백질 등이 열변성을 일으켜, 특히, 당근 등의 경우 카로테노이드 색소와 함께 침전하게 되며, 그 결과, 층분리가 이루어져 주스 상층부는 고유의 색상을 소실하게 되어 제품으로서의 가치를 상실하게 되는 문제점이 발생한다.

이러한 문제점을 해결하기 위하여, 야채나 과실에 우선 열처리하여 열에 불안정한 물질을 변형시킨 후, 박피, 마쇄, 착즙하여 원심분리 또는 필터프레스 등에 의해 주스를 얻고, 살균, 냉동 보관하는 방법이 상업적으로 널리 사용되고 있다.

그러나, 이러한 방법은 안정한 주스의 제조를 위해서는 바람직하지는 하나, 야채 등을 통채로 열처리하여야 하므로 30분에서 길게는 45분까지의 장시간 열처리하여야 하는 문제점과, 이러한 열처리에 의해 야채, 특히 당근류에서 카로테노이드가 과즙으로 이행하지 않고 펄프에 다량 잔존하게 되며, 공정이 회분식으로 되어 연속공정이 어렵고, 또한 많은 인원이 필요하게 되어 비경제적인 문제점이 발생하게 된

다. 게다가, 착즙공정에서는 원심분리 또는 필터프레스 착즙으로 펄프 중의 맛 성분을 충분히 추출하지 못하게 되어, 착즙율이 50 내지 60%로 낮은 문제점이 발생하게 된다. 또한, 유통과정과 저장 중의 유해 미생물의 증식을 방지하기 위해 주스내에 유기산, 인산, 구연산 등의 산을 첨가하여 주스의 pH를 4.0 이하로 낮추는 방법을 이용하고 있는데, 이때 사용되는 산에 의해서 바람직하지 않은 산맛(acid taste)이 생성되는 바, 이의 보완을 위해 액상과당, 설탕, 정제염 등의 첨가물을 넣어야만 하는 등 복잡한 공정을 거쳐 제품화되는 문제점이 발생하게 된다.

따라서, 전래의 전통 발효주 및 야채나 과일 등의 식음료의 고유한 맛을 유지시키면서, 저장성을 연장시키는 새로운 살균방법을 개발하여야 할 필요성이 급격히 대두되고 있다.

발명이 이루고자하는 기술적 과제

이에, 본 발명자들은 주류 및 식음료의 신선도를 유지하면서 장기간 보관하기 위한 살균방법을 개발하고자 예의 연구 노력한 결과, 주류 및 식음료를 특수한 용기에 통과시키면서 고전압 펄스 전기장을 순간적으로 처리하면 변질의 주 원인균인 대장균과 효모를 사멸시킬 수 있으며, 특히 품질에 영향을 주지 않을 정도의 저온으로 순간 승온시킴과 동시에 고전압 펄스 전기장을 병용 처리함으로써, 더욱 효과적으로 살균할 수 있다는 것을 확인하고, 본 발명을 완성하게 되었다.

결국, 본 발명의 주된 목적은 고전압 펄스 전기장 처리에 의하여 주류 및 식음료의 신선도를 향상시키고, 저장성을 연장시키는 동시에 에너지를 현저히 절약할 수 있는 주류 및 식음료에 대한 비열 살균방법을 제공하는 것이다.

발명의 구성 및 작용

최근 미생물을 사멸시키기 위한 새로운 방법으로서, 고전압 펄스 전기장 처리법이 세계적으로 활발히 연구되고 있다. 이 방법에 의하면, 살균하고자 하는 액체식품을 특수 제작한 고전압 펄스 전기장 처리 용기에 통과시키면서 순간적으로 고전압 펄스를 가하여, 액체식품 내에 존재하는 미생물의 세포막을 파괴시켜 열을 가하지 않고도 효과적으로 미생물을 살균시킬 수 있다. 이 고전압 펄스 전기장에 의한 미생물의 불활성화는 처리중 온도가 거의 상승하지 않고 처리 시간이 짧으며 연속 처리가 가능하고, 처리 후에 식품의 물리적·화학적 및 영양학적인 특성들이 거의 변하지 않으며, 재래 가열 조작에 비하여 에너지 소비량이 거의 1/10로 감소되기 때문에 최근 관심이 집중되고 있는 비열 살균 기술로 알려져 있다.

본 발명은 이러한 종래의 고전압 펄스 전기장에 의한 비열 살균 기술을 개선한 주류와 식음료의 비열 살균방법으로서, 본 발명에 따르면 실온에서 또는 품질에 손상을 주지 않을 정도의 저온 열처리 단계에서도 효과적으로 효모를 불활성화시키고, 부패 세균을 사멸시킨다.

이하, 본 발명을 보다 상세히 설명하고자 한다.

본 발명의 비열 살균방법은 주류와 식음료를 전극 간격이 0.1 내지 1.0cm인 고전압 펄스 전기장 장치의 회분식 또는 연속식 처리 용기에 넣고, 실온에서 또는 저온 열처리 단계를 병용하여 전기장 세기 1 내지 200kV/cm, 보다 바람직하게는 5 내지 45kV/cm, 펄스폭 0.1 μ s 내지 1ms, 주파수 1Hz 내지 5kHz의 고전압 펄스를 1회 내지 5만회 적용시키는 단계를 포함한다.

본 발명의 주류 및 식음료의 비열 살균방법에 사용하는 고전압 펄스 전기장 장치는 2개의 전극 사이에 주류 및 식음료를 넣고 고전압 전기장을 순간적으로 방전시켜 처리하는 장치로서, 이 장치의 기본적인 요소는 직류전원장치(DC power supply), 에너지를 저장하기 위한 충전기(capacitor), 저장된 에너지를 순간적으로 방전하는 스위칭(switcing) 장치, 그리고 식품의 처리를 위한 용기(chamber)로 이루어져 있다.

본 발명에서 사용되는 고전압 펄스 형태로는 익스포넨셜 웨이브 펄스(exponential wave pulse), 스퀘어 웨이브 펄스(square wave pulse), 삼각파(triangular wave pulse), 바이폴라 펄스(bipolar pulse), 진동 펄스(oscillatory pulse)가 사용될 수 있으나, 바람직하게는 익스포넨셜 웨이브(exponential wave)와 스퀘어 웨이브(square wave)를 사용한다.

이와 같은 고전압 펄스를 지닌 전기장을 이용하여 본 발명에 따른 비열효과와 함께 오염균인 미생물의 불활성화를 통해 살균 효과를 얻을 수 있는 기작은 전기의 고전압 펄스가 미생물의 세포막을 손상시키는 것이 직접적인 원인이다. 즉, 세포막은 축전지로 간주할 수 있으며, 외부에서 강한 전기장이 가해지면 세포막 사이의 전위차가 증가하게 되고, 세포막의 양쪽 표면에 발생된 전하는 반대 전하를 가지므로 두 전하 사이에 인력이 작용하게 된다. 이러한 인력은 세포막을 압축시키고 막의 두께를 감소시킨다. 따라서, 두께가 감소된 세포막 사이의 인력은 더욱 증가하게 되고, 그 결과 증가된 인력은 세포막의 두께를 더욱 감소시킴과 동시에 세포막 양쪽의 같은 전하들은 반발력을 형성하게 된다. 이러한 작용이 계속 되면 결국 세포막에 세공(pore)이 형성되고 외부 전기장의 세기가 일정 수준 이상이 되면, 비가역성 세공이 형성되어 세포막이 파괴되므로 미생물은 결국 사멸되게 된다. 또한, 방전시간은 ms(10^{-3} sec) 내지 μ s(10^{-6} sec) 단위에서 일어나며 펄스와 펄스사이의 간격을 펄스 폭보다 훨씬 길게 만들어, 식품에 펄스를 반복 처리하여도 실제 처리시간(1 sec이하)은 매우 짧기 때문에, 식품은 거의 가열되지 않으면서 살균효과를 얻을 수 있게 된다.

또한, 본 발명의 비열 살균법은 적용대상인 주류 및 식음료의 품질에 손상을 주지 않는 범위에서 주류 및 식음료의 온도를 4 내지 95 $^{\circ}$ C, 보다 바람직하게는 25 내지 65 $^{\circ}$ C로 순간 승온시키는 저온 열처리 단계와 고전압 펄스 전기장 처리 단계를 병용하는 것이 더욱 바람직하다.

본 발명의 주류 및 식음료의 비열 살균방법은 상기 설명한 바와 같은 고전압 펄스에 의한 미생물의 불활성화 기작을 이용하여, 고온 열처리 살균 단계 없이도 실온에서 또는 품질에 손상을 주지 않을 정도의

저온 열처리 단계와 병용 처리함으로써, 효과적으로 미생물을 사멸시킬 수 있다.

이하, 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세히 설명하기로 한다. 이들 실시예는 오로지 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로, 본 발명의 요지에 따라 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되지 않는다는 것은 당업계에서 통상의 지식을 가진 자에게서 자명할 것이다.

실시예 1: 익스포넨셜 웨이브에 의한 탁주의 고전압 전기장 처리

시중에서 구입한 적숙기의 탁주 1ml를 전극 간격이 0.4cm인 고전압 펄스 전기장 회분식 처리 용기에 넣고 실온에서 5 내지 25kV/cm의 전기장의 세기로 펄스폭 1.5μs의 익스포넨셜 웨이브 펄스를 128 및 256회 가하였다. 그런 다음, 처리한 탁주를 단계희석(serial dilution)하여, 효모만 자랄 수 있는 감자 포도당 아가(potato dextrose agar)에 도말하고, 30℃에서 24시간 배양한 후 자라난 효모의 콜로니(colony) 수를 측정하여, 그 결과를 하기 표 1에 나타내었다.

[표 1]

익스포넨셜 웨이브 펄스 처리시 탁주의 생균수의 변화(단위: CFU/ml)

펄스수	5kV/cm	15kV/cm	25kV/cm
무처리	2.11×10^8	2.11×10^8	2.11×10^8
128	9.33×10^7	1.42×10^7	2.72×10^6
256	8.01×10^7	6.50×10^6	2.63×10^6

상기 표 1에서 보듯이, 고전압 펄스 처리했을 경우 25kV/cm의 고전압으로 256회의 펄스를 가하여 약 99%의 살균효과를 얻을 수 있었다. 그러나, 이 결과는 기존의 열처리 살균을 대체할 만한 만족스러운 결과는 아닌 것으로 판단되었다.

실시예 2: 스퀘어 웨이브에 의한 탁주의 고전압 펄스 전기장 처리

걸어준 펄스의 형태를 스퀘어 웨이브를 이용하는 것을 제외하고는, 실시예 1과 동일한 방법으로 고전압 펄스 전기장을 처리하였다. 그런 다음, 효모의 생균수를 측정하여, 그 결과를 하기 표 2에 나타내었다.

[표 2]

스퀘어 웨이브 펄스 처리시 탁주의 효모생균수의 변화(단위: CFU/ml)

펄스수	5kV/cm	15kV/cm	25kV/cm
무처리	1.67×10^8	1.67×10^8	1.67×10^8
128	9.88×10^7	1.95×10^5	2.20×10^4
256	7.67×10^7	9.54×10^4	2.00×10^4

상기 표 2에서 보는 바와 같이, 탁주를 스퀘어 웨이브 펄스 처리한 경우 25kV/cm 전압으로 256회 펄스를 걸어주면, 효모 생균수가 초기 균수의 약 일부분의 일로 감소되었다. 즉, 99.99% 살균되어 실시예 1의 익스포넨셜 웨이브 펄스에 비해 살균 효과가 우수함을 알 수 있다. 결국, 표 1과 표 2에서 알 수 있는 바와 같이, 전압과 처리 시간을 증가시키면 살균 효과가 증가되므로, 전압과 펄스수를 증가시키면 효모를 효과적으로 살균할 수 있음을 알 수 있었다.

실시예 3: 탁주의 저온 열처리와 고전압 펄스 전기장 처리의 병용

아크릴과 스테인리스로 특수 제작한 라운드 형태의 용기에 탁주를 넣고 밀폐한 후, 15kV/cm의 전기장의 세기로 펄스의 수와 용기의 온도를 변화시키면서, 열처리 단계와 병합하여 실시예 1과 동일한 방법으로 고전압 펄스 전기장 처리하고, 효모의 사멸율을 측정하여, 그 결과를 하기 표 3에 나타내었다.

[표 3]

저온 열처리와 고전압 펄스 전기장 처리의 병용시 탁주의 효모 생균수 변화(단위: CFU/ml)

펄스수	25℃	45℃	50℃	55℃
무처리	1.04×10^8	1.04×10^8	1.04×10^8	1.04×10^8
32	7.30×10^6	2.96×10^4	7.21×10^2	2.25×10^2
64	5.02×10^6	5.12×10^3	0	0
128	6.14×10^6	7.04×10^2	0	0
256	2.54×10^6	6.26×10^2	0	0

상기 표 3에서 보는 바와 같이, 탁주의 품질에 영향을 주지 않을 정도의 저온으로 가열하여 고전압 펄스 전기장과 병용 처리를 한 결과, 50℃이상의 처리 온도에서 15kV/cm, 64회의 펄스만으로도 효모를 완전히 사멸시킬 수 있었다. 약탁주를 가열할 경우, 화독 냄새, 쓴맛의 생성 등은 65℃ 이상으로 가열했을 때 현저히 생성되며, 60℃ 이하에서 단시간 가열한 경우에는 거의 품질 변화가 없었다. 그러므로, 품질에 거의 손상을 주지 않을 정도의 저온 가열과 고전압 펄스 전기장 처리를 병용함으로써, 매우 효과적으로 살균할 수 있음을 알 수 있었다.

실시예 4: 연속식 처리 용기를 사용한 약주의 고전압 펄스 전기장 처리

시판 약주를 특수 제작한 연속 처리용기를 사용하여, 전기장의 세기를 달리하면서 실온에서 고전압 펄스 전기장 처리를 하였다. 전기장의 세기 25 내지 45kV/cm, 100Hz로 익스포넨셜 웨이브 형태의 펄스를 걸어 주었으며, 처리시간에 따른 미생물의 사멸율을 측정하였다. 효모는 감자 포도당 아가 배지를, 젖산균은 MRS 배지를 각각 사용하여 단계회석법으로 생균수를 측정하였다.

[표 4]

고전압 펄스 전기장 처리시 약주의 효모 및 젖산균수의 변화(단위: CFU/ml)

처리시간 (μ s)	효모			젖산균		
	25kV/cm	35kV/cm	45kV/cm	25kV/cm	35kV/cm	45kV/cm
0	2.0×10^5	2.0×10^5	2.0×10^5	1.5×10^5	1.5×10^5	1.5×10^5
500	7.4×10^4	2.2×10^3	5.8×10^2	3.4×10^4	8.2×10^2	5.3×10^2
1000	3.8×10^4	1.8×10^2	2.6×10^1	8.8×10^3	1.0×10^2	9.2×10^1
1500	2.2×10^4	1.2×10^1	0	5.2×10^3	2.5×10^0	3.7×10^0
2000	1.1×10^4	5×10^0	0	3.2×10^3	1.3×10^0	0

상기 표 4에서 보는 바와 같이, 약주의 초기 미생물수는 효모 2.0×10^5 CFU/ml, 젖산균 1.5×10^5 CFU/ml였으며, 약주의 전기 전도도는 약 1.2mS/cm이었다. 전기장의 세기가 25kV/cm일 때, 처리 시간에 따른 살균 효과는 미미하였으나, 전기장의 세기가 증가할수록 살균 효과는 현저히 증가하였다. 특히, 45kV/cm의 고전압 펄스를 걸어주고, 효모는 1500 μ s, 젖산균은 2000 μ s동안 처리했을 때 거의 완전히 사멸되었다.

실시예 5: 고전압 펄스 전기장 처리로 살균한 약주와 탁주의 저장기간 측정

신선한 약주와 탁주를 구입하여 실시예 4에서와 동일한 연속 처리용기를 사용하여 전기장의 세기 35kV/cm, 100Hz로 익스포넨셜 웨이브 형태의 펄스를 5000 μ s동안 걸어주어 실온에서 살균하였다. 고전압 펄스 전기장 처리로 살균한 약주와 탁주를 30℃의 항온조에 저장하면서, 일정한 시간 간격으로 시료를 채취하여 효모 균수와 산도 변화를 측정하였다. 도 1에서 보는 바와 같이, 처리하지 않은 대조구인 경우 생탁주의 산도는 저장 3일까지 비교적 완만히 증가하였다가, 그후 저장 7일까지 급격히 증가하였으며 그 이후는 완전히 산패되었다. 이에 비해 고전압 펄스 전기장 처리를 한 실시예의 경우, 탁주는 저장 2주 동안 거의 변화가 없었다. 한편, 약주의 초기 산도는 탁주보다 훨씬 낮지만, 역시 처리하지 않은 생약주는 저장 4주 동안 산도가 계속 증가하였고, 고전압 펄스 전기장 처리로 살균한 약주는 처음 산도를 그대로 유지하였다. 또한, 고전압 펄스 전기장 처리로 살균한 약주와 탁주는 저장 기간 효모의 증식은 관찰되지 않았다.

실시예 6: 익스포넨셜 웨이브에 의한 당근쥬스의 고전압 전기장 처리

시중에서 구입한 당근쥬스에 대장균(*Escherichia coli*)을 접종하고 초기균수가 1.0×10^8 이 되도록 하였다. 당근쥬스 1ml를 전극 간격이 0.4cm인 고전압 펄스 전기장 회분식 처리 용기에 넣고, 실온에서 10 내지 40 kV/cm의 전기장 세기로 펄스폭 0.8 μ s의 익스포넨셜 웨이브 펄스를 8 내지 256회 가하였다. 그런 다음, 처리된 당근쥬스를 단계회석하고, 영양배지에 도말하여 37℃에서 24시간 인공배양하여 자라난 콜로니수를 측정하고, 그 결과를 하기 표 5에 나타내었다.

[표 5]

익스포넨셜 웨이브 펄스처리시 당근쥬스의 생균수 변화(단위: CFU/ml)

구분		전기장 세기 (kV/cm)						
		10	15	20	25	30	35	40
펄스 수	부처리	1.0×10^8	1.0×10^8	1.0×10^8	1.0×10^8	1.0×10^8	1.0×10^8	1.0×10^8
	8	9.1×10^7	8.9×10^7	8.8×10^7	8.5×10^7	8.2×10^7	8.0×10^7	7.5×10^7
	16	8.9×10^7	8.5×10^7	8.2×10^7	7.6×10^7	7.1×10^7	6.9×10^7	6.4×10^7
	32	6.7×10^7	5.0×10^7	3.6×10^7	2.8×10^7	9.8×10^6	8.7×10^6	8.2×10^6
	64	3.4×10^7	9.2×10^6	8.4×10^6	8.0×10^6	7.6×10^6	6.5×10^6	5.7×10^6
	128	5.1×10^6	3.8×10^6	2.8×10^6	1.7×10^6	8.9×10^5	5.8×10^5	2.5×10^5
	256	3.9×10^6	2.1×10^6	1.0×10^6	5.9×10^5	1.4×10^5	5.7×10^4	1.0×10^4

상기 표 5에서 보는 바와 같이, 당근쥬스를 고전압 펄스 처리하였을 경우, 40kV/cm의 고전압으로 256회의 펄스를 가하여 약 99.99%의 살균효과를 얻고, 40kV/cm의 고전압으로 256회의 펄스를 가하여 약 99.99%의 살균효과를 얻을 수 있었다.

실시에 7: 스퀘어 웨이브에 의한 당근쥬스의 고전압 펄스 전기장 처리

고전압 펄스 형태가 스퀘어 웨이브라는 점을 제외하고는, 전기 실시에 6과 동일한 방법으로 당근쥬스내의 생균수의 변화를 측정하고, 그 결과를 하기 표 6에 나타내었다.

[표 6]

익스포넨셜 웨이브 펄스처리시 당근쥬스의 생균수 변화(단위: CFU/ml)

구분		전기장 세기 (kV/cm)						
		10	15	20	25	30	35	40
펄스 수	부처리	1.0×10^8	1.0×10^8	1.0×10^8	1.0×10^8	1.0×10^8	1.0×10^8	1.0×10^8
	8	9.1×10^7	8.8×10^7	8.5×10^7	8.3×10^7	8.0×10^7	7.6×10^7	4.5×10^7
	16	7.1×10^7	5.3×10^7	3.2×10^7	1.0×10^7	9.8×10^6	5.4×10^6	3.4×10^6
	32	1.1×10^7	9.8×10^6	8.3×10^6	9.1×10^6	4.3×10^6	8.2×10^5	6.7×10^5
	64	8.2×10^6	4.7×10^6	3.2×10^6	9.4×10^5	4.2×10^5	8.6×10^4	5.5×10^4
	128	9.5×10^5	6.8×10^5	1.4×10^5	5.6×10^4	1.1×10^4	5.7×10^3	2.1×10^3
	256	7.4×10^6	3.8×10^5	5.6×10^4	7.7×10^3	2.3×10^3	7.8×10^2	1.1×10^2

상기 표 6에서 보는 바와 같이, 당근쥬스를 스퀘어 웨이브 펄스 처리한 경우 40kV/cm 전압으로 256회 펄스를 걸어주면 당근쥬스의 생균수가 초기균수의 약 일백만분의 일로 감소되었다. 즉, 99.9999% 살균되어 실시예 6의 익스포넨셜 웨이브 펄스에 비해 살균 효과가 보다 우수함을 알 수 있었다.

결국, 실시예 6과 7의 결과에서 알 수 있는 것과 같이, 전압과 처리횟수를 증가시키면 살균 효과가 증가되므로, 전압과 펄스수를 증가시키면 당근쥬스를 효과적으로 살균할 수 있을 것으로 판단되었다.

실시에 8: 당근쥬스의 저온 열처리와 고전압 펄스 전기장 처리의 병용 효과

아크릴과 스테인리스로 특수 제작한 라운드 타입의 용기에 당근쥬스를 넣고 밀폐한 후, 용기의 온도를 달리하여 실시예 6과 동일한 방법으로 고전압 펄스 전기장 처리를 하였다. 이와 함께, 단지 이때 22.5 kV/cm의 전기장의 세기로 펄스의 수를 변화시키며 열처리와 고전압 펄스 전기장 처리를 병용하였을 때의 대장균의 사멸율을 측정하여 비교한 결과를 하기 표 7에 나타내었다.

[표 7]

저온 열처리와 고전압 펄스 전기장 처리의 병용시 당근쥬스의 생균수 변화(단위: CFU/ml)

펄스수	10℃	20℃	30℃	40℃	50℃
무처리	5.0×10^8	5.0×10^8	1.0×10^8	1.0×10^8	1.0×10^8
8	4.2×10^8	2.5×10^8	1.9×10^8	1.5×10^7	6.0×10^6
16	3.0×10^8	8.0×10^7	6.0×10^7	1.2×10^7	3.0×10^6
32	1.0×10^8	4.0×10^7	3.0×10^7	4.0×10^6	2.8×10^5
64	5.0×10^7	3.0×10^7	1.0×10^7	1.5×10^6	6.0×10^4
128	3.5×10^7	2.0×10^7	5.1×10^6	4.2×10^5	2.8×10^3
256	3.0×10^7	7.2×10^6	3.5×10^5	2.0×10^4	3.0×10^2

상기 표 7에서 보는 바와 같이, 당근쥬스를 50℃에서 256회 펄스를 가하여 약 99.9999%의 살균효과를 얻을 수 있었다. 따라서, 전기 실시예 6과 7 및 실시예 8의 결과를 비교해 볼 때, 고전압 펄스 전기장만을 처리한 경우에 비하여 병용처리한 경우가 살균효과에 있어 월등히 우수함을 알 수 있었다.

실시예 9: 고전압 펄스 전기장 처리시 당근쥬스의 품질변화

무처리 당근쥬스, 실온에서 고전압 펄스 전기장 처리한 당근쥬스, 50℃에서 열병용처리한 당근쥬스, 50℃에서 열처리 만한 당근쥬스에 대하여 각각 pH, 당도(°Brix) 및 적정 산도(titratable acidity)와 색도(color)의 변화를 조사하였으며, 그 결과를 하기 표 8에 나타내었다. 또한, 전기에서 준비한 당근쥬스에 대하여 HPLC(high performance liquid chromatography)를 이용하여, α, β-카로틴(carotene)의 함량도 분석하였으며, 그 결과를 하기 표 9에 나타내었다.

[표 8]

고전압 펄스 전기장 처리시 당근쥬스의 품질변화

시료	pH	° Brix	적정 산도 (%)	색도		
				L	a	b
대조구 ^a	4.30	10	0.469	12.63	+20.06	+21.68
PEF ^b	4.31	9.8	0.458	12.81	+20.04	+22.01
PEF + 50℃	4.32	9.8	0.464	12.53	+19.92	+21.56
50℃ 열처리	4.35	9.8	0.462	12.62	+19.93	+21.71

a: 무처리 당근쥬스

b: 고전압 펄스 전기장 처리 당근쥬스

[표 9]

당근쥬스의 α, β-카로틴 함량의 변화

카로틴 함량	처리			
	대조구	PEF ^a	PEF + 50℃	50℃ 열처리
α-카로틴(μg/ml) (RE/ml)	30.27 2.51	30.11 2.50	29.62 2.46	29.08 2.41
β-카로틴(μg/ml) (RE/ml)	65.65 10.96	65.21 10.89	61.11 10.20	59.40 9.92
비타민 A 함량 (RE/ml)	13.47	13.39	12.66	12.33

a: 고전압 펄스 전기장 처리 당근쥬스

상기 표 8에 나타난 것과 같이, 당근쥬스의 식품학적 특성들은 고전압 펄스 전기장 처리시 변화가 관찰되지 않았다. 또한, 상기 표 9에서 나타난 것과 같이, 당근쥬스의 중요한 성분인 α, β-카로틴의 함량도 변화가 관찰되지 않았다. 그러므로, 고전압 펄스 전기장 처리는 당근쥬스의 품질에 변화를 주지 않고 효과적으로 살균할 수 있음을 알 수 있었다.

실시예 10: 익스포넨살 웨이브에 의한 사과쥬스의 고전압 전기장 처리

시중에서 구입한 사과쥬스에 사카로미세스 세레비시에(*Saccharomyces cerevisiae*)를 접종하여서 초기균수가 2.0×10^8 이 되도록 하였다. 사과쥬스 1ml를 전극 간격이 0.4cm인 고전압 펄스 전기장 회분식 처리 용기에 넣고 실온에서 10 내지 40 kV/cm의 전기장의 세기로 펄스폭 0.8μs의 익스포넨살 웨이브 펄스를 8

내지 256회 가하였다. 그런 다음, 처리한 사과주스는 단계희석하여 포테이토 덱스트로스 한천에 도달하고 25℃에서 72시간 배양한 후 자라난 콜로니수를 측정하여, 그 결과를 하기 표 10에 나타내었다.

[표 10]

익스포넨셜 웨이브 펄스처리시 사과주스의 생균수 변화(단위: CFU/ml)

펄스수	10kV/cm	15kV/cm	20kV/cm	25kV/cm	30kV/cm	35kV/cm	40kV/cm
무처리	2.0×10^8	2.0×10^8	2.0×10^8	2.0×10^8	2.0×10^8	2.0×10^8	2.0×10^8
8	1.5×10^8	1.0×10^8	9.5×10^7	8.2×10^7	6.9×10^7	5.8×10^7	4.3×10^7
16	9.1×10^7	7.5×10^7	5.1×10^7	3.7×10^7	2.4×10^7	9.6×10^6	8.8×10^6
32	5.1×10^7	3.0×10^7	9.1×10^6	8.6×10^6	7.2×10^6	6.4×10^6	3.7×10^6
64	2.4×10^7	1.4×10^7	7.8×10^6	4.7×10^6	1.5×10^6	8.9×10^5	5.4×10^5
128	7.6×10^6	4.9×10^6	8.9×10^5	7.6×10^5	5.4×10^5	1.1×10^5	2.4×10^4
256	5.4×10^6	2.7×10^6	6.1×10^5	3.6×10^5	7.4×10^4	4.5×10^4	1.2×10^3

하기 표 10에서 보는 바와 같이, 사과주스를 고전압 펄스 처리했을 경우, 40kV/cm의 고전압으로 256회의 펄스를 가하여 약 99.999%의 살균효과를 얻을 수 있었다.

실시에 11: 스퀘어 웨이브에 의한 사과주스의 고전압 펄스 전기장 처리

펄스의 형태를 스퀘어 웨이브로 선택한 점을 제외하고는, 실시에 10과 동일한 방법으로 사과주스내의 생균수의 변화를 측정하였으며, 그 결과를 하기 표 11에 나타내었다.

[표 11]

스퀘어 웨이브 펄스 처리시 사과주스의 생균수 변화(단위: CFU/ml)

펄스수	10kV/cm	15kV/cm	20kV/cm	25kV/cm	30kV/cm	35kV/cm	40kV/cm
무처리	2.0×10^8	2.0×10^8	2.0×10^8	2.0×10^8	2.0×10^8	2.0×10^8	2.0×10^8
8	1.8×10^8	1.2×10^8	9.5×10^7	8.9×10^7	7.8×10^7	6.4×10^7	4.5×10^7
16	7.1×10^7	5.3×10^7	3.2×10^7	8.7×10^6	4.3×10^6	8.9×10^5	3.4×10^5
32	3.4×10^7	1.4×10^7	8.3×10^6	9.1×10^5	7.4×10^5	6.8×10^5	8.7×10^4
64	8.2×10^6	4.7×10^6	3.2×10^6	9.4×10^5	8.5×10^4	2.8×10^4	6.8×10^3
128	5.4×10^6	2.1×10^6	1.4×10^5	5.6×10^3	2.5×10^3	5.5×10^2	3.5×10^2
256	7.4×10^5	3.8×10^4	5.6×10^3	7.7×10^2	3.5×10^2	6.8×10^1	1.2×10^1

상기 표 11에서 보는 바와 같이, 사과주스를 스퀘어 웨이브 펄스 처리한 경우 40kV/cm 전압으로 256회 펄스를 걸어주면 사과주스의 생균수가 초기균수의 약 일천만분의 일로 감소되었다. 즉, 99.99999% 살균되어 실시에 10의 익스포넨셜 웨이브 펄스에 비해 살균 효과가 우수함을 알 수 있다.

또한, 표 10과 표 11에서 알 수 있는 바와 같이, 전압과 처리 시간을 증가시키면 살균 효과가 증가되므로, 전압과 펄스수를 증가시키면 사과주스를 효과적으로 살균할 수 있을 것으로 판단되었다.

실시에 12: 사과주스의 저온 열처리와 고전압 펄스 전기장 처리의 병용 효과

아크릴과 스테인리스로 특수 제작한 라운드 타입의 용기에 사과주스를 넣고 밀폐한 후, 용기의 온도를 달리하며 실시에 6과 동일한 방법으로 고전압 펄스 전기장 처리를 하였다. 이와 함께, 22.5kV/cm의 전기장의 세기로 펄스의 수를 변화시키며 열처리와 고전압 펄스 전기장 처리를 병용하였을 때의 효모의 사멸율을 측정하여, 비교한 결과를 하기 표 12에 나타내었다.

[표 12]

저온 열처리와 고전압 펄스 전기장 처리의 병용시 사과주스의 생균수 변화(단위: CFU/ml)

펄스수	10℃	20℃	30℃	40℃	50℃
무처리	2.0×10^8	2.0×10^8	2.0×10^8	2.0×10^8	2.0×10^8
8	1.5×10^8	1.2×10^8	1.4×10^7	3.5×10^6	6.0×10^6
16	8.1×10^7	3.5×10^7	5.7×10^6	2.5×10^5	3.0×10^5
32	5.8×10^7	3.0×10^6	2.8×10^5	5.0×10^4	2.8×10^3
64	3.9×10^7	1.8×10^5	2.5×10^4	6.4×10^3	6.0×10^2
128	1.5×10^6	5.6×10^4	1.1×10^4	3.2×10^2	2.8×10^1
256	5.4×10^4	7.2×10^3	4.6×10^3	3.5×10^1	x

상기 표 12에서 보는 바와 같이, 사과주스에 대해 50℃에서 256회 펄스를 걸어주면, 사과주스내의 생균이 거의 완전히 사멸함을 알 수 있었다.

따라서, 전기 표 10 및 표 11의 결과와 비교해 볼 때, 고전압 펄스 전기장만을 처리한 경우에 비하여 병용처리한 경우가 살균효과에 있어서 월등히 우수함을 알 수 있다.

발명의 효과

이상에서 상세히 설명하고 입증하였듯이, 본 발명은 고전압 펄스 전기장을 이용한 주류 및 식음료의 비열 살균방법을 제공한다. 이러한 본 발명의 살균방법을 이용하면, 주류 및 식음료에 대한 비열 살균이 가능하게 되어, 품질이 변화하지 않으면서 신선도가 유지되어 이들을 장기간에 걸쳐 보관할 수 있다.

(57) 청구의 범위

청구항 1

주류 및 식음료를 전극 간격이 0.1 내지 1.0cm인 고전압 펄스 전기장 장치의 회분식 또는 연속식 처리 용기에 넣고, 실온에서 또는 4 내지 95℃로 순간 승온하는 저온 열처리 단계를 병합하여 전기장 세기 1 내지 200kV/cm, 펄스폭 0.1μs 내지 1ms, 주파수 1Hz 내지 5kHz의 고전압 펄스 전기장을 1 내지 50,000회 적용시키는 단계를 포함하는 주류 및 식음료의 비열살균방법.

청구항 2

제 1항에 있어서,
전기 주류는 탁주 또는 약주인 것을 특징으로 하는
주류 및 식음료의 비열살균방법.

청구항 3

제 1항에 있어서,
전기 식음료는 야채주스 또는 과일주스인 것임을 특징으로 하는
주류 및 식음료의 비열살균방법.

청구항 4

제 1항에 있어서,
펄스는 익스포넨셜 웨이브 펄스(exponential wave pulse), 스퀘어 웨이브 펄스(square wave pulse), 삼각파(triangular wave pulse), 바이폴라 펄스(bipolar pulse) 또는 진동 펄스(oscillatory pulse)인 것을 특징으로 하는
주류 및 식음료의 비열 살균방법.

도면

도면1

