(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2010-0107912
(43) 공개일자 2010년10월06일

(51) Int. Cl.
A23L 3/3418 (2006.01) *A23L 2/38* (2006.01)
C12R 1/085 (2006.01) *C12R 1/145* (2006.01)
(21) 출원번호 10-2009-0026263
(22) 출원일자 2009년03월27일
심사청구일자 2009년03월27일
기술이전 희망 : **기술양도**, **실시권허여**, **기술지도**

(71) 출원인
고려대학교 산학협력단
서울 성북구 안암동5가 1
(72) 발명자
류지훈
서울특별시 성북구 안암동5가 고려대학교 생명과학대학 녹지관 445호
김희경
전라북도 익산시 신용동 원광대학교 생활과학대학 식품영양학과 311호
김해영
서울특별시 성북구 안암동5가 고려대학교 생명과학대학 녹지관 445호
(74) 대리인
김석현

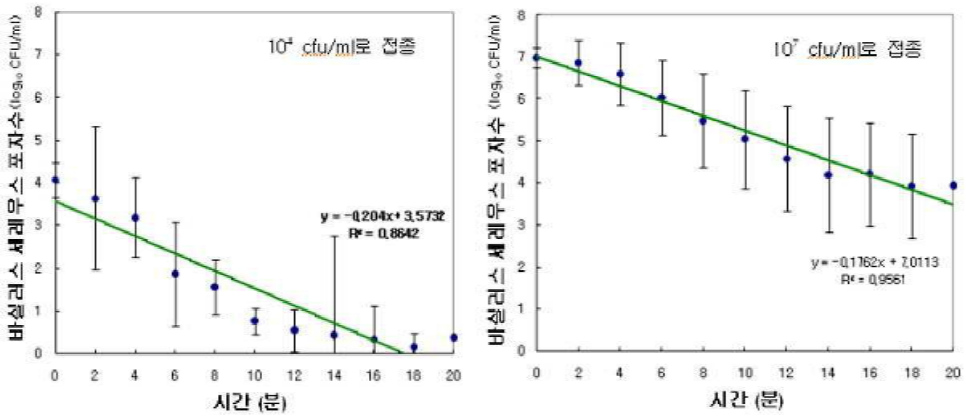
전체 청구항 수 : 총 8 항

(54) 포자의 발아유도 및 다중 스트레스 처리를 이용한 식혜의 포자형성균을 살균하는 방법

(57) 요 약

본 발명은 식혜의 포자형성균을 살균하는 방법에 관한 것으로, 보다 상세하게는 식혜를 제조하는 공정에 있어서, 1) 식혜를 살균하기 위한 열처리 공정 전에 식혜를 80±5℃에서 10±5분 동안 열처리한 다음, 25±5℃에서 30분 이상 정치하여 식혜에 오염된 포자형성균을 일반세포로 전환시키는 단계; 2) 이산화탄소를 식혜에 주입하여 pH를 4.8±0.5로 조정하는 단계; 및 3) 95±5℃에서 10±5 분 동안 열처리하는 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는, 포자의 발아유도 및 다중 스트레스 처리를 이용한 식혜의 포자형성균을 살균하는 방법에 관한 것이다. 본 발명의 살균방법을 사용하면, 식혜에 통상의 살균방법인 고온고압처리를 하지 않아도 식혜에 존재하는 포자형성균의 포자개체수를 식품공전에서 제시하고 있는 안전한 수준으로 저감화시킬 수 있으므로, 풍미가 향상되고 냉장유통이 가능한 식혜를 제조할 수 있다.

대 표 도 - 도1



이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 R0706951
부처명 중소기업청
연구관리전문기관
연구사업명 중소기업선도형기술혁신전략과제
연구과제명 허들 테크놀러지 및 간헐살균을 이용한 비레토르트 식혜음료 개발
기여율
주관기관 서정쿠킹(주)
연구기간 2007년 07월 01일 ~ 2008년 06월 30일

특허청구의 범위

청구항 1

식혜를 제조하는 공정에 있어서, 1) 식혜를 살균하기 위한 열처리 공정 전에 식혜를 80±5℃에서 10±5분 동안 열처리한 다음, 25±5℃에서 30분 이상 정치하여 식혜에 오염된 포자형성균을 일반세포로 전환시키는 단계; 2) 이산화탄소를 식혜에 주입하여 pH를 4.8±0.5로 조정하는 단계; 및 3) 95±5℃에서 10±5분 동안 열처리하는 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는, 포자의 발아유도 및 다중 스트레스 처리를 이용한 식혜의 포자형성균을 살균하는 방법.

청구항 2

제 1 항에 있어서,

상기 포자형성균이 바실러스 그룹 (*Bacillus* group) 또는 클로스트리디움 그룹 (*Clostridium* group)임을 특징으로 하는, 포자의 발아유도 및 다중 스트레스 처리를 이용한 식혜의 포자형성균을 살균하는 방법.

청구항 3

제 2 항에 있어서,

상기 바실러스 그룹의 포자형성균이 바실러스 세레우스 (*Bacillus cereus*), 바실러스 리케니포미스 (*B.licheniformis*), 바실러스 서브틸리스 (*B.subtilis*), 바실러스 푸밀러스 (*B.pumilus*) 및 바실러스 튜린겐시스 (*B.thuringiensis*)로 이루어진 군에서 선택되는 것임을 특징으로 하는, 포자의 발아유도 및 다중 스트레스 처리를 이용한 식혜의 포자형성균을 살균하는 방법.

청구항 4

제 2 항에 있어서,

상기 클로스트리디움 그룹의 포자형성균이 클로스트리디움 퍼프린젠스 (*Clostridium perfringens*) 및 클로스트리디움 보틀리눔 (*Cl. botulinum*)으로 이루어진 군에서 선택되는 것임을 특징으로 하는, 포자의 발아유도 및 다중 스트레스 처리를 이용한 식혜의 포자형성균을 살균하는 방법.

청구항 5

제 2 항에 있어서,

상기 포자형성균이 바실러스 세레우스임을 특징으로 하는, 포자의 발아유도 및 다중 스트레스 처리를 이용한 식혜의 포자형성균을 살균하는 방법.

청구항 6

제 1 항에 있어서,

단계 1)에서, 식혜를 80℃에서 10 분 동안 열처리한 다음, 25℃에서 60 분 이상 정치하여 식혜에 오염된 포자형성균을 일반세포로 전환시키는 것을 특징으로 하는, 포자의 발아유도 및 다중 스트레스 처리를 이용한 식혜의 포자형성균을 살균하는 방법.

청구항 7

제 1 항에 있어서,

단계 2)에서, 상기 이산화탄소를 식혜에 주입하여 pH를 4.8로 조정하는 것을 특징으로 하는, 포자의 발아유도 및 다중 스트레스 처리를 이용한 식혜의 포자형성균을 살균하는 방법.

청구항 8

제 1 항에 있어서,

단계 3)에서, 상기 열처리는 97.5±2.5℃에서 10 분 동안 수행하는 것을 특징으로 하는, 포자의 발아유도 및 다중 스트레스 처리를 이용한 식혜의 포자형성균을 살균하는 방법.

명 세 서

발명의 상세한 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 식혜의 포자형성균을 살균하는 방법에 관한 것으로, 보다 상세하게는 포자발아유도와 다중 스트레스 처리를 이용하여 포자형성균을 효과적으로 살균하는 방법에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 식혜는 쌀과 엿기름을 주원료로 하는 대표적인 전통 음료로서 국내에서 중요한 시장을 형성하고 있다. 식혜 산업에서 포자형성균, 특히 바실러스 세레우스 (*Bacillus cereus*)의 오염이 중요한 문제점으로 대두되고 있는데, 그 이유는 바실러스 세레우스는 식혜의 주원료인 쌀과 엿기름에 자연적으로 많이 존재하며, 열저항성이 높은 포자를 형성할 수 있기 때문이다. 바실러스 세레우스 포자는 강한 열저항성을 가지기 때문에 식혜의 가공공정 중 열처리 공정에서 사멸되지 않고 많은 개체수가 살아남게 된다. 열처리 공정에서 생존한 포자들은 식혜의 유통 중 발아하여 유통기한을 단축시키거나 때로는 식중독의 원인이 되기도 한다.

[0003] 식혜의 제조과정 중 식중독균이나 부패균을 살균시키는 과정은 일반 대기압에서 식혜를 끓이는 공정이다. 이러한 공정은 모든 미생물들을 살균시키기 위한 충분히 강한 조건이 아니기 때문에, 열에 강한 저항성을 가지는 바실러스 세레우스 포자들은 살아남게 된다. 식품공전에 의하면 식혜에는 바실러스 세레우스의 개체수가 반드시 ㎖ 당 1,000개 이하로 존재해야하기 때문에, 식품가공 현장에서는 일반 대기압이 아닌 고압상태에서 식혜의 온도를 높이는 극한 열처리를 하고 있다. 하지만 이러한 고온고압 처리는 식혜의 풍미를 변화시켜 품질을 저하시키는 원인이 된다. 그러므로 고온고압의 열처리를 하지 못하거나 식혜 본래의 풍미를 중요시하는 중소기업의 경우 냉장유통을 하지 못하고 냉동유통을 하고 있는 실정이다.

발명의 내용

해결 하고자하는 과제

[0004] 이에, 본 발명자들은 식혜를 고온고압으로 처리하지 않아도 포자형성균의 포자를 저감화할 수 있는 살균기술을 연구하던 중 식혜의 가공과정 중 열처리 과정 전에 열저항성이 높은 포자형성균의 포자를 발아시켜 열저항성이 낮은 일반세포로 전환시킨 후, 이산화탄소를 주입하여 식혜의 pH를 낮추면, 열처리 공정에서 포자형성균의 포자는 열저항성이 낮은 세포로 전환된 다음, 열과 낮은 산도의 스트레스를 동시에 받게 되므로, 살균효과가 증대됨을 확인함으로써 본 발명을 완성하였다.

[0005] 따라서, 본 발명의 목적은 포자형성균의 포자를 저감화할 수 있는 살균방법을 제공하는 것이다.

과제 해결수단

[0006] 상기와 같은 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 식혜를 제조하는 공정에 있어서, 1) 식혜를 살균하기 위한 열

처리 공정 전에 식혜를 80±5℃에서 10±5분 동안 열처리한 다음, 25±5℃에서 30 분 이상 정치하여 식혜에 오염된 포자형성균을 일반세포로 전환시키는 단계; 2) 이산화탄소를 식혜에 주입하여 pH를 4.8±0.5로 조정하는 단계; 및 3) 95±5℃에서 10±5분 동안 열처리하는 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는, 포자의 발아유도 및 다중 스트레스 처리를 이용한 식혜의 포자형성균을 살균하는 방법을 제공한다.

[0007] 이하 본 발명의 내용을 보다 상세히 설명하기로 한다.

[0008] 본 발명은 열저항성이 강한 포자형성균의 포자들을 사멸시키기 위한 살균기술로서, 바실러스 세레우스 포자에 특정한 온도의 열을 가한 후 생육온도에 노출시키면 포자들이 일반세포로 전환이 되어 열저항성이 급격히 낮아지는 미생물의 특성 및 미생물에 다양한 스트레스가 동시에 또는 순차적으로 적용 (multiple-stresses, 다중 스트레스) 될 경우, 미생물의 사멸효과가 증대되는 현상 (hurdle effects, 허들 효과)을 이용하는 것을 특징으로 한다.

[0009] 본 발명은 포자균을 둘러싸고 있는 주변 환경의 pH가 낮아지면 포자균의 열저항성이 함께 낮아지는 현상을 이용한 것이다. 식혜에 이산화탄소를 주입하면 용해된 이산화탄소가 탄산으로 변환되어 식혜의 pH가 낮아진다. pH가 낮아진 식혜에 열처리를 가하면 포자는 더 쉽게 사멸된다. 주입된 이산화탄소는 열처리과정에서 기화되고 pH도 식혜 본래의 pH로 복원되므로 식혜의 최종 품질변화는 없다.

[0010] 본 발명의 포자형성균은 바실러스 그룹, 예를 들어, 바실러스 세레우스 (*Bacillus cereus*), 바실러스 리케니포미스 (*B.licheniformis*), 바실러스 서브틸리스 (*B.subtilis*), 바실러스 푸밀러스 (*B.pumilus*) 및 바실러스 튜린겐시스 (*B.thuringiensis*), 및 클로스트리디움 그룹, 예를 들어 클로스트리디움 퍼프린젠스 (*Clostridium perfringens*) 및 클로스트리디움 보틀리눔 (*Cl. botulinum*)에서 선택되는 것일 수 있으며, 바람직하게는 바실러스 세레우스이다.

[0011] 본 발명의 단계 1)에서는 식혜를 살균하기 위한 열처리 공정 전에 식혜를 80±5℃에서 10±5분, 바람직하게는 80℃에서 10분 동안 열처리한 다음, 25±5℃에서 30분 이상, 바람직하게는 25℃에서 60분 이상 정치하여 식혜에 오염된 포자형성균을 일반세포로 전환시킬 수 있다.

[0012] 본 발명의 단계 2)에서는 상기 이산화탄소를 식혜에 주입하여 pH를 4.8±0.5로 조정할 수 있으며, 바람직하게는 pH를 4.8로 조정한다.

[0013] 또한, 본 발명의 단계 3)에서는 상기와 같이 pH를 낮춘 후, 95±5℃서 10±5분 동안 열처리를 수행할 수 있으며, 바람직하게는 95 내지 100℃에서 10분 동안 수행할 수 있다.

[0014] 본 발명의 일 실시예에서는 식혜의 가공과정 중 열처리 과정 전에 열저항성이 높은 바실러스 세레우스를 효과적으로 발아시킬 수 있는 조건을 규명한 다음, 상기 조건에서 전환된 일반세포에 열처리를 수행하여 바실러스 세레우스의 포자 살균효과를 확인하였다. 그 결과, 바실러스 세레우스 포자를 열저항성이 낮은 일반세포로 전환시킨 후 열처리를 수행하면 포자를 발아시키지 않은 대조군에 비해 살균효과가 증대되는 효과를 얻음을 확인하였다.

[0015] 또한, 본 발명의 다른 실시예에서는 식혜의 가공과정 중 열처리 과정 전에 이산화탄소를 주입하여 식혜의 pH를 낮춘 다음 열처리를 수행하여 바실러스 세레우스의 포자 살균효과를 확인하였다. 그 결과, 바실러스 세레우스 포자에 열과 낮은 산도의 스트레스를 동시에 처리하면 이산화탄소를 처리하지 않은 대조군에 비해 살균효과가 증대되는 효과를 얻음을 확인하였다.

[0016] 또한, 상기와 같이 포자를 발아시킨 다음, 이산화탄소 주입과 열처리를 수행하면 더욱 향상된 살균효과를 얻을 수 있음을 확인하였다.

효 과

[0017] 따라서, 본 발명의 살균방법을 식혜 가공공정에 적용하면 고온고압의 열처리를 할 필요가 없기 때문에 식혜의 본래 풍미를 변화시키지 않으면서 포자 상태의 바실러스 균을 식품공전에서 제시하는 안전한 수준으로 낮출 수 있다.

발명의 실시를 위한 구체적인 내용

[0018] 이하, 본 발명을 실시예에 의해 상세히 설명한다.

[0019] 단, 하기 실시예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명의 내용이 하기 실시예에 한정되는 것은 아니다.

[0020] **<실시예 1>**

[0021] **바실러스 세레우스 포자의 내열성 측정**

[0022] 바실러스 세레우스 포자의 내열성을 측정하기 위하여, 100℃로 예열된 영양배지 (Tryptic soy broth)와 식혜 (서정쿠킹(주) 제공)에 바실러스 세레우스 포자를 각각 10^4 CFU/㎖ 및 10^7 CFU/㎖의 농도로 접종한 후, 100℃에서 20분 동안 열처리를 수행하면서 시간에 따른 살아있는 포자의 개체수 변화를 측정하였다. 생존 포자균의 개체수는 식품공전 별책의 제7.일반시험법 8.미생물시험법 4) 내열성 세균수 (세균아포수)의 시험법에 따라 측정하였으며, 그 결과를 도 1 및 2에 각각 나타내었다.

[0023] 도 1의 가열치사곡선을 이용하여 100℃에서 바실러스 세레우스 포자의 열저항성을 의미하는 D value를 계산한 결과, 영양배지에서 바실러스 세레우스 포자의 $D_{100℃}$은 4.9 내지 5.7 분이었다. 이 결과는 10^6 CFU/㎖의 바실러스 세레우스 포자가 영양배지에 오염되어 있는 경우, 식품공전의 안전기준인 10^3 CFU/㎖로 저감화시키기 위해서는 100℃에서 14.7 내지 17.1 분 이상의 열처리가 필요한 것을 의미한다.

[0024] 또한, 도 2의 가열치사곡선을 이용하여 100℃에서 바실러스 세레우스 포자의 열저항성을 의미하는 D value를 계산한 결과, 식혜에서 바실러스 세레우스 포자의 $D_{100℃}$은 4.0 내지 6.6 분이었다. 이 결과는 10^6 CFU/㎖의 바실러스 세레우스 포자가 식혜에 오염되어 있는 경우, 식품공전의 안전기준인 10^3 CFU/㎖로 저감화시키기 위해서는 100℃에서 12 내지 19.8 분 이상의 열처리가 필요한 것을 의미한다.

[0025] 일반적으로 식혜의 가열공정시, 100℃를 정확하게 유지하지 못하고 약 95℃ 내외의 온도가 유지됨을 감안할 때, 바실러스 세레우스 포자가 식혜에 심각하게 오염된 경우 식품공전의 안전기준 이하로 수치를 낮추기 위하여 20분 이상의 열처리가 필요한 것으로 예상된다.

[0026] **<실시예 2>**

[0027] **바실러스 세레우스 포자의 일반세포로의 전환을 위한 최적 조건 규명**

[0028] 바실러스 세레우스 포자의 일반세포로의 전환을 위한 최적 조건을 규명하기 위하여, 바실러스 세레우스 포자가 접종된 영양배지와 식혜를 80℃에서 10분 동안 열처리한 후, 20, 25 및 30℃에서 30, 60 및 120 분 동안 정치하여 포자균의 일반세포로의 전환율을 비교하였으며, 그 결과를 표 1 및 2에 나타내었다.

[0029] 포자균의 일반세포로의 전환율을 측정하기 위하여 총균수와 포자균의 개체수가 측정되었다. 총균수는 식품공전 별책의 제7.일반시험법 8.미생물시험법 2) 일반세균수의 시험법에 따라 측정하였고, 포자의 개체수는 식품공전 별책의 제7.일반시험법 8.미생물시험법 4) 내열성 세균수 (세균아포수)의 시험법에 따라 측정하였다. 포자균의 일반세포로의 전환율은 [(총균수-포자균수)/총균수]*100의 공식을 이용하여 계산하였다.

표 1

[0030]

발아 온도 (℃)	초기 오염 개체수 (CFU/㎖)	일반세포로 전환된 바실러스 세레우스 (CFU/㎖) (발아율 %)		
		30 분	60 분	120 분
20	2.40×10^4	2.39×10^4 (99.7%)	2.40×10^4 (99.9%)	2.40×10^4 (99.9%)
25	2.40×10^4	2.40×10^4 (99.9%)	2.40×10^4 (99.9%)	2.40×10^4 (99.9%)
30	2.40×10^4	2.40×10^4 (99.9%)	2.40×10^4 (99.9%)	2.40×10^4 (99.9%)

표 2

[0031]

발아 온도 (℃)	초기 오염 개체수 (CFU/㎖)	일반세포로 전환된 바실러스 세레우스 (CFU/㎖) (발아율 %)		
		30 분	60 분	120 분
20	2.57×10^4	2.41×10^4 (88.1%)	2.53×10^4 (96.6%)	2.56×10^4 (98.5%)
25	2.57×10^4	2.47×10^4 (91.9%)	2.55×10^4 (98.2%)	2.55×10^4 (98.3%)
30	2.57×10^4	2.44×10^4 (87.9%)	2.53×10^4 (96.3%)	2.55×10^4 (98.4%)

[0032] 상기 표 1 및 2에 나타난 바와 같이, 바실러스 세레우스 포자를 포함하고 있는 식혜를 80℃에서 10분 동안 열처리한 후, 식혜의 온도를 25 내지 30℃에서 60 분 이상 유지하면 96.3% 이상의 바실러스 세레우스 포자가 일반세포로 전환되는 것을 확인하였다.

[0033] **<실시예 3>**

[0034] **식혜에 오염된 바실러스 세레우스 포자의 개체수에 따른 발아율의 변화**

[0035] 식혜에 오염된 바실러스 세레우스 포자의 개체수에 따른 발아율의 변화를 확인하기 위하여, 바실러스 세레우스 포자를 하기 표 3의 초기오염 개체수과 같이 식혜에 접종한 후, 상기 실시예 2와 동일한 방법으로 일반세포로 전환시킨 다음, 발아율을 측정하였으며, 그 결과를 표 3에 나타내었다.

표 3

[0036]

초기오염 개체수 (CFU/㎖)	일반세포로 전환된 바실러스 세레우스 (CFU/㎖)	발아율 (%)
9.12×10^3	9.05×10^3	98.4
9.12×10^4	9.03×10^4	98.1
3.98×10^5	3.83×10^5	96.0
3.72×10^6	2.72×10^6	40.9

[0037] 상기 표 3에 나타난 바와 같이, 식혜에 오염된 바실러스 세레우스의 포자의 개체수가 ㎖ 당 10^7 이상의 바실러스 세레우스 포자가 식혜에 존재하면 발아율이 40% 정도로 급격히 낮아짐을 확인하였다. 이 결과는 식혜에 오염된 바실러스 세레우스 포자의 개체수가 최대 10^6 CFU/㎖까지 존재할 경우에도 효과가 있다는 것을 의미한다. 현실적으로, 식혜에 10^6 CFU/㎖ 이상의 바실러스 세레우스 포자가 존재한다는 것은 거의 불가능할 정도로 높은 수치이다.

[0038] **<실시예 4>**

[0039] **식혜에 오염된 바실러스 세레우스 포자의 살균효과 검증**

[0040] 본 발명의 살균방법의 효과를 검증하기 위하여, 상기 실시예 2와 동일한 방법으로 식혜에 오염된 바실러스 세레우스 포자를 일반세포로 전환시킨 후, 대기압 상태에서 100℃에서 5분 동안 열처리를 수행 한 다음 생존한 바실

러스 세레우스 포자의 수를 측정하였으며, 포자 발아를 유도하지 않은 대조군도 동일한 방법으로 열처리하여 생존한 바실러스 세레우스 포자의 수를 측정하였으며, 그 결과를 표 4에 나타내었다.

표 4

[0041]

실험그룹	초기오염 개체수 (CFU/㎖)	열처리 후 생존 개체수 (CFU/㎖)
대조군	1.99×10^6	1.95×10^3
실험군	1.51×10^6	9.1×10^1

[0042] 상기 표 4에 나타난 바와 같이, 대조군의 식혜에는 ㎖ 당 2,000개 내외의 바실러스 세레우스 포자가 생존하였으나, 실험군은 ㎖ 당 약 90개 내외의 바실러스 세레우스 포자가 생존한 것을 확인하였다. 이 결과는 본 발명에 따른 살균방법이 바실러스 세레우스 포자를 살균하는데 있어서 약 20 배 가량 효과가 있다는 것을 의미한다.

[0043] 또한, 실시예 1에 기재한 바와 같이, 일반적으로 식혜의 가열공정시, 바실러스 세레우스 포자가 식혜에 심각하게 오염된 경우 식품공전의 안전기준 이하로 수치를 낮추기 위하여 20 분 이상의 열처리가 필요한 것으로 예상되는 반면, 본 발명의 방법과 같이 포자를 일반세포로 전환시킨 후에는 5분 동안을 열처리만으로도 포자를 효과적으로 살균할 수 있음을 알 수 있다.

[0044] **<실시예 5>**

[0045] **이산화탄소 주입에 따른 식혜의 산도 변화**

[0046] 5℃ 및 20℃의 식혜에 이산화탄소를 1000 psi의 압력으로 주입하면서 시간에 따른 pH의 산도 변화를 pH 미터를 이용하여 측정하였으며, 그 결과를 도 3에 나타내었다. 식혜에 유입된 이산화탄소의 양은 Portable Carbon Dioxide Meter (제조사: New Cosmos, 일본)를 이용하여 측정하였다.

[0047] 도 3에 나타난 바와 같이, 온도에 상관없이 이산화탄소를 주입하면 1 분 안에 pH가 약 5.0 정도로 감소하는 것을 확인하였으며, 시간이 더 지나도 일정 수치 (약 pH 4.5 내지 5.0)에 도달하면 더 이상 pH가 감소하지 않는 것을 확인하였다.

[0048] **<실시예 6>**

[0049] **다중 스트레스 처리에 의한 바실러스 세레우스 포자의 살균효과 확인**

[0050] 5℃의 식혜에 1000 psi의 압력으로 이산화탄소를 주입하여 pH를 4.8로 낮추고, 95℃에서 20 분 동안 열처리 한 다음, 식품공전 별책의 제7.일반시험법 8.미생물시험법 2) 일반세균수의 시험법에 따라 시간에 따른 바실러스 세레우스 포자의 생존 개체수 변화를 측정하였으며, 그 결과를 하기 표 5에 나타내었다. 또한, 대조군으로서 pH를 조절하지 않고 상기와 동일하게 열처리한 식혜 및 실험군 II로서 상기 실시예 2와 동일한 방법으로 식혜에 오염된 바실러스 세레우스 포자를 일반세포로 전환시킨 후, 상기 실험군 I과 같이 이산화탄소를 주입한 다음 열처리를 수행한 식혜의 개체수도 동일한 방법으로 측정하여 비교하였다.

표 5

[0051]

실험 그룹	pH	열처리 후 바실러스 세레우스 포자의 생존개체수 (CFU/㎖)				
		0 분	5 분	10 분	15 분	20 분
대조군	6.5	1.51×10^6	1.55×10^4	1.26×10^3	3.24×10^2	5.40×10^1

실험군 I	4.8	1.62×10^{6}	3.39×10^{3}	5.01×10^{2}	3.30×10^{1}	5.00×10^{0}
실험군 II	4.8	1.45×10^{6}	3.63×10^{2}	9.10×10^{1}	7.00×10^{0}	2.00×10^{0}

[0052] 상기 표 5에 나타난 바와 같이, pH를 낮춘 후 열처리를 한 실험군 I의 경우, 15분 이상 열처리를 하면 대조군에 비해 약 10 배의 바실러스 세레우스 포자의 사멸효과를 나타냄을 확인하였다.

[0053] 또한, 식혜의 산도 조절과 열처리 조합처리 전에 바실러스 세레우스 포자의 발아과정이 선행된 실험군 II의 경우, 실험군 I 보다 더 큰 살균 효과를 나타내었고, 열처리 약 5 분 만에 바실러스 세레우스 포자의 개체수는 ㎖당 1,000,000개에서 약 1,000개 이하로 줄어들었으며, 대조군에 비해서는 약 40배 이상의 증가된 살균효과를 나타내었다.

[0054] **<실시예 7>**

[0055] **열처리 과정 중 주입된 이산화탄소의 제거**

[0056] 열처리 과정 중 주입되었던 이산화탄소가 제거되었는지를 확인하기 위하여, 상기 실시예 6의 대조군 및 실험군 I의 열처리 후, 주입되었던 이산화탄소의 농도와 pH를 각각 Portable Carbon Dioxide Meter (제조사: New Cosmos, 일본)와 pH 미터를 이용하여 측정하였으며, 그 결과를 표 6에 나타내었다.

표 6

[0057]

실험 그룹		이산화탄소 주입 직후	열처리 (95℃)			
			0 분	10 분	20 분	30 분
대조군	이산화탄소 농도(%)	-	0.1	0.16	0.14	0.12
	pH	-	6.13	6.13	6.13	6.13
실험군1	이산화탄소 농도(%)	83.92	5.07	1.91	1.12	0.48
	pH	4.83	5.77	5.83	5.90	6.00

[0058] 상기 표 6에 나타난 바와 같이, 이산화탄소 주입 직후 pH는 4.83이었지만, 95℃에서 30분간 열처리를 하면 식혜의 이산화탄소 농도는 0.5%이하로 거의 제거되었으며, pH도 이산화탄소 주입 전과 거의 동일한 수준으로 회복되었다.

산업이용 가능성

[0059] 이상 살펴본 바와 같이, 식혜에 오염된 열저항성이 높은 바실러스 세레우스 포자를 열저항성이 낮은 일반세포로 전환시킨 후, 식혜에 이산화탄소를 주입하여 pH를 산성으로 낮춘 후, 열처리를 하는 본 발명의 살균방법을 사용하면, 식혜를 통상의 살균방법인 고온고압처리를 하지 않아도 포자형성균의 포자를 충분히 저감화시킬 수 있으므로, 풍미가 향상되고 냉장유통이 가능한 식혜를 제조할 수 있으며, 본 발명의 살균방법은 식혜 이외의 식음료 분야의 포자형성균의 살균 공정 및 식품의 가공, 저장 및 유통 라인에서 포자의 발아를 억제 및 제거하는데에도 적용될 수 있다.

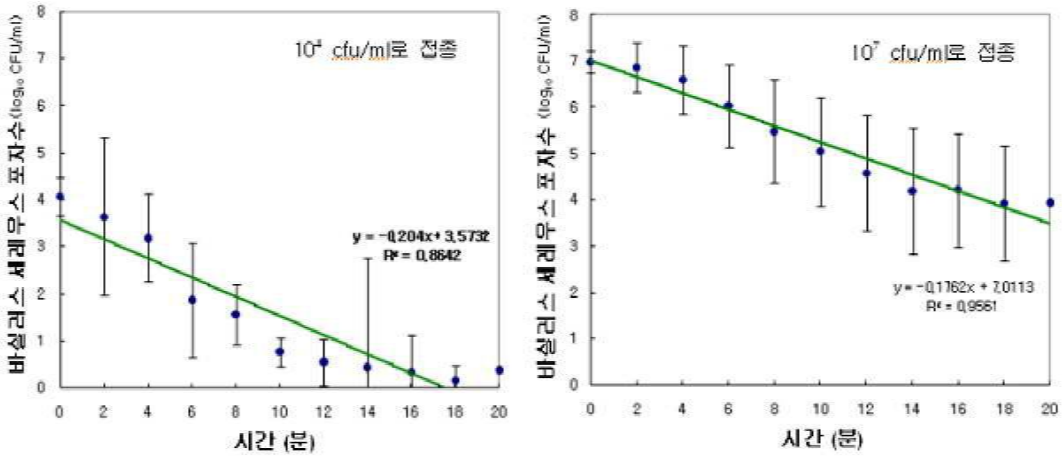
도면의 간단한 설명

[0060] 도 1 및 2는 영양배지 및 식혜에서 바실러스 세레우스 포자의 접종 수준 (10^{4} CFU/㎖, 10^{7} CFU/㎖)에 따른 100℃에서의 가열치사시간곡선을 나타낸 것이다.

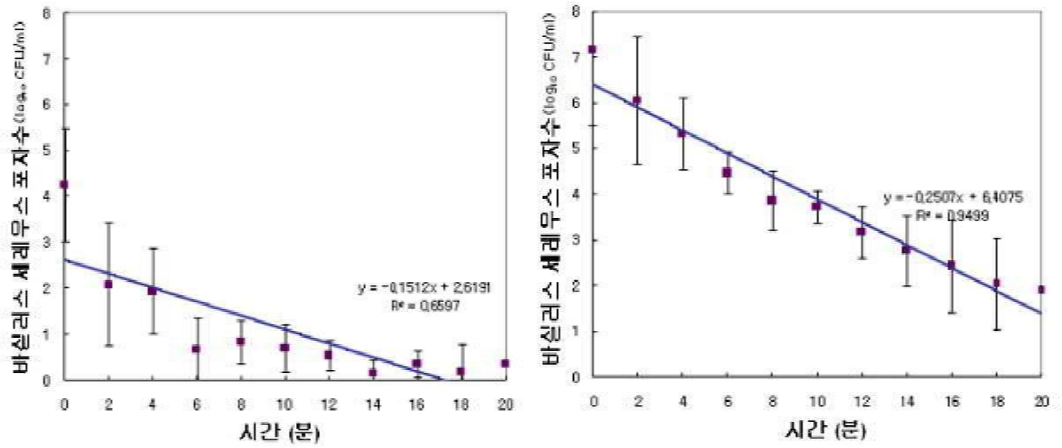
[0061] 도 3은 5℃와 20℃에서 이산화탄소 주입에 따른 식혜의 pH 변화를 나타낸 것이다.

도면

도면1


10^4 cfu/ml로 접종
y = -0.204x + 3.5732
R² = 0.8642
바실러스 세레우스 포자수 (log_{10} CFU/ml)
시간 (분)
10^7 cfu/ml로 접종
y = -0.1162x + 7.0113
R² = 0.9561
바실러스 세레우스 포자수 (log_{10} CFU/ml)
시간 (분)

도면2


y = -0.1512x + 2.6191
R² = 0.6597
바실러스 세레우스 포자수 (log_{10} CFU/ml)
시간 (분)
y = -0.2507x + 6.4075
R² = 0.9499
바실러스 세레우스 포자수 (log_{10} CFU/ml)
시간 (분)

도면3

