



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2016-0024554

(43) 공개일자 2016년03월07일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A23L 2/52 (2006.01) A23L 2/62 (2006.01)

A23L 2/68 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2014-0111473

(22) 출원일자 2014년08월26일

심사청구일자 2014년08월26일

(71) 출원인

고려대학교 산학협력단

서울특별시 성북구 안암로 145, 고려대학교 (안암동5가)

(72) 발명자

이민석

경기도 성남시 분당구 내정로 152, 133동 701호

김선애

서울특별시 성북구 장위로19길 7-17, 501호

(74) 대리인

한양특허법인

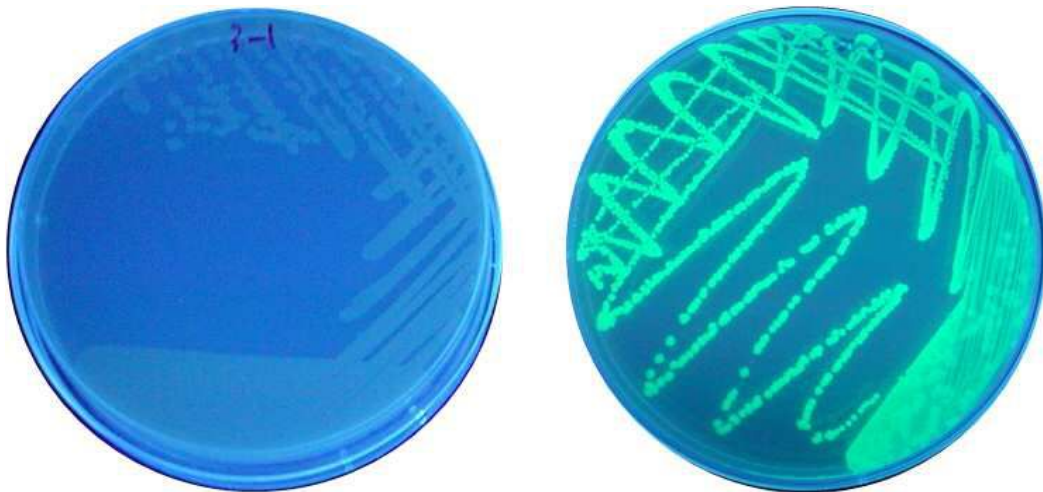
전체 청구항 수 : 총 5 항

(54) 발명의 명칭 당근주스 처리 방법

(57) 요약

본 발명은 당근주스의 색도 개선 및 살균을 위한 당근주스 처리 방법으로, 당근주스에 1.0~10.0 mM의 카프릴산 및 1.0~10.0 mM의 구연산을 15 내지 55℃의 온도에서 1분~30분 동안 처리하는 것을 특징으로 하는 방법에 관한 것이다.

대표도 - 도1



명세서

청구범위

청구항 1

당근주스의 색도 개선 및 살균을 위한 당근주스 처리 방법으로, 당근주스에 1.0~10.0 mM의 카프릴산 및 1.0~10.0 mM의 구연산을 15 내지 55℃의 온도에서 1분~30분 동안 처리하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 2

청구항 1에 있어서, 상기 색도 개선은 당근주스의 당근 주스의 명도가 42 이상, 적색도가 19 이상, 황색도가 30 이상이 되도록 하는 것인, 방법.

청구항 3

청구항 1에 있어서, 상기 살균의 목표 미생물은 캄필로박터 제주니(*Campylobacter jejuni*), 역시니아 엔테로콜리티카(*Yersinia enterocolitica*), 크로노박터균(*Cronobacter* spp.), 이질균(*Shigella* spp.), 비브리오균(*Vibrio* spp.) 대장균(*Escherichia coli* 0157:H7), 켄티푸스균(*Salmonella* Typhimurium), 클로스트리디움 속균(*Clostridium* *perfringens*, *Clostridium* *botulinum*), 바실러스균(*Bacillus* spp.) 및 포도상구균(*Staphylococcus aureus*), 리스테리아균(*Listeria monocytogenes*) 중 하나 이상인 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 4

청구항 1에 있어서,

당근주스에 2.5~5.0 mM의 카프릴산 및 2.5~5.0 mM의 구연산을 45 내지 55℃의 온도에서 5분~15분 동안 처리하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 5

청구항 1에 있어서,

상기 살균은 미생물을 멸균시키는 것인, 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 당근주스 처리 방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 우리나라의 급속한 경제성장과 개인 소득 향상은 국민의 의식구조 및 생활양식을 변화시켰으며, 소비자들의 식품 선택은 위생 안전성 확보와 건강 지향적 형태로의 패턴 변화가 뚜렷하게 나타나고 있다. 이전에는 식품 선택 시 칼로리 및 영양소의 적당한 공급을 중요시했으나 최근에는 안전한 식품에 대한 수요가 증가하고 있다. 따라서 식품 업계 및 소비자에 대한 실질적인 식품위생안전성 확보는 필수적이다.

[0003] 웰빙 트렌드로 인해 소비자들의 식품 구매경향은 건강 지향적으로 변화하고 천연식품과 자연 그대로의 원재료를 최소 가공한 식품에 대한 관심이 높아지고 있다. 특히 살균하지 않은 신선 채소즙(unpasteurized vegetable

juice)는 제품의 신선한 관능적 특성과 풍부한 영양성분으로 인해 수요가 더욱 증가하고 있다. 하지만 비살균 신선 채소즙은 보통 미생물 저감화를 위한 추가적 처리 없이 바로 섭취되기 때문에 채소즙에 존재하는 위해미생물에 의한 건강상 위해가 발생할 가능성이 있다.

[0004] 비살균 신선 채소즙 중에서 특히 비살균 신선 당근즙은 당근의 영양 기능적 가치로 인해 소비량이 증가하는 추세이다. 하지만 보통의 다른 채소 혹은 과일주스는 pH가 낮아(예: 사과주스 pH 3-4) 미생물의 생존 및 증식이 어려운 반면 당근즙은 중성에 가까운 pH를(pH 약 6) 가지고 있어 미생물의 생존 및 증식이 특히 사료되는 식품이다. 실제로 본 발명을 위한 실험에서 당근즙의 미생물 분석을 수행하였을 때, 일반세균수 4.23 log CFU/ml, 위생지표세균인 대장균군은 3.60 log CFU/ml이 관찰되어 다른 채소 및 과일주스에 비해 상당히 높은 농도의 세균수를 가지고 있었다. 실제로 신선 당근즙은 변패가 빠르게 일어나 유통기한이 하루에서 이틀로 매우 짧다. 따라서 비살균 당근즙의 미생물학적 안전성 확보 및 저장성 향상을 위한 기술 적용이 요구되는 바이며, 이를 통해 국민 보건 및 산업체의 경제적 이점을 도출할 수 있다.

[0005] 식품을 살균하기 위해서는 가열살균이 가장 보편적으로 사용되고 있다. 하지만 가열살균은 제품의 영양, 풍미, 외관의 변화를 야기할 수 있다. 특히 당근즙은 제품 자체의 신선함과 당근 특유의 풍미가 매우 중요한 식품군으로, 가열살균에 의해 제품의 특성이 변화한다면 소비자의 기호도가 현저히 낮아질 수 있다. 한편 식품 안전에 대한 소비자 인지도 향상 및 건강 지향적 특성 변화에 따라 소비자들이 화학적 식품 첨가물에 대해 매우 민감한 반응을 보이고 있으므로 식품 산업에서도 친환경적 공정을 개발해야 한다. 산업에서의 이용성 및 소비자의 선호를 고려하면, 화학적 첨가물 보다는 천연유래 항균물질을 사용하는 것이 좋을 것으로 판단된다.

[0006] 한편 당근주스 외관의 가장 주요한 품질 요인은 당근주스의 색으로, 소비자의 선택 및 시장 판매량에 영향을 미친다. 특히 색도 중에서도 redness(적색도)가 증가할수록 소비자의 기호도가 높아지는 것으로 알려져 있으나, 당근주스의 살균을 위해 열처리를 하는 경우, 적색도가 감소할 뿐 아니라 (JOURNAL OF FOOD SCIENCE-Vol. 72, Nr. 5, 2007) 영양성분이 파괴되고, 신선도가 저하되는 문제가 있다.

[0007] 이와 관련하여, 대한민국 공개특허 제 1998-0041051호에는 비가열처리법인 초고압 처리기술을 이용하여 당근의 풍미 및 영양성분의 소실없이 현탁 안정성을 향상시킨 당근주스를 제조하는 방법이 기재되어 있으나, 상기 방법은 고압, 고온 처리가 필수적이므로, 비경제적일 뿐 아니라 당근주스의 색도 등의 품질을 떨어뜨리는 문제가 있다.

[0008] 이에 천연항균물질을 이용하여 당근주스의 색도를 개선하고 미생물을 효과적으로 살균할 수 있는 처리방법의 개발이 필요한 실정이다.

선행기술문헌

특허문헌

[0009] (특허문헌 0001) 대한민국 공개특허 제 1998-0041051호

비특허문헌

[0010] (비특허문헌 0001) JOURNAL OF FOOD SCIENCE-Vol. 72, Nr. 5, 2007

발명의 내용

해결하려는 과제

[0011] 본 발명은 상기 상술한 문제점을 해결하기 위한 것으로, 본 발명의 첫 번째 해결하고자 하는 과제는 카프릴산 및 구연산을 조합처리 함으로써 낮은 농도와 온도 범위에서 당근주스의 색도 개선 및 살균을 위한 처리 방법을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0012] 본 발명은, 칼슘 수용액을 과채류에 처리하여 과채류를 살균하는 방법으로, 상기 칼슘 수용액은 수산화 칼슘 및 산화 칼슘 중 하나 이상을 글리세롤에 녹여 글리세롤 칼슘용액을 제조한 후 이를 물로 희석한 것이며, 상기 칼슘 수용액의 온도가 30 내지 70℃의 온도인 것을 특징으로 하는 방법을 제공한다.

발명의 효과

[0013] 본 발명의 당근주스 처리 방법은 카프릴산과 구연산의 두가지 천연 향미생물제의 단독처리 시에는 당근주스의 색도 개선 및 살균 효과가 없는 조건임에도 이를 조합하여 처리할 경우 단독처리에서는 기대할 수 없는 매우 우수한 색도 개선 및 살균효과를 나타낸다. 이와 같은 조합처리 농도는 유효 단독처리에 비해 매우 낮은 농도이므로 본 발명의 당근주스 처리 방법은 식품에 적용할 시 식품의 품질변화를 절감할 수 있는 장점이 있다.

도면의 간단한 설명

[0014] 도 1은 *E. coli* 0157:H7 형진변환 전(좌)과 후(우)의 UV하에서 집락 성상을 나타낸 그림이다.

도 2는 카프릴산 단독처리, 구연산 단독처리, 카프릴산과 구연산의 조합처리의 비살균 당근즙에 존재하는 *E. coli* 0157: H7에 대한 살균효과(45℃ 처리) (CA: 카프릴산, CTA: 구연산)를 나타낸 그래프이다.

도 3은 카프릴산 단독처리, 구연산 단독처리, 카프릴산과 구연산의 조합처리의 비살균 당근즙에 존재하는 *E. coli* 0157: H7에 대한 살균효과(50℃ 처리) (CA: 카프릴산, CTA: 구연산)를 나타낸 그래프이다.

도 4는 카프릴산 단독처리, 구연산 단독처리, 카프릴산과 구연산의 조합처리의 비살균 당근즙에 존재하는 일반 세균수에 대한 살균효과(45℃ 처리) (CA: 카프릴산, CTA: 구연산)를 나타낸 그래프이다.

도 5는 카프릴산 단독처리, 구연산 단독처리, 카프릴산과 구연산의 조합처리의 비살균 당근즙에 존재하는 일반 세균수에 대한 살균효과(50℃ 처리) (CA: 카프릴산, CTA: 구연산)를 나타낸 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0015] 이하, 본 발명을 보다 상세하게 설명한다.

[0016] 본 발명은 당근주스의 색도 개선 및 살균을 위한 당근주스 처리 방법에 대한 것이다.

[0017] 구체적으로, 본 발명의 당근주스 처리 방법은 당근주스를 증온에서 카프릴산 및 구연산의 조합으로 처리함으로써 당근주스의 색도를 현저히 개선할 뿐 아니라 당근주스에 포함된 미생물에 대한 매우 우수한 사멸 효과를 나타내는 것을 특징으로 한다. 특히, 당근주스에 카프릴산 및 구연산을 조합하여 처리할 경우, 당근주스의 색도 개선 및 미생물 사멸에 있어서 현저히 상승된 효과를 나타냄을 실험적으로 입증하였다.

[0018] 본 발명의 당근주스 처리 방법은 카프릴산과 구연산의 두가지 천연 향미생물제의 단독처리 시에는 당근주스의 색도 개선 및 살균 효과가 없는 조건임에도 이를 조합하여 처리할 경우 단독처리에서는 기대할 수 없는 매우 우수한 색도 개선 및 살균효과를 나타낸다. 이와 같은 조합처리 농도는 유효 단독처리에 비해 매우 낮은 농도이므로 본 발명의 당근주스 처리 방법은 식품에 적용할 시 식품의 품질변화를 절감할 수 있는 장점이 있다.

[0019] 또한 본 발명에서 제시하고 있는 카프릴산은 식품 첨가물 공전에 등록되어 있는 천연 첨가물 제제이며, 구연산은 산업에서 널리 사용되는 제제로 식품 첨가물에 등록되어 있다(카프릴산: 첨가물공전 192번, 구연산: 첨가물공전 16번). 따라서 식품에 첨가할 시에는 최근 소비자의 화학적 제제 첨가물에 대한 우려를 감소시킬 수 있다. 산업 현장에서 적용 시에는 매우 미량의 농도로 처리할 수 있으므로 경제적 효율 상승을 기대할 수 있다.

- [0020] 본 발명의 당근주스 처리 방법에서 상기 카프릴산은 1.0~10.0 mM의 농도로 처리될 수 있으며, 바람직하게는 2.5~5.0 mM의 농도로 처리될 수 있다.
- [0021] 또한, 상기 구연산은 1.0~10.0 mM의 농도로 처리될 수 있으며, 바람직하게는 2.5~5.0 mM의 농도로 처리될 수 있다.
- [0022] 본 발명은 비교적 낮은 농도의 카프릴산 및 구연산을 당근주스에 처리하여, 매우 우수한 색도 향상 효과 및 미생물 사멸효과를 나타내는 것을 특징으로 한다. 본 발명의 카프릴산 및 구연산을 상기 범위 이상으로 처리할 경우, 과량의 카프릴산 및 구연산 첨가로 인해 당근즙의 pH가 낮아지고 이에 따라 당근즙의 가시적인 색상 및 영양성분이 변화하는 문제가 발생할 수 있다. 또한 과량의 카프릴산 및 구연산을 첨가하는 경우, 경제적인 문제도 있다. 이에, 본 발명에서는 미생물 저감효과를 극대화 하면서 경제적인 카프릴산 및 구연산의 처리 농도를 제공한다.
- [0023] 또한, 본 발명은 상기 카프릴산 및 구연산을 15 내지 55℃의 온도에서 처리하며, 바람직하게는 45 내지 50℃의 온도에서 처리할 수 있다. 당근즙은 특히 신선한 풍미와 영양성분을 유지하기 위해 가열하지 않는 제품으로, 상기 온도보다 더 높은 온도에서 처리할 경우 신선한 풍미가 저해되고 영양성분이 파괴될 수 있다. 한편 카프릴산은 상온보다 높은 온도 범위에서 높은 미생물 저감효과를 보이기 때문에 상기 온도보다 낮은 온도에서 처리하면 미생물 저감효과가 미비되는 문제가 있다.
- [0024] 본 발명의 당근주스 처리 방법은 상기 카프릴산 및 구연산을 1분~30분 동안 처리할 수 있으며, 바람직하게는 5분~15분 동안 처리할 수 있다. 처리시간이 상기 범위보다 짧으면 저감효과가 낮아지는 문제가 있을 수 있다. 또한 상기 범위보다 오랜시간 처리할 경우 경제적인 측면에서 바람직하지 않다.
- [0025] 본 발명의 당근주스 처리 방법에서 상기 색도 개선은 당근주스의 명도, 적색도 및 황색도 중 하나 이상을 개선하여, 기호도를 현저히 상승시키는 것을 의미하며, 바람직하게는 당근 주스의 명도가 42 이상, 적색도가 19 이상, 황색도가 30 이상이 되도록 하는 것일 수 있다.
- [0026] 본 발명에서 상기 살균의 목표 미생물은 위해미생물 또는 일반미생물을 포함하며, 구체적으로 캄필로박터 제주니(*Campylobacter jejuni*), 예시니아 엔테로콜리티카(*Yersinia enterocolitica*), 크로노박터균(*Cronobacter* spp.), 이질균(*Shigella* spp.), 비브리오균(*Vibrio* spp.) 대장균(*Escherichia coli* 0157:H7), 켄티푸스균(*Salmonella* Typhimurium), 클로스트리디움 속균(*Clostridium perfringens*, *Clostridium botulinum*), 바실러스균(*Bacillus* spp.) 및 포도상구균(*Staphylococcus aureus*), 리스테리아균(*Listeria monocytogenes*) 중 하나 이상일 수 있다.
- [0027] 또한, 바람직하게는 상기 살균은 미생물을 멸균시키는 것일 수 있다.
- [0028] 본 발명은 당근주스 처리 방법에 사용하기 위한 카프릴산 및 구연산을 포함하는 조성물을 포함하며, 상기 당근주스 처리 방법에 의해 처리된 당근주스 역시 포함한다.
- [0029] 이하, 본 발명을 더욱 상세하게 설명하기 위하여 실시예를 첨부한다. 하기 실시예는 본 발명의 이해를 보다 용이하게 하기 위하여 제공되는 것으로, 본 발명의 범위를 한정하는 것은 아니다.
- [0030] 실시예 1. 비살균 당근즙 내 *E. coli* 0157:H7(고농도 접종시) 살균효과 관찰

- [0031] (1) 사용균주
- [0032] *E. coli* 0157:H7 (ATCC 35150, 43889, 43890) 각 균주에 전기천공법을 이용하여 pGFPuv plasmid를 삽입하여 녹색형광단백질을 발현시켰다 (Green Fluorescent Protein (GFP)-labeled *E. coli* 0157:H7 제조). 이는 당근주스에 ml 당 천마리 수준의 대장균균이 존재하기 때문에 당근즙 자체에 존재하는 대장균균과 임의로 오염시킨 균주를 식별하기 위함이다. 형질변환된 *E. coli* 0157:H7를 50 µg/ml ampicillin이 첨가된 Luria-Bertani broth(LB broth) 접종한 후 37℃에서 24시간 배양하였다. 세 균주의 배양액을 동량으로 cocktail 한 후 원심분리기 (Centri-CL2, IEC, Needham Heights, MA, USA)를 이용하여 3,000g, 15분간 원심분리하여 상등액을 제거하고 0.85% 멸균 생리식염수로 2회 수세하여 균 현탁액을 준비하였다. 도 1은 *E. coli* 0157:H7 형질변환 전(좌)과 후(우)의 UV하에서 집락 성상을 나타낸 그림이다.
- [0033] (2) 시료(비살균 당근즙) 준비 및 접종
- [0034] 시중에 판매되고 있는 비살균 신선 당근즙을 구입한 후 (1)에서 준비한 *E. coli* 0157:H7 균액을 초기 농도 7-8 log CFU/ml 수준이 되도록 접종하였다. 이때 실험에 사용한 당근즙은 구입 후 24시간 이내로 실험에 사용하였다.
- [0035] (3) 카프릴산 및 구연산 단독처리 방법
- [0036] 순수한 카프릴산(Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA)과 구연산(Sigma Chemical Co.)을 각각 99% 에탄올과 증류수에 용해하여 0.25, 0.5 M의 저장용액을 제조 하였다. *E. coli* 0157:H7를 접종한 당근즙 9.9 ml에 카프릴산 혹은 구연산 stock solution 0.25 M 혹은 0.5 M 0.1 ml를 첨가한 후 진탕탕온수조(shaking water bath, Vision Sci. Co., Incheon, Korea)에 넣어 설정한 온도로(45℃, 50℃)로 5, 10, 15 분간 처리하였다(최종 부피: 10 ml, 당근즙 내 카프릴산과 구연산 농도: 2.5 mM 혹은 5.0 mM).
- [0037] (4) 카프릴산 및 구연산 조합처리 방법
- [0038] *E. coli* 0157:H7이 접종된 당근즙 9.8 ml에 카프릴산과 구연산 stock 용액을 0.1 ml 씩 첨가하였다 (최종 부피: 10 ml). 당근즙 내 카프릴산과 구연산의 최종 처리 농도는 1) 카프릴산 2.5 mM + 구연산 2.5 mM, 2) 카프릴산 2.5 mM + 구연산 5.0 mM, 3) 카프릴산 5.0 mM + 구연산 2.5 mM, 4) 카프릴산 5.0 mM + 구연산 5.0 mM 이었으며, 위 (3)의 방법과 동일한 방법으로 처리하였다.
- [0039] (5) 살균효과 확인
- [0040] 항균물질을 처리한 당근즙 1 ml을 취하여 0.85% 멸균 생리식염수로 십진 희석하고, 처리 전 균액과 물질을 처리한 균액의 각 희석액(100 µl)을 ampicillin이 첨가된 LB agar에 도말한 후 37℃에서 24시간 배양하여 UV를 쬔 때 녹색 형광을 나타내는 집락을 계수하였다. 검출한계(detection limit)를 낮추기 위해 원액 200 µl를 다섯장의 LB agar에 접종·도말하여 균수를 산출하였다(검출한계: 1 CFU/ml). 계수한 값에 희석배수를 곱하여 ml 당 집락수(N)를 구한 후 다음 식에 대입하여 저감화 값을 산출하였다. [$\log(N_0/N)$ (N_0 : 처리 전 균액 내 균 집락 수, N : 처리 후 물질 + 균액 내 균 집락 수)]
- [0041] 카프릴산 단독처리(2.5 mM, 5.0 mM), 구연산 단독처리(2.5 mM, 5.0 mM), 카프릴산과 구연산 조합처리(2.5 + 2.5, 2.5 + 5.0, 5.0 + 2.5, or 5.0 + 5.0 mM)의 45℃ 처리결과로는 도 2에, 50℃ 처리 결과는 도 3에 나타내었다. 대조군(1% 증류수 처리 혹은 1% 에탄올 처리)은 45, 50℃은 모든 처리군에서 *E. coli* 0157:H7 저감효과가 나타나지 않았다.
- [0042] 45℃로 처리했을 때에는 카프릴산 단독처리, 구연산 단독처리군 모두에서 최대 처리시간(15분)까지 저감효과가 나타나지 않았다. 반면 2.5 mM 카프릴산 + 2.5 mM 구연산을 제외한 모든 조합처리군에서는 처리 시간의 증가에 따라 *E. coli* 0157:H7이 점진적으로 사멸하는 결과를 나타내었다. 5.0 mM 카프릴산 + 2.5 mM 구연산 조합처리를 10분, 15분 동안 처리하였을 때 2.62 and 3.20 log CFU/ml의 저감효과가 관찰되었다. 5.0 mM 카프릴산 + 5.0

mM 구연산을 5분간 처리했을 때에는 5.16 log CFU/ml의 저감효과가 관찰되었으며, 10분 이상의 처리에서는 *E. coli* 0157:H7이 모두 사멸되었다.

[0043] 50℃로 처리했을 때에는 45℃ 처리군 보다 저감효과가 증가하였으며, 당근즙을 5.0 mM 카프릴산 + 2.5 mM 구연산을 10분간 처리했을 때 *E. coli* 0157:H7은 초기 7.46 log에서 0.3 log CFU/ml 까지 급격하게 사멸하였고, 15분에서는 모두 사멸하여 검출되지 않았다. 더 높은 농도인 5.0 mM 카프릴산 + 5.0 mM 구연산 처리에 의해서는 모든 시간에서 *E. coli* 0157:H7가 완전 사멸하였다.

[0044] 보통 두 가지 이상의 물질을 조합처리 할 때, 단독처리의 합보다 조합처리의 효과가 크게 나타날 때 시너지효과(상승효과)라고 한다. 본 특허 기술의 저감효과를 분석해 보면, 5.0 mM 카프릴산 또는 5.0 mM 구연산을 50℃에서 5분간 처리했을 때 신선 당근즙 내 *E. coli* 0157:H7 저감효과는 매우 미미하게 나타났다(0.15, 0.16 log reduction). 하지만 이 조건을 조합처리 했을 때 같은 온도, 같은 시간에서 모든 *E. coli* 0157:H7가 사멸하여 7.46 log reduction의 저감효과를 획득할 수 있었다. 이는 단독처리의 합(0.15 + 0.16 = 0.31 log reduction)보다 매우 큰 값으로, 산술적으로는 7.15 log reduction의 상승효과가 나타났다.

[0045] 안전한 주스류 제품을 생산하기 위해서 미국 식약청(United States Food and Drug Administration)에서는 제조공장에서 해썬(Hazard Analysis and Critical Control Point, HACCP)을 적용할 것을 권고하고 있다. 이때 제어하고자 하는 식중독세균에 대해 5 log reduction 이상의 저감효과를 보이는 살균공정을 적용해야 한다. 5.0 mM 카프릴산 + 5.0 mM 구연산 조합처리를 45, 50℃에서 5분 이상, 5.0 mM 카프릴산 + 2.5 mM 구연산 조합처리를 50℃에서 10분 이상 처리하면 5 log 이상의 저감효과를 획득할 수 있다. 카프릴산 5.0 mM은 0.079%, 구연산 5.0 mM은 0.057%의 농도로, 매우 미량의 천연유래물질을 조합처리하여 당근즙에 존재하는 *E. coli* 0157:H7을 충분히 제어할 수 있었으며, 특히 온도 조건이 중온이므로 열처리에 의한 품질 변화를 최소화 할 수 있을 것으로 판단된다. 실제로 구연산과 같은 유기산은 주스를 포함한 식품에 미생물을 제어하는 목적으로 널리 사용되고 있지만, 유기산의 저감효과는 미미한 것으로 알려져 있다. 본 특허 기술은 기존에 사용되고 있는 구연산에 매우 미량의 카프릴산을 첨가함으로써 시너지 효과를 획득할 수 있다.

[0046] **실시예 2. 비살균 당근즙 내 *E. coli* 0157:H7(저농도 접종시) 살균효과 관찰 및 손상세포의 회복 검증(완전 사멸 검증)**

[0047] 비살균 당근즙에 평균적으로 오염되어 있는 대장균군의 수준(20개 제품의 평균 대장균군 수: 3.60 log CFU/ml)을 고려하여 실질적인 저감효과를 검증하기 위해 *E. coli* 0157:H7을 저농도(3.31 log CFU/ml)로 접종하여 실험을 수행하였다. 천연항균물질 처리 방법은 실시예 1의 실험 방법과 동일하게 수행하고, 다만 실시예 2에서 실험결과 확인은 카프릴산 단독, 구연산 단독, 카프릴산 구연산 조합처리 직후의 당근즙 시료를 LB agar에 희석도말하여 UV하에서 녹색 형광을 나타내는 집락을 관찰함으로써 접종한 *E. coli* 0157: H7의 생존을 양성(+), 음성(-)으로 확인하였다.

[0048] 또한 실시예 1에서 특정처리에 의해 *E. coli* 0157: H7이 모두 사멸된 것으로 나타났지만 손상 세포의 경우 배지에서 잘 자라지 않을 수 있다. 이에 *E. coli* 0157:H7의 완전사멸을 관찰하기 위하여(손상세포의 존재여부 측정) 남은 당근즙 시료에 10배의 LB broth를 가한 후 37℃에 24시간동안 증균 배양한 후, 증균액을 LB agar에 도말하여 균의 존재 여부를 양성, 음성으로 관찰하였다.

[0049] 하기 표 1에 카프릴산 단독처리, 구연산 단독처리, 카프릴산 + 구연산 조합을 다양한 시간에 처리한 후 당근즙 내 *E. coli* 0157:H7의 생존을 관찰한 결과를 나타내었다. 50℃에서 5.0 mM 카프릴산 + 2.5 mM 구연산 조합처리를 5분 이상 처리한 경우와 45, 50℃에서 5.0 mM 카프릴산 + 5.0 mM 구연산을 5분 이상 처리한 경우 접종한 모든 *E. coli* 0157: H7이 처리 직후 나타나지 않았으며, 또한 증균 후 시료에서도 검출되지 않아 완전 사멸된 것을 알 수 있었다.

표 1

Treatment	Bacterial growth					
	45° C			50° C		
	5 분	10 분	15 분	5 분	10 분	15 분
1% 증류수(대조군 1)	+++ ¹ (+++) ²	+++ (+++)	+++ (+++)	+++ (+++)	+++ (+++)	+++ (+++)
1% 에탄올(대조군 2)	+++ (+++)	+++ (+++)	+++ (+++)	+++ (+++)	+++ (+++)	+++ (+++)
2.5 mM 카프릴산	+++ (+++)	+++ (+++)	+++ (+++)	+++ (+++)	+++ (+++)	+++ (+++)
5.0 mM 카프릴산	+++ (+++)	+++ (+++)	+++ (+++)	+++ (+++)	+++ (+++)	+++ (+++)
2.5 mM 구연산	+++ (+++)	+++ (+++)	+++ (+++)	+++ (+++)	+++ (+++)	+++ (+++)
5.0 mM 구연산	+++ (+++)	+++ (+++)	+++ (+++)	+++ (+++)	+++ (+++)	+++ (+++)
2.5 mM 카프릴산 + 2.5 mM 구연산	+++ (+++)	+++ (+++)	+++ (+++)	+++ (+++)	+++ (+++)	+++ (+++)
2.5 mM 카프릴산 + 5.0 mM 구연산	+++ (+++)	+++ (+++)	+++ (+++)	+++ (+++)	- - (- + +)	- - (- + -)
5.0 mM 카프릴산 + 2.5 mM 구연산	+++ (+++)	+++ (+++)	- + + (- + +)	- - (- - -)	- - (- - -)	- - (- - -)
5.0 mM 카프릴산 + 5.0 mM 구연산	- - (- - -)	- - (- - -)	- - (- - -)	- - (- - -)	- - (- - -)	- - (- - -)

¹ 단독 혹은 조합처리 직후 *E. coli* 0157:H7의 생존(3 반복)

² 단독 혹은 조합처리 후 LB broth에 증균한 배양액에서의 *E. coli* 0157:H7의 생존(3 반복)

실시예 3. 비살균 당근즙의 일반세균수 살균효과 관찰

본 발명에서는 카프릴산과 구연산 처리가 당근즙에 자연적으로 존재하는 일반세균에 대한 저감효과를 관찰하기 *E. coli* 0157:H7을 접종하지 않은 당근즙을 대상으로 실시예 1에 기술한 실험을 수행하였다(일반적으로 임의로 접종한 *E. coli* 0157:H7 보다 내재적으로 존재하는 일반세균의 저감이 더욱 어려움).

실험 결과를 도 4 및 도 5에 나타내었다.

도 4는 카프릴산 단독처리, 구연산 단독처리, 카프릴산과 구연산의 조합처리의 비살균 당근즙에 존재하는 일반세균수에 대한 살균효과(45°C 처리) (CA: 카프릴산, CTA: 구연산)를 나타낸 그래프이다. 도 4를 참고하면, 45°C에서 처리 시 단독처리군은 미미한 저감효과를 보였다(15분 처리 시 0.67 log reduction 이하의 저감효과 관찰). 반면 조합처리를 15분간 했을 때 1.36 log reduction(2.5 mM 카프릴산 + 5.0 mM 구연산 처리), 1.51 log reduction(5.0 mM 카프릴산 + 2.5 mM 구연산 처리), 2.49 log reduction(5.0 mM 카프릴산 + 5.0 mM 구연산 처리)이 관찰되었다.

도 5는 카프릴산 단독처리, 구연산 단독처리, 카프릴산과 구연산의 조합처리의 비살균 당근즙에 존재하는 일반세균수에 대한 살균효과(45°C 처리) (CA: 카프릴산, CTA: 구연산)를 나타낸 그래프이다. 도 5를 참고하면, 50

℃에서 처리한 경우에는 단독처리군에서도 일반세균수의 저감효과가 관찰되었지만 조합처리로 인해 더욱 큰 저감효과가 나타났다. 조합처리 5분 처리만 해도 1.29 log reduction(2.5 mM 카프릴산 + 2.5 mM 구연산), 1.58 log reduction(2.5 mM 카프릴산 + 5.0 mM 구연산), 2.42 log reduction(5.0 mM 카프릴산 + 2.5 mM 구연산), 3.07 log reduction(5.0 mM 카프릴산 + 5.0 mM 구연산)을 관찰할 수 있었다.

일반세균수 저감효과를 관찰한 실험에서도 뛰어난 시너지 효과를 관찰할 수 있었다. 5.0 mM 카프릴산 또는 5.0 mM 구연산을 50℃에서 5분간 처리했을 때 0.68, 0.31 log reduction의 매우 작은 저감효과가 나타난 반면 상기 조건을 조합처리 했을 때에는 3.07 log reduction이 관찰되어 시너지 효과가 나타났다. 본 특허 기술을 통해 위 해미생물인 *E. coli* 0157:H7 뿐만 아니라 일반세균수를 99.9% 저감화 시킬 수 있기 때문에 하루에서 이들의 유통기간을 가지는 신선 당근즙의 저장성을 향상시킬 수 있을 것으로 판단된다.

실시예 4. 조합처리 기술 전/후 비살균 당근즙의 pH 및 색도 관찰

조합처리 후 당근즙의 가장 주요한 품질요소인 색 변화를 관찰하였다. 처리 전/후의 당근즙 시료를 취하여 색도계(Minolta chromameter DR-400)로 명도, 적색도, 황색도를 측정하였다. 3반복 실험 후 SAS 프로그램(Version 9.13; SAS Institute Inc., Cary, NC)을 이용하여 유의수준 0.05에서 통계적 유의차를 검정하였다(general linear model, Tukey 검정법 이용).

하기 표 2 및 표 3에 각각 45℃, 50℃에서 처리했을 때 색도 값을 나타내었다.

표 2

	명도(L^*)	적색도(a^*)	황색도(b^*)
당근즙	40.99 ± 0.27	16.07 ± 0.49 ^a	28.00 ± 0.88 ^{ab}
1% 증류수(대조군 1)	40.97 ± 0.20	16.80 ± 0.39 ^{ab}	28.98 ± 0.51 ^{abc}
1% 에탄올(대조군 2)	40.85 ± 0.07	16.15 ± 0.92 ^a	28.53 ± 0.63 ^{abc}
2.5 mM 카프릴산	40.97 ± 0.60	16.13 ± 0.14 ^a	27.88 ± 0.12 ^{ab}
5.0 mM 카프릴산	41.32 ± 0.11	17.27 ± 0.10 ^{ab}	28.79 ± 0.28 ^{abc}
2.5 mM 구연산	41.19 ± 1.59	16.06 ± 1.75 ^a	27.29 ± 2.24 ^a
5.0 mM 구연산	41.40 ± 0.45	17.11 ± 1.30 ^{ab}	27.77 ± 2.55 ^{ab}
2.5 mM 카프릴산 + 2.5 mM 구연산	42.31 ± 0.44	19.02 ± 0.53^{bc}	30.74 ± 0.89^{bc}
2.5 mM 카프릴산 + 5.0 mM 구연산	42.43 ± 0.09	20.24 ± 0.20 ^c	31.63 ± 0.35 ^c
5.0 mM 카프릴산 + 2.5 mM 구연산	42.46 ± 0.74	19.67 ± 0.36 ^c	30.66 ± 1.09 ^{abc}
5.0 mM 카프릴산 + 5.0 mM 구연산	41.83 ± 0.37	19.93 ± 0.80 ^c	31.50 ± 0.32 ^c

^{a-c} 같은 열의 데이터 안에서 통계적 유의차이를 나타냄($P < 0.05$)

표 3

	명도(L^*)	적색도(a^*)	황색도(b^*)
당근즙	40.99 ± 0.27	16.07 ± 0.49 ^{ab}	28.00 ± 0.88 ^{ab}
1% 증류수(대조군 1)	42.37 ± 1.48	15.67 ± 0.99 ^a	26.57 ± 2.26 ^a
1% 에탄올(대조군 2)	41.64 ± 0.86	17.24 ± 0.78 ^{bc}	28.90 ± 1.24 ^{ab}

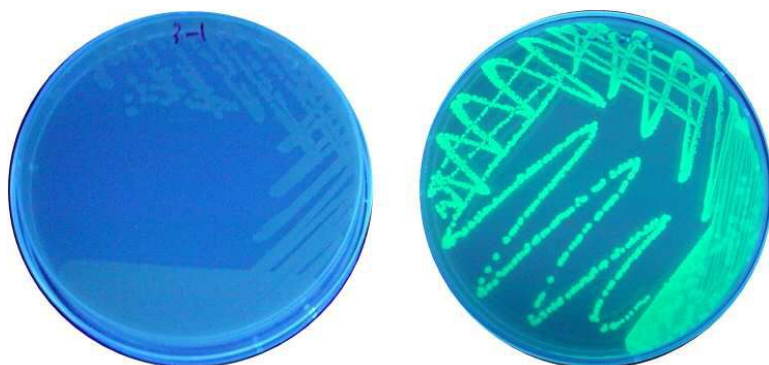
2.5 mM 카프릴산	41.47 ± 1.11	18.00 ± 0.41 ^{cd}	29.30 ± 0.64 ^{ab}
5.0 mM 카프릴산	42.29 ± 0.88	19.46 ± 0.29 ^{ef}	29.00 ± 2.82 ^{ab}
2.5 mM 구연산	41.99 ± 0.16	19.17 ± 0.14 ^{de}	31.00 ± 0.38 ^b
5.0 mM 구연산	42.44 ± 0.13	19.85 ± 0.17 ^{ef}	31.26 ± 0.27 ^b
2.5 mM 카프릴산 + 2.5 mM 구연산	42.36 ± 0.11	19.71 ± 0.20^{ef}	31.06 ± 0.34^b
2.5 mM 카프릴산 + 5.0 mM 구연산	41.98 ± 0.99	19.63 ± 0.47 ^{ef}	29.54 ± 1.55 ^{ab}
5.0 mM 카프릴산 + 2.5 mM 구연산	42.25 ± 0.33	20.52 ± 0.54 ^{ef}	31.11 ± 0.91 ^b
5.0 mM 카프릴산 + 5.0 mM 구연산	41.70 ± 0.05	20.67 ± 0.37 ^f	30.75 ± 0.56 ^b

^{a-f} 같은 열의 데이터 안에서 통계적 유의차이를 나타냄($P < 0.05$)

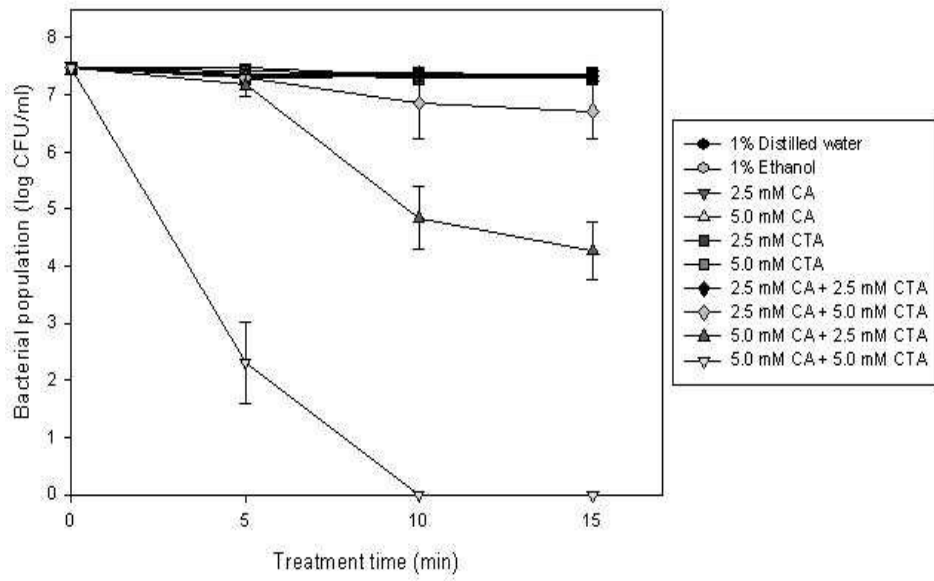
모든 처리군에서 명도의 변화는 나타나지 않았다. 처리군은 대조군에 비해 황색도가 다소 높아지는 결과를 보였지만 대부분의 처리군에서 통계적 차이는 나타나지 않았다. 다만 45℃ 2.5 mM 카프릴산 + 5.0 mM 구연산 조합처리, 5.0 mM 카프릴산 + 5.0 mM 구연산 조합처리를 15분간 수행했을 때만 대조군에 비해 황색도가 높아지는 결과를 보였다. 명도, 황색도와 달리 적색도에서는 조합처리에 의해 큰 변화가 나타났으며, 이는 통계적으로도 유의한 수준의 차이였다. 45℃에서 처리했을 때 단독처리군은 적색도가 변화하지 않았지만 조합처리에 의해 적색도가 증가하는 결과를 볼 수 있었다. 50℃에서 처리했을 경우에는 단독처리군, 조합처리군 모두 적색도의 유의적인 증가를 관찰하였으며, 이때 조합처리에 의한 적색도 상승이 단독처리의 상승보다 크게 나타났다. 이를 통해 카프릴산, 구연산을 단독으로 처리했을 때 보다 이를 조합하여 처리하였을 때 적색도가 크게 상승한다는 것을 알 수 있었다. 적색도가 높은 당근일수록 소비자들은 당근의 주요 건강 기능성 물질인 베타카로틴의 함량이 높다고 생각하므로, 소비자들은 적색도가 높은 당근유래 제품을 선호하는데, 기존에 당근주스의 살균을 위해 사용되던 열처리 방법의 경우, 색도가 감소하여 기호도가 떨어지는 점을 고려할 때, 본 발명의 방법에 의해 처리된 당근 주스의 경우 명도가 42 이상, 적색도가 19 이상, 황색도가 30 이상으로, 미생물의 살균효과가 매우 우수할 뿐 아니라 기호도 역시 극대화되었음을 확인할 수 있다.

도면

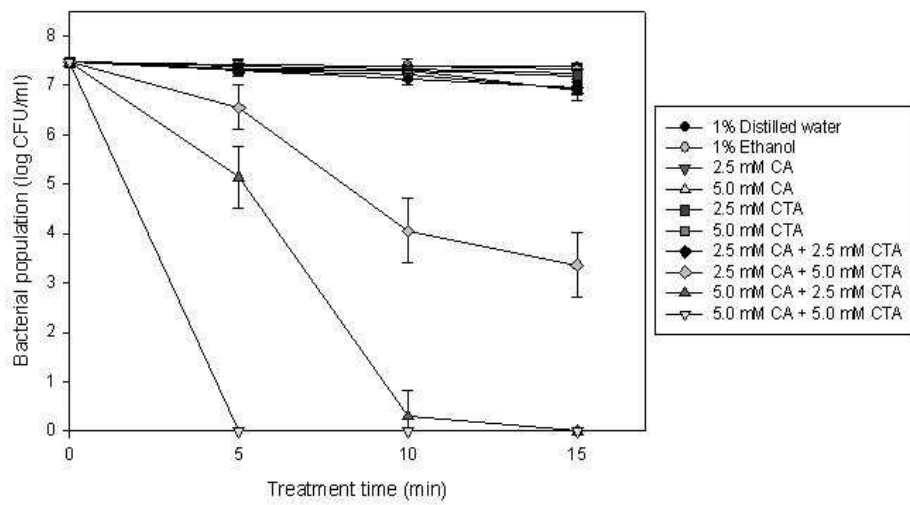
도면1



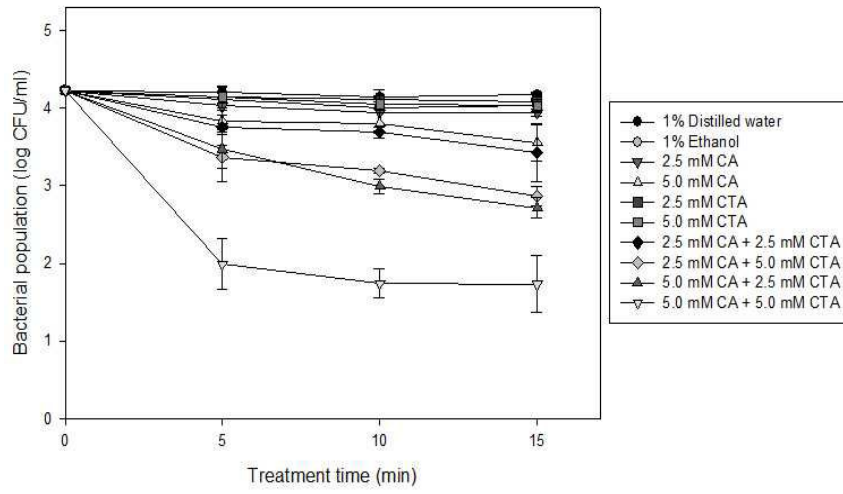
도면2



도면3



도면4



도면5

