



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2009-0122071
(43) 공개일자 2009년11월26일

(51) Int. Cl.

A23C 9/16 (2006.01) A23C 9/18 (2006.01)

A23C 9/00 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2008-0048285

(22) 출원일자 2008년05월23일

심사청구일자 2008년05월23일

(71) 출원인

고려대학교 산학협력단

서울 성북구 안암동5가1 고려대학교 내

(72) 발명자

이민석

경기 성남시 분당구 수내동 55 파크타운롯데아파트 133동 701호

김오연

경기도 광주시 초월읍 지월리 760-67

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

현종철

전체 청구항 수 : 총 17 항

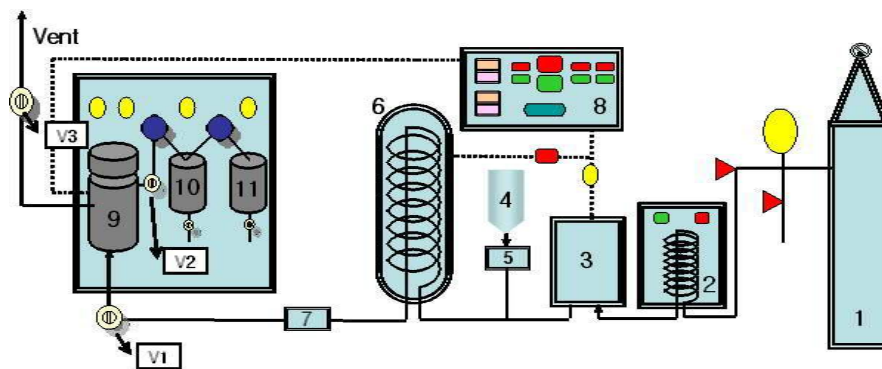
(54) 초임계유체를 이용한 분유의 살균방법 및 이를 이용한분유의 제조방법

(57) 요약

초임계유체를 이용한 분유의 살균방법 및 이를 이용한 분유의 제조방법이 제공된다.

본 발명에 따른 초임계유체를 이용한 분유의 살균방법은 (a) 68 내지 73 ℃로 설정된 반응기에 분유를 투입하는 단계;(b) 상기 반응기에 초임계유체로 사용되는 기체를 투입하고 150 내지 250 bar로 가압하는 단계;(c) 상기 반응기의 온도 및 압력을 유지시키는 단계;(d) 상기 초임계유체를 상기 반응기로부터 제거하는 단계;및 (e) 상기 반응기로부터 살균된 분유를 얻는 단계를 포함하며, 본 발명은 초임계 유체를 이용하여 식중독세균 및 부패미생물의 효과적 살균하는 방법에 관한 것으로, 기존의 가열살균 방법과는 달리 식품의 이화학적 변화를 최소화시키고 최종 분말 제품에 적용함으로써 분유 제조공정의 효율성과 경제성을 높일 수 있다.

대 표 도 - 도1



(72) 발명자

장혜인

서울특별시 용산구 후암동 132-11

김선애

서울 성북구 장위1동 229-57번지 501호

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 R0706851

부처명 한국학술진흥재단

연구사업명 건조 조제분유의 *Entrobacter sakazakii* 제어를 위한새로운 살균 기술 개발

연구과제명 신진교수연구지원 기초과학분야

주관기관 고려대학교 산학협력단

연구기간 2007년 08월 01일 ~ 2008년 07월 31일

특허청구의 범위

청구항 1

- (a) 68 내지 73 ℃로 설정된 반응기에 분유를 투입하는 단계;
- (b) 상기 반응기에 초임계유체로 사용되는 기체를 투입하고 150 내지 250 bar로 가압하는 단계;
- (c) 상기 반응기의 온도 및 압력을 유지시키는 단계;
- (d) 상기 초임계유체를 상기 반응기로부터 제거하는 단계; 및
- (e) 상기 반응기로부터 살균된 분유를 얻는 단계;

를 포함하는 것을 특징으로 하는 초임계유체를 이용한 분유의 살균방법.

청구항 2

제 1항에 있어서,

상기 분유는 외부로 통기 될 수 있는 용기에 담긴 채로 반응기에 투입되는 것을 특징으로 하는 초임계유체를 이용한 분유의 살균방법.

청구항 3

제 2항에 있어서,

상기 용기는 뚜껑이 있으며, 상기 외부와의 통기는 상기 뚜껑을 일부만 닫는 것에 의하여 달성되는 것을 특징으로 하는 초임계유체를 이용한 분유의 살균방법.

청구항 4

제 1항에 있어서,

상기 초임계유체로 사용되는 기체는 이산화탄소인 것을 특징으로 하는 초임계유체를 이용한 분유의 살균방법.

청구항 5

제 1항에 있어서,

상기 (a) 단계의 상기 살균 목표 미생물은 엔테로박터 사카자키인 것을 특징으로 하는 초임계유체를 이용한 분유의 살균방법.

청구항 6

제 1항에 있어서,

상기 (c) 단계는 10 내지 30 분 동안 지속 되는 것을 특징으로 하는 초임계유체를 이용한 분유의 살균방법.

청구항 7

제 1항에 있어서,

상기 (e)단계의 살균된 분유의 수분활성도는 0.3 이하인 것을 특징으로 하는 초임계유체를 이용한 분유의 살균방법.

청구항 8

제 1항에 있어서,

상기 (a)단계의 투입되는 분유의 색과 (e)단계의 상기 살균된 분유의 색의 색차(ΔE^*) 값이 0.4 이하인 것을 특징으로 하는 초임계유체를 이용한 분유의 살균방법.

청구항 9

제 1항에 있어서,

상기 (e)단계의 살균된 시료의 pH는 6 내지 8인 것을 특징으로 하는 초임계유체를 이용한 분유의 살균방법.

청구항 10

분유를 충전하는 단계 후 포장하는 단계를 포함하는 분유 제조 방법에 있어서,

상기 분유를 충전하는 단계 및 포장하는 단계 사이에 살균하는 단계를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 분유의 제조방법.

청구항 11

제 10항에 있어서,

상기 살균되는 분유는 농축 및 건조 단계를 거친 완제품인 것을 특징으로 하는 분유의 제조방법.

청구항 12

제 10항에 있어서,

상기 살균하는 단계는 캔 용기에 분유를 충전한 후 상기 캔 용기에 뚜껑을 덮는 단계; 상기 캔 용기와 뚜껑을 진공밀봉기를 사용하여 제 1 밀봉하는 단계; 상기 제 1 밀봉된 캔 용기에 담긴 분유를 초임계유체를 이용하여 살균하는 단계; 상기 살균된 분유가 담긴 캔 용기를 제 2 밀봉하는 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 분유의 제조방법.

청구항 13

제 12항에 있어서,

상기 제 1 밀봉된 캔 용기에 담긴 분유를 초임계유체를 이용하여 살균하는 단계는 (a) 68 내지 73 ℃로 설정된 반응기에 제 1 밀봉된 용기에 담긴 분유를 투입하는 단계;

(b) 상기 반응기에 초임계 유체로 사용되는 기체를 투입하고 150 내지 250 bar로 가압하는 단계;

(c) 상기 반응기의 온도 및 압력을 유지시키는 단계;

(d) 상기 초임계 유체를 상기 반응기로부터 제거하는 단계; 및

(e) 상기 반응기로부터 살균된 분유를 얻는 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 분유의 제조방법.

청구항 14

제 12항에 있어서,

상기 초임계유체로 사용되는 기체는 이산화탄소만을 사용하거나 이산화탄소 및 질소를 혼합한 기체를 사용하는 것을 특징으로 하는 분유의 제조방법.

청구항 15

제 13항에 있어서,

상기 (c) 단계는 10 내지 30 분 동안 지속 되는 것을 특징으로 하는 분유의 제조방법.

청구항 16

제 12항에 있어서,

상기 제 1 밀봉하는 단계는 캔 용기의 가장자리와 뚜껑의 가장자리를 겹치게 접는 단계이며, 제 1 밀봉 후에도 캔 용기 내부와 외부는 통기 되는 것을 특징으로 하는 분유의 제조방법.

청구항 17

제 12항에 있어서,

상기 제 2 밀봉하는 단계는 뚜껑의 가장자리 안쪽에 칠한 실링 콤파운드의 접착으로 압착하는 단계인 것을 특징으로 하는 분유의 제조방법.

명세서

발명의 상세한 설명

기술분야

<1> 본 발명은 초임계유체를 이용한 분유의 살균방법 및 이를 이용한 분유의 제조방법에 관한 것으로서, 더욱 구체적으로는 조제분유, 초유류, 두유류, 이유식 및 곡류 조제식 등을 포함하는 다양한 영·유아 식품의 최종 제품에 적용 가능하며, 살균 후 추가적인 공정 작업이 불필요하여 2차 오염의 가능성을 최소화시킬 수 있고, 또한 무독성이고 재순환하여 사용할 수 있어 보다 경제적이며 사용된 물질이 잔류하지 않아 제품의 풍미를 저해시키지 않으며 소비자의 기호를 충족할 수 있는 초임계유체를 이용한 분유의 살균방법 및 이를 이용한 분유의 제조방법에 관한 것이다.

배경기술

<2> 식품은 대사작용을 할 수 있는 효소와 여러 가지 영양성분을 함유하고 있어 생산 이후 소비될 때까지 이화학적이고 생리적인 변화가 계속 발생하며, 부패 미생물이나 병원성 미생물의 번식으로 인해 상품성, 영양성, 기호성 및 안전성이 저하된다. 특히 면역력이 약한 신생아 및 영·유아의 건강 수호를 위해서는 보다 안전한 식품의 섭취가 최우선적으로 해결되어야 한다. 그러나 최근 국내 생산 조제분유 및 이유식에서 엔테로박터 사카자키, 바실러스 세레우스 및 장내세균 등의 미생물이 검출되면서 영·유아 식품의 안전성이 확보되고 있지 못한 상황이다. 이러한 식품 내 오염된 미생물은 생육이 가능한 온도로 제조되거나 적정 환경에 노출될 경우 그 양이 급속하게 증가 되어, 섭취 시 감염으로 인한 질병 발생을 야기하여 막대한 손실을 초래할 수 있다.

<3> 따라서 영·유아 식품에서 식중독세균 및 부패미생물을 제어할 수 있는 효율적 살균 방법의 도입의 요청에 따라 이러한 변화를 제어하기 위한 다양한 식품의 보존기술이 개발되었다. 최근에는 식품의 품질변화를 최소화하고 미생물을 제어할 수 있는 비가열 또는 최소가열 살균 처리법이 대두 되고 있다. 미생물 살균에 가장 보편적으로 이용되는 가열살균은 식품의 영양소 등 열에 약한 성분을 파괴시킬 뿐 아니라 향미 또는 조직감을 변성시키기 때문에 그 적용범위가 제한적이다. 가열온도가 높을수록 많은 종류의 미생물을 살균할 수 있지만 그대신 식품의 품질은 크게 저하된다. 식품 내의 젤라틴이나 펙틴은 과격한 열처리에 의해서 겔 형성력이 약해지며 녹말은 점성이 감소한다. 지나치게 가열된 단백질에 대해서는 단백질분해효소의 작용이 더디며, 지방의 경우 열처리시 유리지방산이 생성되거나 과산화물이 생성되어 산화적 산패가 일어나는 등 변질되며, 탄수화물은 고온에서 장기간 가열하면 분해되거나 아미노산과 반응하거나 카라멜화가 일어나 갈변현상을 초래하기도 한다. 특히 비타민 B1은 열에 약하여 가열 살균시 손실이 크다. 한편, 현재 연구되고 있는 비가열 살균법으로 고압살균, 향미생물제, 방사선 처리 기술이 조제분유 등의 영·유아 식품 살균 방법으로 시도되었으나, 고압이나 향미생물제를 이용한 제어 방법은 액상에서의 미생물 저감화를 확인한 것으로 최종 분말제품에 적용할 수 없다는 한계점을 가진다. 또한 방사선 조사는 영·유아 식품에 허용되지 않은 처리 기술이며 소비자의 선호도가 떨어져 실질적인 제품 상용화에는 무리가 따른다.

<4> 특히 현 시점에서는 조제분유를 포함하는 영·유아식품이 가열살균을 거치는 제품임에도 불구하고 최종 제품에서 엔테로박터 사카자키가 유입되는 문제가 발생하고 있다. 따라서 엔테로박터 사카자키를 포함하는 오염 미생물의 효율적인 제어를 위해서는 최종 분말제품에 직접 적용 가능한 새로운 살균 방법이 필요하다.

<5> 한편, 본 발명에서 '초임계유체'란 일반적인 조건에서는 기체 상태이지만 임계 온도와 임계 압력 이상에서는 유체인 것을 말하는데, 상기 초임계 유체를 식중독 세균의 살균에 이용하는 연구가 이루어지고 있지만 이는 실험실상(미생물 현탁액)의 결과로 얻어진 최적 조건(온도, 압력, 시간)일뿐 실제 식품 시료에 적용하여 산업화 및 기술이전을 목적으로 하기에는 완전한 살균효과를 기대할 수 없다. 일반적으로 미생물 현탁액은 단순한 셀라인 용액에 미생물이 분산되어 있는 것이지만, 식품은 미생물 현탁액과는 달리 복잡한 성분(단백질, 탄수화물, 지질, 미네랄, 비타민 등) 및 매트릭스 구조를 가지고 있어 같은 살균 처리 조건 하에서도 세포 보호 능력 및 저항성이 강하여 살균 효과를 기대할 수 없다고 알려져 있다. 하기 예비실시에 1과 같이 실험실상의 조건과 식품 시료에 대한 상이한 살균 조건이 필요함을 검증하는 국내외 논문은 이미 발표되어 있으며, 하기 예비실시에 1은 각각 셀라인과 식품에서, TSB와 식품에서 같은 종류의 미생물을 사멸시키기 위한 온도 및 압력 조건을 비교

한 것이다. 더욱이 동일한 균을 목표미생물로 하는 경우라도 살균 조건은 식품의 종류와 형태에 따라 큰 차이를 보이며, 이러한 사항을 뒷받침하는 내용은 하기 예비실시에 2에 개시된다. 결국 연구소 단위에서 검증, 또는 입증된 공정조건이 실제 제품단계에서는 효과적으로 적용될 수 없는 문제가 있다.

<6> 또한 초임계 이산화탄소를 이용해 식품을 살균할 경우 식품을 변질시키는 문제가 있으며, 이는 살균 원리를 통해 설명된다. 일반적으로 초임계 이산화탄소로 식품을 처리할 경우 식품의 pH가 낮아지며 이는 CO₂는 가압 하에서 용해되어 탄산을 형성하며, 이는 바이카보네이트로 이온화되기 때문이다. 이로 인해 식품이 산성화 되고 이에 따라 단백질이 변성되는 등 식품의 품질을 저하시키며 이 점이 초임계 이산화탄소를 식품 살균에 사용하는데 있어 한계점으로 지적되고 있다. 또한 초임계유체 처리 과정에서 온도와 압력의 변화가 생기므로 이에 따라 기체와 식품의 수분함량과 수분활성도가 변할 우려가 있으며 이는 저장 중에 산화(oxidation)와 비효소적 갈변 현상 등에 의해 변색되고 이취가 발생하는 주요 원인이 된다. 따라서 초임계유체를 이용한 살균 후 식품의 수분활성도와 pH, 색등 품질을 결정짓는 요인의 변동 또한 초임계유체를 이용한 살균에 있어서 지적되고 있는 문제점이다. 따라서 초임계 이산화탄소를 이용한 식품 살균을 실제 식품 살균에 적용하고, 산업화하기 위해서는 목표 미생물의 살균효과를 극대화하면서 동시에 식품의 pH나 수분활성도, 색감을 유지하고 영양소가 추출에 의해 손실되지 않는 범위의 조건 설정 및 처리가 반드시 요구된다.

<7> 초임계 이산화탄소는 물리화학적으로 세포 내외의 산성화에 따른 세포막과 대사관련 중요 효소의 불활성화, 내압에 의한 세포의 물리적인 파괴, 세포벽 지질과 세포 내 구성성분의 추출 등 복잡한 메커니즘을 통해 미생물이 사멸되도록 작용하므로 미생물 사멸 경향은 단순한 대수증식 모델로 표현할 수 없고, 상기 언급한 대로 현탁액에서의 사멸 조건이 실제 식품에 적용되지 않으며 특정 식품의 품질을 유지하면서 특정 식품에 서식하는 미생물을 살균시키는 조건을 확립하는 것이 초임계유체를 이용한 살균방법을 실용화하는데 중요하다.

<8> 한편, 분유제조는 일반적으로 원료유 → 예비농축 → 살균(예비가열) → 건조 → 집진 → 배출 → 냉각 및 사별 → 충전 및 포장하는 과정을 거치며, 살균과정은 농축 및 건조 단계에서 HTLT, LTST, UHT 등의 가열살균을 하는 것이 일반적이다. 상기 가열살균은 고체 상태의 식품에 직접 가할 수 없고, 더욱이 분말 상태인 분유에 처리가 용이하지 않으므로 액체상태의 원유에 살균을 가하고 그 후에 분말상태로 가공하게 된다. 따라서 상기 살균과정 이후에도 집진하는 단계, 또는 충전 포장하는 단계를 거치므로 이 과정에서 재 오염의 가능성이 있어 최종제품에서 유아에게 치명적인 엔테로박터 사카자키가 검출되는 문제가 발생하고 있는 실정이다. 식품공전에서 엔테로박터 사카자키의 허용한계치를 음성으로 강화한 것을 고려하면 포장단계에서 완제품에 직접 살균 처리하는 기술의 개발이 시급하다.

발명의 내용

해결 하고자하는 과제

<9> 본 발명은 상기 종래기술의 문제점을 해결하고자 안출된 것으로서, 본 발명이 해결하고자 하는 첫 번째 과제는 실제 식품에 직접 적용할 때 최적의 미생물 사멸 효과를 보이면서 분유의 pH 나 색감 등의 품질변화는 최소화하는 초임계유체를 이용한 분유 살균방법을 제공하는 것이다.

<10> 또한, 본 발명이 해결하고자 하는 두 번째 과제는 살균단계가 공정의 최종 단계인 제품의 충전, 포장 단계에 포함되어 2차 오염의 우려가 없는 분유의 제조방법을 제공하는 것이다.

과제 해결수단

<11> 본 발명은 상기 첫 번째 과제를 달성하기 위해서,

<12> (a) 68 내지 73 °C로 설정된 반응기에 분유를 투입하는 단계;

<13> (b) 상기 반응기에 초임계유체로 사용되는 기체를 투입하고 150 내지 250 bar로 가압하는 단계;

<14> (c) 상기 반응기의 온도 및 압력을 유지시키는 단계;

<15> (d) 상기 초임계 유체를 상기 반응기로부터 제거하는 단계; 및

<16> (e) 상기 반응기로부터 살균된 분유를 얻는 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 초임계유체를 이용한 분유의 살균방법을 제공한다.

<17> 본 발명의 바람직한 일 실시예에 따르면, 상기 분유는 외부로 통기 될 수 있는 용기에 담긴 채로 반응기에 투입

될 수 있다.

- <18> 본 발명의 바람직한 다른 실시예에 따르면, 상기 용기는 뚜껑이 있으며, 상기 외부와의 통기는 상기 뚜껑을 일부만 닫는 것에 의하여 달성되는 것일 수 있다.
- <19> 본 발명의 바람직한 또 다른 실시예에 따르면, 상기 초임계유체로 사용되는 기체는 이산화탄소가 될 수 있다.
- <20> 본 발명의 바람직한 또 다른 실시예에 따르면, 상기 (a)단계의 상기 살균 목표 미생물이 엔테로박터 사카자키일 수 있다.
- <21> 본 발명의 바람직한 또 다른 실시예에 따르면, 상기 (c)단계는 10 내지 30분 동안 지속 됨이 바람직하다.
- <22> 본 발명의 바람직한 또 다른 실시예에 따르면, 상기 (e)단계의 살균된 분유의 수분활성도는 0.3 이하 일 수 있다.
- <23> 본 발명의 바람직한 또 다른 실시예에 따르면, 상기 (a)단계의 투입되는 분유의 색과 (e)단계의 상기 살균된 분유의 색의 색차(ΔE^*) 값은 0.4 이하인 것이 바람직하다.
- <24> 본 발명의 바람직한 또 다른 실시예에 따르면, 상기 (e)단계의 살균된 분유의 pH는 6 내지 8이 될 수 있다.
- <25> 또한, 본 발명은 상기 두 번째 과제를 달성하기 위해서,
- <26> 분유를 충전하는 단계 후 포장하는 단계를 포함하는 분유를 제조하는 방법에 있어서, 상기 분유를 충전하는 단계 및 포장하는 단계 사이에 살균하는 단계를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 분유의 제조방법을 제공한다.
- <27> 본 발명의 바람직한 일 실시예에 따르면, 상기 살균되는 분유는 농축 및 건조 단계를 거친 완제품일 수 있다.
- <28> 본 발명의 바람직한 다른 실시예에 따르면, 상기 살균하는 단계는 캔 용기에 분유를 충전하는 단계; 상기 캔 용기에 뚜껑을 덮는 단계; 상기 캔 용기와 뚜껑을 진공밀봉기를 사용하여 제 1 밀봉하는 단계; 상기 제 1 밀봉된 캔 용기에 담긴 분유를 초임계유체를 이용하여 살균하는 단계; 상기 살균된 분유가 담긴 캔 용기를 제 2 밀봉하는 단계를 포함할 수 있다.
- <29> 본 발명의 바람직한 또 다른 실시예에 따르면, 상기 살균하는 단계는 (a) 68 내지 73 °C로 설정된 반응기에 제 1 밀봉된 용기에 담긴 분유를 투입하는 단계; (b) 상기 반응기에 초임계유체로 사용되는 기체를 투입하고 150 내지 250 bar로 가압하는 단계; (c) 상기 반응기의 온도 및 압력을 유지시키는 단계; (d) 상기 초임계유체를 상기 반응기로부터 제거하는 단계; 및 (e) 상기 반응기로부터 살균된 분유를 얻는 단계를 포함할 수 있다.
- <30> 본 발명의 바람직한 또 다른 실시예에 따르면, 상기 초임계유체는 이산화탄소만을 사용하거나 이산화탄소 및 질소를 혼합한 기체를 사용할 수 있다.
- <31> 본 발명의 바람직한 또 다른 실시예에 따르면, 상기 (c) 단계는 10 내지 30분 동안 지속될 수 있다.
- <32> 본 발명의 바람직한 또 다른 실시예에 따르면, 상기 제 1 밀봉하는 단계는 캔 용기의 가장자리와 뚜껑의 가장자리를 겹치게 접는 단계이며, 제 1 밀봉 후에도 캔 용기 내부와 외부는 통기되는 것일 수 있다.
- <33> 본 발명의 바람직한 또 다른 실시예에 따르면, 상기 제 2 밀봉하는 단계는 뚜껑의 가장자리 안쪽에 칠한 실링 컴파운드의 접촉으로 압착하는 단계일 수 있다.

효 과

- <34> 본 발명에 따른 초임계유체를 이용하는 분유의 살균방법 및 이를 이용한 분유의 제조방법은 식품에 물리·화학적인 영향을 동시에 줌으로써 상대적으로 낮은 공정 변수 조건(온도 및 압력)에서도 높은 살균 효과를 나타낼 수 있어 에너지 절감에 의한 공정의 경제성과 효율성을 높이는 장점이 있고 이산화탄소의 저렴한 비용과 구매 용이성에 따라 실질적인 식품의 살균 공정으로의 접목이 용이하다.
- <35> 본 발명은 조제분유에 한정하지 않고 초유류, 두유류, 이유식 및 곡류 조제식 등을 포함하는 다양한 영·유아 식품의 최종 제품에 직접 적용이 가능하며 살균 후 추가적인 공정 작업이 불필요하여 살균 후 처리과정에 의한 제품의 재오염을 방지할 수 있는 장점이 있다. 또한 살균에 사용되는 이산화탄소는 무독성이고 재순환하여 사용할 수 있어 보다 경제적인 뿐 아니라 식품에 잔류하지 않아 제품의 풍미를 저해시키지 않고 소비자의 기호를 충족할 수 있는 살균 방법이다.
- <36> 특히, 본 발명은 초임계 이산화탄소 공정의 주요 공정변수(온도, 압력 및 시간)에 따른 미생물의 살균 효과를

확인·검증하고 최소한의 품질변화 수준을 종합적으로 분석하여, 초임계 이산화탄소의 살균 최적 조건을 설정하고 경제성을 높였으며 선행기술이 실험실 상의 실험결과를 바탕으로 살균의 공정변수를 제시한 것에 비하여 본 발명은 실제 식품에 적용되는 살균 기준을 제시했다는데 장점이 있다. 본 발명에 따른 초임계 유체 살균 기술을 이용하여 식품의 이화학적 변화 최소화시키면서도 낮은 공정 변수 조건(온도 및 압력)에서 최대의 살균 효과를 제공함으로써 공정의 효율성을 높일 수 있다.

발명의 실시를 위한 구체적인 내용

- <37> 본 발명은 분유에 존재하는 식중독 미생물을 효과적으로 사멸시키기 위해 기존의 고온, 고압을 이용하는 방법 대신 상대적으로 낮은 온도와 압력에서 초임계점을 갖는 이산화탄소 등의 기체의 물리화학적 성질을 이용한 것이며 특히 분유의 품질을 유지하는 효과적인 최소 처리 조건으로 분유를 살균하는 방법 및 이를 이용한 분유의 제조방법에 관한 것이다. 이하, 본 발명을 더욱 상세하게 설명하기로 한다.
- <38> 구체적으로, 본 발명은 (a) 68 내지 73 ℃로 설정된 반응기에 분유를 투입하는 단계;
- <39> (b) 상기 반응기에 초임계 유체로 사용되는 기체를 투입하고 150 내지 250 bar로 가압하는 단계;
- <40> (c) 상기 반응기의 온도 및 압력을 유지시키는 단계;
- <41> (d) 상기 초임계유체를 상기 반응기로부터 제거하는 단계;및
- <42> (e) 상기 반응기로부터 살균된 분유를 얻는 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 초임계유체를 이용한 분유 살균방법을 제공한다. 본 발명에서 사용하는 초임계유체는 일정한 고온과 고압의 한계를 넘어선 상태에 도달하여 액체와 기체를 구분할 수 없는 시점의 유체를 가리킨다. 초임계유체는 기체처럼 형태가 없고 점도는 낮지만 액체와 같은 비중과 밀도를 지니는 등 기체와 액체의 장점을 모두 갖고 있다. 또한 초임계 유체를 미생물 살균에 이용할 경우 압력과 온도를 조절함으로써 밀도를 비롯하여 평형물성(용해도), 전달물성(점도, 확산계수, 열전도도), 용매화, 분자 클러스터링 상태 등에 대하여 인위적인 제어가 가능하다는 점에서 유리하다. 즉, 초임계유체로 시료에 있는 미생물을 용해시킨 후 온도를 임계점 이하로 낮추면 초임계유체는 액체가 되어 용해된 미생물 등의 오염물과 함께 식품 외부로 유출되며 여기서 다시 압력을 저하시키면 초임계유체는 기체로 변화하여 증발하고 용해된 물질만 남게 되는 원리를 이용한다.
- <43> 본 발명의 바람직한 일 실시예에 따르면 도 1에 도시한 초임계유체장치를 이용하여 수행될 수 있으며, 이 설비는 실린더(1), 냉각기(2), 펌프(3), 조용매실린더(4), 조용매펌프(5), 항온기(6), 순환 펌프(7), 조절장치(8), 추출기 또는 고압반응기(9), 제1분리기(10), 제2분리기(11)로 구성된다. 본 발명에서는 10과 11을 차단한 채 9의 추출기만을 미생물 현탁액을 처리하기 위한 고압 반응기로 한다. 고압반응기(9)는 내부 용량 100 mL로 304 스테인레스로 재질이며 최대 310 bar, 80 ℃지 견딜 수 있고 볼트를 이용해 개폐한다. 실린더(1)로부터 초임계 유체로 사용되는 기체가 공급된다.
- <44> 상기 반응기의 온도범위는 68 내지 73 ℃의 범위가 바람직한데, 이는 분유에 서식하는 엔테로박터 사카자키를 사멸시키는데 최적의 온도조건으로 사멸효과를 실시예 1에 나타내었다. 68 ℃미만의 온도에서는 압력과 처리 시간을 크게 하여도 엔테로박터 사카자키의 저감화 효과가 충분하지 않으며, 73 ℃를 초과하는 온도에서는 엔테로박터 사카자키 살균효과는 높으나 분유의 단백질이 변성될 우려가 있고 미생물 살균공정에 에너지가 많이 사용되어 공정비용이 높아지는 단점이 있다.
- <45> 또한 상기 반응기는 150 내지 250 bar로 가압함이 바람직한데, 이는 실시예 1을 통해 얻어낸 최적의 범위로 최대 가압치가 150 bar 미만일 경우 엔테로박터 사카자키의 살균효과가 미미하며, 250 bar를 초과하여 가압시 목표 미생물의 세포뿐 아니라 분유의 영양성분이 파괴될 우려가 있어 바람직하지 않다. 상기 가압하는 단계는 반응기를 밀폐한 후 도 1의 밸브V-1을 열어 펌프(3)를 이용하여 초임계유체로 사용되는 기체를 반응기(9)에 유입시켜 반응기의 압력을 목표압력까지 높인다. 반응기의 압력이 목표압력까지 도달하면, 펌프를 끄고 원하는 처리 시간만큼 처리한다. 처리시간 경과 후 즉시 밸브 V-3을 열어 압력을 빼준다.
- <46> 상기 분유는 외부로 통기 될 수 있는 용기에 담긴 채로 반응기에 투입될 수 있다. 반응기에 온도가 높아질 경우 시료를 담은 튜브 속의 기체가 팽창되어 분유나 분유를 담은 튜브가 파손될 우려가 있기 때문이다. 본 발명의 일 실시예에 따르면, 상기 용기는 뚜껑이 있으며, 상기 외부와의 통기는 상기 뚜껑을 일부만 닫는 것에 의하여 달성될 수 있다. 상기 분유를 담은 용기를 반응기에 넣고 렌치를 이용해 볼트를 완전히 잠궜 반응기를 폐쇄한다.

- <47> 또한, 상기 초임계유체로 사용되는 기체는 이산화탄소가 될 수 있다. 이산화탄소는 대량구입이 가능하고, 비교적 저렴하며, 비폭발성이고, 무극성, 무독성 등의 특징을 지녀 식품가공용으로 충분히 안전하고 인체에 대한 무해성을 동시에 확보할 수 있는 장점이 있다. 이산화탄소는 임계온도가 31.1 ℃이고 임계압력은 73.8기압이다. 이는 비교적 낮은 임계온도와 임계압력으로 열에 민감한 식품의 살균에도 사용이 가능하고 실온에서 즉시 기화하므로 별도의 폐용매 처리과정이 필요 없다는 장점이 있다. 이러한 초임계 이산화탄소는 기체와 같은 높은 확산도와 낮은 점도 및 액체와 같은 높은 밀도를 가지므로 용매적 특성이 뛰어나 여러 추출공정에서 이용되어왔다. 기존의 고압만을 이용한 살균 방법 대신 이러한 초임계 이산화탄소를 식품살균에 응용하면 물리적인 효과뿐만 아니라 화학적 효과를 동시에 얻을 수 있으므로 적은 에너지로도 효과적으로 미생물을 사멸시킬 수 있다. 더욱이 이산화탄소가 물과 반응하면 탄산을 형성하며, 이렇게 형성된 탄산은 대표적인 불활성 물질로 곰팡이 살균과정에서 불필요한 화학반응을 일으키지 않아 적합하다. 초임계 이산화탄소는 물에 녹아 탄산을 형성하는데 이것이 이온화되면 현탁액의 pH는 4 이하로 낮아질 수 있고 이는 세포막의 수소이온 펌프가 적절히 기능을 할 수 없는 수준이 된다. 세포가 이 기능을 상실하게 되면 세포 내부의 pH가 낮아지게 되고 세포 인지질에 존재하는 중요 효소들이 불활성화될 수 있다. 또한 초임계 이산화탄소는 친유성의 성질을 가지고 있기 때문에 인지질로 구성된 세포막과 세포 내부 구성 성분들을 추출할 수 있어 세포의 형태를 변형시킬 수 있고 압력에 의한 세포의 물리적 파괴를 일으킨다. 바람직한 일 실시예에 따르면 상기 이산화탄소는 도 1의 실린더(1)로부터 공급될 수 있고, 이산화탄소는 99.5%의 순도를 가진 액체 이산화탄소일 수 있다. 본 발명의 일 실시예에 의하면 상기 (b) 단계는 상기 반응기를 밀폐시킨 후 상기 반응기에 연결되어 있는 도관을 통해 초임계유체로 사용되는 기체를 투입할 수 있다. 상기 반응기는 렌치를 이용해 볼트를 완전히 잠궈 밀폐시키며, 상기 반응기를 밀폐시키는 이유는 반응기에 압력을 가할 경우 초임계 유체로 사용되는 기체가 반응기 밖으로 유출됨을 방지하기 위함이다.
- <48> 또한 상기 (a)단계의 상기 살균 목표 미생물이 엔테로박터 사카자키일 수 있다. 본 발명에 의한 엔테로박터 사카자키의 사멸 효과를 실시예1에 나타내었다. 다만 본 발명은 이에 한정되지 않고, 살모넬라 엔테리카, 바실러스 스테우스, 대장균, 시트로박터 프룬디등 분유에 서식 가능한 균을 목표 미생물로 할 수 있다.
- <49> 상기 (c) 단계는 10 내지 30분 동안 지속 됨이 바람직하며 상기 온도와 압력을 유지하기 위해 상기 반응기에 열을 가할 수 있는 장치인 도 1의 항온기(6)를 사용한다. 상기 10 내지 30분은 분유에 서식하는 엔테로박터 사카자키를 살균하기 위한 최적의 시간으로 상기 온도와 압력을 10분 미만의 시간 동안 상기 반응기의 온도와 압력을 유지할 경우 미생물을 비롯한 식품 내의 오염물이 초임계유체에 용해되거나 미생물이 사멸하기 충분하지 않으며, 30분을 초과하여 살균을 지속할 경우 분유의 질감이 변질되거나 파손될 수 있으며 공정비용이 많이 드는 단점이 있다.
- <50> 상기 (e)단계에서 상기 반응기 내부를 상압의 온도 및 상온의 압력으로 유지한 후 상기 반응기를 열어 살균된 분유를 얻을 수 있다. 상온은 가열하거나 냉각하지 않은 자연 그대로의 기온을 뜻하며 보통 15 내지 25 ℃를 가리킨다. 상압은 특별히 압력을 줄이거나 높이지 않을 때의 압력을 의미하며 보통 대기압과 같은 1기압(약 1.013 bar) 정도의 압력을 이른다. 상기 밸브 V-3을 통해 압력을 임계치 밑으로 저하시키면, 본 발명에서 사용하는 초임계유체는 상온에서 기체로 존재하므로 기화되어 반응기 상승부로 상승하고 반응기에 연결된 도관을 통해서 반응기 외부로 유출되고, 살균된 분유만이 반응기 바닥에 남게 된다. 반응기 외부로 유출된 초임계유체는 미생물 등의 오염물질과 분리되면 원래의 깨끗한 순도로 돌아가기 때문에 포집한 후 별도의 처리 과정 없이 재활용할 수 있는 장점이 있다.
- <51> 또한 상기 (e)단계의 살균된 분유의 수분활성도는 0.3 이하가 될 수 있다. 초임계유체를 이용한 살균시 반응기 내의 압력과 온도 조건이 변화하게 되는데 특히 반응기의 압력이 높아질 경우 분유가 함유할 수 있는 수분함량이 많아지고 이에 따라 수분활성도가 높아질 우려가 있다. 분유는 저장 중에 산화(oxidation)와 비효소적 갈변 현상 등에 의해 변색되고 이취가 발생할 수 있다. 특히 저장 중 마이알(maillard)반응이 일어나게 되면 이산화탄소, 유기산, 말톨(maltol), 푸르푸랄(furfural) 등의 수 많은 화합물들이 형성되어 제품의 품질을 저하시키게 되는데, 이러한 산화와 갈변 반응에 영향을 주는 주요 요인이 수분활성도이다. 또한 분유의 제조단계에서 수분활성도를 제품보관에 안전한 수준으로 유지하는 것은 미생물의 증식과 관련하여 중요한 의미를 갖으며, 미생물의 성장에 대한 최저한의 수분활성은 세균의 경우 0.93 내지 0.99이고, 효모는 0.88, 곰팡이는 0.80 가량으로 보고되고 있는바 초임계유체를 이용하여 분유를 살균한 후 상기 범위의 수분활성도를 유지할 경우 분유 저장시 미생물 서식 가능성을 낮추며 분유의 품질변화를 막을 수 있다.
- <52> 상기 (e)단계의 상기 살균된 분유의 색은 색차(ΔE^*) 값 0.4 이하인 것이 바람직하다. 색차(ΔE^*) 값으로 초임

계 처리 전후의 색 변화 수준을 확인할 수 있다. 즉, 분유 표면의 색을 측정하여 그 결과를 CIE L^* , a^* , b^* 를 이용하여 비교하며 L^* , a^* , b^* 값은 각각 시료의 lightness, redness, yellowness를 나타낸다. 분유의 저장 중 발생하는 마이알(maillard)반응으로 인하여 b^* 값 즉 yellowness의 변화가 일어나기 쉽다. 마이알(maillard) 반응이 분유의 저장 중 일어나게 된다면, 분유의 유통기간이 단축되고 갈변화 현상으로 분유의 품질이 떨어지게 되는 문제들이 발생할 수 있으므로 분유에 있어서 b^* 값의 변화가 가장 중요하다고 할 수 있다. 본 발명에서는 분유의 품질을 결정짓는 색변화의 정도를 나타내기 위해 ΔL^* , Δa^* , Δb^* 값을 하나의 (ΔE^*)를 이용하여 나타낸다. 하기 반응식 1은 초임계유체를 이용한 살균 전, 후 L(lightness), a(redness), b(yellowness)의 차이로부터 ΔE^* 를 계산하는 식이다.

<53> (반응식 1)

<54>
$$\Delta E^* = [(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2]^{1/2}$$

<55> 상기 색차의 값은 0.4 이하임이 바람직하며, 색차(ΔE^*)가 0.4를 초과할 경우, 상기 색의 차이를 서로 다른 부분에 사용할 수 있는 정도의 차이를 나타내므로 분유의 살균으로 인해 품질이 저하되었다고 할 수 있다. 표 1에 색차 수치에 따른 인간의 감지여부를 나타내었다.

표 1

<56>

색차 (ΔE^*)	인간의 감지방법, 사용사례
0.0~0.1	눈으로 색이 다른 것을 식별할 수 없음
0.2~0.4	눈이 좋은 사람이 색이 다른 것을 식별할 수 있는 한계
0.4~0.8	색이 크게 다르고, 서로 다른 부분에 사용되는 범위
0.8~1.5	제품의 색관리에 사용되는 범위
1.5~3.0	색은 크게 차이가 있는 등, 그 채도색에 허용되는 범위
3.0~	색이 다른 것을 확실히 구별되는 범위
12.0~	별도의 색계통

<57> 상기 (e)단계의 살균된 분유의 pH는 6 내지 8이 될 수 있다. 초임계 이산화탄소의 다양한 살균 기작 중 가장 주요한 기작은 가압을 통해 세포막을 쉽게 침투할 수 있는 CO_2 가 세포 내부에 축적되어 pH를 낮추어 미생물의 대사를 방해하고 세포막을 허무는 것이다. 다만 상기 pH를 낮추는 현상은 세균의 세포뿐 아니라 초임계 이산화탄소를 처리한 분유에도 영향을 미칠 수 있으며, 따라서 초임계 이산화탄소를 이용한 살균 후 적정 pH를 유지하는 것은 분유의 품질에 지대한 영향을 미친다. 상기 (e)단계의 살균된 분유의 pH는 6 미만일 경우 분유의 단백질의 변성을 초래할 수 있어 바람직하지 않고, 상기 (e)단계의 살균된 분유의 pH가 8을 초과할 경우 상기 초임계 살균 기작 이외에 이물질의 유입 등 다른 요인에 의해 분유의 pH가 높아졌다고 볼 수 있어 살균과정이 바르게 진행되었다고 볼 수 없다.

<58> 또한, 본 발명은 상기 두 번째 과제를 달성하기 위해서,

<59> 분유를 충전하는 단계 후 포장하는 단계를 포함하는 분유를 제조하는 방법에 있어서 상기 분유를 충전하는 단계 및 포장하는 단계 사이에 살균하는 단계를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 분유의 제조방법을 제공한다. 본 발명에서 제공하는 분유의 제조방법은 제품의 살균단계가 공정의 최종단계에서 이루어짐이 특징이며, 종래에 분말 완성제품에 대하여 가열, 비열살균이 곤란했던 점을 해소한 것이 핵심이다. 이는 초임계유체가 액체는 물론 고체 분말에도 잘 침투하는 성질을 이용한 것이며, 특히 초임계 유체를 사용하여 제품의 영양소 파괴 및 추출을 최소화하고 색, pH등의 성질이 유의적으로 변화되지 않는 처리조건을 확립하여 수행된다. 이를 통해 종래, 제품의 살균 후에도 2차 오염의 가능성이 농후하였으며 실제로 시판되는 분유에서 엔테로박터 사카자키 등 유아에게 해로운 미생물이 검출되었던 문제점을 해소할 수 있다.

<60> 상기 충전 및 포장하는 단계는 캔 용기에 분유를 충전하는 단계; 상기 캔 용기에 뚜껑을 덮는 단계; 상기 캔용기와 뚜껑을 진공밀봉기를 사용하여 제 1 밀봉하는 단계; 상기 제 1 밀봉된 캔 용기에 담긴 분유를 초임계유체를 사용하여 살균하는 단계; 상기 살균된 분유가 담긴 캔 용기를 제 2 밀봉하는 단계를 포함할 수 있다. 상기 캔 용기는 금속제의 용기를 의미하며, 재질은 특정 금속으로 한정되는 것은 아니나 주석을 사용하는 것이 바람

직하고, 알루미늄이나 주석도금을 하지 않은 화학처리 강판을 사용할 수 있다. 특히 분유의 경우에는 흡습성이 상당히 강하고 단백질의 함량이 높는데 단백질은 외부환경에 의해서 변성되기 쉽기 때문에 공기의 차단 효과가 뛰어나고 수분의 침투를 저지할 수 있어 캔 용기에 충전하는 것이 바람직하다. 또한 본 발명에 따라 캔 용기에 담긴 분유를 초임계유체를 이용하여 살균하는 경우, 상대적으로 낮은 온도에서 살균공정을 진행할 수 있어 종래 고온, 고압의 환경에서 캔 용기를 살균하는 경우 발생했던 캔 용기의 변형이나 부식, 이로인해 금속용기로부터 유해물질이 유출되는 등의 문제점을 해소할 수 있다.

<61> 상기 밀봉은 살균조작과 아울러 통조림 제조에 있어서 가장 중요한 공정으로서 캔 속에 미생물·공기·수분 등이 침입되는 것을 완전히 막아 제품의 변질이나 변패를 방지함으로써 장기간의 저장을 가능하게 하는 것이다. 도 2에 본 발명의 제 1 밀봉 및 제 2 밀봉 과정을 도시하였다. 밀봉에는 이중밀봉기를 사용하는데, 이중밀봉기에는 용도에 따라 여러 가지 형식이 있으며 밀봉능력 매분 40 내지 60캔인 것과 120 내지 160캔인 것을 사용함이 바람직하나 이에 한정되지 않는다. 상기 제 1 밀봉은 이중밀봉기의 제1밀봉롤이 캔 몸체의 가장자리와 뚜껑의 가장자리를 겹치게 접는 단계이다. 상기 제 2 밀봉은 캔 몸체와 뚜껑의 겹쳐진 부분을 제2밀봉롤로 압착하여 뚜껑의 가장자리 안쪽에 칠한 실링 콤파운드(천연고무를 주원료로 한 패킹)의 접촉으로 밀봉하는 단계이다. 본 발명의 특징은 제 1 밀봉단계와 제 2 밀봉단계의 사이에 초임계유체를 이용한 살균 단계가 포함된 것이며, 제 1 밀봉 단계 전에 살균 단계가 포함될 경우 살균 후 밀봉하는 과정에서 2차 오염의 우려가 있어 바람직하지 않으며 살균 후 수행되는 제 1 밀봉 과정을 미생물과 먼지 등의 오염 가능성을 제거해야 하기 때문에 탈자기 설비, 자외선 살균설비, 집진 설비 등이 추가로 필요해 상기 설비의 설치 및 관리비용이 추가로 소요되어 경제성이 떨어진다. 제 2 밀봉 후 살균할 경우 온도가 높아짐에 따라 용기 내부의 기체가 팽창하여 캔 용기가 폭발하거나 형태가 변할 우려가 있다. 따라서 본 발명에 따라 제 1 밀봉 및 제 2 밀봉 사이에 살균과정이 포함될 경우, 살균 후 뒤이은 공정에 따른 재오염의 가능성은 최소화하면서 캔용기가 변형될 우려 없이 초임계유체를 이용하여 분유의 최종제품에 살균을 가할 수 있다. 또한, 새로운 장치를 도입하지 않고 기존에 사용되던 장치를 새로운 살균 시스템에 적용할 수 있어 비용절감의 측면에서 매우 유리하다.

<62> 상기 살균하는 단계는 (a) 68 내지 73 ℃로 설정된 반응기에 제 1 밀봉된 캔 용기에 담긴 분유를 투입하는 단계; (b) 상기 반응기에 초임계유체로 사용되는 기체를 투입하고 150 내지 250 bar로 가압하는 단계; (c) 상기 반응기의 온도 및 압력을 유지시키는 단계; (d) 상기 초임계유체를 상기 반응기로부터 제거하는 단계; 및 (e) 상기 반응기로부터 살균된 분유를 얻는 단계를 포함할 수 있다. 상기 반응기의 온도범위는 68 내지 73 ℃의 범위가 바람직한데, 이는 엔테로박터 사카자키를 사멸시키는데 최적의 온도조건으로 실시예 1에 사멸효과를 나타내었다. 68 ℃미만의 온도에서는 압력과 처리 시간을 크게 하여도 엔테로박터 사카자키의 저감화 효과가 충분하지 않으며, 73 ℃를 초과하는 온도에서는 엔테로박터 사카자키 사멸효과는 높으나 분유의 단백질이 변성될 우려가 있고 미생물 살균공정에 에너지가 많이 사용되어 공정비용이 높아지는 단점이 있다. 또한 상기 반응기는 150 내지 250 bar 로 가압함이 바람직한데, 이는 분유 살균의 최적 압력 범위로 최대 가압치가 150 bar 미만일 경우 엔테로박터 사카자키의 살균효과가 충분하지 않고, 250 bar를 초과하여 가압시 목표 미생물의 세포뿐 아니라 분유의 영양성분이 파괴될 우려가 있어 바람직하지 않다.

<63> 상기 초임계유체로 사용되는 기체는 이산화탄소만을 사용하거나 이산화탄소 및 질소를 혼합한 기체일 수 있다. 이산화탄소는 대량구입이 가능하고, 비교적 저렴하며, 비폭발성이고, 무극성, 무독성 등의 특징을 지녀 식품가공용으로 충분히 안전하고 인체에 대한 무해성을 동시에 확보할 수 있는 장점이 있다. 이산화탄소는 임계온도가 31.1 ℃이고 임계압력은 73.8 기압이다. 또한 질소의 임계온도는-146.7 ℃이고, 임계압력은 33.9 bar로 이산화탄소보다 낮으므로 본 발명의 일 실시예에 따라 질소와 이산화탄소의 기체를 초임계유체로 사용할 경우 본 발명에서 가하는 온도와 압력 조건에 의해 이산화탄소와 질소 모두 초임계유체 상태로 되어 살균효과를 갖는다. 종래, 분유와 공기 중의 산소의 접촉하여 산패되는 것을 방지할 목적으로 분유 캔 용기에 질소충전을 하였는데 이산화탄소와 질소의 혼합기체를 초임계유체로 사용시 살균 후 반응기의 온도와 압력을 상온과 상압으로 낮춤에 따라서 별도의 충전과정 없이 캔 용기 내에 질소와 이산화탄소 충전이 되어 공정이 단순화되고 비용이 절감되는 장점이 있다.

<64> 상기 (c) 단계는 10 내지 30 분 동안 지속됨이 바람직하다. 상기 10 내지 30 분은 분유에 서식하는 엔테로박터 사카자키를 살균하기 위한 최적의 시간으로 상기 온도와 압력을 10 분 미만의 시간 동안 상기 반응기의 온도와 압력을 유지할 경우 미생물을 비롯한 식품 내의 오염물이 초임계유체에 용해되거나 미생물이 사멸하기 충분하지 않으며, 30 분을 초과하여 살균을 지속할 경우 분유의 질감이 변질 되거나 파손될 수 있으며 공정비용이 많이 드는 단점이 있다.

<65> 한편, 상기 제 1 밀봉하는 단계는 캔 용기의 가장자리와 뚜껑의 가장자리를 겹치게 접는 단계이며, 제 1 밀봉

후에도 캔 용기 내부와 외부는 통기되는 것일 수 있고, 상기 제 2 밀봉하는 단계는 뚜껑의 가장자리 안쪽에 칠한 실링 컴파운드의 접착으로 압착하는 단계일 수 있다. 상기 제 1 밀봉하는 단계 및 제 2 밀봉하는 단계의 캔 용기의 모식도를 도 2에 나타내었다. 본 발명의 특징은 제 1 밀봉단계와 제 2 밀봉단계의 사이에 초임계유체를 이용한 살균 단계를 포함하는 것이며, 이는 제 2 밀봉 후 초임계유체를 이용하여 살균할 경우, 온도가 높아짐에 따라 용기 내부의 기체가 팽창하여 캔 용기가 폭발하거나 형태가 변하는 것을 방지하기 위함이다. 제 1 밀봉 단계를 마친 상태에서 초임계유체를 사용하여 살균시 캔 용기 외부로 기체의 출입이 가능하기 때문에 온도가 올라감에 따라 용기 내의 기체가 팽창하는 경우에도 캔 용기가 변형될 우려가 없다. 본 발명에 따라 살균할 경우, 새로운 장치를 장착하지 않고 기존에 사용되던 장치를 이용하여 새로운 살균 시스템에 적용할 수 있어 비용절감의 측면에서 매우 유리하다.

<66> 본 발명에 따른 분유 살균방법은 분유제조에 한정되지 않으며, 초유류, 두유류, 이유식 및 곡류 조제식 등 영유아식품의 살균에 널리 적용할 수 있다. 상기 조제분유, 초유류, 이유식 및 곡류 조제식은 곡류를 원료로 하여 엔테로박터 사카자키의 감염이 우려되는 식품이며, 소비되는 대상이 면역력이 약한 영 유아들로 위생관리가 특히 주의하여야 하므로, 본 발명에 의한 초임계유체를 이용한 살균을 통해 안전성을 확보할 수 있다.

<67> 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 구체적으로 설명하기로 하지만, 하기 실시예가 본 발명의 범위를 제한하는 것은 아니며, 이는 본 발명의 이해를 돕기 위한 것으로 해석되어야 할 것이다.

<68> 예비실시예 1. 실험실상의 조건과 식품시료에 대한 살균 효과차이

<69> 같은 종류의 미생물, 같은 온도 및 압력 조건에서 초임계 유체를 이용해 살균하는 경우 식품을 대상으로 직접 처리하였을 때와 실험실상에서 증균한 미생물에 처리한 경우 살균 효과의 차이를 알아보기 위해 실험실상의 조건(distilled water: 증류수, trpticase soy broth: TSB 용액)과 실제 식품을 선정해 실험하였다. TSB, 증류수, 닭고기, 간새우, 오렌지 주스, 계란노른자에 대하여 초임계 이산화탄소를 13.7 MPa의 압력, 35 ℃의 온도로 120 분 동안 처리한 후 살균 목표 미생물인 리스테리아 모토사이토전스의 저감화효과를 비교하였다. 실험 결과를 표 2에 나타내었다.

표 2

<70>

목표미생물	처리조건	시료의형태	살균대상	저감화
리스테리아 모토사이토전스 (<i>Listeria monocytogens</i>)	13.7MPa, 35℃, 120분	실험실상 조건	증류수	9D
			TSB 용액	9D
	실제식품		닭고기	1D
			간새우	1.5D
			오렌지주스	2.5D
			계란노른자	3D

<71> 표 1에서 확인할 수 있듯이 같은 미생물 중, 같은 처리(압력, 온도, 시간) 조건에서도 실험실상의 조건(distilled water: 증류수, trpticase soy broth: TSB 용액)에서는 9D의 저감화효과가 있었으나, 기타 식품류에 처리하였을 때에는 이에 상당히 못 미치는 살균 효과(1~3D)를 나타냄을 알 수 있다. 미생물 살균 효과가 상당히 차이가 나므로 실험실상에서의 살균효과를 실제 식품모델에 직접적용할 수 없고, 새로운 온도, 압력, 시간 조건을 수립해야 함을 알 수 있다.

<72> 예비실시예 2. 식품의 종류에 따른 살균 효과 차이

<73> 서로 다른 식품에 대하여 동일한 조건으로 살균 처리할 경우 미생물의 사멸효과차이를 알아보기 위해 서로 다른 식품에 대하여 동일한 살균 처리를 한 후 동일한 미생물의 저감화 정도를 비교하였다. 서로 다른 식품인 우유(pH=6.61), 탈지유(pH=6.9), 쇠고기, 다진 쇠고기에 대하여 초임계 이산화탄소를 6.05 MPa의 압력, 45 ℃의 온도로 150 분 동안 처리한 후 살균 목표 미생물인 브로코쓰릭스 써모스팩타(*Brochothrix thermosphacta*)의 저감화 효과를 비교하였다. 그 결과를 표 3에 나타내었다.

표 3

<74>

목표미생물	처리조건	살균대상	저감화
-------	------	------	-----

<i>Brochotrix thermosphacta</i>	6.05MPa, 45℃, 150분	우유(pH=6.61)	0.4D
		탈지유(pH=6.9)	1.9D
		쇠고기	5.9D
		다진 쇠고기	1.1D

<75> 실험 결과에 의해 같은 종류의 미생물을 목표미생물로 하는 경우라도 살균 대상이 되는 식품의 종류에 따라 상이한 살균조건이 필요함을 알 수 있다. 이는 식품은 고체, 액체 같은 종류(타입) 및 구성 성분에 따라 매트릭스 구조가 상이하고 초임계 유체에서 사용되는 이산화탄소, 질소 등의 가스 침투가 식품의 복잡 다양한 매트릭스 구조를 침투하는 데 있어 상당히 중요한 변수로 작용하기 때문이다. 또한 pH등의 외적 환경 역시 식품마다 다르고 각기 다른 종류와 양의 영양소를 함유하고 있고 이를 유지하기 위한 조건 역시 서로 상이함을 고려할 때 살균 목표 미생물이 동일한 경우라도 살균 대상으로 하는 식품이 다를 경우에는 같은 카테고리도 묶어 동일한 살균 조건으로 처리해서는 안 될 것으로 판단된다.

<76> 실시예 1. 분유의 엔테로박터 사카자키 사멸의 최적 처리 조건 탐색

<77> 사용 균주

<78> 본 실험에서는 3개의 엔테로박터 사카자키(*E. sakazakii*) 표준 균주(ATCC¹ 12868, ATCC 29004, ATCC 29544)를 사용하였다. ATCC : American Type Culture Collection (Manassas, VA, USA).

<79> 배양 조건 및 방법

<80> 분유에 접종하기 전 균주의 활성을 최대로 하고자 각각 EE broth에 접종하여 37 ℃에서 24 시간 배양하고, 배양한 균주들은 원심분리기(Centra-CL2, IEC, USA)를 사용하여 2,900×g로 30 분 동안 원심분리하고, 상정액을 모두 버린 후 다시 0.85% 생리식염수(pH 7.0)를 넣고 원심 분리하는 과정을 3번 반복하였다. 이렇게 준비한 세 균주의 현탁액을 시료에 접종하기 위해 혼합·제조하였다.

<81> 시료 및 접종

<82> 시료는 시중에서 유통되고 있는 영·유아용 조제분유를 구입하여 실험에 사용하였다. 균을 접종시키기 위해 무균대 안에 알루미늄 호일(30×50 cm)을 깔고 시료를 넓게 펼쳐 놓은 후 혼합균주를 퍼프스프레이(perfume spray)에 넣고 10 cm위에서 수직으로 분사하여 접종(약 10⁶ CFU/g)하고 멸균된 약수저(spatula)를 이용하여 섞어 준 후 무균대 안에서 배양 시켰다. 엔테로박터 사카자키(*E. sakazakii*)를 접종한 시료는 초임계 이산화탄소 처리를 할 수 있도록 멸균된 튜브(Falcon, NJ, USA)에 10 g 씩 담아 보관하였다.

<83> 실시예 1-1. 1차 사멸조건 수립

<84> 실험방법

<85> 초임계 이산화탄소의 처리 조건은 이산화탄소의 임계온도(31.1 ℃)와 임계압력(73.8 bar)을 고려하여 그 이상의 조건에서 설정하였다. 온도 조건의 경우 원유의 살균 온도를 고려하여 저온 살균 온도(63 ℃)와 고온 살균 온도(73 ℃)사이의 범위를 설정하였고, 압력 조건의 경우 위 초임계 장비의 최대 압력이 300 bar인 점을 고려하여 그 이하의 압력으로 설정하여, 초임계유체 처리를 하였다. 세균수의 측정을 위해 처리 전과 처리 후의 시료를 멸균 백에 넣고 0.2 % 펩톤수(peptone water)로 10배 희석하여 균질화 하고, 각각의 멸균 백에서 1 ml을 취하고 0.2 % 펩톤수(peptone water)로 십진 희석한 후, 0.1 ml을 취하여 엔테로박터 사카자키(*E. sakazakii*)의 선택 배지인 크로모제닉 엔테로박터 사카자키 아가(chromogenic Enterobacter sakazakii agar) 또는 OK 배지에 도말하였다. 도말한 배지는 37 ℃에서 24시간 동안 배양하여 녹색의 집락 혹은 형광 집락을 계수하고 평균값을 계산한 후 로그를 취해서 초기 균수와 비교하였다.

<86> 실험결과

<87> 초임계 이산화탄소의 처리 조건 중 온도와 압력을 각각 고정하여 시간별로 처리했을 때 엔테로박터 사카자키(*E. sakazakii*)의 감소 추세를 도 3 및 도 4에 도시하였다. 도 3은 온도를 50 ℃로 고정하여 압력의 변화(100, 150, 200 bar)에 따른 감소 추세를 나타낸 것으로, 압력을 높일수록 사멸 효과가 크게 나타나는 것을 확인할 수 있으나, 가장 높은 조건(50 ℃, 200 bar, 30 분)으로 처리하였을 때도 1.60 log라는 낮은 저감화 효과를 보여 온도 조건을 더 높일 필요가 있음을 확인할 수 있었다. 도 4는 압력을 고정(200 bar)하고 온도의 변화(50, 60, 70 ℃)에 따른 엔테로박터 사카자키(*E. sakazakii*)의 감소 추세를 나타낸 결과이다. 온도를 고정했던 실험과 마찬가지로

가지로 온도, 시간 조건이 커질수록 살균 효과가 증가하는 것을 확인할 수 있으나, 온도를 고정했을 때와는 달리 엔테로박터 사카자키(*E. sakazakii*)의 감소 폭이 더 크게 나타났다. 50 ℃로 고정하였을 때는 최저 조건(100 bar, 10 min)과 최고 조건(200 bar, 30 min)사이에 1 log 정도의 차이를 보인 반면, 압력을 고정한 경우에는 최저 조건(50 ℃, 10 min)과 최고 조건(70 ℃, 30 min)사이에 4 log 정도의 차이를 나타냈다. 이 결과를 통해 온도 조건이 초임계 효과에 영향을 가장 많이 주는 인자임을 예상할 수 있었다.

<88> 결과의 분석

<89> 상기 결과를 바탕으로 충분한 살균 효과가 있을 것으로 예상되는 최적의 조건을 확정하였다. 50 ℃에서는 압력과 처리 시간을 크게 하여도 저감화 효과가 1.6 log 밖에 일어나지 않았으므로 조건에서 제외하였고 우유의 살균조건(저온살균 : 63 ℃, 30 min; 고온 살균 : 73 ℃)을 고려하여 온도 조건은 63 내지 73 ℃ 범위로 확정하였다. 기초 실험의 최고 조건(70 ℃, 200 bar, 30 min)에서도 분유 내 엔테로박터 사카자키(*E. sakazakii*)를 사멸시킬 수 없었으므로, 압력 조건은 150 내지 250 bar 범위로 확정하였으며 처리 시간은 10 내지 30 분으로 설정하였다.

표 4

<90>

온도 (℃)	압력 (bar)	처리시간 (min)
63	150	10
		20
		30
	200	10
		20
		30
	250	10
		20
		30
68	150	10
		20
		30
	200	10
		20
		30
	250	10
		20
		30
73	150	10
		20
		30
	200	10
		20
		30
	250	10
		20
		30

<91> 실시에 1-2. 2차 사멸조건 수립

<92> 실험방법

<93> 표 4의 조건으로 초임계 이산화탄소의 처리 후 시료의 엔테로박터 사카자키(*E. sakazakii*)의 저감화 효과를 정량적으로 확인하였다. 세균수의 측정은 실시예 1-1의 방법과 같은 방법으로 하였다.

<94> 실험결과

<95> 도 5a는 63 ℃에서 처리 압력 및 시간별 엔테로박터 사카자키(*E. sakazakii*)의 감소 추세를 나타낸 것이다. 압

력 조건(150, 200, 250 bar)에 따른 저감화 차이(약 0.6 log)와 처리 시간(10, 20, 30 min)에 따른 저감화 차이(약 0.7 log)가 비슷하게 나타나 두 조건이 초임계 이산화탄소 처리 효과에 미치는 영향에는 큰 차이가 없음을 확인하였다. 또한 최대 저감화 효과가 2.5 log에 그쳐, 최적 살균 조건 수립을 위한 기대치(3.0 log 이상)의 살균 효과를 보이는 조건은 없었다.

<96> 도 5b는 68 ℃에서 처리 압력 및 시간별 엔테로박터 사카자키(*E. sakazakii*)의 감소 추세를 나타낸 것이다. 분유 내 엔테로박터 사카자키(*E. sakazakii*)의 살균 효과는 최소 1.5 log(150 bar, 10 min)에서 최대 4.0(200 bar, 30 min)까지 나타났다. 63 ℃ 처리 실험과 비교해 보았을 때, 동일한 시간 내에 압력 조건별 살균 효과 차이는 약 0.8 log정도로 63 ℃ 결과(0.6 log)와 큰 차이를 보이지 않았으나, 동일 압력에서 처리 시간별 살균 효과 차이는 평균 2 log 정도로 나타나 63 ℃의 경우(약 0.7 log)보다 크게 나타났다. 이를 통해 68 ℃에서는 압력보다 처리 시간에 따른 살균 효과가 더 큰 영향을 받는 것으로 판단할 수 있다.

<97> 도 5c는 73 ℃에서 처리 압력 및 시간별 엔테로박터 사카자키(*E. sakazakii*)의 감소 추세를 나타낸 것이다. 도 5c에 의하면 68 ℃ 결과와 마찬가지로 압력보다는 처리 시간이 초임계 이산화탄소 처리 효과에 더 큰 영향을 주는 변수임을 확인할 수 있으며, 150, 200, 250 bar에서 30분간 처리한 시료와, 200 bar와 250 bar에서 20분간 처리한 시료에서는 엔테로박터 사카자키(*E. sakazakii*)가 검출되지 않았다. 이는 초기 접종 농도인 6.3 log 이상의 저감화 효과가 있음을 나타냈다.

<98> 도 6은 초임계 이산화탄소 처리를 한 모든 조건을 하나의 그래프로 나타낸 것이다. 위 실험 결과의 양상을 전체적으로 요약·분석하면, 초임계 이산화탄소의 공정 변수 중 처리 온도의 증가가 처리 압력의 상승에 비해 미생물의 불활성화에 더 큰 영향을 주는 것을 알 수 있다. 즉, 초임계 이산화탄소의 살균 작용에 영향을 미치는 요인은 처리 온도, 시간, 압력 순으로 판단할 수 있다.

<99> 결과의 분석

<100> 엔테로박터 사카자키(*E. sakazakii*)의 주요 매개체로 보고되고 있는 분유 내 최대 오염수준 및 식품공전의 사카자키 음성조건을 고려하여 기대 살균 효과를 3.0 log로 설정하고, 3.0 log 이상의 살균 효과를 나타낸 조건들을 최적 처리 조건 후보로 선정하였다. 그 결과를 표 5에 나타내었다.

표 5

<101>

온도 (℃)	압력 (bar)	처리시간(min)	저감화효과 (log)
68	150	30	-3.76
	200	30	-3.99
	250	30	-3.91
73	150	20	-5.75
	150	30	>-6.32
	200	10	-3.26
	200	20	>-6.32
	200	30	>-6.32
	250	10	-3.84
	250	20	>-6.32
	250	30	>-6.32

<102> 실시에 1-3. 엔테로박터 사카자키(*E. sakazakii*)의 살균 효과 검증실험

<103> 검증 방법

<104> 초임계 이산화탄소 처리 후 시료를 증균시켜 엔테로박터 사카자키(*E. sakazakii*) 손상세포(injured cell)에 대한 검출 여부를 확인하였다. 사용 균주와 접종 및 초임계 이산화탄소의 처리 방법은 실시예 1-1의 방법과 동일하며, 분유에 접종시키는 균의 양은 10^{3-4} CFU/g이 되도록 조절하였다. 초임계 이산화탄소 처리 후 증균된 시료는 실시예 1-1의 검출방법과 같은 방법으로 배양하여 녹색의 집락 혹은 형광 집락을 확인함으로써 엔테로박터 사카자키(*E. sakazakii*)의 회복 여부를 판단하였다.

<105> 검증 결과

<106>

엔테로박터 사카자키(*E. sakazakii*)의 회복 실험 결과, 3 log 이상의 살균 효과를 나타냈던 68 ℃(압력 150, 200, 250 bar) 30분 처리 조건에서는 시료의 평균 이 후 3반복 실험 중 한번 이상의 양성 반응을 보여 완전한 사멸효과를 나타내지 못하는 것으로 확인되었다. 그리고 73 ℃에서는 3 log 이상의 살균 효과를 나타냈던 조건 중 150 bar에서 30분간 처리한 경우, 200 bar와 250 bar에서 각각 20 분과 30 분 처리한 경우에서만 3 반복 모두 음성 반응을 얻었다. 따라서 위의 5가지 처리 조건이 분유 내 3.0 log 이상의 엔테로박터 사카자키(*E. sakazakii*)의 완전 사멸에 이용될 수 있음을 알 수 있다. 살균효과 검증 실험결과를 표 6에 나타내었다.

표 6

<107>

압력 (Bar)	처리시간 (Min)	68℃에서 살아남은 엔테로박터 사카자키		73℃에서 살아남은 엔테로박터 사카자키	
		평균전	평균후	평균전	평균후
150	10	+++	+++	+++	+++
	20	+++	+++	-	+
	30	-	++	-	-
200	10	+++	+++	-	+++
	20	+++	+++	-	-
	30	-	+	-	-
250	10	+++	+++	-	+++
	20	+++	+++	-	-
	30	-	+	-	-

<108>

상기 표 6에서 + 는 크로모제닉 엔테로박터 사카자키 아가에서 집락을 형성한 숫자이고, - 는 집락을 형성하지 못하고 사멸한 경우이다.

<109>

실시에 2. 초임계 이산화탄소 처리 후 분유의 품질 변화 측정실험방법

<110>

실시에 2-1. 수분활성도 측정

<111>

수분활성도는 식품의 저장성과 분말의 뭉침 현상과 관련하여 수분함량보다 큰 영향을 미치는 요소이다. 따라서 초임계 이산화탄소 처리 전·후의 수분활성도를 측정하여 그 변화 여부를 확인하였다. 이러한 수분활성도는 수분활성도 측정기(Thermoconstanter TH200, novasina, Switzerland)를 사용하여 실온(25 ℃)에서 측정하였다. 분유는 저장 중에 산화(oxidation)와 비효소적 갈변 현상 등에 의해 변색되고 이취가 발생할 수 있다. 특히 저장 중 마이알(maillard) 반응이 일어나게 되면 이산화탄소, 유기산, maltol, furfural 등의 수많은 화합물들이 형성되어 제품의 품질을 저하시키게 되는데, 이러한 산화와 갈변 반응에 영향을 주는 주요 요인이 수분활성도와 저장 온도이다. 표 7은 초임계 이산화탄소의 처리 이후 분유의 수분활성도 측정 결과이다. 실험 결과 분유의 수분활성도는 본 실험에서 설정한 초임계 이산화탄소의 모든 처리 조건에서 차이가 나지 않는 것으로 분석되었다.

표 7

<112>

		압력		
		150 bar	200 bar	250 bar
표준시료		0.24± 0.001		
63℃	10 min	0.23 ± 0.01	0.22 ± 0.01	0.23 ± 0.04
	20 min	0.23 ± 0.01	0.23 ± 0.02	0.22 ± 0.002
	30 min	0.23 ± 0.01	0.21 ± 0.01	0.22 ± 0.03
68℃	10 min	0.23 ± 0.03	0.22 ± 0.02	0.23 ± 0.04
	20 min	0.23 ± 0.03	0.23 ± 0.04	0.23 ± 0.03
	30 min	0.21 ± 0.01	0.23 ± 0.05	0.21 ± 0.04

73℃	10 min	0.22 ± 0.03	0.24 ± 0.04	0.22 ± 0.02
	20 min	0.22 ± 0.03	0.23 ± 0.02	0.23 ± 0.03
	30 min	0.23 ± 0.03	0.22 ± 0.04	0.22 ± 0.04

<113> 실시예 2-2. pH 측정

<114> pH 측정 방법

<115> 초임계 이산화탄소 처리로 인한 분유의 pH 변화를 측정하기 위해 pH 측정기(MP220 basic, Mettler-Toledo, Switzerland)를 사용하여 초임계 처리 전·후의 분유를 멸균된 증류수를 사용하여 액화시킨 후 pH를 측정하였다.

<116> pH 측정 결과

<117> 표 8은 초임계 이산화탄소 처리 후 분유의 pH 변화를 측정한 결과로, 분유의 pH는 수분활성도와 마찬가지로 초임계 이산화탄소의 모든 처리 조건에서 유의적 차이($p < 0.05$)가 없는 것으로 평가되었다.

표 8

<118>

		압력		
		150 bar	200 bar	250 bar
표준시료		7.07 ± 0.03		
63℃	10 min	7.04 ± 0.02	7.00 ± 0.04	6.93 ± 0.07
	20 min	7.01 ± 0.02	7.03 ± 0.01	6.96 ± 0.05
	30 min	7.04 ± 0.03	6.98 ± 0.06	6.98 ± 0.11
68℃	10 min	6.99 ± 0.12	7.0 ± 0.04	6.95 ± 0.08
	20 min	7.03 ± 0.07	7.04 ± 0.07	6.97 ± 0.07
	30 min	7.02 ± 0.10	6.97 ± 0.10	6.89 ± 0.04
73℃	10 min	6.98 ± 0.05	6.97 ± 0.13	7.00 ± 0.06
	20 min	6.93 ± 0.08	6.96 ± 0.08	7.04 ± 0.04
	30 min	7.00 ± 0.01	6.93 ± 0.08	7.00 ± 0.07

<119> 실시예 2-3. 색 변화 측정

<120> 초임계 처리 전·후 분유의 색 변화를 확인하기 위하여 백색판으로 표준화(C: Y=91.7, x=0.3138, y=0.3200)시킨 색도계(CR-300, Minolta Camera Co., Japan)를 이용하여 측정하였다. 결과는 CIE L^* , a^* , b^* 를 이용하여 비교하였다. 실험결과는 표 9와 같다.

표 9

		Pressure			
		Control	150 bar	200 bar	250 bar
			*	**	***
Lightness	Control	93.81 ± 0.25	93.81 ^b ± 0.25	93.81 ^b ± 0.25	93.81 ^b ± 0.25
	10 min ***	93.81 ^c ± 0.25	94.08 ^{AB,b} ± 0.10	94.45 ^{A,a} ± 0.03	94.61 ^{A,a} ± 0.02
	20 min *	93.81 ^d ± 0.25	94.23 ^{A,a} ± 0.06	94.41 ^{A,a} ± 0.27	94.57 ^{A,a} ± 0.23
	30 min ***	93.81 ^c ± 0.25	94.30 ^{A,b} ± 0.16	94.56 ^{A,ab} ± 0.19	94.86 ^{A,a} ± 0.09
			NS	NS	*
Redness	Control	-4.12 ± 0.22	-4.12 ± 0.22	-4.12 ± 0.22	-4.12 ^b ± 0.22
	10 min *	-4.12 ^b ± 0.22	-4.18 ^b ± 0.06	-3.98 ^{ab} ± 0.06	-3.77 ^{A,a} ± 0.01
	20 min *	-4.12 ^b ± 0.22	-4.08 ^b ± 0.08	-3.93 ^{ab} ± 0.14	-3.70 ^{A,a} ± 0.10
	30 min NS	-4.12 ± 0.22	-4.00 ± 0.05	-3.87 ± 0.29	-3.63 ^A ± 0.17
			NS	NS	**
Yellowness	Control	20.13 ± 0.62	20.13 ± 0.62	20.13 ± 0.62	20.13 ^A ± 0.62
	10 min **	20.13 ^a ± 0.62	20.29 ^a ± 0.32	19.11 ^b ± 0.10	18.59 ^{B,b} ± 0.42
	20 min *	20.13 ^a ± 0.62	19.71 ^{ab} ± 0.49	19.16 ^{bc} ± 0.15	18.63 ^{B,c} ± 0.52
	30 min **	20.13 ^a ± 0.62	19.47 ^{ab} ± 0.18	18.85 ^{bc} ± 0.81	17.89 ^{B,c} ± 0.38
			NS	NS	**

처리 온도에 따른 분유 색의 변화를 분석한 결과, 대조구의 redness는 처리구와 비교하여 유의적인 차이를 보였으나($p<0.05$) 처리에 따른 뚜렷한 경향은 나타나지 않았다. 또한 처리 온도에 따른 lightness와 yellowness의 변화는 유의적인 차이가 나타나지 않았으며 대조구와 비교해도 차이는 미미한 것으로 분석되었다. 초임계 이산화탄소의 압력에 따른 영향은 처리 온도에 따라 받는 영향보다 상대적으로 크게 나타났다. Lightness와 redness, yellowness 모두 통계적으로 유의적인 차이를 나타냈다($p<0.001$). 대조구의 lightness는 처리구에 비해 낮은 수치를 나타냈으며, 처리 압력이 높아질수록 lightness는 증가하는 경향을 보였다. 처리구의 redness는 150 bar를 제외하고 대조구의 redness보다 높게 나타났으며, 250 bar 처리구가 가장 높은 수치를 나타냈다. Yellowness의 경우 대조구를 포함한 모든 처리구에서 압력이 높아질수록 유의적으로 수치($p<0.05$)는 낮아졌다. 초임계 이산화탄소의 처리 시간에 따라 분유의 색을 분석한, 대조구의 lightness는 처리구에 비해 낮은 수치를 나타냈으며, 처리 시간이 길어질수록 lightness의 수치는 증가하였다. Redness 또한 처리 시간에 대해 대조구와 처리구간에 유의적인 차이($p<0.05$)를 보였으며, yellowness의 경우 대조구의 yellowness가 가장 높았으며, 30 분 처리구는 대조구와 10분 처리구에 비해 유의적($p<0.05$)으로 낮은 값을 나타냈다.

위의 결과 중 색의 차이가 가장 두드러진 250 bar, 30 분 동안 처리한 결과를 색차 계산법에 의하여 계산하였다.

$$\Delta E^* = [(93.81-94.86)^2 + (-4.12-(-3.63))^2 + (20.13-17.89)^2]^{1/2}$$

$$= 2.52$$

따라서 이보다 낮은 압력에서 짧은 시간 동안 초임계유체 처리를 한 나머지 처리 조건의 경우, 색차는 더 작은 값을 갖는다.

최종 제품에 적용 가능한 최적 조건 확립

초임계 이산화탄소의 처리 온도, 시간, 압력의 다양한 조건별로 분유 내 엔테로박터 사카자키(*E. sakazakii*)의 살균 효과를 확인·검증하고, 수분활성도, pH, 색 변화 등을 측정하여 처리에 따른 분유의 품질 변화를 살펴본다. 이러한 결과들을 통해 분유의 품질을 저해하지 않으면서도 엔테로박터 사카자키(*E. sakazakii*)를 효과적으로 제어할 수 있는 최적의 조건을 확립하였다. 분유의 품질이나 처리방법의 경제성을 고려했을 때, 초임계 이

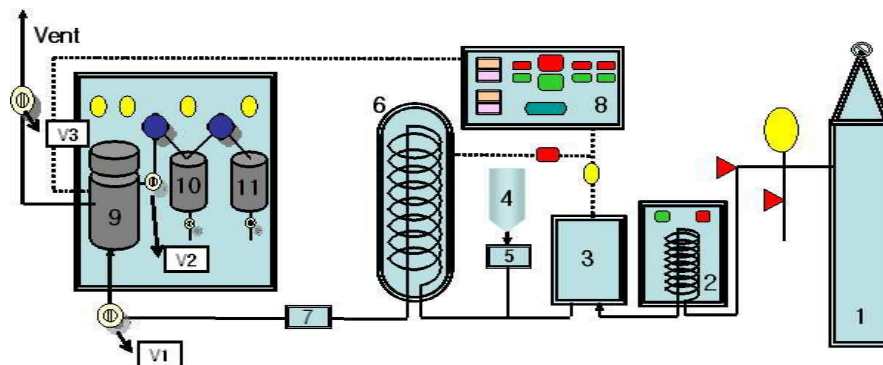
산화탄소의 최적 조건은 분유 내 엔테로박터 사카자키(*E. sakazakii*)의 최대 오염량을 고려하여 3.0 log 정도를 사멸시킬 수 있는 조건 중 최소 조건이어야 한다. 따라서 표 5에 나타낸 바와 같이 68 내지 73 ℃의 온도에서 150 내지 250 bar의 압력으로 10 내지 30 분간 초임계유체를 처리하는 것이 바람직하다. 다만 68 ℃에서 30분 미만으로 초임계유체 처리시 3.0 log에 미치지 못하는 살균효과를 보이거나, 상기와 같은 경우도 2.80 내지 2.84 log의 사멸효과가 있어 분유살균시 유효한 효과를 보인다. 더욱 바람직하게, 3.0 log 이상의 저감화 효과를 보 이면서 처리 후 시료를 증균 시켰을 때에도 엔테로박터 사카자키(*E. sakazakii*)가 검출되지 않은 조건 중 최소 조건은 73 ℃, 200 bar, 20 분이 분유 내 엔테로박터 사카자키(*E. sakazakii*)를 제어하기 위한 초임계 이산화탄소의 최적 조건으로 판단된다.

도면의 간단한 설명

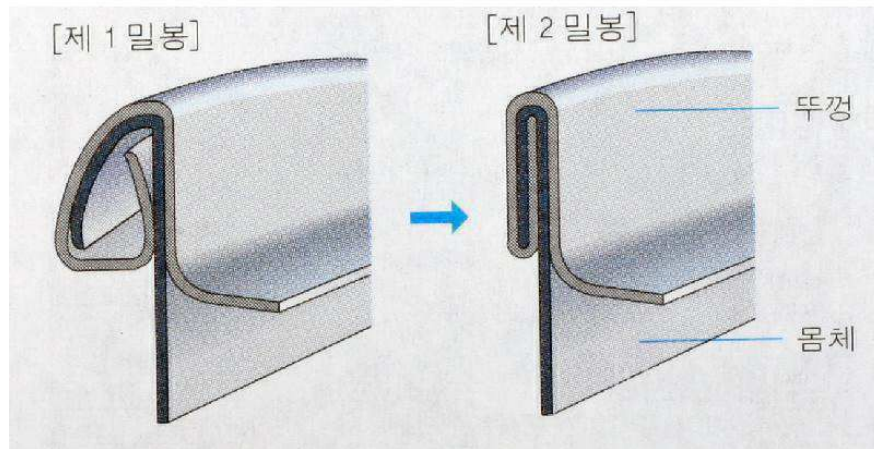
- <129> 도 1은 본 발명에서 사용한 초임계유체 처리 장치의 모식도이다.
- <130> 도 2는 캔 용기 밀봉 과정을 도시한 도면이다.
- <131> 도 3은 50 ℃에서 서로 다른 압력의 초임계 이산화탄소를 처리한 경우 엔테로박터 사카자키의 저감화효과를 나타낸 것이다.
- <132> 도 4는 200 bar 에서 서로 다른 온도의 초임계 이산화탄소를 처리한 경우 엔테로박터 사카자키의 저감화효과를 나타낸 것이다.
- <133> 도 5a 내지 도 5c는 각각 63 ℃, 68 ℃, 73 ℃에서 초임계 이산화탄소 처리 압력 및 시간별 엔테로박터 사카자키의 감소 추세를 나타낸 것이다.
- <134> 도 6은 초임계 이산화탄소 처리를 한 모든 조건을 하나의 그래프로 나타낸 것이다.

도면

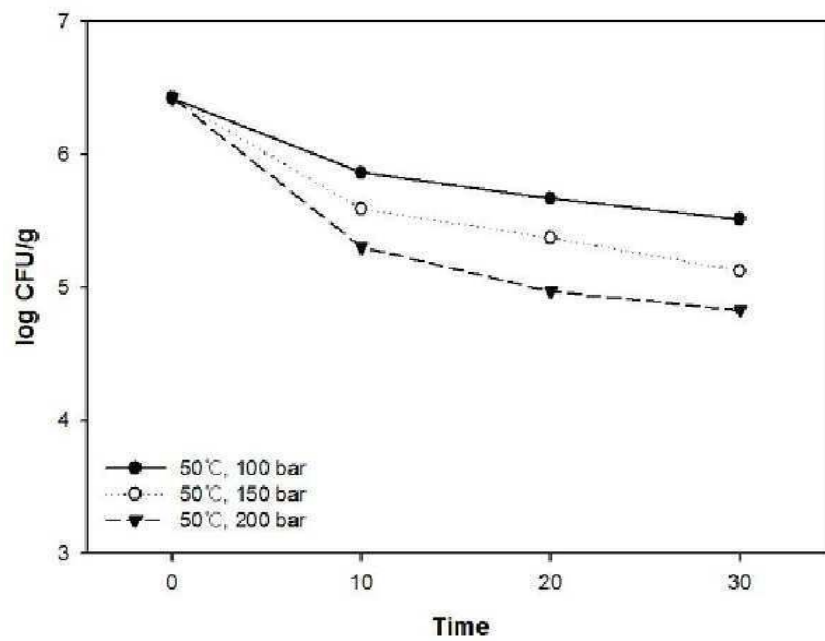
도면1



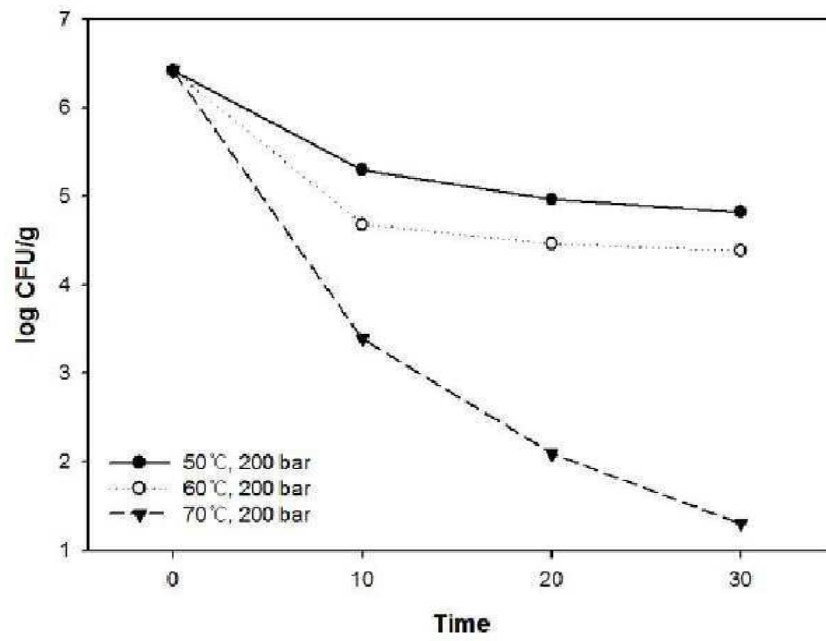
도면2



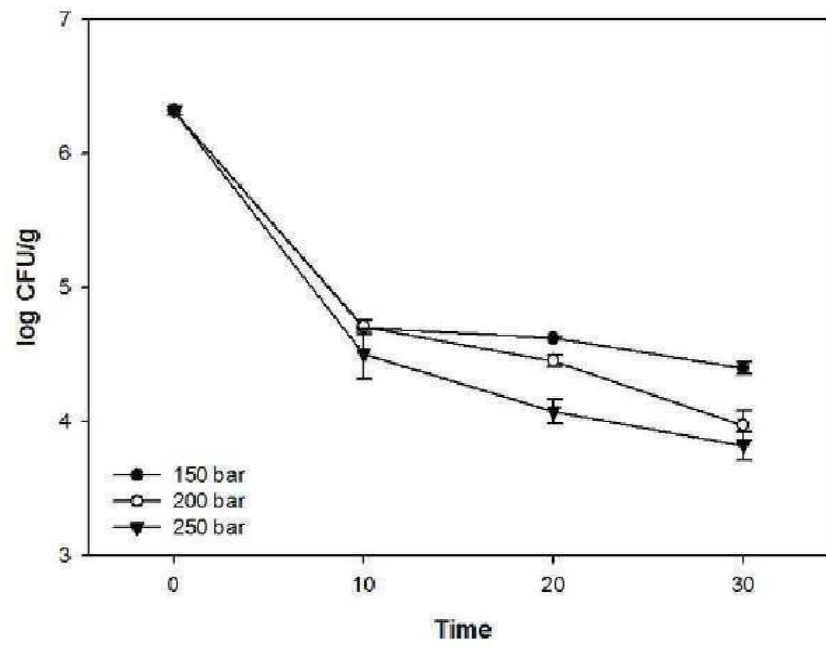
도면3



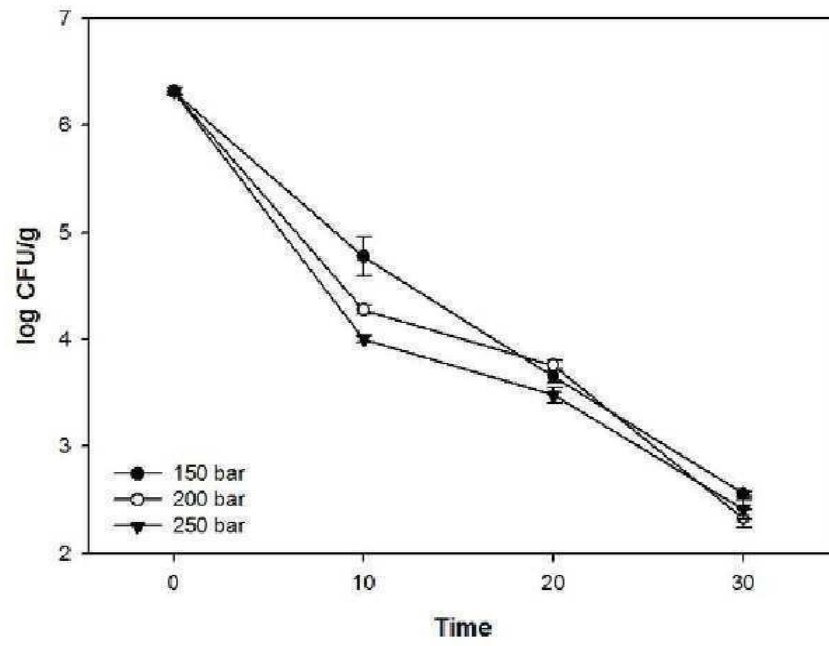
도면4



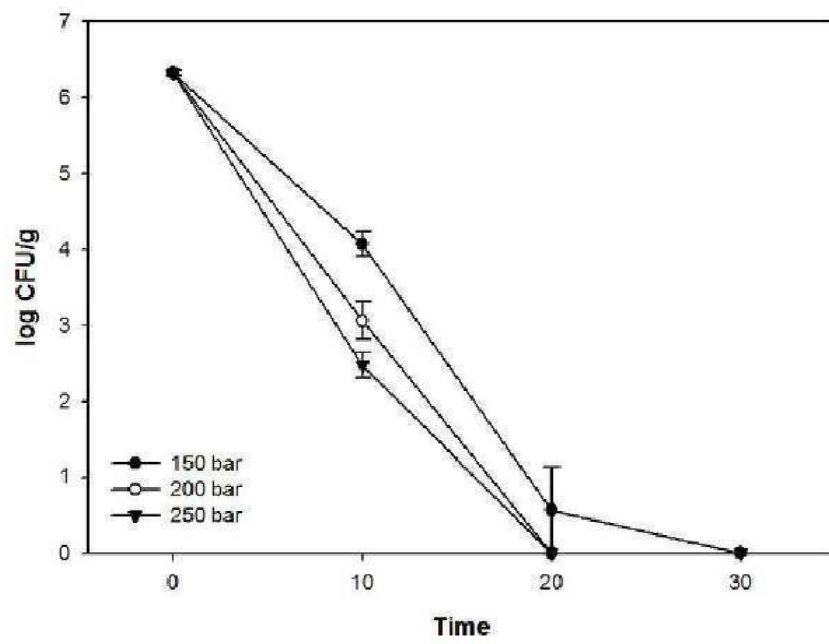
도면5a



도면5b



도면5c



도면6

