

발간등록번호

11-1541000-001069-01

보안과제(), 일반과제(O) 과제번호 20090236

광촉매 및 고전압펄스를 이용한
양조 식초의 비열 살균기술 개발

(Non-thermal pasteurization of fermented vinegar
using photocatalytic oxidation reaction
and high-voltage pulsed electric fields)

중 앙 대 학 교

농 립 수 산 식 품 부

제 출 문

농림수산식품부 장관 귀하

이 보고서를 “광촉매 및 고전압펄스를 이용한 양조 식초의 비열 살균기술 개발에 관한 연구” 과제의 보고서로 제출합니다.

2011 년 04 월 09 일

주관연구기관명: 중앙대학교
주관연구책임자: 이 동 언
연 구 원: 조 성 진
연 구 원: 유 리
협동연구책임자: 박 지 용
연 구 원: 이 종 건
연 구 원: 이 연 정
연 구 원: 나 상 열

요 약 문

I. 제 목: 광촉매 및 고전압펄스를 이용한 양조 식초의 비열 살균기술 개발

II. 연구개발의 목적 및 필요성

- 식초에 대한 소비자 선호도를 보면 합성식초로부터 벗어나 주정을 초산 발효한 양조 식초를 선호하게 되었고, 최근에는 100% 과실이나 곡물을 원료로 하는 천연발효 양조식초를 선호하고 있음.
- 감식초 등 웰빙 지향의 천연 양조 식초와 이를 원료로 하는 마시는 식초 음료 등의 시장규모는 빠르게 성장하여 이미 조미식품으로서의 식초 시장규모 (년 700억 수준) 를 뛰어넘은 상황임.
- 과실의 유명 산지에서 지역 단위로 생산하고 있는 천연발효 양조 식초의 경우, 알코올 발효와 초산 발효 구분 없이 자연 낙하균에 의존해 발효를 수행하여 발효 완료 후 일정한 품질 유지가 되지 않는 경우가 많았으며, 초산 발효 종료 후에도 가열살균처리를 통해 양조 식초 고유의 풍미를 잃게 되는 문제점이 있음.
- 식품 대기업에서 천연 발효 식초에 큰 관심을 갖고 있음에도 불구하고 일정한 품질 수준의 중간원료, 즉, 알코올 발효가 완료된 종초를 확보하지 못해 산업화 진척이 더딘 실정임. 예를 들어, 국내 식초생산 1위인 대기업 A사의 경우에도 농가에서 수매하는 종초의 품질이 일정치 않아 감식초의 생산을 포기한 상태임.
- 따라서 본 연구에서는 최가신 비열 처리기술인 광촉매 (TiO_2/UVC) 와 고전압 펄스 (pulsed electric fields, PEF) 기술을 알코올 발효와 초산 발효를 끝낸 식초에 적용하여 고품질 천연양조식초 생산에 적합한 비가열 살균공정을 개발하고자 하였음.
- 광촉매와 고전압 펄스 기술을 알코올 발효가 완료된 양조식초용 종초에 적용할 경우, 식초 내부에 포함된 효모와 초산균을 불활성화 하여 이후 초산균 접종에 의한 최적의 천연 발효가 가능하다고 판단하였으며, 초산 발효의 최종 단계에 적용할 경우에는 천연발효 양조 식초 고유의 풍미를 유지한 채 초산균만을 사멸시켜 양조 식초 생산을 위한 최적의 상태에서 발효를 정지시킬 수 있을 것으로 예상하였음.

Ⅲ. 연구개발 내용 및 범위

- 광촉매를 이용한 천연양조식초의 살균 최적화
 - 광촉매 처리의 식품유래 일반세균에 대한 효과 확인
 - 초산균 살균을 위한 광촉매 처리조건 확립
 - 광촉매 처리에 의한 천연양조식초의 품질 특성변화 검증
 - 실험실 및 파일럿 규모의 연속식 광촉매 적용 및 공정 최적화

- 고전압펄스를 이용한 천연양조식초의 살균 최적화
 - 식초 발효균 및 오염균의 생육 특성 확인 및 배양 조건 확립
 - 천연양조식초의 연속식 처리를 위한 고전압펄스 장치의 개선과 적용
 - 초산균 및 부패세균 살균을 위한 광촉매 처리조건 확립
 - 고전압펄스 처리에 의한 천연양조식초 및 종초의 품질 특성변화 검증
 - 실험실 규모의 연속식 고전압 펄스 처리를 위한 표준 공정 제시

Ⅳ. 연구개발결과

- 광촉매를 이용한 천연양조식초의 살균 최적화
 - 광촉매 처리가 식품유래 병원성 미생물 (*E. coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella Typhimurium*) 의 살균에 미치는 효과 검증 (6 log cycles 이상 살균효과를 확인)
 - DNA 분석과 SEM 관찰 결과, 광촉매 적용을 받은 미생물은 DNA의 고차구조와 세포벽 조직에 영향을 받고 있음을 확인함.
 - 식초의 생성과 변패에 관여하는 초산균 3종 (*Acetobacter aceti*, *A. pasteurianus*, *A. xylinum*) 에 대해 batch형 광촉매 시스템 적용결과 120 초 처리 후 4~5 log cycles 수준의 감소율을 확인함.
 - 광촉매 기술을 이용한 비열 살균 시 천연 발효 식초의 품질 변화를 측정하기 위해 headspace SPME GC/MSD 를 이용하여 당, 유기산 및 미량 성분들을 분석한 결과 무처리 대조군과 유사한 특징을 가지고 있음을 확인.
 - 산업화 적용을 위한 pilot-scale의 실험결과, pilot-scale의 연속처리 방식의 광촉매 시스템 적용시 standard vinegar broth에 접종된 초산균 3 종에 대해 6.5 log cycles 이상의 살균 효과를 확인함.

○ 고전압펄스를 이용한 천연양조식초의 살균 최적화

- 고전압처리변수 (electric field strength, pulse width, pulse repetition)의 변화에 따른 식초의 물리적 변화를 관찰하고 실험에 적합한 batch chamber 를 선정함.
- 천연발효식초 연구의 모델 균주로 알코올 발효균인 *Saccharomyces cerevisiae*, 초산 발효균인 *Acetobacter pasteurianus*, 그리고 식초 제조의 오염균인 *Acetobacter xylinum* 을 선정하고 생육특성과 배양조건을 확립함.
- 모델 균주에 대해 10~20 kV/cm, 50~100 pulse 의 조건에서 고전압펄스 처리를 수행함. 적용 전압과 펄스 수 의 증가에 따라 균의 사멸 정도가 증가하였고 적용 균의 종류에 따라 3~4 log cycles 의 살균 효과를 확인함.
- 알코올 발효가 완료된 감식초 종초와 초산 발효가 완료된 감식초를 대상으로 고전압 펄스 처리 후 품질특성의 변화를 검증 (SPME-GC를 이용한 휘발성분 분석과 amino acids profiling).
- 실험실 규모의 연속식 고전압 펄스 처리를 위한 표준 공정을 total energy input의 개념을 적용하여 제시함.

○ 연구개발의 종합 결론

- 광촉매와 고전압 펄스 처리는 천연발효식초의 생성과 부패에 관련된 모델 균주들에 대해서 3~6 log cycles 의 살균효과를 보여 가열에 의한 pasteurization 을 대체할 수 있음을 입증하였음.
- 광촉매와 고전압 펄스 처리는 상온의 영역에서 이루어지기 때문에 천연발효 감식초의 발효 생성물인 휘발성 물질들과 아미노산의 조성 등 에 미치는 영향이 거의 없음을 확인하였음.
- 광촉매기술의 경우 천연발효 종초에 대한 파일럿 스케일의 연속 처리가 일부 수행되었으며 고전압 펄스의 경우에는 실험실 규모의 연속처리 표준 공정을 제시하여 산업화 기반 연구에 충실하였음 (당초 연구 목표 대비 추가 성과).
- 하루 수톤 정도의 생산 규모로 가정할 때 광촉매 또는 고전압 펄스 기술을 적용하기 위한 시설 투자비는 1~2억원 정도로 예상되어 농촌의 지역 규모 식품공장에서도 적용 가능한 기술로 판단되며, 따라서 향후 다양한 형태의 산업화 적용이 기대됨.

V. 연구성과 및 성과활용 계획

○ 연구성과

- 연구 과제를 통해 도출된 실험 결과는 해외학회(2건)와 국내학회(1건)를 통해 발표되었으며, 관련기술이 국내 학술지(비SCI, 1건)를 통해 소개됨. 현재, 고전압 펄스 기술에 대한 특허 명세서가 작성 중으로 2011년 4월 중 특허 출원이 예정되어 있음. 향후, 해외학회와 국내학회에서 발표 되었던 2편의 연구 내용은 논문으로 작성되어 SCI(E)급 학술지에 발표 할 예정임.

○ 성과활용 계획

- 연구 과제 계획서 상의 목표는 실험실적 수준에서의 효과 검증이었으나 현재 일부 파일럿 스케일의 실험이 수행되어 산업화 적용을 실험 결과를 축적하고 있음.
- 도출된 결과를 이용 천연발효식초 생산 기업들과 접촉하여 기술이전에 대한 협의를 지속적으로 추진할 예정임.
- 현재 군 부대 중 정상적인 물 공급이 어려운 지역(비무장지대 등)의 물탱크에 이산화탄산/자외선 살균장치가 장착되어 사용되고 있으며 차후 전평시 정수장비의 삼투압, 여과식 정수방법에 연속식 이산화탄산/자외선 살균 방법을 도입한다면 보다 안정적인 군 급수지원에 기여할 것으로 기대됨.
- 도출된 결과는 향후 전통 발효주나 발효음료, 장류 등의 비가열 살균 이나 발효정지 기술에 적용할 수 있음. 따라서 관련 기술 개발을 위한 spin-off 프로젝트를 기획하여 지속적인 연구 개발을 수행 할 예정임.

국 문 초 록

광촉매 및 고전압펄스를 이용한 양조 식초의 비열 살균기술 개발

전통적인 조미식품으로서의 식초는 성숙기에 접어든지 오래된 식품 품목으로 시장규모가 정체되어 있으나 감식초 등 웰빙 지향의 천연 양조 식초와 이를 원료로 하는 마시는 식초 음료 등의 시장규모는 빠르게 성장하여 이미 조미식품으로서의 식초 시장 규모를 뛰어넘은 상황이다. 천연발효 양조 식초의 경우, 과실이나 곡류에 포함된 당류를 에탄올로 전환하는 알코올 발효 공정과 이때 생산된 에탄올을 초산으로 전환하는 초산발효 공정을 거치며 천연 양조 식초 특유의 풍미를 형성하게 되는데, 발효 후 가열살균처리를 통해 양조 식초 고유의 풍미를 잃게 되는 문제점이 있었다. 본 연구에서는 최신 비가열처리기술인 광촉매 (TiO_2/UVC)와 고전압펄스 (pulsed electric fields, PEF) 기술을 알코올 발효와 초산발효를 끝낸 식초에 적용하여 고품질, 고기능성의 천연양조식초 생산에 적합한 비가열 살균공정을 개발하고자 하였다. 광촉매 기술의 미생물 살균 효과와 작용 원리를 검증하기 위해 식품유래 병원성 미생물(*E. coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella Typhimurium*)에 6분 동안 TiO_2/UVC 광촉매처리 하였을 때 모든 플라스미드 DNA는 선형 DNA로 전환되었으나 TiO_2 없이 UVC 만 조사하였을 때는 super-coiled DNA 가 유지되는 것이 관찰되었다. Batch형 TiO_2/UVC 장치를 이용하였을 때 미생물 중에 상관없이 90초 안에 멸균 (초기 미생물수 10^6 CFU/mL) 되었으며 SEM 관찰 결과 미생물 세포는 TiO_2/UVC 광촉매 반응에 의해 심각한 피해를 입었음이 확인되었다. 식초의 생성과 변패에 관여하는 초산균 3종 (*Acetobacter aceti*, *A. pasteurianus*, *A. xylinum*)은 Batch형 TiO_2/UVC 시스템에서 120초 동안에 4~5 log cycles 정도의 감소율을 보였다. 광촉매에 의한 초산균 살균을 극대화 하기위해 연속처리 방식의 TiO_2/UVC 장치를 적용하였으며, 이 경우 초산발효를 위한 증초 (standard vinegar broth) 환경에서 초산균 3종에 대해 6.5 log cycles 이상의 살균 효과를 확인하였다. 광촉매 기술을 이용한 비열 살균 시 천연 발효 식초의 품질 변화를 측정하기 위해 headspace SPME GC/MSD 를 이용하여 당, 유기산 및 미량 성분들을 분석한 결과 무처리 대조군과 큰 차이를 찾을 수 없었다. 고전압 펄스 기술은 수~수십 kV의 고전압을 수 microsecond의 처리시간 동안 식품에 가하여 미생물을 선택적으로 사멸 시키는 비가열 살균 기술이다. 고전압 펄스 기술은 가열 처리에 의한 맛, 향 그리고 영양소의 변화를 최소화 하므로 다양한 풍미 성분이 생성되는 천연 발효 식품의 발효 정지 및 살균 기술로 유용할 수 있다. 천연 발효 식초와 관련하여 중요한 미생물은 알코올 발효균인 *Saccharomyces cerevisiae*, 초산 발효균인 *Acetobacter pasteurianus*, 그리고 식초 제조의 오염균인 *Acetobacter xylinum* 이다. 고전압 펄스 처리는 전압조건 10~20 kV/cm, 50~100 pulse 의 조건에서 수행되었으며 전압과 펄스 수 의 증가에 따라 균의 사멸 정도가 증가하였고 적용 균의 종류에 따라 3~4 log cycles 의 살균 효과가 있었다. 알코올 발효가 완료된 감식초 증초와 초산 발효가 완료된 감식초를 대상으로 고전압 펄스 처리를 한 후 휘발성 성분과 아미노산 성분 분석을 수행 하였을 때 동정된 휘발성 성분들의 조성과 상대량에서 큰 차이를 발견할 수 없었으며

histidine이나 lysine 등 가열에 의해 손상될 수 있는 아미노산 함량에도 변화가 없었다. 따라서 고전압 펄스의 천연 발효 식초 적용은 휘발성분과 아미노산 등 풍미에 주는 변화는 최소화된 채로 pasteurization 정도의 살균 특성을 확보할 수 있음을 입증하였다. 광촉매와 고전압 펄스 기술의 천연 양조 식초의 비열 살균은 상온이하의 저온에서 처리가 가능하므로 발효 후 생성되는 식초의 풍미에 최소한의 영향을 준 채 발효 미생물과 변패 미생물을 효과적으로 제어할 수 있었다. 광촉매와 고전압 펄스 기술은 유사한 특성을 갖는 비열 처리기술에 비해 적용 비용이 매우 낮다는 장점이 있다. 하루 수톤 정도의 생산 규모로 가정할 때 필요한 시설 투자비는 1~2억원 정도로 예상되어 농촌의 지역 규모 식품공장에서도 적용 가능한 기술이다. 따라서 향후 다양한 형태의 산업화 적용이 가능 할 것으로 판단된다.

ABSTRACT

Non-thermal pasteurization of fermented vinegar using photocatalytic oxidation reaction and high-voltage pulsed electric field

Fermented vinegar is becoming increasingly popular in both domestic and international markets. Flavor of the fermented vinegar can deteriorate during thermal pasteurization process. High-quality and highly nutritious fermented vinegar can be developed using proper non-thermal processes such as TiO₂-UVC photocatalytic treatment or high-voltage pulsed electric fields. Effects of a lab-scale TiO₂-UVC photocatalytic reactor on DNA of pathogenic bacteria and on acetic acid bacteria. Effects of lab-scale TiO₂-UVC photocatalytic treatment on plasmid or genomic DNA of foodborne pathogenic bacteria (*E. coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* Typhimurium) were investigated. Most plasmid DNA were transformed to linear DNA from super-coiled DNA within 6 min by the TiO₂-UVC photocatalytic treatment. However, the super-coiled DNA were preserved after the UVC irradiation only. Regardless of bacterial strains, the TiO₂-UVC photocatalytic treatment and the UVC irradiation showed complete disinfection within 90 seconds (The initial bacterial population were approximately 6.0 log CFU/mL). SEM images showed significant damages in bacteria cell membrane after the TiO₂-UVC photocatalytic treatment. Disinfection treatment with lab-scale TiO₂-UVC photocatalytic reactor showed 4-5 log CFU/mL reduction in three types of acetic acid bacteria (*Acetobacter aceti*, *A. pasteurianus*, *A. xylinum*) within 120 seconds. Cocktail of three acetic acid bacteria (*A. aceti*, *A. pasteurianus* and *A. xylinum*) was treated with a continuous TiO₂/UVC photocatalytic reactor. The acetic bacteria were completely killed within 187-190 s (more than 6 log CFU/mL reduction). Disinfection of acetic acid bacteria in a standard vinegar. A standard vinegar was prepared and inoculated with three type of acetic acid bacteria (*Acetobacter aceti*, *A. pasteurianus* and *A. xylinum*). After the disinfection process with a continuous TiO₂/UVC photocatalytic reactor, residual cell counts for *A. aceti*, *A. pasteurianus* and *A. xylinum* were very low (more than 6.5 log CFU/mL reduction). Quality of TiO₂-UVC treated fermented vinegar volatile compounds of TiO₂-UVC treated fermented vinegar were measured by headspace analysis using SPME GC/MSD. Volatile compounds of the treated sample were similar to non-treated control samples. Compounds at retention time (RT) 40.46 min (butanol, alcohol groups) of treated samples slightly increased compared to those of control group. Compounds at RT 42.63 and 45.85 min (ethyl acetate and acetic acid group, respectively) slightly decreased as compared to the control group. Process optimization of the continuous TiO₂-UVC photocatalytic system Inactivation effects of TiO₂-coating on quartz tube or inner wall of the reactor were

checked. TiO₂-coating on quartz tube showed the highest inactivation effects (reduction of 6.28 log CFU/mL) among the various combinations (TiO₂-coating on quartz tube, on inner wall, on both quartz tube and inner wall, and non-coated control). A new continuous TiO₂-UVC photocatalytic reactor was developed using the above results. (newly developed continuous TiO₂/UVC photocatalytic reactor). The results of this study indicate that the continuous TiO₂-UVC photocatalytic system is an effective disinfection method. The pulsed electric field (PEF) is an emerging food processing technology which uses high electric fields with very short treatment time to inactivate microorganisms in food. The PEF technology was applied to the fermented vinegar to minimize the changes in taste, flavor, and nutrient, while selectively inactivate the alcohol fermenting yeast and contaminating acetic acid bacteria to control the fermentation process of persimmon vinegar. The test microorganisms were *Saccharomyces cerevisiae*, *Acetobacter pasteurianus* and *Acetobacter xylinum*. Electrical field strength of 10 kV/cm, 15 kV/cm, and 20 kV/cm with pulsed number of 50 pulses, 75 pulses, and 100 pulses were applied to the standard vinegar broth inoculated with test microorganism. The intensity of the processing voltage, and pulse number were linearly related to the inactivation of microorganism. The results indicated that the PEF treatments could result in about 3 log cycle reductions in *Saccharomyces cerevisiae* and *Acetobacter xylinum* within several seconds. The quality changes induced by PEF treatment were verified by volatile compound profiling and amino acids analysis. No significant differences were observed between non-treated control and PEF treated fermented vinegar. Both two methods, TiO₂-UVC photocatalytic treatment or high-voltage pulsed electric fields, can be effectively applied to clear liquid foods including the fermented vinegar. These technologies did not affect product quality since the system can be operated at room temperature and therefore minimize the flavor change. These technologies are new or improved disinfection process for liquid foods not only for fermented vinegar but also for traditional alcoholic drinks, fruit wine and beverages. Both technologies have the potential to be an environmentally friendly "green" processing technologies and can be a typical low-carbon dioxide and low-energy technologies.

CONTENTS

I. Introduction of research and development	12
II. Situation of technical development in domestic and foreign.....	15
III. Perform and Result of research and development	20
A. Non-thermal pasteurization of fermented vinegar using photocatalytic oxidation reaction and high-voltage pulsed electric field	20
B. Non-thermal pasteurization of fermented vinegar using high-voltage pulsed electric field	66
IV. The attainment of goal and level of contribution of related part	92
V. Outcome of research and development and plan to application of result	95
VI. Reference	97

목 차

제 1 장	연구개발과제 개요	12
제 2 장	국내외 기술개발 현황	15
제 3 장	연구개발 수행 내용 및 결과	20
제 1 절	광촉매 및 고전압 펄스를 이용한 미생물 살균조건 확립	20
제 2 절	광촉매 및 고전압 펄스 처리에 의한 천연 양조 종초의 특성 변화와 연속 생산을 위한 공정 최적화	66
제 4 장	목표달성도 및 관련분야에의 기여도	92
제 5 장	연구개발 성과 및 성과활용 계획	95
제 6 장	참고문헌	97

제 1 장 연구개발과제의 개요

1. 연구개발의 목적 및 필요성

식초에 대한 소비자 선호도를 보면 합성식초로부터 벗어나 주정을 초산 발효한 양조식초를 선호하게 되었고, 최근에는 100% 과실을 원료로 생산되는 천연 양조식초를 선호하고 있다. 전통적인 조미식품으로서의 식초 시장은 년 700억원 수준에서 정체해 있다고 할 수 있으나 감식초 등 웰빙 지향의 천연 양조 식초와 이를 원료로 하는 마시는 식초 음료 등의 시장규모는 빠르게 성장하여 이미 조미식품으로서의 식초 시장 규모를 뛰어넘은 상황이다.

천연발효 양조 식초의 경우, 과실의 당류를 에탄올로 전환하는 알코올 발효 공정과 이때 생산된 에탄올을 초산으로 전환하는 초산발효 공정을 거치며 천연 양조 식초 특유의 풍미를 형성하게 된다. 일정한 품질을 갖는 천연발효 양조 식초를 생산하기 위해서는 원료 전처리 - 알코올 발효 - 초산 발효 - 살균 및 포장 등의 공정에서 정확한 품질관리가 이루어져야 한다. 하지만 과실의 유명 산지에서 농가나 지역 단위로 생산하고 있는 천연발효 양조 식초의 경우, 알코올 발효와 초산 발효를 발효단계의 구분 없이 자연 낙하균에 의존해 발효를 수행하여 발효 완료 후 일정한 품질 유지가 되지 않는 경우가 많았으며, 발효 후에도 가열살균처리를 통해 양조 식초 고유의 풍미를 잃게 되는 문제점이 있었다.

본 연구에서는 최신 비열 처리기술인 광촉매와 고전압 펄스 기술을 알코올 발효와 초산 발효를 끝낸 식초에 적용하여 고품질, 고기능성의 천연양조식초 생산에 적합한 비열살균공정을 개발하고자 하였다. 광촉매와 고전압 펄스 기술을 알코올 발효가 완료된 양조 식초에 적용할 경우, 식초 내부에 포함된 효모와 초산균을 불활성화 하여 이후 초산균 접종에 의한 최적의 천연 발효가 가능하다고 판단하였으며, 초산 발효의 최종 단계에 적용할 경우에는 천연발효 양조 식초 고유의 풍미를 유지한 채 초산균만을 사멸시켜 양조 식초 생산을 위한 최적의 상태에서 발효를 정지시킬 수 있을 것으로 예상하였다.

2. 연구개발의 범위 및 기대성과

(가) 연구개발의 범위

광촉매와 고전압 펄스 기술은 국내에서는 많은 연구가 이루어지지 않은 태동기 기술이며, 따라서 완제품 형태의 처리 장치가 존재하지 않는 기술이다. 따라서 실험실 규모의 처리 장치를 적용되는 식품에 적합하도록 변형 또는 최적화 하는 연구가 반드시 필요하다. 광촉매와 고전압 펄스 기술의 선행 연구를 통해 이들 기술이 미생물의 사멸에 미치는 영향은 일부 알려져 있다. 하지만 식초와 같이 산도가 높은 식품에서 어떠한 사멸 특성을 보이는 지에 대한 연구는 이루어진 바 없다. 따라서 1차년도 주요 연구개발 범위는 다음과 같다.

- 식초 생성균 및 오염균의 배양법 확립과 내산성 확인
 - 식초 발효균 및 오염균의 의 생육 특성 확인 및 배양 조건 확립
 - Standard vinegar broth 에 대한 식초 발효균의 감수성 확인
- TiO₂/UVC 살균장치 이용 초산균 및 일반세균에 대한 살균효과 확인
 - 광촉매 처리의 식품유래 일반세균에 대한 효과
 - 광촉매 처리의 초산균에 대한 효과
- 고전압펄스에 의한 식초 발효 세균에 대한 살균효과 검증
 - Peak voltage, frequency, flow rate 등 고전압 펄스 기술 공정변수 확립
 - 고전압 펄스 에너지 수준에 따른 초산균 및 부패미생물의 살균효과

2차년도의 연구는 1차년도의 연구 결과를 바탕으로 광촉매와 고전압 펄스 기술을 실제 천연 발효 식초에 적용하고 물리·화학적 특성 변화를 연구하였다. 실험에 사용된 천연 발효 식초의 대상으로는 국내에서 대중적 수요가 높은 감을 선정하여 알코올 발효가 완료된 종초를 제조하여 연구를 수행하였다. 2차년도의 주요 연구개발 범위는 다음과 같다.

- 천연 발효 감식초의 원료가 되는 천연발효 종초의 제조
 - 광촉매 및 고전압 펄스 처리의 대상인 천연 발효 식초용 종초의 제조
- 광촉매 처리에 의한 천연 양조 종초의 특성변화와 공정 최적화
 - 광촉매 처리에 의한 천연 양조 종초의 특성 변화
 - 실험실 및 파일럿 규모의 연속식 광촉매 적용 및 공정 최적화
- 고전압 펄스 처리에 의한 천연 양조 종초의 특성변화와 공정 최적화
 - 확립된 고전압 펄스 조건의 종초 적용 및 특성 변화
 - 연속식 고전압 펄스 처리를 위한 공정 최적화

(나) 기대성과

광촉매와 고전압 펄스 기술은 국내에서 많은 연구가 이루어지지 않은 분야이다. 따라서 본 연구를 통한 기초 원리 및 응용 기술의 축적은 식품공학 분야의 새로운 연구 분야로서 산업기술 발전에 기여할 것으로 기대된다. 연구 과제를 통해 도출된 실험 결과는 해외학회(2건)와 국내학회(1건)를 통해 발표되었으며, 관련기술이 국내 학술지(비SCI, 1건)를 통해 소개되었다. 현재, 고전압 펄스 기술에 대한 특허 명세서가 작성 중으로 2011년 4월 중 특허 출원이 예정되어 있다. 향후, 해외학회와 국내학회에서 발표되었던 2편의 연구 내용은 논문으로 작성되어 SCI(E)급 학술지에 발표 할 예정이다.

광촉매와 고전압 펄스 기술의 천연 양조 식초의 비열 살균은 상온이하의 저온에서 처리가 가능하므로 발효 후 생성되는 식초의 품질에 최소한의 영향을 준다. 따라서 고품질의 발효 식초 생산에 도움을 줄 수 있다. 당초 연구 계획은 실험실 규모의 연구에 국한되었으나 현재 파일럿 수준의 연구가 일부 진행된 상태이며 향후 추가 실험 여부에 따라 기업체 기술이전도 가능할 것으로 판단된다.

식품 대기업에서 천연 발효 식초에 큰 관심을 갖고 있음에도 불구하고 일정한 품질 수준의 중간원료, 즉, 알코올 발효가 완료된 종초를 확보하지 못해 산업화 진척이 더딘 실정이다. 예를 들어, 국내 식초생산 1위인 대기업 A사의 경우에도 농가에서 구매하는 종초의 품질이 일정치 않아 감식초의 생산을 포기한 상태이다. 따라서 연구 과제를 통해 개발된 광촉매 또는 고전압 펄스 기술이 농촌의 단위 지역에 설치되어 종초의 비열살균이 이루어진다면 감 생산 농가가 안정적으로 2차 가공한 종초를 식품기업에 판매하여 농가 소득 증대에 기여할 수 있을 것으로 기대된다.

광촉매와 고전압 펄스 기술은 유사한 특성을 갖는 비열 처리기술에 비해 적용비용이 매우 낮다는 장점이 있다. 하루 수톤 정도의 생산 규모로 가정할 때 필요한 시설 투자비는 1~2억원 이내로 예상되어 식품 대기업뿐만 아니라 농촌의 지역 규모 식품공장에서도 적용 가능한 기술로 판단된다.

광촉매와 고전압 펄스 기술은 저에너지 사용기술이다. 따라서 처리 공정 중 사용되는 에너지와 환경 부담 저감 효과가 기대되며 정부의 주요 정책 방향인 저탄소 녹색성장에 도 잘 부합한다.

제 2 장 국내외 기술개발 현황

1. 국내외 관련분야 현황

(가) 국내외 식초 관련 산업 현황

국내에서는 1970년대부터 빙초산을 원료로 한 조미용 합성식초가 주를 이루다 2000년대 급속히 불어 닥친 웰빙 열풍과 더불어 식초음료를 포함하는 다양한 관련 제품이 개발되고 있다. 식초에 대한 소비자 선호도를 보면 합성식초로부터 벗어나 주정을 초산 발효한 양조식초를 선호하게 되었고, 최근에는 100% 과실을 원료로 생산되는 천연 양조식초를 선호하고 있다. 천연 양조 식초의 원료로는 감, 포도, 매실, 마늘 등이 대표적으로 이러한 원료를 이용한 건강 식초는 일본을 비롯하여 세계적으로도 수요가 급격히 증가하는 추세이다.

국내에서 개발된 대표적 제품으로는 (주)대상의 '홍초', 샘표식품의 '흑초' 등 대기업 제품과 더불어 농촌 지역 단위 농협 등을 중심으로 다양한 기능성 식초 제품이 생산되고 있다. 국내 식초의 시장 규모는 2009년 기준 년 700억원 정도로 큰 변화를 보이지 않으나 천연발효 양조 식초를 원료로 하고 있는 식초 음료 시장이 가파르게 성장하여 2005년 이미 조미용 식초 시장의 규모를 앞지른 상황이다.

해외에서 생산되는 식초는 자국의 특정 지역에서 생산되는 원료에 의해서 분류되는 것이 일반적이다. 천연 발효 식초의 원료를 기준으로 구분할 때 한국과 일본, 중국 등 아시아 국가는 곡류인 쌀과 보리와 같은 곡물을 원료로 하는 경우가 많으며 유럽에서는 과일 식초로 사과, 포도를 원료로 한 식초가 발달하였다. 세계적으로 가장 많이 차지하는 천연 발효 식초의 타입은 단맛이 강한 포도즙을 이용한 발사믹 식초 (balsamic vinegar) 로 전체 생산량 중 34%를 차지하고 있다.

(나) 국내 식초 관련 논문·특허 현황

식초를 키워드로 하여 국내에서 연구된 논문을 검색하였을 때 1970년대 이후 104편의 연구 논문이 발표된 것으로 조사되었다. 이는 국내에서 식품관련 연구의 증가에 따른 것이나 식초 자체에 대한 관심도 꾸준히 이어지고 있음을 의미한다. 식초와 관련되어 발표된 국내 논문의 내용을 분석해 보면 균주 선택과 발효공정 최적화에 대해 연구가 치중되었으며 완성된 식초나 증초의 발효 정지나 비열 살균에 대한 연구 논문은 발표된 바 없음을 확인하였다.

식초를 키워드로 하여 우리나라와 미국에 등록된 특허를 검색하였을 때 660여 편의 특허를 검색할 수 있었다. 특허분석결과 식초관련 특허는 신규원료 선택에 대부분 치중되어 있었으며 원료 중에서는 과일류와 버섯류에 대한 특허가 많이 이루어졌음이 확인되었다. 식

초와 관련된 기술 공정 중에서는 발효공정, 특히 2차 발효 기술공정에 대한 특허가 대부분을 차지하였다. 따라서 본 연구에서 목적으로 하고 있는 천연발효 양조 식초의 비열 살균 기술은 신규성에 따른 특허 확보가 가능할 것으로 판단되었다.

(다) 국내외 광촉매 및 고전압 펄스 부분 연구 현황

광촉매와 고전압 펄스 기술은 상온에 가까운 온도 영역에서 부패 미생물을 살균할 수 있는 비열 살균 기술에 속한다. 이러한 비열 살균 기술에는 여러 종류의 기술이 포함되는데 예를 들어 건조식품의 살균에 주로 사용되는 감마선처리기술 (γ -radiation) 은 산업적 활용이 활발히 이루어지고 있기 때문에 비열 살균 기술 중 성숙기에 접어든 기술로 정의 할 수 있으며, 최근 국내에서 일부 제품이 생산되고 있는 초고압처리기술 (high hydrostatic pressure) 은 비열 살균 기술 중 성장기에 접어든 기술로 정의 할 수 있다.

광촉매와 고전압 펄스 기술은 해외에서 활발한 기술 연구가 이루어지고 있으나 국내에서는 일부 연구기관에서만 연구가 수행되었고 아직 상용화 실적이 없어 비열 살균 기술 중에서는 새로운 영역인 태동기 혹은 도입기 기술로 정의할 수 있다.

광촉매 기술의 경우, 광촉매산화반응을 이용한 원천기술은 일본이 보유하고 있으나 식품 내 미생물을 제어하기 위해 사용하는 응용 기술과 이를 이용한 실험 장치의 구성 등은 연구에 참여한 연세대학교 연구팀에서 높은 수준의 경험과 기술을 확보하고 있다.

고전압 펄스 기술은 1960년대 독일 공학기술자인 Doevenspeck에 의해 발명되었으며 1960년대와 1970년대에 걸쳐 최초의 기술이 연구되었다 (Fig. 1). 1980년대 이후 미국과 유럽의 대학 연구소에서 고전압 펄스 기술이 본격적으로 연구하기 시작하면서 많은 수의 논문과 기초자료가 축적되었다.



Fig. 1. 1980년대 Krupp사에 설치된 초창기 PEF 장치 모습과 발명가인 Doevenspeck

선행 연구에 따르면, 고전압 펄스 기술은 시료에 적용되는 에너지의 양에 따라 사용 목적을 구분할 수 있다. 예를 들어 건조나 추출 전처리 등을 위해 동·식물세포막을 선택적으로 붕괴시키기 위해서는 0.7~3.0 kV/cm의 전압대를 사용하며 이때 사용되는 총 에너지 소모량은 10 kJ/kg 내외의 수준이다. 과일·야채 음료 등의 비가열 살균을 위해서는 주로 15~40 kV/cm의 전압대를 사용하게 되며 이때 사용되는 총 에너지 소모량은 100 kJ/kg 이상으로 알려져 있다. 사용되는 전압은 비교적 높은 수준이지만 처리시간이 마이크로 초(μ s) 영역으로 짧기 때문에 실제로 식품에 전달되는 에너지의 양은 매우 제한적이다. 따라서 처리도중 온도의 상승이 매우 적기 때문에 식물체 등 식품원료에 존재하는 천연 Vit. C 등 영양성분의 파괴를 최소화 할 수 있으므로 고품질의 식품 생산을 기대할 수 있다.

세계적으로 고전압 펄스 기술과 관련하여 주도적인 연구를 수행하고 있는 연구 그룹은 Table 1 과 같다. 국내에서는 연세대학교와 한국식품연구원에서 고전압 펄스 기술 연구가 수행된 바 있으며 현재는 중앙대학교, 전주대학교, 이화여자대학 등 일부 대학에서 고전압 펄스 기술에 대한 개별 연구를 수행하고 있다.

2. 연구결과가 기술개발 현황에서 차지하는 위치 및 기대효과

광촉매 기술의 경우, 연구에 참여한 연세대학교 연구팀이 높은 수준의 경험과 기술을 확보하고 있는 만큼 연구를 통해 기술의 진보와 산업화 적용을 목표로 하였다. 특히 천연발효 양조 식초에 대한 이러한 기술의 도입은 향후 전통 발효주나 발효음료, 장류 등에도 적용 가능하므로 산업적, 학문적 파급효과가 매우 큰 플랫폼 기술 (platform technology)로의 발전이 가능할 것으로 기대된다.

고전압 펄스 기술은 세포막의 선택적 붕괴에 따른 추출·살균 등 작용 메커니즘이 비교적 정확히 밝혀진 기술이다. 따라서 해외에서는 이러한 원리를 개별 식품에 적용하는 응용 연구가 활발히 이루어지고 있는데 대표적인 적용 예는 과일·야채 주스류, 농축액 등 고부가가치 신선식품이다. 해외에서의 적용 예를 볼 때 국내에서도 고전압 펄스 기술을 이용한 식품이나 식품 원료의 생산이 이루어 질 것으로 예상되며 그 시기는 향후 5년 내외로 판단되며 본 연구가 그러한 산업화 과정에 중요한 전환점이 될 것으로 기대할 수 있다.

Table 1. 고전압 펄스 기술과 관련된 해외의 연구 그룹

Institution	Country
Catholic University of Leuven	Belgium
University of Guelph	Canada
INRA	France
University of Bordeaux	France
University of Montpellier	France
CPC Europe	Germany
Berlin University of Technology	Germany
Hamburg University of Technology	Germany
German Institute of Food Technology (DIL)	Germany
ICE Tech	Iceland
ATO-DLO	The Netherlands
Unilever Research Vlaardingen	The Netherlands
University of Aberdeen	Scotland
University of Lleida	Spain
University of Zaragoza	Spain
Tetra Pak	Sweden
University of Lund	Sweden
Nestle	Switzerland
Washington State University	USA
Natick Laboratories	USA
National center of Food Safety and Technology	USA
Ohio State University	USA

제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

제 1 절 광촉매 및 고전압 펄스를 이용한 미생물 살균조건 확립

1. 이론적, 실험적 접근방법

가. 광촉매 기술의 이론적 배경

(1) 이산화티탄 (TiO_2)

이산화티탄은 3.2 eV 락 간격을 가지는 반도체로써 이산화티탄 표면에 380 nm 이하의 파장을 가지며 락 간격 이상의 에너지가 조사되면 강력한 산화력이 발생되어 가전자대 (valence band) 에 있는 전자 (e^-) 가 전도대 (conduction band) 로 전이되고 가전자대에는 전자가 비어 있는 정공 (h^+)이 남게 된다 (Huang *et al.*, 2000; Kikuchi *et al.*, 1997). 이렇게 생성된 전자와 정공은 이산화티탄 표면에 확산되어 e^- -cb 는 산소를 수퍼옥사이드 라디칼 ($\bullet O_2$) 로 환원시키며 수퍼옥사이드 라디칼은 과산화수소로 환원된 후 하이드록시 라디칼이 생성시킨다. h^+ vb은 수산화이온 ($-OH$) 또는 물과 반응하여 산화반응에 의해서 하이드록시 라디칼을 생성 한다 (Fig. 2). 하이드록시 라디칼은 수명이 짧지만 반응성이 높아서 오존 (2.07V), 과산화수소 (1.78V), 염소 (1.36V) 보다 강력한 산화제로 작용한다 (Cho *et al.*, 2005; Matsunaga *et al.*, 1985).

(2) 광촉매 반응 (TiO_2+UVC)

광촉매는 생물학적으로나 화학적으로 비활성이어서 안전하며 경제적이어서 산업적으로 응용 가능성이 높고 인체에 무해하여 알코올, 페놀, 방향제 등의 유기물질 분해에 의한 정수처리 및 폐수처리의 수질환경개선 등의 환경적인 측면과 바이러스, 박테리아, 곰팡이와 같은 미생물 억제 및 식품의 백색 착색제, 화장품, 광촉매 코팅 기술을 이용한 실내외 건축자재, 생활용품 및 의료용품의 코팅 제품들을 실생활의 여러 분야에서 유용하게 이용되어 상품화 되고 있다 (Paleologou *et al.*, 2007; Cho *et al.*, 2007; Srinivasan, *et al.*, 2003). 또한 유지와 유약 및 청색염료로 사용 되는 메틸렌블루와 적색의 합성염료 중 로다민 등의 유기염료의 분해에도 이용된다. 앞으로 광촉매 반응에 대한 연구가 점진적 발전된다면 반도체 광전극 및 연료감응을 위한 이산화티탄 태양전지 등의 에너지 전환기술, 이산화 티탄 박막으로 코팅된 금속 기질의 방지 기술, 기존의 고온고압 촉매 공정을 대체 할 수 있는 광화학적 청정공정 등 여러 분야에서 높은 이용가능성을 발휘할 수 있다

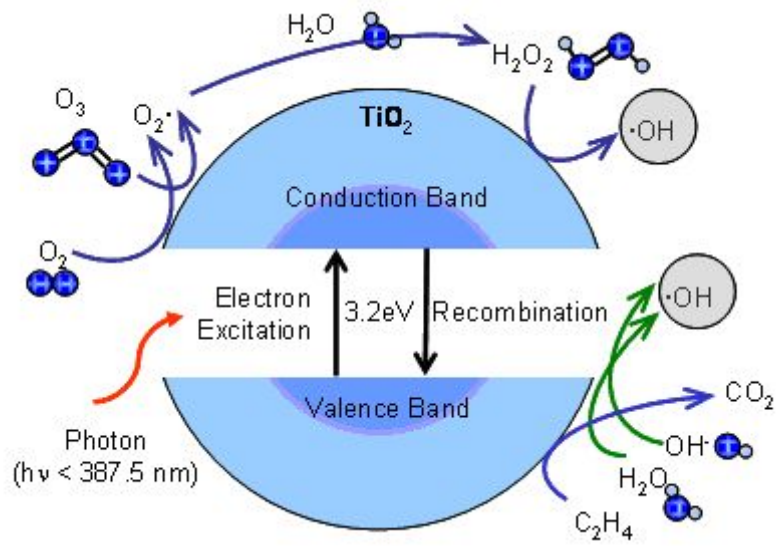


Fig. 2. 이산화티타늄에 의한 광촉매 산화

가. 고전압 펄스 기술의 이론적 배경

(1) 고전압 펄스 기술의 작용 메커니즘 - 세포막의 선택적 투과

고전압 펄스 기술의 작용 원리는 다음과 같다. 수-수십 kV/cm의 고전압을 microsecond (μ s) 단위로 식품에 처리하여 세포막 양면으로 전하를 유도한다. 세포막 내외 양면에 극성의 전하가 축적되면 10 mV 이던 세포막 전위차가 점차 증가한다. 이러한 세포막 전위차가 1 V 를 넘어서면 electro-compressive force를 형성하여 5 nm 두께의 점탄성 세포막을 압축하게 되어 세포막의 부분적 파열을 일으킨다 (Fig. 3). 고전압 펄스 기술은 대표적인 비가열 처리 기술로 펄스 처리에 의해 식품에 가해지는 에너지의 총량에 따라 추출 (저에너지) 및 살균 (고에너지)에 응용할 수 있다. 세포막에 선택적으로 작용하는 고전압 펄스 기술 특유의 메커니즘에 따라 식품의 향기, 맛, 색깔을 결정하는 저분자 물질에 대해서는 최소한의 변화가 관찰되고 있으며 단백질과 전분의 구조에도 영향을 주지 않으므로 신선한 식품 원료의 특성을 그대로 유지한 채 추출과 살균이 가능하다.

(2) 고전압 펄스 기술의 적용 예

고전압 펄스 기술은 시료에 적용되는 에너지의 양에 따라 사용 목적을 구분할 수 있다. 예를 들어 건조나 추출 전처리 등을 위해 동·식물 세포막을 선택적으로 붕괴시키기 위해서는 0.7~3.0 kV/cm 의 전압대를 사용하며, 과일·야채 음료 등의 비가열 살균을 위해서는 15~40 kV/cm 의 전압대를 사용하게 된다 (Fig. 4).

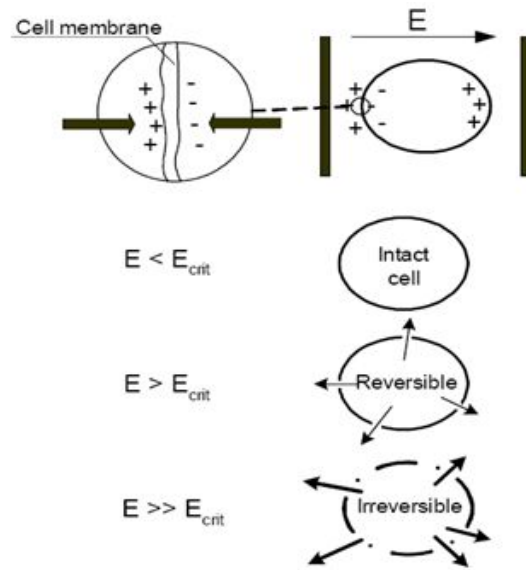


Fig. 3. 고전압 펄스 처리에 의한 세포막의 선택적 붕괴 메커니즘

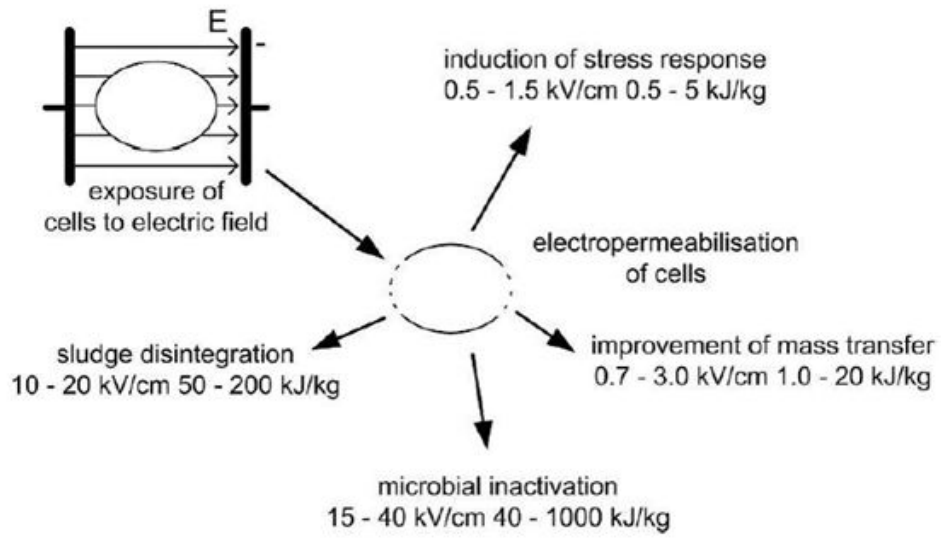


Fig. 4. 적용 범위에 따른 고전압 전기장 에너지 레벨

2. 연구 내용

가. 식초 생성균 및 오염균의 배양법 확립과 standard vinegar broth에 대한 식초 발효균의 내산성 확인

(1) 연구 목적

- 식초 발효균 및 오염균의 의 생육 특성 확인 및 배양 조건 확립
- Standard vinegar broth 에 대한 식초 발효균의 감수성 확인

(2) 연구 내용

(가) 식초 발효균 및 오염균의 의 생육 특성 확인 및 배양 조건 확립

- 식초의 발효에는 *Acetoabcter* 속 균들이 중요한 역할을 하는데 그 종류에 따라 식초의 중요 발효균으로 작용하는 경우와 균종에 따라 이미와 이취를 형성하는 변패세균으로 작용하기도 한다.
- *Acetobacter pasteurianus* (KCCM 32831) 는 일반적으로 식품가공업체에서 사용하는 식초 생성균으로 한국 미생물보존센터에서부터 공급 받아 single colony를 AE 배양 배지 (Table 3) 에 접종하여 진탕 배양기에서 30℃, 150 rpm 으로 5일간 배양해 사용하였다 (Fig. 5).
- 배양에 따른 *Acetobacter pasteurianus* 의 균체 수 증가는 GYC agar (Table 4) 에 희석, 도말한 후 26℃의 incubator에서 4일간 배양 후 생성된 colony를 측정하였다.
- 1차 접종 후 36시간 이후에 *Acetobacter pasteurianus*의 균수가 10⁸ CFU/mL 에 도달하여 66시간 까지 비슷한 수준의 유지를 하다 그 이후에 균수가 줄어드는 것을 확인 할 수 있었다 (Fig. 6). 따라서 1차 배양에서 stationary phase에 드는 접종 48시간이 되었을 때 배양액 1 mL를 취한 후 10⁴ 희석하여 2차 배양을 시도 하였다.
- 2차 배양 결과 *Acetobacter pasteurianus* 는 48~90시간 영역에서 stationary phase 를 보이고 이후 death phase로 진입한 것을 확인 하였다 (Fig. 7). 따라서 고 전압 펄스 처리를 위한 *Acetobacter pasteurianus* 는 stationary phase의 중간부 에 위치하는 66시간 배양 후에 균을 취하는 것이 좋다고 판단되어 이후 실험을 위한 배양 조건으로 사용되었다.

Table 3. AE 배지 조성

Compound	Composition
Glucose	0.5%
Peptone	0.3%
Yeast extract	0.2%
Ethanol	4.0%
Acetate	3.0%
Water	92.0%

Table 4. GYC agar 조성

Compound	Composition
Glucose	5.0%
Calcium carbonte	3.0%
Yeast extract	1.0%
Agar	2.5%
Water	88.5%

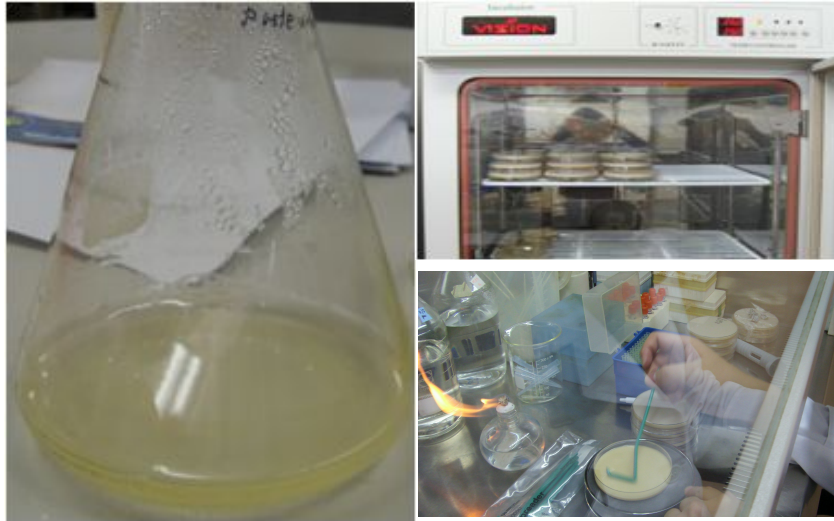


Fig. 5. *Acetobacter pasteurianus* 접종 및 배양 과정. 배양을 위한 AE broth (왼쪽); 균수측정을 위해 GYC 고체 배지에 접종하는 모습 (오른쪽 아래); 균수 측정을 위해 26°C incubator에서 배양되는 GYC 고체 배지 (오른쪽 위)

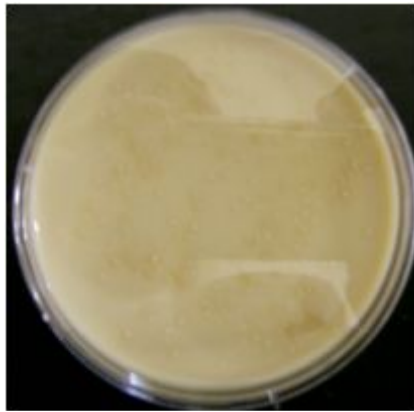
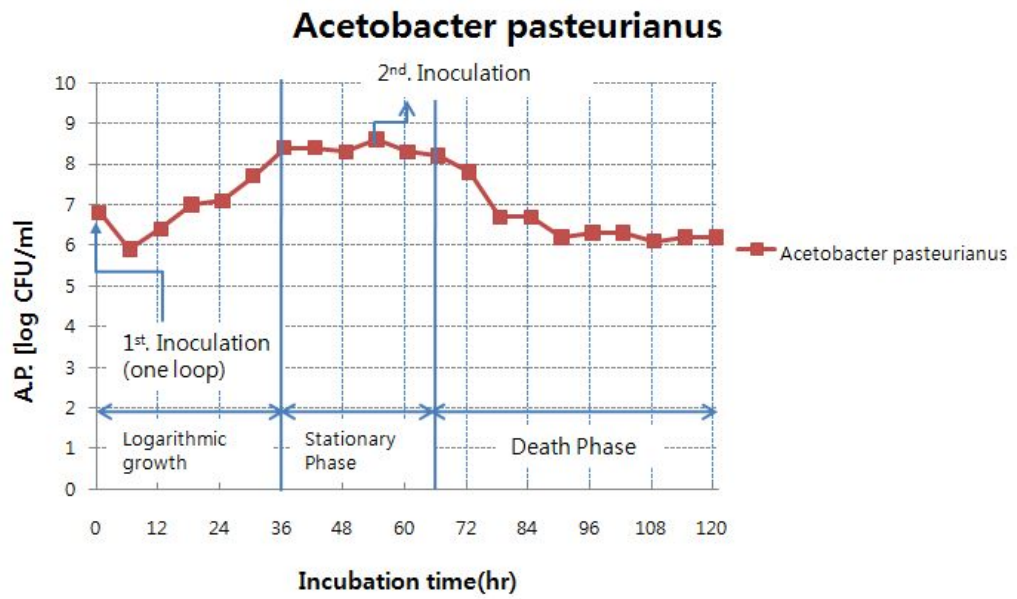


Fig. 6. *Acetobacter pasteurianus* 1차 접종 생육 곡선과 GYC agar 에서 배양된 *Acetobacter pasteurianus* colony의 형태적 특징

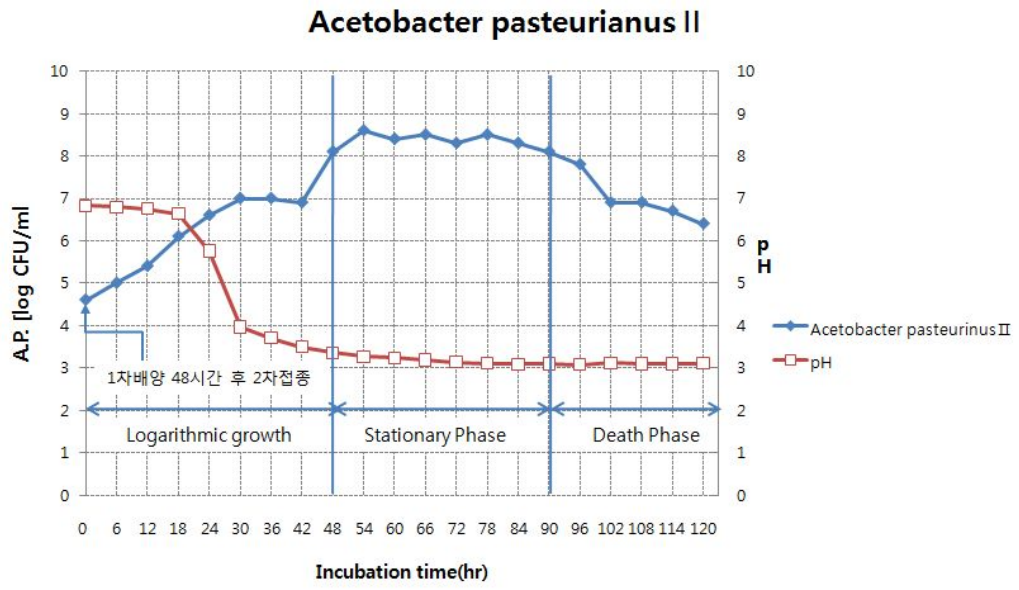


Fig. 7. *Acetobacter pasteurianus* 2차 접종 후 생육 곡선

- 천연 발효 식초의 에탄올 발효에 관여하는 균의 모델 균주로는 *Saccharomyces cerevisiae* (KCCM 32016) 를 선정하였으며 천연 발효 식초의 대표적인 오염 균주로는 *Acetobacter xylinum* (KCCM 40407) 을 선정하여 실험에 사용하였다.
- *Saccharomyces cerevisiae*는 YM broth (Difco, USA)에 접종, shaking incubator상에서 200 rpm, 27°C의 조건으로 40시간 배양하였다. *Saccharomyces cerevisiae*의 균수 확인은 potato dextrose agar (Difco, USA) 에 접종하여 27°C의 incubator (SIM-602L, shinseng, Korea) 에서 72시간 배양 후 생성된 colony 수를 확인하였다.
- *Saccharomyces cerevisiae*의 생육 특성을 확인하기 위해 멸균 처리된 YM broth에 접종하고 shaking incubator 상에서 200 rpm, 27°C의 조건으로 배양 하였다. 접종 후 24시간 경과 후 10^8 CFU/mL이 되어 이후 64시간 까지 균이 8.0 log cfu/ml이하로 감소하지 않고 유지되었다 (Fig. 8).
- *Acetobacter xylinum*는 HS broth (peptone 0.5%, yeast extract 0.5%, citric acid 0.115%, Na₂HPO₄ 0.27%, D-glucose 2%) 에 접종, shaking incubator에서 150rpm, 27°C의 조건으로 42시간 배양하였다 (Toda *et. al*, 1997). *Acetobacter xylinum*는 GYC agar (D-glucose 5.0%, yeast extract 1.0%, calcium carbonate 3.0%, agar 2.5%, distill water 88.5%) 에 접종하여 incubator상에서 26°C로 7일간 배양 하였다.
- *Acetobacter xylinum* 은 Fig. 9 에서 보여지는 바와 같이 배양 시작 30시간이 경과 하였을 때 균수가 8.1 log CFU/mL가 되어 실험을 종료한 114시간 까지 균수가 8.0 log CFU/mL 를 유지하였다. 이는 이전의 실험에서 120시간 동안 균수가 감소하지 않고 유지된 이전의 결과와 유사 하였다 (Yang *et. al*, 1997).

Saccharomyces cerevisiae

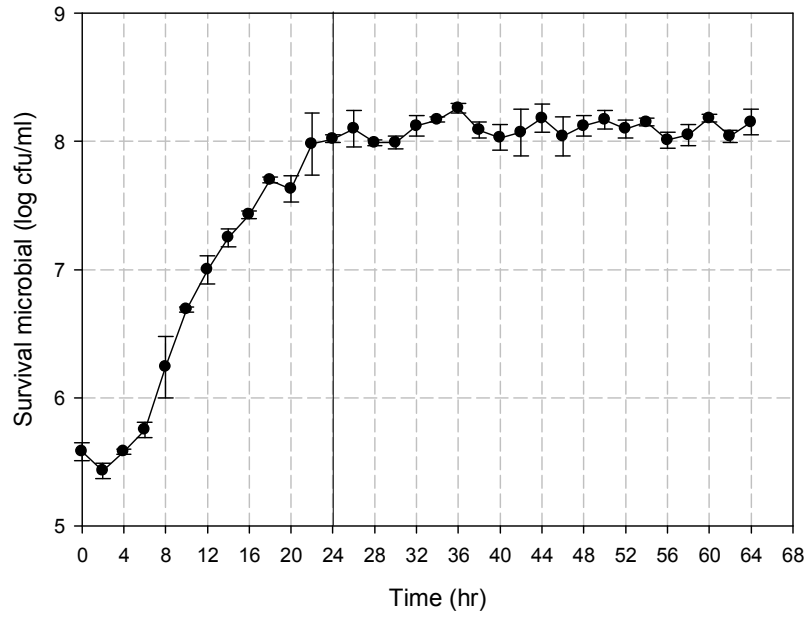


Fig. 8. 천연발효 식초의 에탄올 발효균인 *Saccharomyces cerevisiae* 의 생육 곡선

Acetobacter xylinum

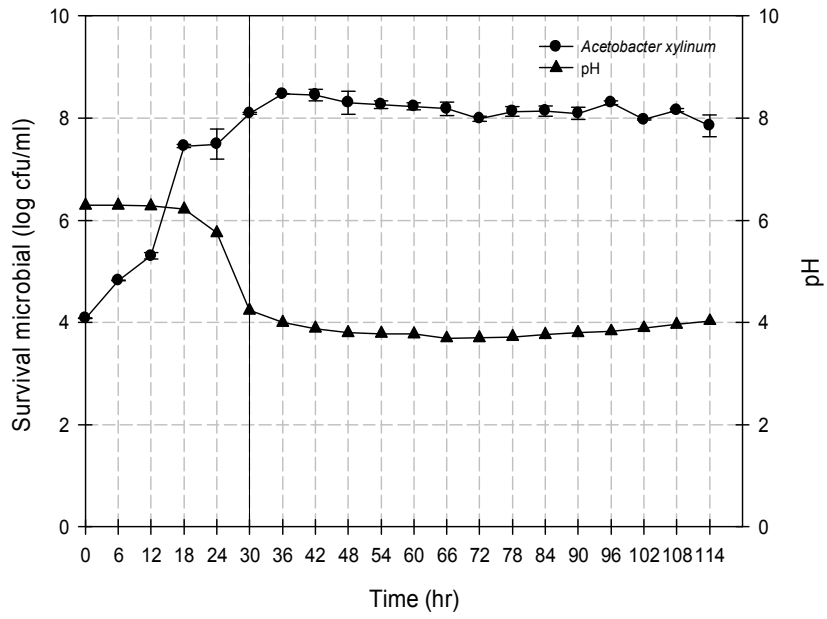


Fig. 9. 천연발효 식초의 대표적 변패균인 *Acetobacter xylinum* 의 생육 곡선

(나) Standard vinegar broth 의 조제와 *Acetobacter* 의 감수성 확인

- 미생물 살균 실험을 위해서는 식품에 직접 적용하기 위해 멸균된 모델 시스템이 필요하다. 즉, 식초의 발효 도중, 혹은 발효 종료 후와 유사한 환경이 실험 도중 수시로 필요하다. 따라서 에탄올 발효를 마친 천연 발효 종초와 화학적 조성이 유사한 Standard vinegar broth 를 조제하였다 (Table 5; Table 6).

- Standard vinegar broth 99 mL 에 8.5 log CFU/mL의 2차 *Acetobacter pasteurianus* 배양액 1ml를 접종한 후 12 시간동안 방치하며 6 시간 간격으로 GYC agar에 접종하여 counting 한 결과 초기에 균수의 감소가 관찰되었으나 비교적 안정적인 균수를 유지하였다 (Table 7). 이것은 접종한 *Acetobacter* 가 pH 3.7 정도인 standard vinegar broth에 안정성을 갖고 있음을 뜻하여 향후 살균 실험에 standard vinegar broth를 천연 발효 종초를 대신하는 모델 시스템으로 사용하기에 적합한 것으로 판단되었다.

Table 5. Standard vinegar broth 조성

Compound	Composition (g)
Ethanol	27.5
glycerol	1.87
Tartaric acid	0.017
water	470.6

Table 6. Standard vinegar broth의 물리적 특성

pH	Brix	Viscosity (Pa/s)	Density (kg/m)	Electrical conductivity (S/m)
3.7	2.8	0.0008	980	0.00657

Table 7. Standard vinegar broth에서의 *Acetobacter pasteurianus* 생존실험

Time	Survival bacteria
0 hr	5.42 log CFU/mL
6 hr	5.50 log CFU/mL
12 hr	5.62 log CFU/mL

나. TiO₂/UVC 살균장치 이용 초산균 및 일반세균에 대한 살균효과 확인

(1) 연구 목적

- 식품유래 일반세균에 대한 효과 (*E. coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella Typhimurium*) 를 Batch형 장치를 이용하여 살균
- 초산균에 대한 효과 (*Acetobacter aceti*, *A. pasturianus*, *A. xylinum*)를 Batch형 장치와 실험실 규모의 연속식 장치를 이용하여 살균

(2) 연구 내용

- (가) 식품유래 일반세균에 대한 효과 (*E. coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella Typhimurium*) 를 batch형 장치를 이용하여 살균
- 식품유래 병원성 미생물 (*E. coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella Typhimurium*) 살균, DNA 손상에 대한 TiO₂/UV 광촉매 반응의 효과를 검증하고 UV 파장 (UVA, UVB, UVC) 에 따라 효과의 증감이 어떻게 이루어지는지 검증하였으며 주사형전자현미경 (SEM) 을 이용 구조-형태학적 변화를 관찰하였음.
 - 6분 동안의 TiO₂/UVC 광촉매처리 이후 모든 플라스미드 DNA는 선형 DNA로 전환되었으나 TiO₂ 없이 UVC 조사 후에는 super-coiled DNA는 남아있었음 (Fig. 10).
 - 또한 TiO₂/UVC 조사시간을 증가하였을 때 게놈 DNA 구조변화에 대한 광촉매작용 효과도 함께 증가하였음. 아래 그림은 TiO₂/UV 처리 세포와 비교하였을 때 *E. coli*는 높은 수준의 게놈 DNA를 가지고 있다는 것을 알 수 있음 (Fig. 11). 또한 아래 데이터는 TiO₂/UV 조사시간이 증가 (30~120분) 하였을 때 게놈 DNA에 대한 TiO₂/UVC 광촉매 반응의 높은 효과를 보여줌 (Hirakawa *et al.*, 2004; Maness *et al.*, 1999; McDonnell *et al.*, 1999).
 - 병원성 미생물 (3종) 의 살균처리 후 감균 효과를 batch형 TiO₂/UV 장치를 이용하여 측정하였으며 TiO₂, 미생물 종에 상관없이 UVC일 경우 90초 (초기 미생물 수는 6 log CFU/mL 임) 안에 살균이 완료됨 (Table 8; Table 9; Table 10).
 - SEM 관찰결과 미생물 세포는 TiO₂/UVC 광촉매 반응에 의해 심각한 피해를 입었음이 확인되었음 (Fig. 12; Fig. 13; Fig. 14).

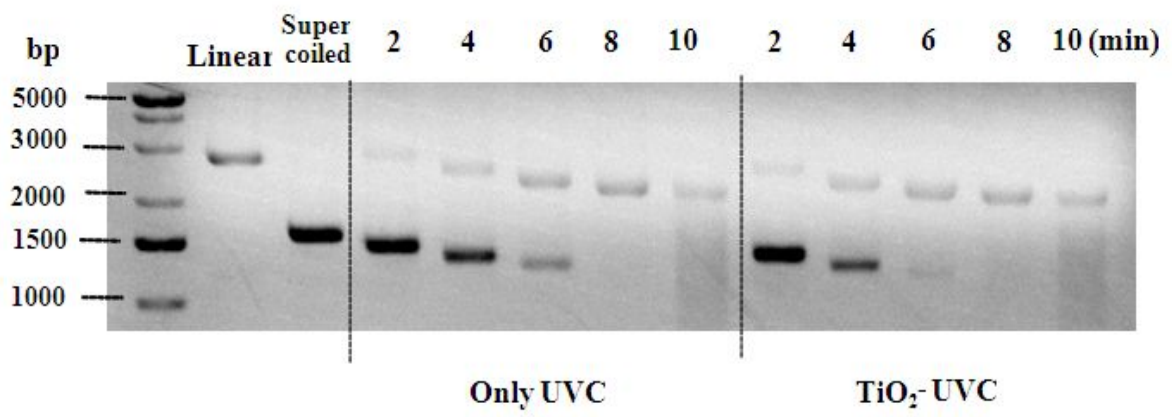


Fig. 10. UVC 와 TiO₂/UVC 광촉매 반응의 아가로스 겔 전기진단사진

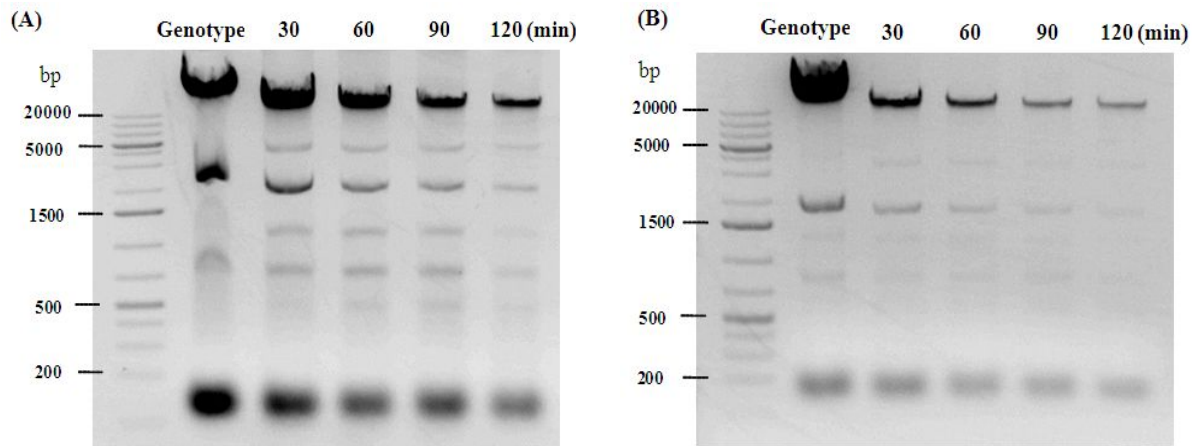


Fig. 11. TiO_2/UVC 광촉매 반응 처리 *E. coli* 에서 게놈 DNA의 아가로스 겔 전기진단사진(A); 최초 적정 DNA 농도의 25%로 희석된 게놈 DNA의 아가로스 겔 전기진단 사진 (B)

Table 8. Bactericidal effects on *S. Typhimurium* in lab-scale TiO₂-UV reactor

Time of exposure (sec)	Log CFU/ml					
	TiO ₂ -UV			UV only		
	UVA	UVB	UVC	UVA	UVB	UVC
control	5.9±0.0	6.0±0.0	5.9±0.0	6.01±0.0	6.0±0.1	5.9±0.0
10	–	–	4.2±0.0	–	–	4.0±0.0
20	–	–	2.8±0.1	–	–	3.0±0.1
30	–	–	0.2±0.1	–	–	1.9±0.2
40	–	–	0.2±0.1	–	–	0.4±0.2
50	–	–	0	–	–	0.3±0.1
60	–	3.0±0.2	0	–	3.0±0.1	0.2±0.1
120	–	1.7±0.0	0	–	1.9±0.2	0
180	–	1.6±0.0	0	–	1.6±0.1	0
240	–	1.4±0.1	0	–	0.9±0.1	0
300	–	0	0	–	0.6±0.1	0
360	–	0	0	–	0.2±0.1	0
420	–	0	0	–	0.4±0.1	0
480	–	0	0	–	0.4±0.1	0
540	–	0	0	–	0.4±0.1	0
600	–	0	0	–	0.3±0.1	0
1800	5.8±0.0	0	0	6.0±0.0	0	0
3600	5.7±0.0	0	0	5.9±0.0	0	0
5400	5.5±0.0	0	0	4.9±0.0	0	0
7200	5.1±0.0	0	0	5.0±0.0	0	0
9000	4.7±0.0	0	0	4.7±0.0	0	0
10800	4.6±0.6	0	0	4.7±0.6	0	0

* The value of population (log CFU/ml) are means ± standard division (n=3).

Table 9. Bactericidal effects on *L. monocytogenes* in lab-scale TiO₂-UV reactor

Time of exposure (sec)	Log CFU/ml					
	TiO ₂ -UV			UV only		
	UVA	UVB	UVC	UVA	UVB	UVC
control	5.9±0.0	6.0±0.0	5.9±0.0	6.0±0.0	5.9±0.0	5.8±0.1
10	–	–	4.0±0.1	–	–	4.0±0.0
20	–	–	2.4±0.0	–	–	3.0±0.0
30	–	–	0.8±0.1	–	–	1.4±0.1
40	–	–	0.5±0.1	–	–	0.9±0.0
50	–	–	0	–	–	0.2±0.1
60	–	1.3±0.1	0	–	2.6±0.1	0
120	–	0.9±0.0	0	–	2.0±0.0	0
180	–	0.9±0.1	0	–	1.9±0.0	0
240	–	0.7±0.1	0	–	1.7±0.1	0
300	–	0.7±0.1	0	–	1.7±0.1	0
360	–	0.9±0.0	0	–	1.1±0.1	0
420	–	0.8±0.1	0	–	0.7±0.0	0
480	–	0.8±0.1	0	–	0.8±0.1	0
540	–	0	0	–	0	0
600	–	0	0	–	0	0
1800	5.8±0.1	0	0	5.8±0.0	0	0
3600	5.7±0.1	0	0	5.6±0.0	0	0
5400	5.5±0.1	0	0	5.0±0.0	0	0
7200	4.8±0.2	0	0	4.4±0.0	0	0
9000	4.4±0.2	0	0	4.0±0.0	0	0
10800	3.6±0.1	0	0	3.7±0.1	0	0

* The value of population (log CFU/ml) are means ± standard division (n=3).

Table 10. Bactericidal effects on *Escherichia coli* in lab-scale TiO₂-UV reactor

Time of exposure (sec)	Log CFU/ml					
	TiO ₂ -UV			UV only		
	UVA	UVB	UVC	UVA	UVB	UVC
control	5.9±0.0	6.0±0.0	6.0±0.1	6.0±0.0	5.9±0.0	6.0±0.1
10	—	—	4.2±0.0	—	—	3.9±0.1
20	—	—	2.8±0.1	—	—	3.6±0.0
30	—	—	1.2±0.2	—	—	2.5±0.0
40	—	—	0.7±0.1	—	—	2.4±0.0
50	—	—	0	—	—	0.2±0.1
60	—	1.9±0.1	0	—	2.5±0.1	0.2±0.1
120	—	1.7±0.1	0	—	1.8±0.1	0
180	—	1.3±0.0	0	—	1.5±0.2	0
240	—	1.3±0.1	0	—	1.4±0.1	0
300	—	1.2±0.1	0	—	1.2±0.1	0
360	—	1.3±0.0	0	—	1.3±0.1	0
420	—	1.2±0.1	0	—	1.2±0.1	0
480	—	1.0±0.0	0	—	1.2±0.0	0
540	—	0.7±0.1	0	—	1.0±0.1	0
600	—	0	0	—	0.7±0.1	0
1800	5.8±0.0	0	0	5.8±0.0	0	0
3600	5.5±0.1	0	0	5.6±0.0	0	0
5400	4.4±0.2	0	0	4.6±0.0	0	0
7200	4.6±0.1	0	0	4.3±0.1	0	0
9000	4.5±0.0	0	0	4.0±0.1	0	0
10800	3.8±0.0	0	0	3.8±0.1	0	0

* The value of population (log CFU/ml) are means ± standard division (n=3).

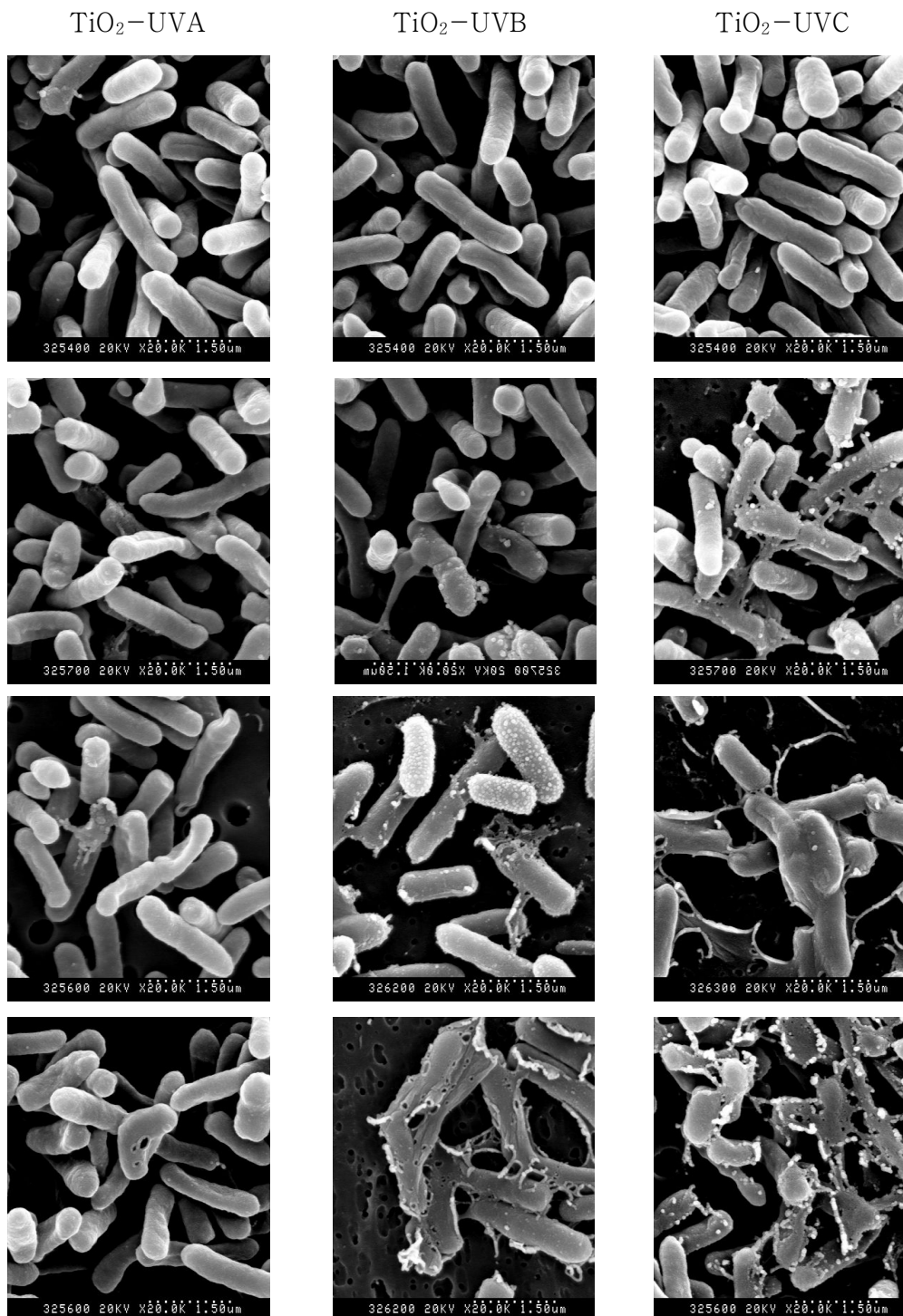


Fig. 12. SEM images of *S. Typhimurium* treated with TiO₂-UV photocatalytic reaction under different UV lights

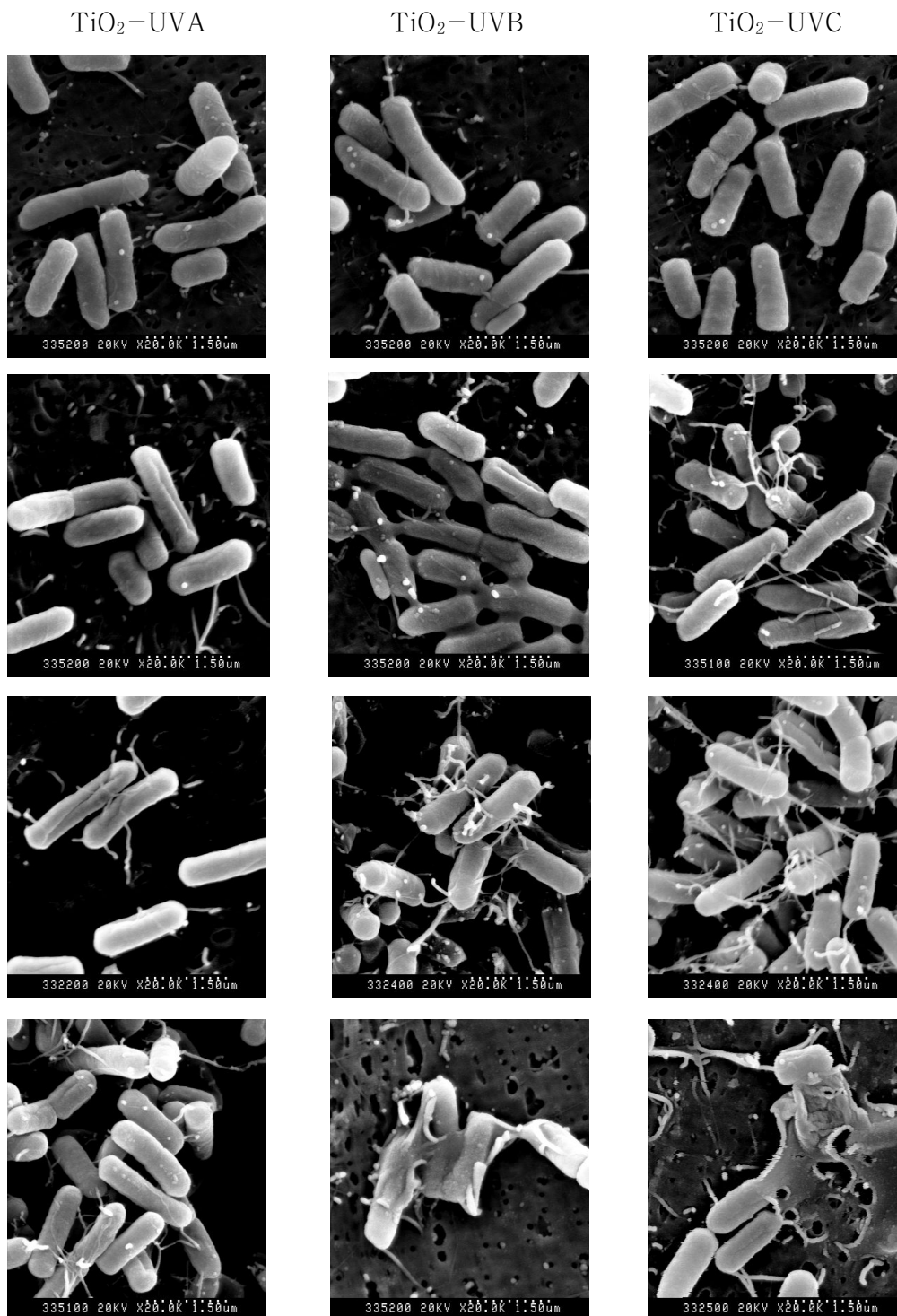


Fig. 13. SEM images of *L. monocytogenes* treated with TiO₂-UV photocatalytic reaction under different UV lights

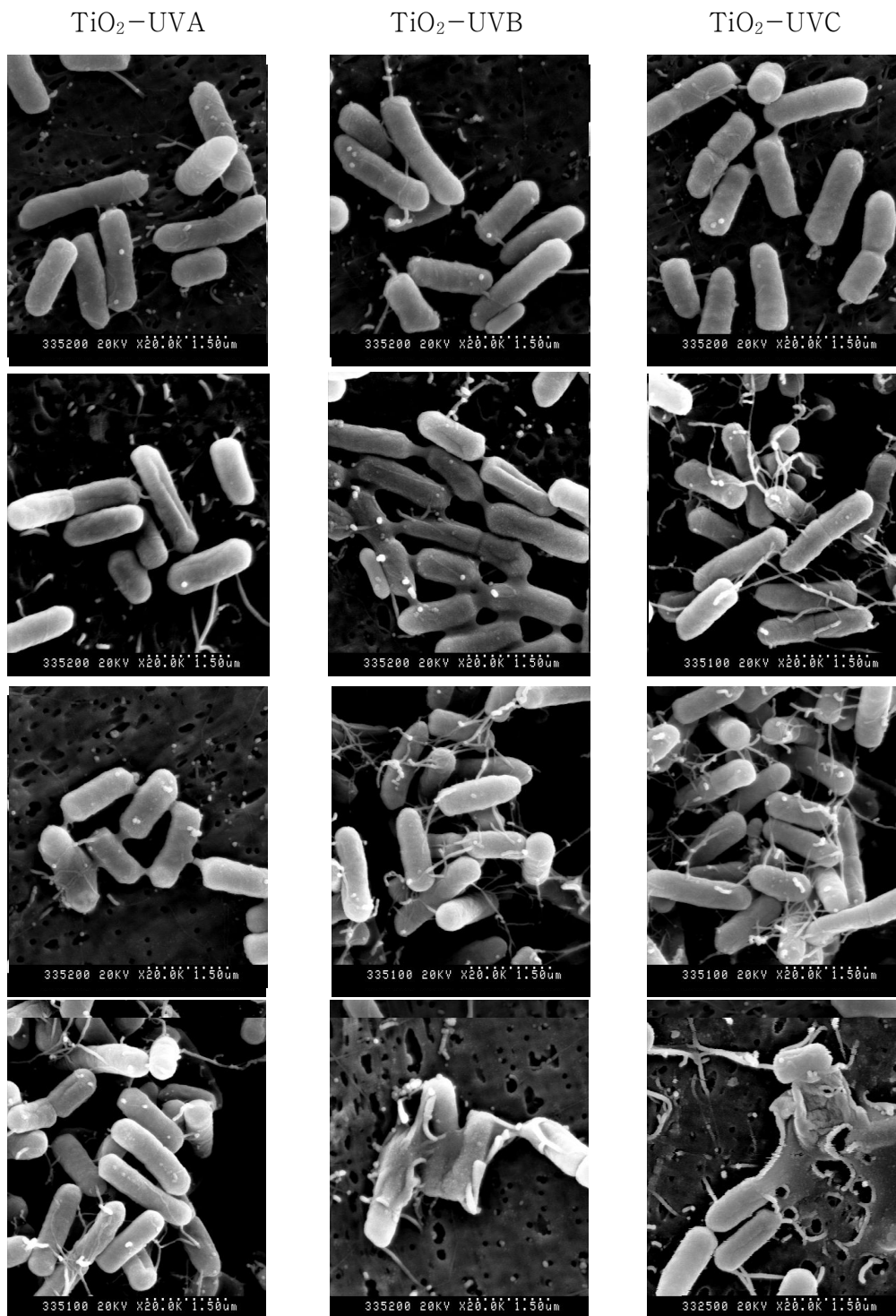


Fig. 14. SEM images of *Escherichia coli* treated with TiO₂-UV photocatalytic reaction under different UV lights

(나) 초산균에 대한 효과(*Acetobacter aceti*, *A. pasturianus*, *A. xylinum*)를 Batch형 장치와 연속식 장치를 이용하여 살균

- 초산균은 알콜발효가 끝난 액체를 이용하여 다시 초산발효 과정을 거쳐 최종 식초를 생산하는 중요한 균임과 동시에 상용식초 출시전에는 모두 사멸시켜 여과시켜야 하는 잔존 미생물임. 특히 *Acetobacter xylinum*은 cellulose를 다량 생산하여 식초 대량생산 공정에서 반드시 제거해야할 대상임 (Rehm *et al.*, 1983; Zahoor *et al.*, 2006).
- 금번 실험에서는 초산균 3종 (*Acetobacter aceti*, *A. pasturianus*, *A. xylinum*)에 대해 병원성 미생물 살균효과가 검증된 Batch형 TiO₂/UVC 장치를 이용 비열살균 효과를 측정함.
- Fig. 15 ~ Fig. 17 에서 보는바와 같이 Batch형 TiO₂/UVC 시스템에서 120초 동안에 *A. aceti*, *A. pasturianus*, *A. xylinum* 4~5 Log 감소를 보였으나 완전한 살균 효과는 보지 못하였음.

(다) 실험실 규모의 연속형 광촉매 처리장치에 대한 초산균 살균효과 검증

- 광촉매작용을 극대화 하기위한 실험실 규모의 연속형 TiO₂/UVC 처리장치 (Fig. 18) 에 대한 초산균 살균 효과를 검증함.
- 금번 실험에서는 초산균 3종 (*A. aceti*, *A. pasturianus*, *A. xylinum*) 에 대해 연속식 TiO₂/UVC 장치를 이용 비열살균 효과를 측정함. 실험결과 187-190초 동안에 *A. aceti*, *A. pasturianus*, *A. xylinum*를 완전 살균할 수 있었음 (6 Log 이상 살균 효과) (Fig. 19; Fig. 20; Fig. 21).

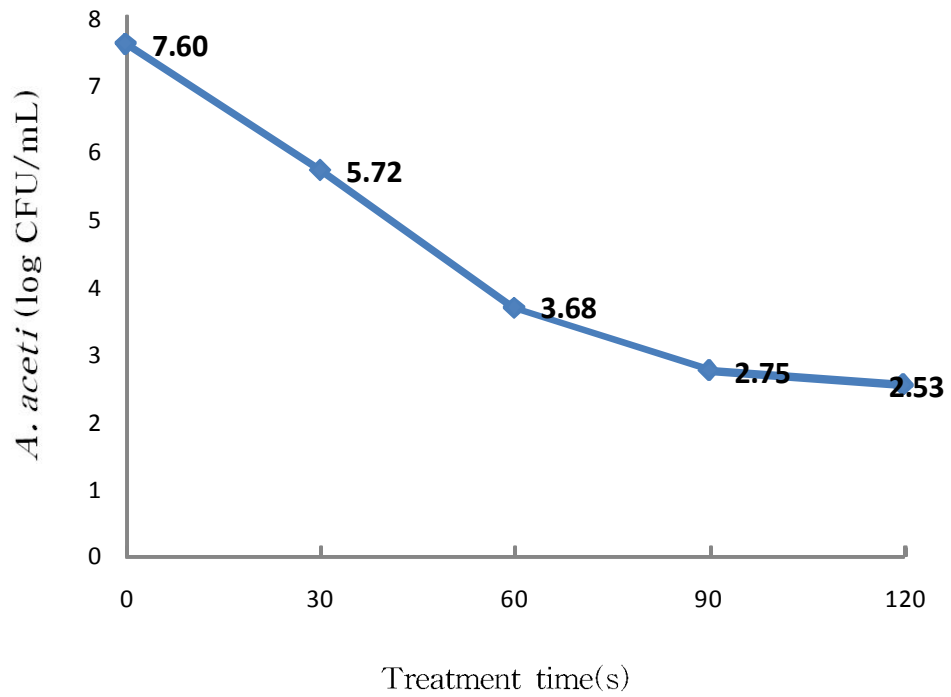


Fig. 15. Bactericidal effects on *Acetobacter acetii* in lab-scale TiO₂-UV reactor

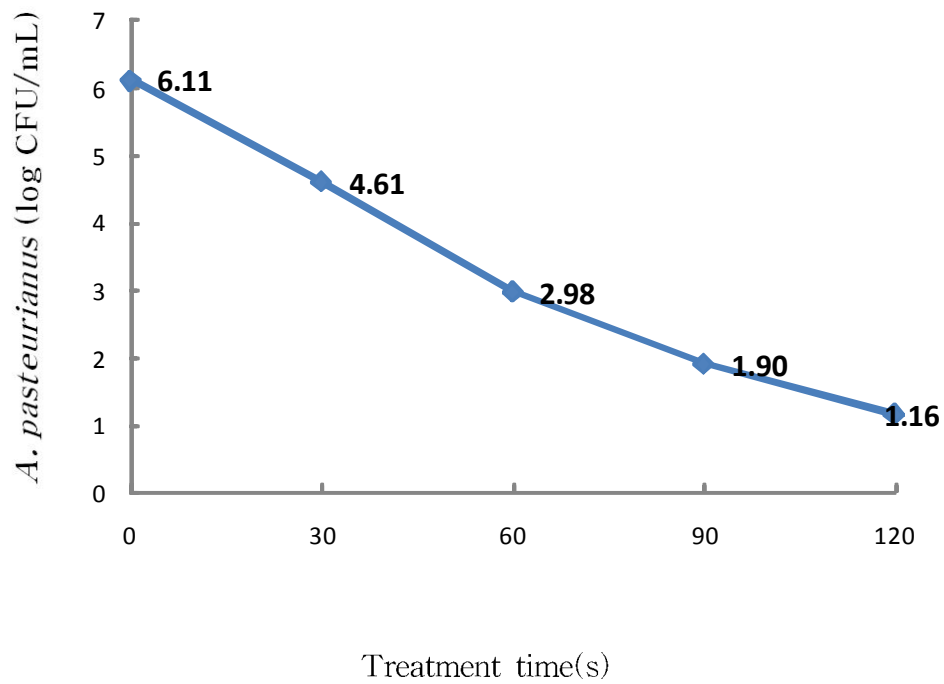


Fig. 16. Bactericidal effects on *Acetobacter pasteurianus* in lab-scale TiO_2 -UV reactor

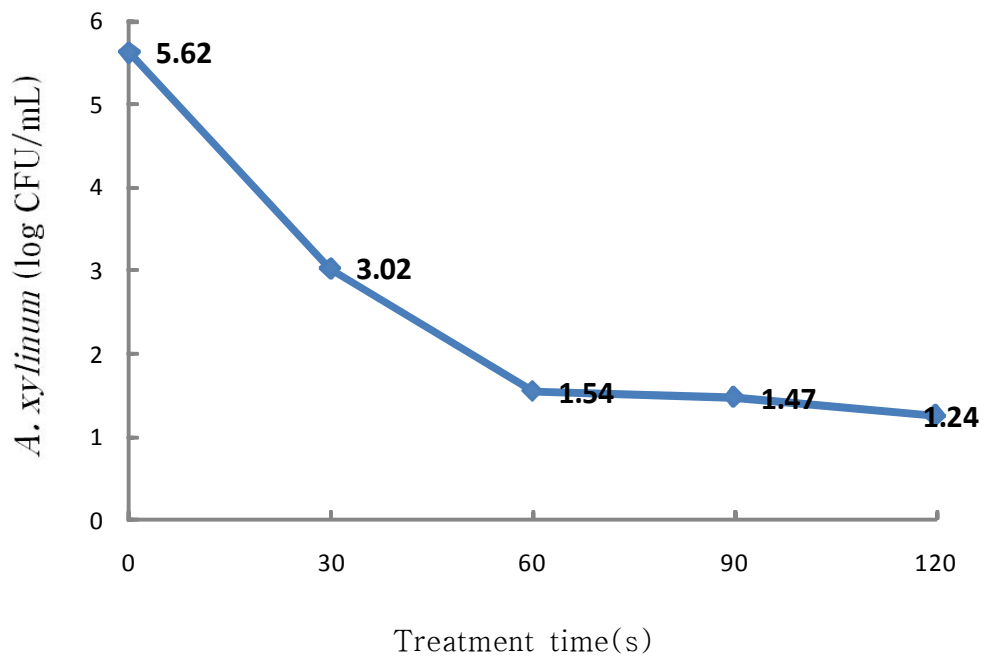


Fig. 17. Bactericidal effects on *Acetobacter xylinum* in lab-scale TiO_2 -UV reactor

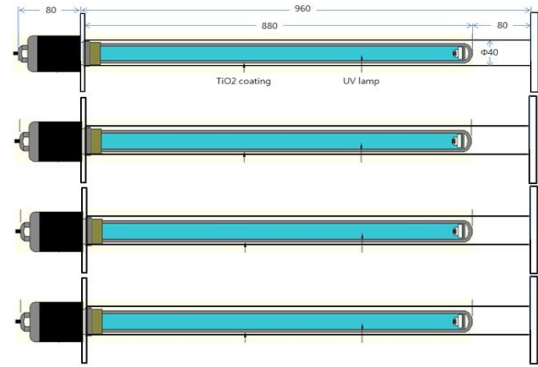


Fig. 18. TiO_2/UV photocatalytic continuous reactor (Lab-scale)

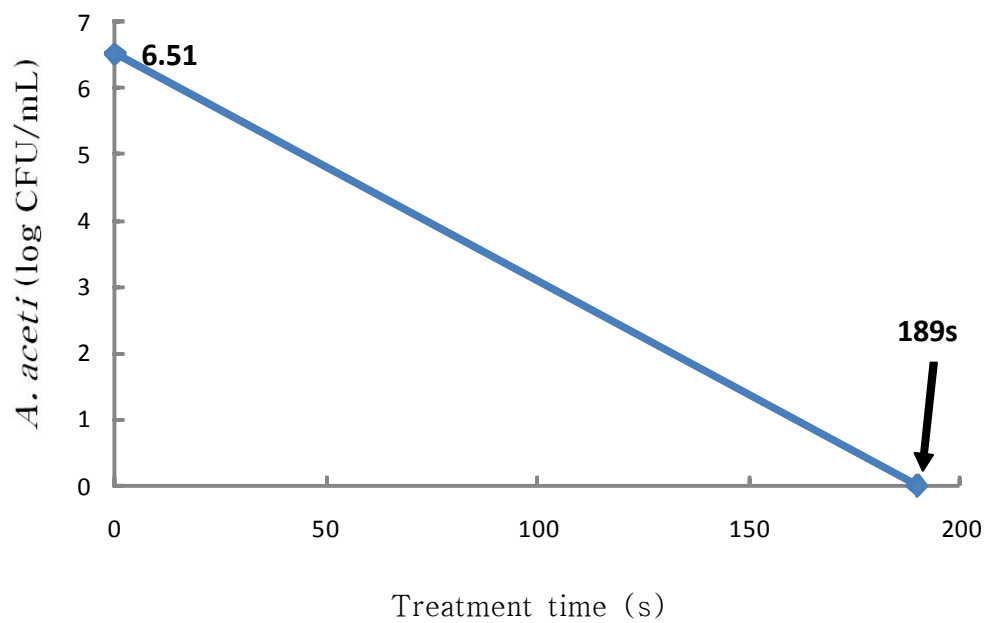


Fig. 19. Bactericidal effects on *Acetobacter aceti* in continuous TiO₂-UV reactor

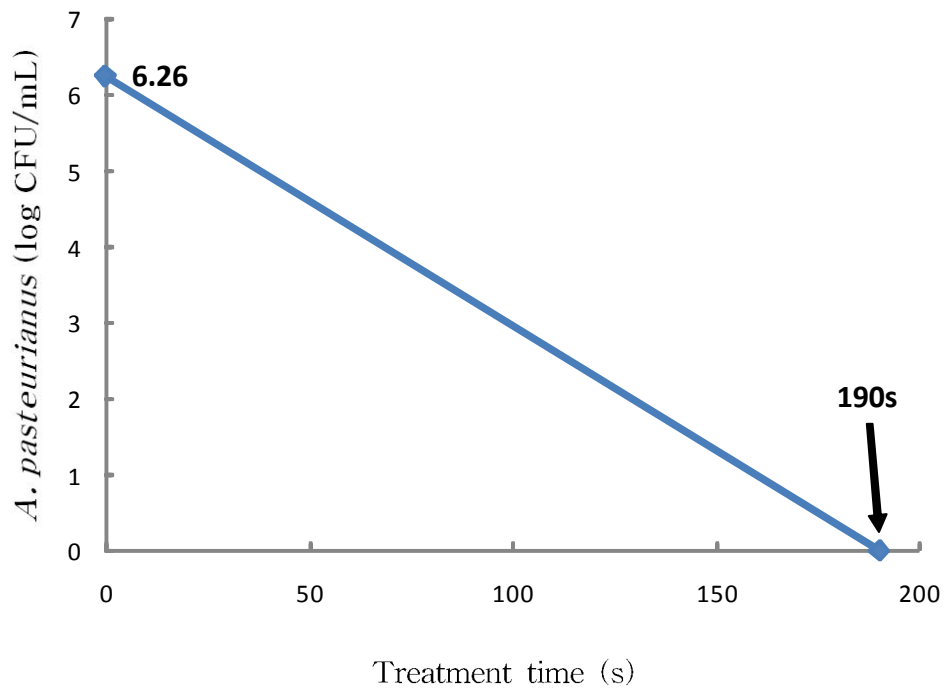


Fig. 20. Bactericidal effects on *Acetobacter pasteurianus* in continuous TiO₂-UV reactor

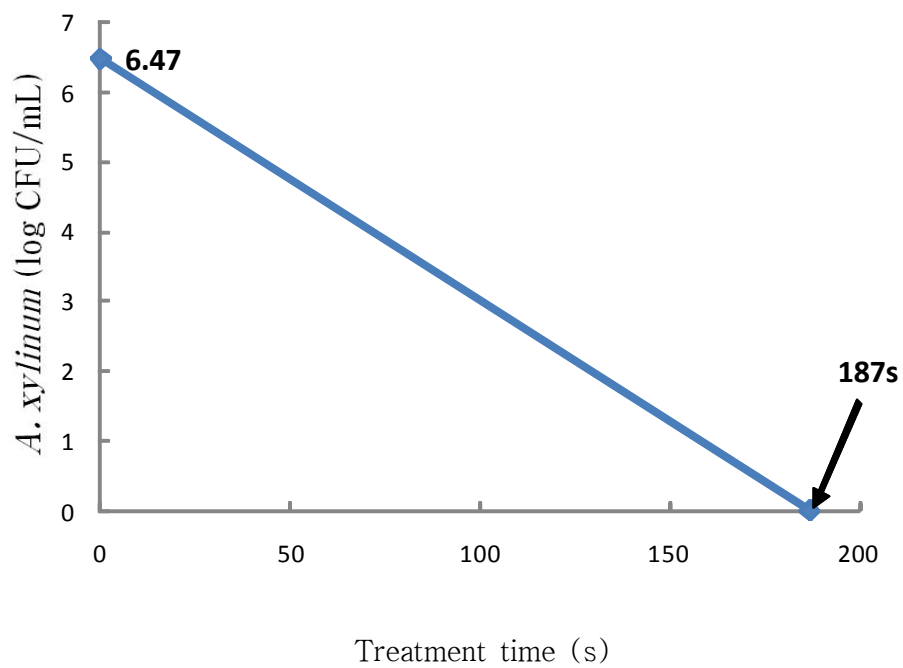


Fig. 21. Bactericidal effects on *Acetobacter xylinum* in continuous TiO₂-UV reactor

다. 고전압펄스 처리를 위한 공정 변수 설정 및 식초 발효 세균에 대한 살균효과 검증

(1) 연구 목적

- 고전압 펄스 처리를 위한 공정 변수 확립
- 고전압 펄스 에너지 수준에 따른 초산균 및 부패미생물의 살균효과 검증

(2) 연구 내용

(가) 고전압 펄스 공정 변수 확립

- 고전압 펄스 (PEF) 처리를 이용해 미생물의 살균을 연구하기 위해서는 전기장의 세기 (field strength, kV/cm), 전기장의 폭 (width, μ s), 전기장의 반복횟수 (repetition rate, Hz)등을 조절하고 측정하기 위한 장치가 필요하다. Fig. 22 는 본 실험에 사용된 고전압 펄스 장치의 개략적인 구성을 보여주고 있다.
- 실험에 사용되는 고전압펄스 장치는 펄스의 폭을 1~100 μ s 로 조절 할 수 있으며 최대 50 kV의 전압을 100 Hz의 펄스로 출력하도록 설계되었다. 이러한 출력 조건을 충족 하려면 대용량의 capacitor가 필요하다. 실험에 사용된 장치는 최대 200 nF 의 capacitor 을 확보하고 있다. 펄스의 형태와 속도는 독립적인 function generator (AFG 320, Tektronix, Wilsonville, OR, USA) 를 통하여 생성된다. 생성된 고전압 펄스의 전압과 전류는 설치된 고전압 probe 를 통해 측정되어 digital oscilloscope (TDS 430, Tektronix, Wilsonville, OR, USA)를 이용하여 기록하였다.
- 연속 PEF 처리를 위한 실험 조건을 설정하기 위하여 batch 식으로 된 PEF chamber를 사용하였다. Batch chamber는 처리량과 electrode간의 거리에 따라 종류별로 준비하였다 (Fig. 23).
- Chamber가 가지는 전기적 특성을 비교 분석해 보려면 일정한 액이 필요하기 때문에 천연양조식초를 사용하는 것에 대한 예비 작업으로 시중에서 판매하는 여러 종류의 식초를 구입하여 전기 특성에 가장 큰 영향을 미치는 electric conductivity 를 측정하였다. Fig. 24에서와 같이 2배 식초가 220.33 mS/m로 가장 높았고 홍초가 120.77 mS/m로 가장 낮았다. 실험에 사용한 standard vinegar broth는 여러 시판 발효 식초 중 중간적인 특성을 갖고 있어 실험에 적합한 모델임을 확인하였다.
- Electric strength의 변화에 따른 peak voltage의 변화를 알아보았다. 실험에 이용한 chamber의 지름은 3 cm이고 gap size가 1 cm인 것과 diameter가 6 cm이고 gap size가 2 cm 인 것이다. 이것들은 각 chamber 2, chamber 4 라 명명 하였다 (Fig.

25).

- Chamber 2 와 chamber 4에 2.0 kV에 달하는 electric strength 를 가하였을 때 peak voltage는 약 1 kV의 차이를 보였다 (Fig. 26). 그 이유는 투입되는 electric strength는 같지만 electrode 의 면적이 넓어서 힘이 분산되는데다가 gap이 멀어서 처음의 힘을 온전히 가져가지 못하기 때문이다. 이 때문에 일정한 전기 에너지를 이용해 효과적인 살균 처리를 위해서는 electrode의 넓이와 gap size가 작은 것을 사용하는 것이 유리하다.

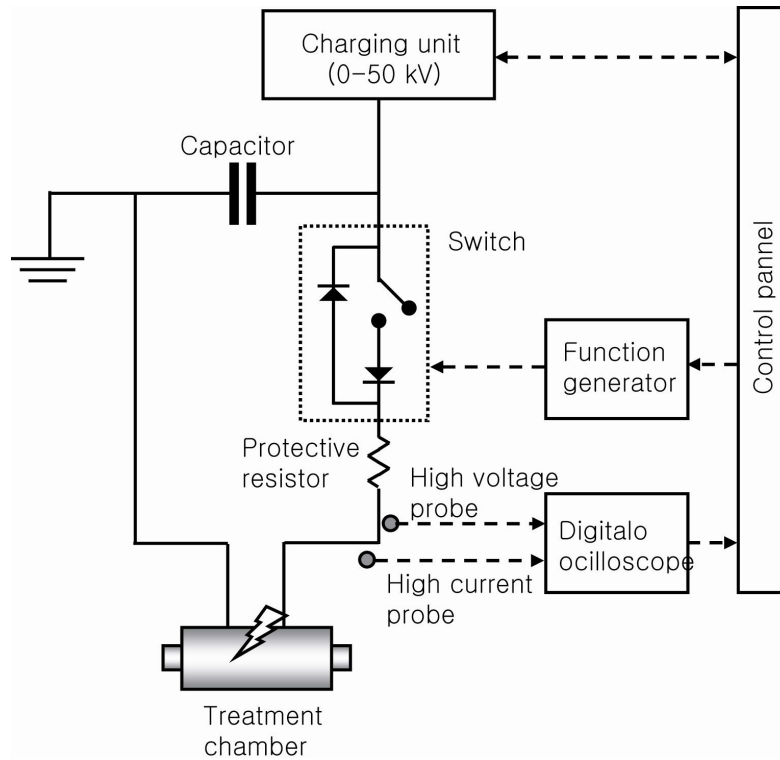


Fig. 22. 고전압 펄스 장치의 회로 구성도

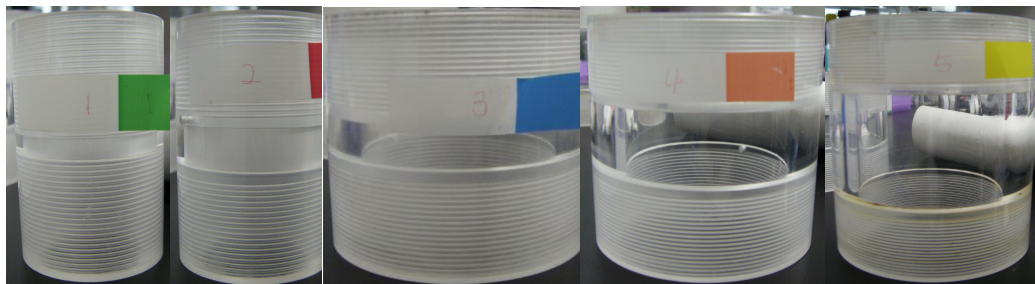


Fig. 23. Gap size와 diameter가 다른 batch chamber 들의 모습

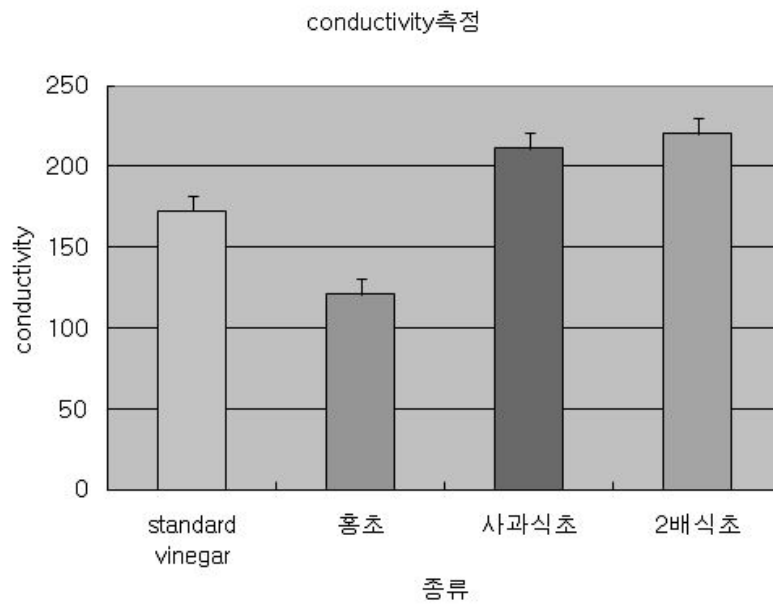


Fig. 24. 식초의 종류에 따른 electric conductivity

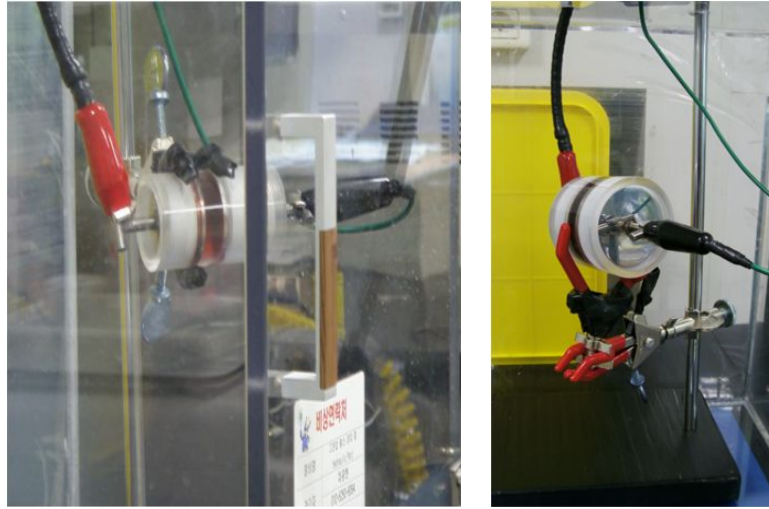


Fig. 25. 고전압 펄스 처리를 위해 설치된 chamber 2 (좌) 와 chamber 4 (우)

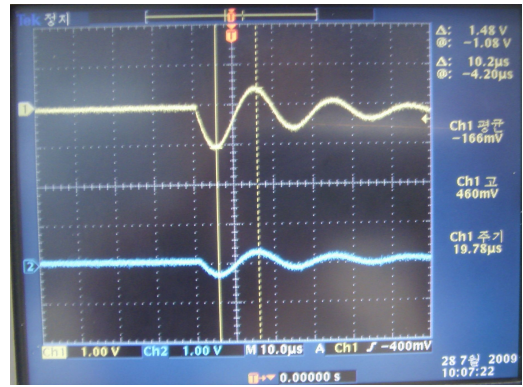


Fig. 26. 외부에서 2.0 kV 의 전압을 가했을 때 chamber 2 (좌) 와 chamber 4 (우) 에 유도되는 peak voltage 측정

(나) 고전압 펄스 에너지 수준에 따른 초산균 및 부패 미생물의 살균효과 검증

- 배양된 균은 실험에 사용하기에 앞서 원심분리를 하여 침전된 균층만을 사용하였다. 펄스전압과 펄스횟수의 조건에 따른 *Saccharomyces cerevisiae* 의 생존 균수변화는 Fig. 27 과 같다. 펄스전압과 펄스횟수가 증가함에 따라 비례적으로 생존 균수가 감소하였다. 하지만 같은 펄스전압 또는 펄스횟수에서 다른 한 조건을 조절 하였을 경우 사멸된 균수의 차이는 1 log cycle 이내로 조건에 따른 사멸 균수가 비슷하였다.
- *Saccharomyces cerevisiae* 는 20 kV/cm, 75 pulse로 처리하였을 때 2.3 log cycle 감소하였다. 이전의 실험에서 *Saccharomyces cerevisiae*를 35 kV/cm에서 10 pulse 처리 하였을 때 완전히 사멸하는 결과 (Qin *et. al*, 1995) 에 비해 상대적으로 낮은 수준인데 이는 처리 할 수 있는 전압이 20 kV/cm 정도로 제한 되는데 따른 것이다. 하지만 발효 식초의 처리에 사용되는 낮은 수준의 가열살균 (pasteurization) 과 비슷한 수준의 살균도를 갖는 것으로 판단되었다.
- *Acetobacter pasteurianus*를 고전압 펄스 전기장 처리 하였을 때 균이 가장 많이 사멸하는 조건은 20 kV/cm, 100 pulse 였다. 초기균수 6.2 log CFU/mL에서 처리 후 균수가 2.6 log cfu/ml로 약 3.6 log cycle 감소한 것을 Fig. 28을 통해 확인 하였다. 사멸 정도는 펄스횟수가 증가 할수록 증가하는 경향을 보였다. 20 kV에서 25, 50, 75, 100 pulse 처리하였을 때 사멸 균수는 각각 1.9 log cycle, 2.4 log cycle, 3.3 log cycle, 3.6 log cycle로 펄스횟수가 증가 할수록 많이 사멸 되었다.
- *Acetobacter xylinum*의 경우 균수가 최대로 사멸하는 조건은 *Acetobacter pasteurianus* 와 동일하게 20 kV/cm, 100 pulse으로 2.9 log cycle이 감소하였다 (Fig. 29).
- *Acetobacter xylinum*의 고전압 펄스 전기장 처리에서는 펄스횟수 보다는 펄스전압의 증가가 더욱 효과적 이었다. 20 kV에서 펄스 횟수당 사멸 균수의 차이는 최대 1.0 log cycle 이지만 100 pulse에서 펄스전압당 사멸 균수 차이는 최대 2.2 log cycle로 더 큰 차이를 보였다. 그러나 standard vinegar broth는 전기 전도도가 낮아서 실험에 사용한 고전압 펄스 전기장기기에서는 20 kV/cm를 초과한 펄스전압으로는 처리 하지 않았다.

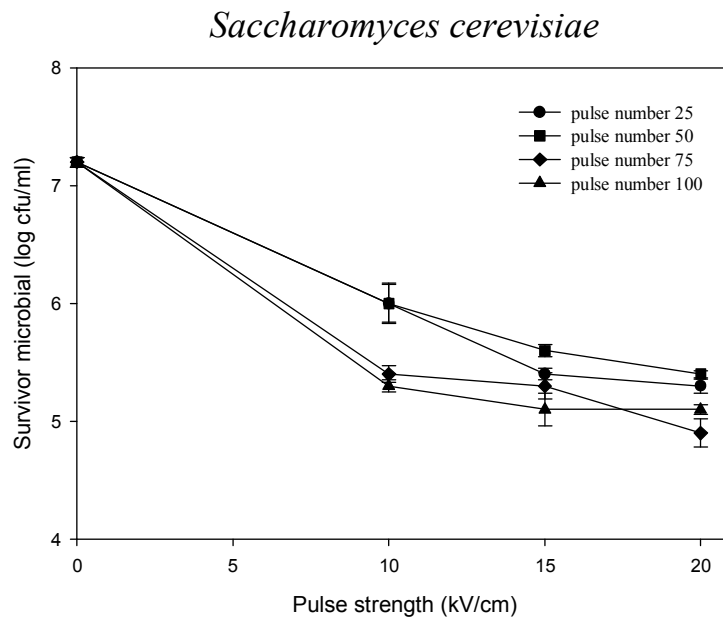


Fig. 27. Effects of pulse numbers on the inactivation of *Saccharomyces cerevisiae* in standard vinegar broth

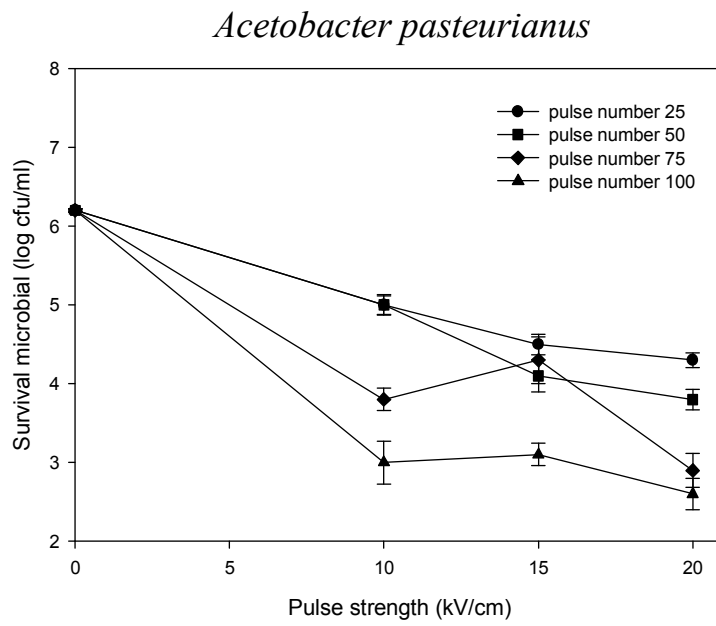


Fig. 28. Effects of pulse numbers on the inactivation of *Acetobacter pasteurianus* in standard vinegar broth

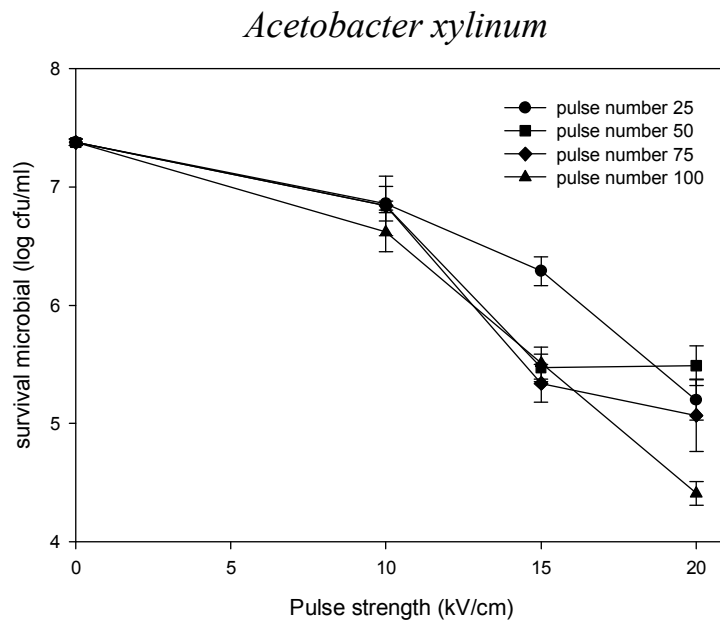


Fig. 29. Effects of pulse numbers on the inactivation of *Acetobacter xylinum*, in standard vinegar broth

제 2 절 광촉매 및 고전압 펄스 처리에 의한 천연 양조 종초의 특성 변화와 연속 생산을 위한 공정 최적화

1. 연구 내용

가. 천연 발효 감식초의 원료가 되는 천연발효 종초의 제조

(1) 연구 목적

- 광촉매 및 고전압 펄스 처리의 대상인 천연 발효 식초용 종초의 제조

(2) 연구 내용

- 전통적인 방법에 의한 감식초 제조법을 확인하기 위해 전라남도 완주군 소재 감식초 생산사인 A사의 생산 공장을 방문하여 국내 감식초 생산의 현황과 문제점에 대해 청취하였다 (Fig 30).
- 전통적인 방법에 의한 감식초 생산은 알코올 발효와 초산 발효를 발효단계의 구분 없이 자연 낙하균에 의존해 발효를 수행하여 발효 완료 후 일정한 품질 유지가 되지 않는 경우가 많았다. 식품기업에서는 농가나 지역 단위 공장에서 종초를 구입한 후 각 기업에서 최적화한 초산균을 접종하여 천연발효 식초를 생산하고자 하는데 현재의 전통적인 종초 생산법은 매우 간단하다는 장점은 있지만 각종 효모와 초산균의 집합체로 이후 천연발효 식초의 생산 공정에서 일정한 품질을 유지하기가 매우 어렵다는 단점이 있었다 (Fig 31; Fig 32).
- 생각 가능한 방법은 일정시간 종초 발효를 마친 후에 가열살균을 통해 종초 내부에 존재하는 효모와 초산균을 어느 정도 제거한 다음 원하는 초산균을 접종하는 방법이 있으나 가열처리 도중 풍미를 잃게 되는 단점이 있다.
- 광촉매 및 고전압 펄스 실험에 적용하기 위한 감식초 종초를 조제하기 위해 전라남도 완주산 감을 구입하였다. 감은 산지에서 종초를 생산하는 방식과 동일하게 poly ethylene 재질의 봉지에 담아 밀봉한 다음 26℃에서 10일간 발효하였다 (Fig. 33).
- 발효 10일후 감을 수거 한 뒤 poly ethylene 봉지 하단에 고여 있는 종초를 회수하였다. 회수된 종초는 여과지를 이용하여 불순물을 제거한 다음 용기에 담아 4℃에서 보관하였다 (김숙경 등, 2003).



Fig. 30. 전통적인 방법에 의한 감식초 제조법을 확인하기 위해 방문한 전라남도 완주군 소재 감식초 생산사인 A사의 생산 공장

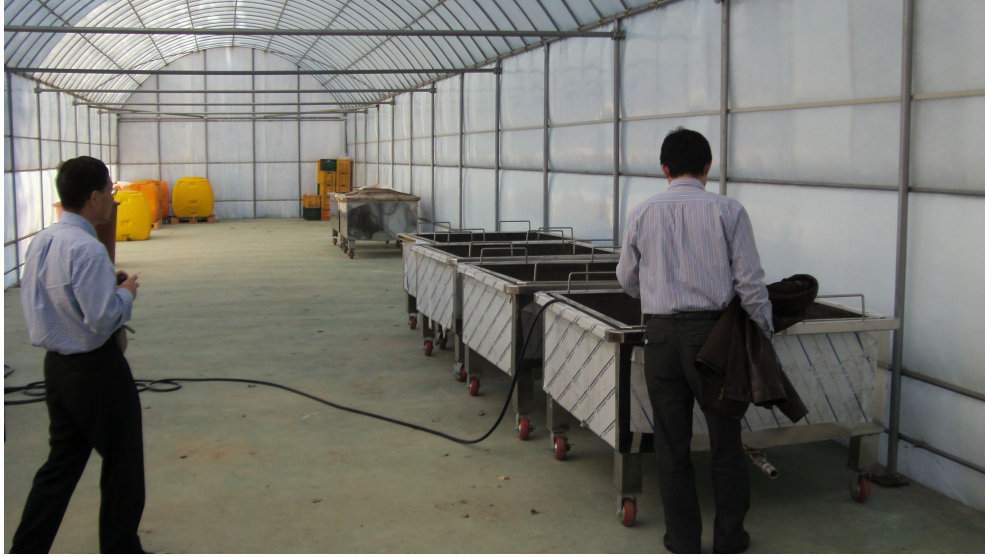


Fig. 31. 감 재배 농가에서 감식초를 위한 종초를 생산 할 때 사용하는 간이 발효 장치



Fig. 32. 감 채배 농가에서 수매한 종초를 이용 감식초 2차 발효를 진행하는 모습 (위);
항아리 내부에서 초산균이 막을 형성하며 숙성되는 모습 (아래)



Fig. 33. 광촉매 및 고전압 펄스 실험에 적용하기 위한 감식초용 종초를 조제하는 모습

나. 광촉매 처리에 의한 천연발효 종초의 특성변화와 공정 최적화

(1) 연구 목적

- 광촉매 처리에 의한 천연발효 종초의 특성 변화
- 실험실 및 파일럿 규모의 연속식 광촉매 적용 및 공정 최적화

(2) 연구 내용

(가) 광촉매 처리에 의한 천연발효 종초의 특성 변화

- 광촉매 기술을 이용한 비열 살균 시 천연발효 종초의 품질(pH, 산도, 색도, 갈변정도)변화, 식초내 당 및 유기산의 변화, 미량성분(Cu, Fe, K, Na)의 변화 측정 및 가열살균 식초와의 비교 분석하였음.
- 연속식 살균장치를 이용하여 천연발효식초를 처리 시 품질 및 미량성분의 변화를 headspace SPME GC/MSD를 이용하여 측정하였음. 당, 유기산 및 미량 성분들에서 큰 변화가 없음을 관찰 하였음. RT 40.46 min 성분 (butanol 등 alcohol 계열)이 대조군에 비해 증가하였으며, RT 42.63, 45.85 min 성분 (ethyl acetate, acetic acid 계열)이 미량 감소하였음 (Fig 34; Fig 35).

(나) 실험실 및 파일럿 규모의 연속식 광촉매 적용 및 공정 최적화

- 천연발효식초뿐만 아니라 발효식초 혹은 발효 주로 이용될 수 있는 사과주스를 대상으로도 감균효과 연구. 공정 최적화 연구를 위하여 석영관 외부 TiO₂ 코팅 여부, 반응관 내부 TiO₂ 코팅 여부 등 광촉매 반응 조건을 달리하여 살균 효과를 관찰. 그 결과를 바탕으로 기존 연속식 살균장치를 보완한 새로운 장치를 디자인 함 (Fig. 36).
- 현재 Fig. 36. 의 장치를 이용하여 식초 및 액체음료 내 식품성 미생물에 대한 연구가 진행중이며 반응관 내부를 TiO₂ 코팅하지 않고 석영관 외부를 TiO₂ 코팅한 경우가 살균효과 가장 뛰어남 (6.28 Log 감소).

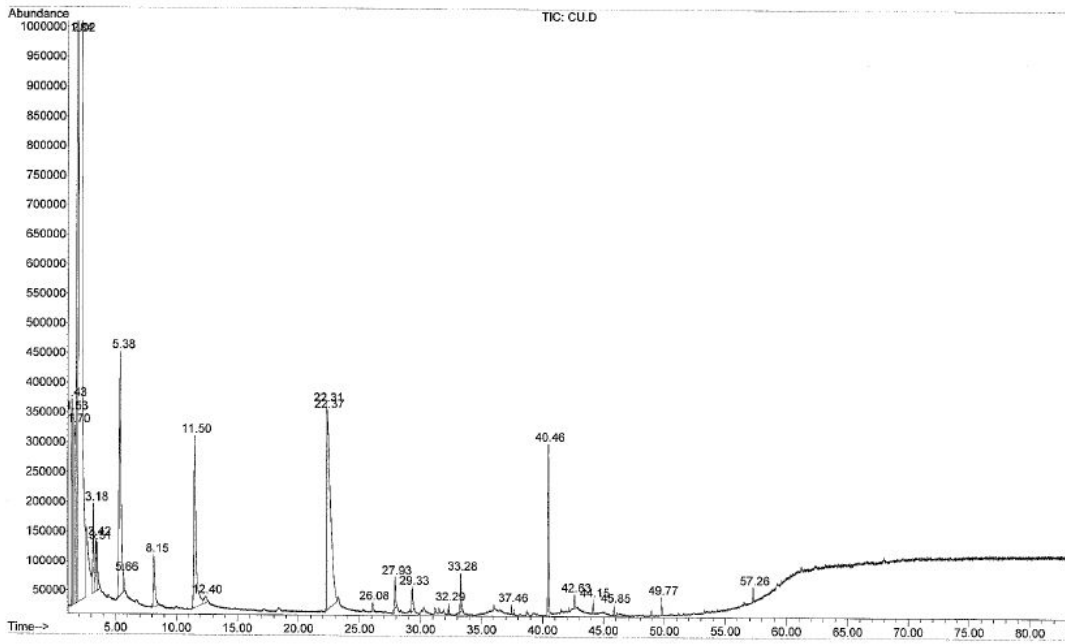


Fig. 34. Flavor profile of natural fermented vinegar broth

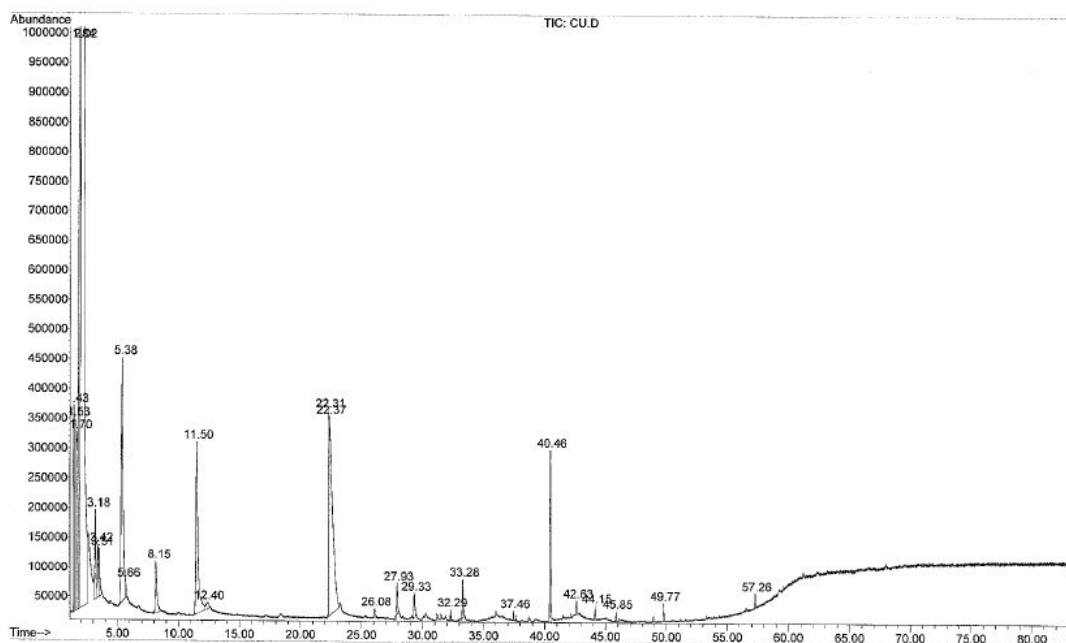


Fig. 35. Quality of natural vinegar broth treated with the continuous TiO_2 -UV photocatalytic reactor. The flow rate is 750 mL/min and the surface area is 560 cm^2

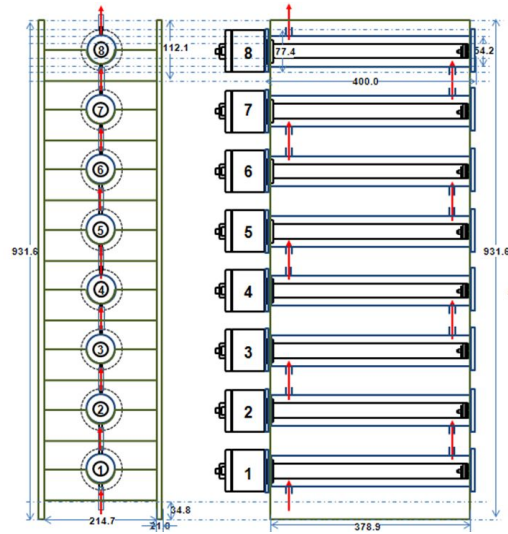


Fig. 36. TiO_2/UVC photocatalytic continuous reactor

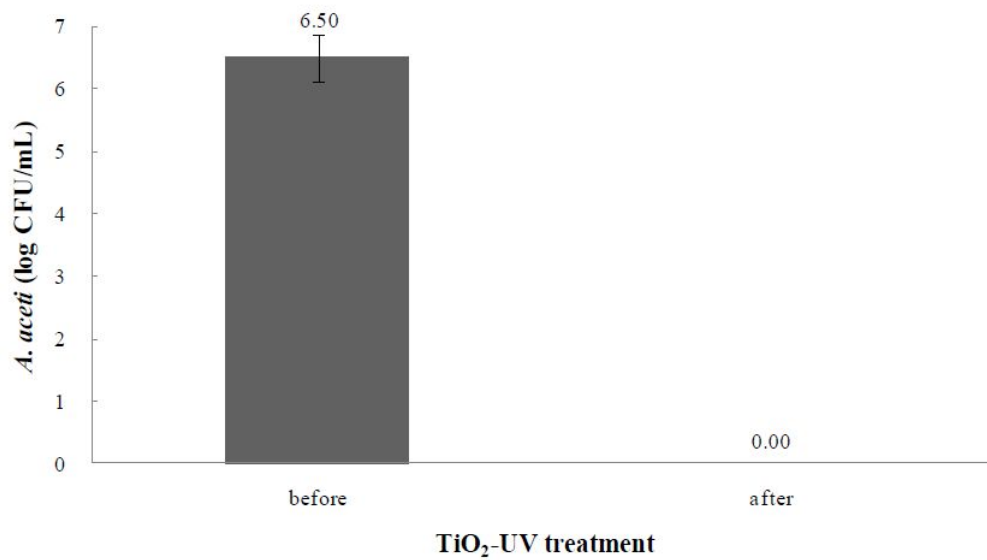


Fig. 37. Bactericidal effects of *A. acetii* treated with the continuous TiO_2 -UV photocatalytic reactor in standard vinegar broth. The flow rate is 750 mL/min and the surface area is 560 cm²

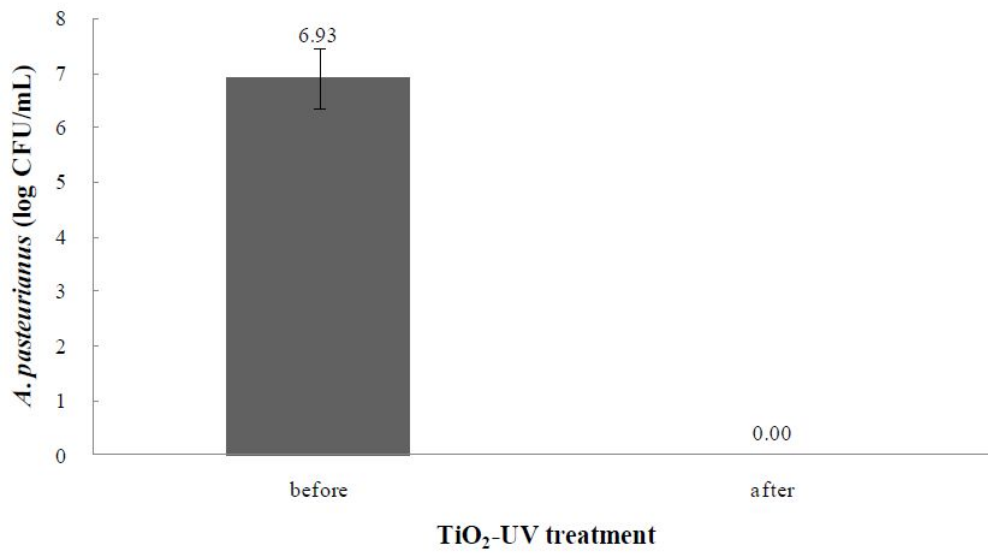


Fig. 38. Bactericidal effects of *A. pasteurianus* treated with the continuous TiO₂-UV photocatalytic reactor in standard vinegar broth. The flow rate is 750 mL/min and the surface area is 560 cm²

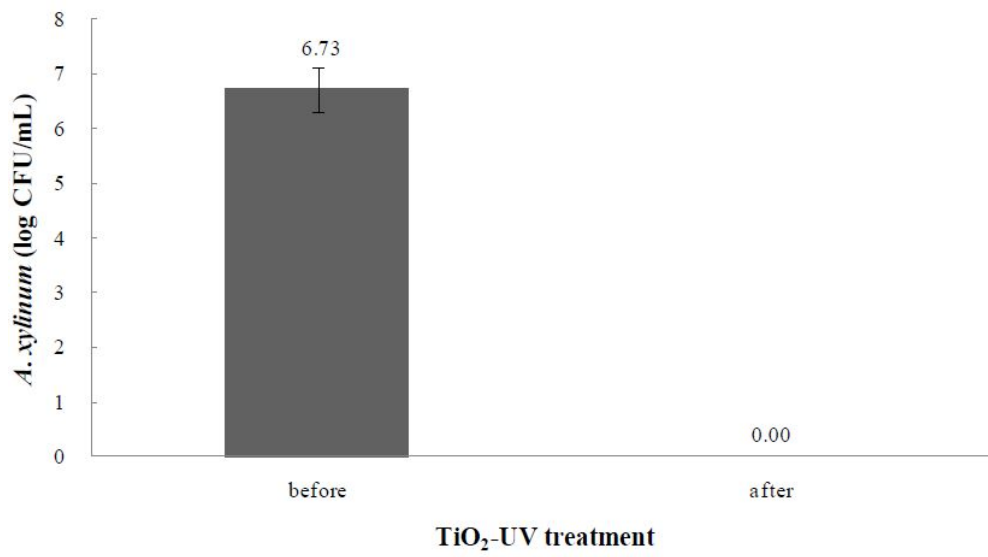


Fig. 39. Bactericidal effects of *A. xylinum* treated with the continuous TiO_2 -UV photocatalytic reactor in standard vinegar broth. The flow rate is 750 mL/min and the surface area is 560 cm²

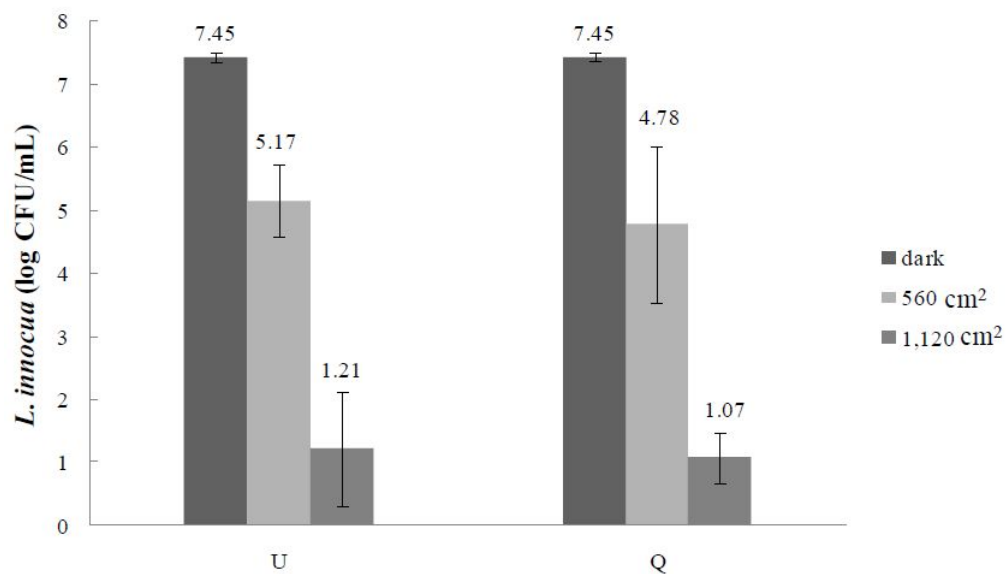


Fig. 40. Bactericidal effects of *L. innocua* treated with the continuous TiO₂-UV photocatalytic reactor in apple juice. Flow rate was fixed by 80 mL/min. (U) only UVC; (Q) quartz tube coated with TiO₂

다. 고전압 펄스 처리에 의한 천연발효 종초의 특성변화와 공정 최적화

(1) 연구 목적

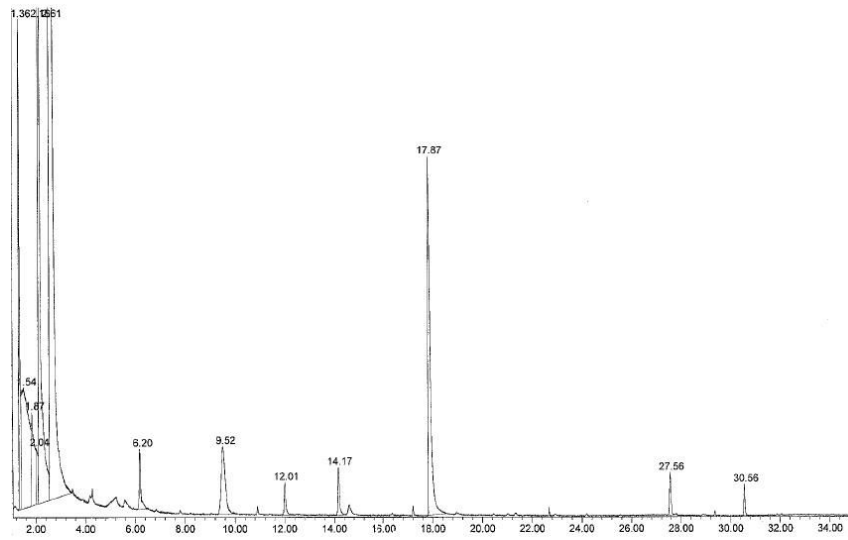
- 고전압 펄스 처리에 의한 천연발효 종초의 특성 변화
- 연속식 고전압 펄스 처리를 위한 공정 최적화

(2) 연구 내용

(가) 고전압 펄스 처리에 의한 천연발효 종초의 향기성분 변화

- 휘발성 향기성분은 SPME-GC법으로 분석하였다. 각 시료 2 ml을 20 ml vial에 넣고 heating mantle을 이용하여 20분 동안 60°C을 유지하여 휘발성물질을 head space에 포화시켰다. 포화된 성분은 SPME의 needle을 vial의 head space에 삽입하여 10분간 흡착한 후 GC/MS(Agilent 6890, 5973 MSD, Agilent, U.S.A)에 주입하였다. SPME (Solid Phase Micro Extraction)는 0 μ m/30 μ m DVB/carboxen TM/PDMS (Supelco, SupelcoPark, Bellefonte, PA, USA)의 흡착섬유를 사용하였다. GC 주입구에서의 탈착 시간은 5분으로 splitless 방식을 사용 하였다.
- 휘발성물질의 분석은 HP-FFAP column을 사용하였다. 조건은 유속 0.8 mL/min, linear velocity 21.6, pressures 107.9 kPa로 설정, oven 온도는 40°C에서 5분간 머무른 후, 4.0°C/min로 220°C까지 승온하고 23분간 유지시켰다. MS 분석 조건은 capillary direct interface 온도 220°C, ion source 온도 280°C, mass range는 40-350 a.m.u., electron multiplier voltage는 700 V 이다. 그리고 scan rate는 1 scans/s로 하여 향기성분은 GC 지체 시간 및 표준물질의 mass spectra와 sample의 spectra를 비교하였다 (윤희남, 1998; 서지형 등, 2001).
- SPME-GC법을 통하여 10일 동안 발효한 천연발효 종초를 고전압 펄스 처리한 후 휘발성 성분을 분석하였다. Peak의 유형은 비처리군과 고전압 펄스 전기장 처리군이 매우 유사하여 두 군간의 차이가 미미한 것으로 판단되었다 (Fig. 41).
- 휘발성 성분 변화를 확인하기 위해 GC-MS로 분석한 결과 두 군에서 모두 13종의 휘발성 성분들이 동정 되었다 (Table 8). 비처리군은 ethanol이 상대면적 상에서 55.70%로 가장 많았으며 그 다음으로 ethyl acetate가 20.98% 였다.
- 고전압 펄스 처리군 에서도 상대면적 상에서 ethanol이 가장 많이 동정되고 그 다음이 ethyl acetate로 나타났다. 상대면적 상 각각 57.87%와 19.06%로 비처리군과 비교했을 때 매우 유사한 경향을 보였다.

(A)



(B)

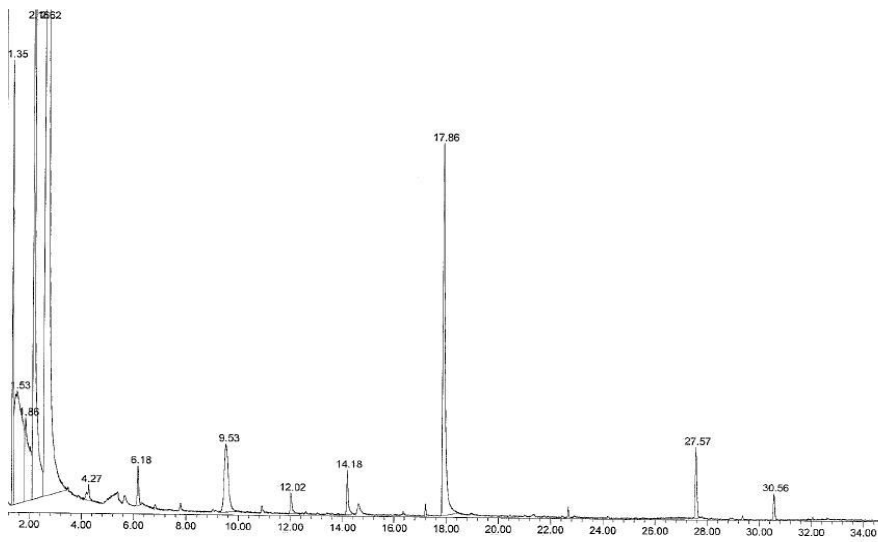


Fig. 41. GC/MS analysis of control naturally fermented persimmon vinegar broth (A) and pulse electric fields treated naturally fermented persimmon vinegar broth (B)

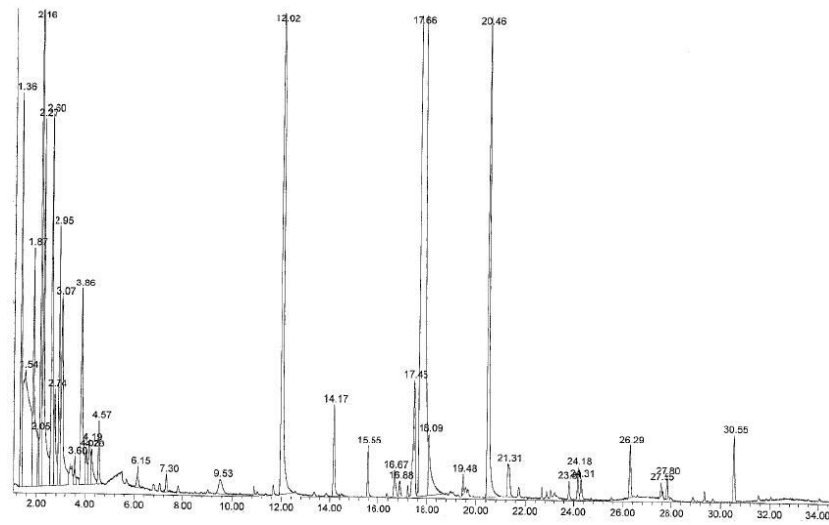
Table 8. Identified flavor compounds of control and PEF treated fermented persimmon vinegar broth

Peak	Non treatment			PEF		
	RT*	Compound	Area(%)	RT*	Compound	Area(%)
Alcohols						
1	2.62	Ethanol	55.70	2.62	Ethanol	57.87
2	6.19	1-Butanol	0.72	6.18	1-Butanol	0.39
3	9.52	Isoamylalcohol	2.05	9.53	Isoamylalcohol	2.02
4	27.57	Ethanol	0.47	27.57	Ethanol	0.76
5	30.56	Benzeneethanol	0.32	30.56	Benzeneethanol	0.27
Acids						
6	1.87	Acetic acid	2.02	1.87	Acetic acid	2.59
7	14.17	Propanoic acid	0.57	14.18	Propanoic acid	0.53
8	17.86	Acetic acid	6.01	17.86	Acetic acid	6.52
Esters						
9	2.15	Ethyl Acetate	20.98	2.15	Ethyl acetate	19.06
Ketones						
10	12.01	2-Butanone	0.42	12.02	2-Butanone	0.25
Others						
11	1.36	2-Propanamine	3.44	1.35	1-Propanamine	3.22
12	1.54	Azetidin-2-one	6.70	1.53	1,3-Dioxolane	6.27
13	2.04	Cyclotrisiloxane	0.59	4.27	Cyclotetrasiloxane	0.25

- 초산 발효가 완료된 감식초를 대상으로 고전압 펄스 처리를 한 후 휘발성 성분을 SPME-GC 법으로 분석한 결과 peak의 유형은 비처리군과 고전압 펄스 처리군이 매우 유사하여 차이가 미미한 것을 확인하였다 (Fig. 42). 휘발성 성분 동정 결과 감식초 비처리군은 총37종, 고전압 펄스 전기장 처리군은 총38종이 확인되었다.

- 상대면적이 2%이상인 11종의 성분을 통하여 휘발성 성분의 변화에 대해 분석하였다 (Table 9). 비처리군에서 확인된 감식초의 37종의 휘발성 성분 중 가장 많이 동정된 것은 상대면적 상 39.3%를 차지하는 acetic acid이고 2-butanone이 11.85%로 그 다음을 기록하였다. 고전압 펄스 전기장 처리군에서의 휘발성 성분 또한 acetic acid의 상대면적이 37.3%, 2-butanone이 11.93%로 컨트롤 감식초와 유사하였다.

(A)



(B)

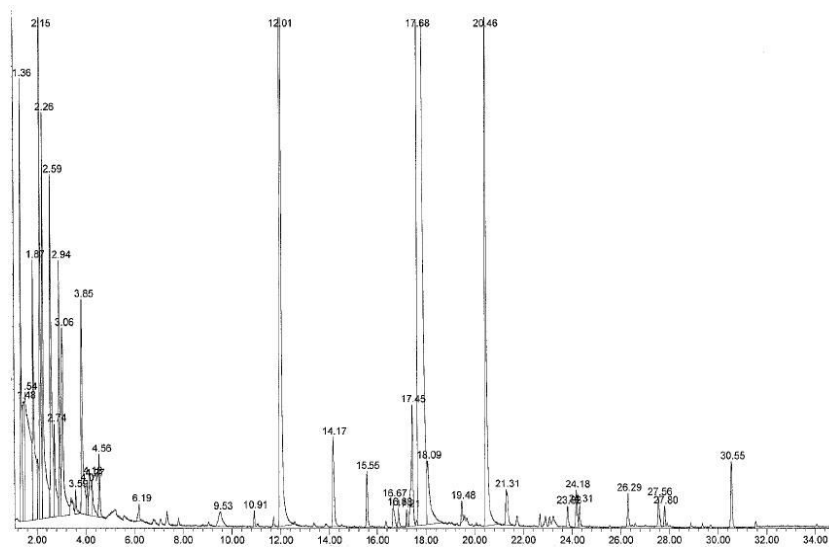


Fig. 42. GC/MS analysis of control naturally fermented persimmon vinegar (A) and pulse electric fields treated naturally fermented persimmon vinegar (B)

Table 9. Identified flavor compounds of control and PEF treated naturally fermented persimmon vinegar

Peak	Non treatment			PEF		
	RT*	Compound	Area(%)	RT*	Compound	Area(%)
Acids						
1	1.87	Acetic acid	2.83	1.87	Acetic acid	2.97
2	17.66	Acetic acid	39.33	17.68	Acetic acid	37.32
3	20.46	Propanoic acid	5.77	20.46	Propanoic acid	6.34
Aldehydes						
4	1.54	Acetaldehyde	5.46	1.54	Acetaldehyde	4.79
Alcohols						
5	3.86	2-Butanol	2.49	3.85	2-Butanol	2.48
Esters						
6	2.16	Ethyl acetate	5.16	2.15	Ethyl acetate	5.32
Ketones						
7	2.27	2-Butanone	3.98	2.26	2-Butanone	4.12
8	3.07	2,3-Butanedione	2.74	3.06	2,3-Butanedione	2.70
9	12.02	2-Butanone	11.85	12.01	2-Butanone	11.93
Others						
10	1.36	2-Butanamine	2.86	1.36	1-Butanamine	3.22
11	2.60	1,3-Dioxolane	3.61	2.59	1,3-Dioxolane	3.47

RT*:RetentionTime

(나) 고전압 펄스 처리에 의한 천연발효 종초의 아미노산 성분 변화

- 고전압 펄스 전기장 처리시 열에 의한 변성이 일어나는지를 확인하기 위하여 천연 발효 종초와 천연발효 감식초를 각각 비처리군과 고전압 펄스 전기장 처리군으로 나누어 아미노산 분석 실험을 진행 하였다. 아미노산 분석방법은 윤희남(1999)의 방법을 따랐다.
- 고전압 펄스 전기장 처리군의 시료는 15 kV/cm에서 100 pulse 처리 한 것을 사용 하였다. 시료 2 g을 3차 증류수로 2배 희석하여 1 mL 를 취하여 0.22 μ m의 membrane filter로 여과 후 분석하였다.
- 사용한 분석기는 Amino acid analyzer (S433D, Sykam GmbH, Germany) 이고 column은 LCAk04/Na (4.6 \times 100mm, Sykam GmbH, Germany), Software는 Chromstar 6.0이다. 분석 조건은 waiting time은 3.0 min이고 column dimension 150 \times 4.6 mm(Peek), reagent flow rate 0.25 ml/min, buffer flow rate 0.45 ml/min, reactor temperature 130 $^{\circ}$ C, reactor inset 0.3 \times 1.6 mm (length 16m), 분석 시간은 71.0 min 이었다.
- 비처리 종초와 고전압 펄스 전기장 처리 종초의 아미노산 분석은 aspartic acid, theronine, serine 등 17개의 아미노산을 대상으로 하였다. 고전압 펄스 처리과정 중 높은 열이 발생하여 갈변화가 이루어진다면 아미노산 함량에 변화가 생길 수 있으므로 이를 확인 하였다. Fig. 43, Table 10 에 따른 아미노산 분석 결과, peak 유형에서는 비처리 대조군과 고전압 펄스 전기장 처리군 간의 아미노산 구성 차이가 거의 없음을 확인 하였다.
- 열 발생에 의한 Maillard reaction 에서 반응성이 가장 큰 아미노산은 lysine 이다. 고전압 펄스 처리 후 종초에서 lysine의 면적이 감소하지 않아 고전압 펄스 처리 중 열에 의한 변화가 발생 하지 않은 것을 확인 할 수 있었다.
- 천연발효 감식초를 대상으로 한 실험의 아미노산 분석 결과 또한 유사한 경향을 보여주었다. 비처리 대조군과 고전압 펄스 처리 군 간의 peak 유형은 매우 유사하며 histidine이나 lysine 등 가열에 의해 변화할 수 있는 아미노산의 면적 변화가 미미하였다. 따라서 고전압 펄스의 처리가 천연발효 감식초의 아미노산 조성에 주는 영향은 거의 없는 것으로 판단되었다 (Fig. 44; Table 11).

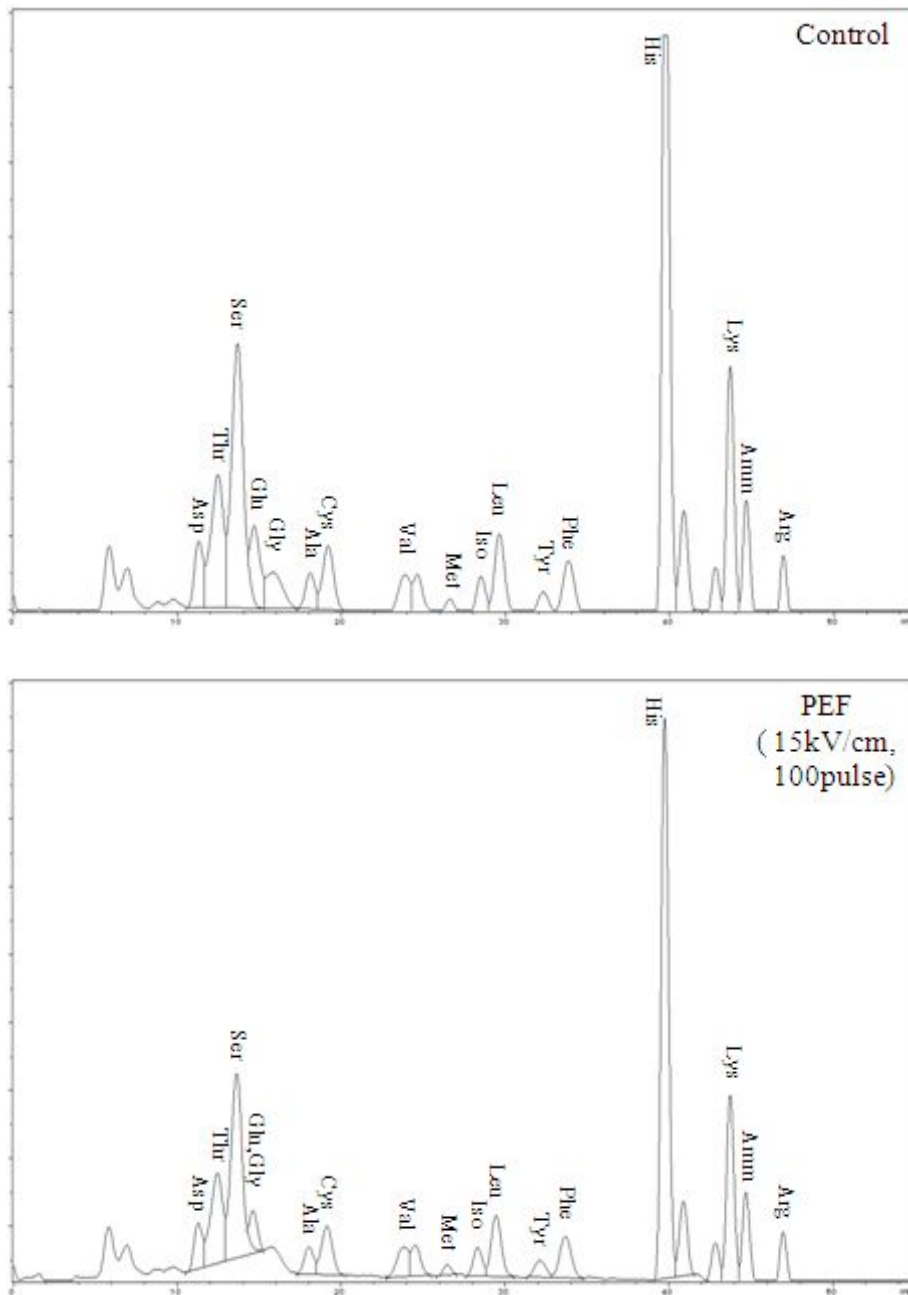


Fig. 43. Amino acid analysis of naturally fermented persimmon vinegar broth (A) and pulse electric fields treated persimmon vinegar broth (B)

Table 10. Comparison of amino acids in control and PEF treated naturally fermented persimmon vinegar broth

Amino acids	Non treatment		PEF	
	Retention time	Area(%)	Retention time	Area(%)
Aspartic acid	11.275	3.14	11.25	2.96
Threonine	12.442	9.07	12.417	8.47
Serine	13.633	17.40	13.6	16.21
Glutamic acid	14.7	3.74	14.625	1.94
Glycine	15.8	3.07		
Alanine	18.058	1.80	17.992	1.96
Cystine	19.15	3.80	19.1	4.07
Valine	23.825	2.50	23.817	2.63
Methionine	26.558	0.57	26.442	0.63
Isoleucine	28.458	1.72	28.292	1.95
Leucine	29.583	4.23	29.425	4.28
Tyrosine	32.242	1.44	32.075	1.47
Phenylalanine	33.8	3.46	33.658	3.65
Histidine	39.8	26.13	39.708	30.80
Lysine	43.65	10.21	43.7	10.66
Ammonium chloride	44.633	4.99	44.658	5.28
Arginine	46.892	2.74	46.933	3.03

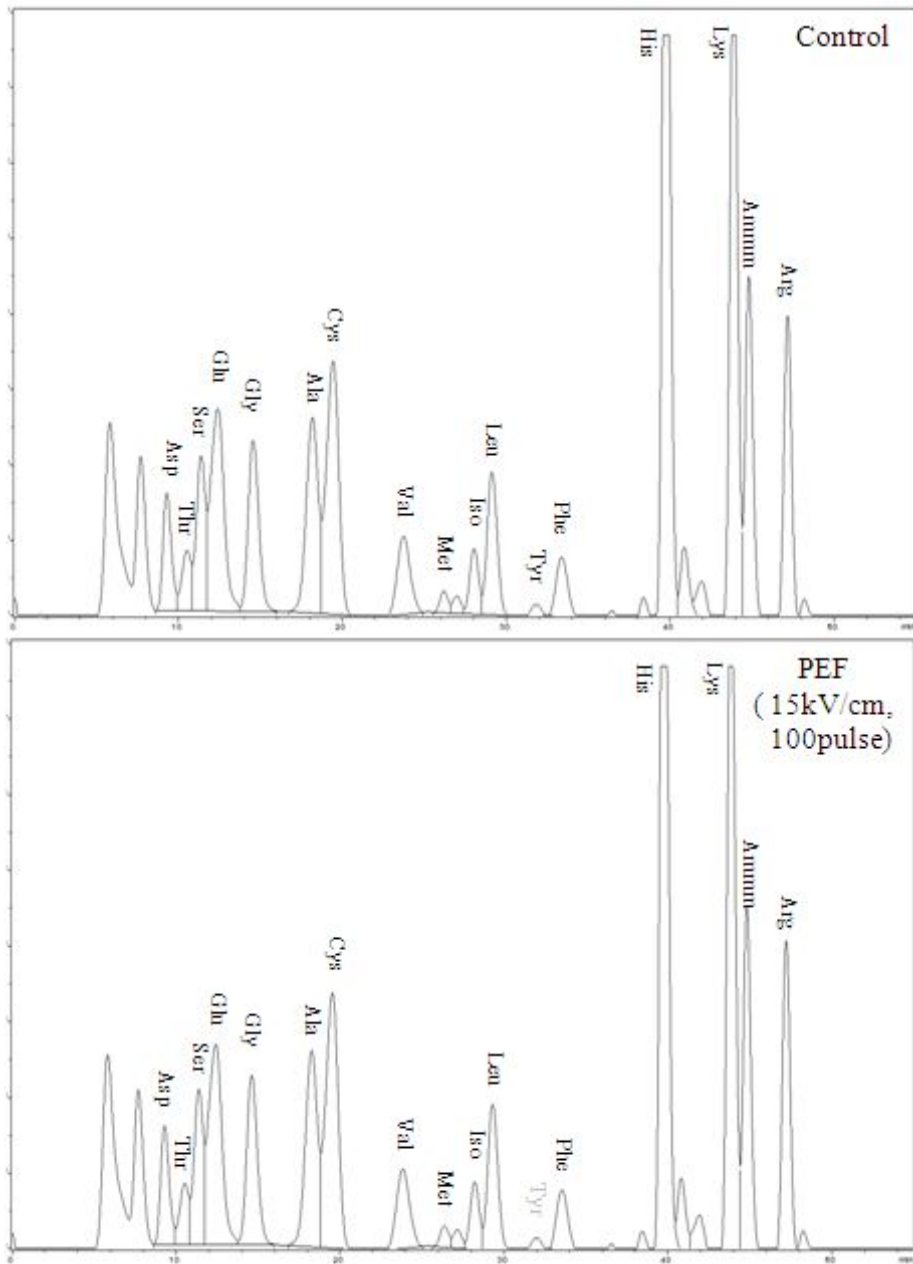


Fig. 44. Amino acid analysis of control persimmon vinegar (A) and pulse electric fields treated persimmon vinegar (B)

Table 11. Comparison of amino acids in control and PEF treated naturally fermented persimmon vinegar

Amino acids	Non treatment		PEF	
	Retention time	Area(%)	Retention time	Area(%)
Aspartic acid	9.25	2.98	9.25	2.99
Threonine	10.49	1.69	10.50	1.66
Serine	11.35	4.31	11.35	4.30
Glutamic acid	12.37	8.22	12.39	8.07
Glycine	14.52	5.40	14.57	5.29
Alanine	18.15	7.10	18.24	7.04
Cystine	19.40	9.60	19.50	9.56
Valine	23.70	3.08	23.80	3.11
Methionine	26.15	0.54	26.31	0.56
Isoleucine	28.00	1.75	28.18	1.81
Leucine	29.10	4.27	29.27	4.41
Tyrosine	31.81	0.40	0	0.00
Phenylalanine	33.35	2.06	33.50	2.05
Histidine	39.87	17.57	39.88	17.77
Lysine	43.90	15.52	43.90	15.66
Ammonium chloride	44.77	8.09	44.79	8.13
Arginine	47.14	7.40	47.18	7.57

(다) 연속식 고전압 펄스 처리를 위한 공정 최적화

- 고전압 펄스 처리공정 확립을 위해 field strength, pulse rate, flow rate 등의 공정 변수를 조정한 후 측정하였으며 이때 시료가 받는 에너지의 수준을 total energy input 계산을 통해 표준화 시켰다 (Table 12).
- Table 12 에 나타난 것과 같이 실험에서 수행된 처리 조건은 30~60 kJ/kg 정도의 에너지 수준에서는 3~4 log cycles의 정도의 감균 효과를 보였으나 완전한 멸균 상태에 이르지 못하는 것이었다. 이는 실험에 사용된 고전압 펄스 기기의 출력 에너지 한계에 따른 것이다. 그러나 기존의 연구 결과와 비교하였을 때 투입에너지 대비 살균도 수준은 양호한 상태라고 말할 수 있으며 현재의 살균 수준은 저온열처리에 의한 pasteurization에 해당한다고 판단되었다.
- 표준화된 처리조건, 즉 total energy input 60 kJ/kg 수준의 고전압 펄스 처리를 수행 할 때 알코올 발효가 완료된 감식초 종초와 초산 발효가 완료된 감식초의 동정된 휘발성 성분들의 조성과 상대량에서 큰 차이를 발견할 수 없었으며 histidine 이나 lysine 등 가열에 의해 손상될 수 있는 아미노산 함량에도 변화가 없었다.
- 따라서 고전압 펄스의 천연 발효 식초 적용은 휘발성분과 아미노산 등 풍미에 주는 변화는 최소화 한 채로 pasteurization 정도의 살균 특성을 확보할 수 있음을 입증하였다.

Table 12. PEF 공정 조건에 따른 표준화 된 total energy input

Temp. [°C]	Field strength [kV/cm]	Pulse rate [Hz]	Flow rate [L/hr]	Energy input [kJ/kg]	
12	10	10	2.9	8.9	
		35	2.9	31.3	
		70	2.9	62.9	
	15	5	2.9	9.6	
		15	15	2.9	29.3
		30	2.9	60.7	
	20		18	2.0	11.1
			55	2.0	30.8
			115	2.0	59.5
35	10	10	2.9	9.0	
		35	2.9	31.7	
		70	2.9	61.4	
	15	5	2.9	9.9	
		15	15	2.9	30.2
		30	2.9	60.8	
	20		4.6	2.9	12.0
			11.1	2.9	32.0
			18	2.0	10.2
		55	2.0	30.8	
		115	2.0	59.9	

제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

1. 년차별 목표 달성도

가. 1차년도 (2009.04.10~2010.04.09)

구분 (연도)	세부과제명	세부연구목표	달성도 (%)	연구개발 수행내용
1차 연도 (2009~ 2010)	고전압펄스(PEF) 처리조건 확립	○연속식 처리를 위한 PEF parameter 설정	100	- 천연양조식초의 전기적 특성 측정 - Peak voltage, Frequency, Flow rate 등 공정변수의 측정 및 확립 - PEF Treatment chamber 최적화
		○식초 발효, 오염균에 대한 PEF 살균 특성 규명	100	- PEF Energy level 에 따른 초산균 및 내산성 부패미생물의 살균효과 검증 - 양조식초의 종류에 따른 미생물 살균 감수성 확인
	광촉매(PCO) 처리조건 확립	○식품유래 일반세균에 대한 효과 검증	100	○식품유래 일반세균에 대한 효과 ※ <i>E. coli</i> O157:H7, <i>Listeria monocytogenes</i> , <i>Salmonella</i> Typhimurium - Batch형 장치 이용 살균 - Lab-scale 연속식 장치 적용
		○식초 발효균에 대한 광촉매 효과 검증	100	○초산균에 대한 효과 ※ <i>Acetobacter aceti</i> , <i>A. pasturianus</i> , <i>A. xylinum</i> - Batch형 장치 이용 살균 - Lab-scale 연속식 장치 적용

나. 2차년도 (2010.04.10~2011.04.09)

구분 (연도)	세부과제명	세부연구목표	달성도 (%)	연구개발 수행내용
2차 연도 (2010~ 2011)	고전압펄스(PEF) 식초의 품질변화 및 연속식 공정 최적화	○ 실제 천연발효 식초 적용을 위한 천연발효 종초 조제	100	- 감 재배 농가 및 감식초 공장 방문 및 의견청취 - 실험실규모의 천연발효 감 종초 조제
		○ 고전압 펄스 처리에 의한 천연발효식초의 특성 변화	100	- 천연발효 감 식초 및 종초를 대상 - 화학적·물리적 특성분석 - SPME-GC를 이용한 휘발성분 분석 - Amino acids profiling
		○ 연속식 고전압펄스처리 공정 제안	100	- 처리 조건별 에너지 수준 계산 (30~60 kJ/kg) - Total energy input table 구축
	광촉매(PCO)적용 식초의 품질변화 및 연속식 공정 최적화	○ 광촉매 (PCO) 처리 적용 천연발효식초의 특성 변화	100	- 천연발효 감 식초 및 종초를 대상 - 처리 후 종초의 종초의 품질(pH, 산도, 색도, 갈변정도)변화, 식초내 당 및 유기산의 변화, 미량성분 분석 - Headspace SPME GC/MSD를 이용한 미량 성분 분석
		○ 광촉매(PCO)적용 연속식 공정 최적화	100	- Pilot-scale의 광촉매 장치 적용 - 연속식 장치 최적화에 의한 살균효과 증대 - 감식초 외 사과주스 등에 적용 확대

2. 관련분야 기여도

광촉매와 고전압 펄스 기술은 국내에서 많은 연구가 이루어지지 않은 분야이다. 따라서 본 연구를 통한 기초 원리 및 응용 기술의 축적은 식품공학 분야의 새로운 연구 분야로서 산업기술 발전에 기여할 것으로 기대된다. 연구 과제를 통해 도출된 실험 결과는 해외학회(2건)와 국내학회(1건)를 통해 발표되었으며, 관련기술이 국내 학술지(비SCI, 1건)를 통해 소개되었다. 현재, 고전압 펄스 기술에 대한 특허 명세서가 작성 중으로 2011년 4월 중 특허 출원이 예정되어 있다. 향후, 해외학회와 국내학회에서 발표되었던 2편의 연구 내용은 논문으로 작성되어 SCI(E)급 학술지에 발표 할 예정이다.

광촉매와 고전압 펄스 기술의 천연 양조 식초의 비열 살균은 상온이하의 저온에서 처리가 가능하므로 발효 후 생성되는 식초의 풍미에 최소한의 영향을 준다. 따라서 고품질의 발효 식초 생산에 도움을 줄 수 있다. 당초 연구 계획은 실험실 규모의 연구에 국한 되었으나 현재 파일럿 수준의 연구가 일부 진행된 상태이며 향후 추가 실험 여부에 따라 기업체 기술이전도 가능할 것으로 판단된다.

식품 대기업에서 천연 발효 식초에 큰 관심을 갖고 있음에도 불구하고 일정한 품질 수준의 중간원료, 즉, 알코올 발효가 완료된 종초를 확보하지 못해 산업화 진척이 더딘 실정이다. 예를 들어, 국내 식초생산 1위인 대기업 A사의 경우에도 농가에서 구매하는 종초의 품질이 일정치 않아 감식초의 생산을 포기한 상태이다. 따라서 연구 과제를 통해 개발된 광촉매 또는 고전압 펄스 기술이 농촌의 단위 지역에 설치되어 종초의 비열살균이 이루어진다면 감 생산 농가가 안정적으로 2차 가공한 종초를 식품기업에 판매하여 농가 소득 증대에 기여할 수 있을 것으로 기대된다.

광촉매와 고전압 펄스 기술은 유사한 특성을 갖는 비열 처리기술에 비해 적용비용이 매우 낮다는 장점이 있다. 하루 수톤 정도의 생산 규모로 가정할 때 필요한 시설 투자비는 1~2억원 이내로 예상되어 식품 대기업뿐만 아니라 농촌의 지역 규모 식품공장에서도 적용 가능한 기술로 판단된다.

광촉매 기술의 경우, 현재 군 부대 중 정상적인 물 공급이 어려운 지역 (비무장지대 등)의 물탱크에 이산화티탄/자외선 살균장치가 장착되어 사용되고 있으며 차후 전평시 정수장비의 삼투압, 여과식 정수방법에 연속식 이산화티탄/자외선 살균 방법을 도입한다면 보다 안정적인 군 급수지원에 기여할 것으로 기대되어 국가 위기관리와 안보기술의 일환으로도 기여하고 있다.

광촉매와 고전압 펄스 기술은 저에너지 사용기술이다. 따라서 처리 공정 중 사용되는 에너지와 환경 부담 저감 효과가 기대되며 정부의 주요 정책 방향인 저탄소 녹색성장에도 잘 부합한다.

제 5 장 연구개발 성과 및 성과활용 계획

1. 연구개발 성과

(가) 연구개발을 통한 해외 학회 발표: 2건

- IAFP, 포스터 발표, Bactericidal Effects of Titanium Dioxide/UV Reaction on Foodborne Pathogenic Bacteria and Thermoduric Spores (2009)
- IAFP, 포스터 발표, Effects of Titanium Dioxide-UV Photocatalytic Reaction on DNA Damage and Disinfection of Foodborne Pathogenic Bacteria (2010)

(나) 연구개발을 통한 국내 학회 발표: 1건

- 한국산업식품공학회, 포스터 발표, 고전압 펄스 전기장을 이용한 천연발효식초 미생물의 사멸 (2010)

(다) 특허 출원: 1건 (2011년 4월 중 출원)

- 고전압 펄스 전기장을 이용한 천연발효식초 생산용 천연발효주정의 비열 살균기술, 명세서 작성, 2011년 4월 중 출원 예정

(라) 발표 논문 : 1건 (2건 발표 준비 중)

- 식품과기계, 비가열 처리 기술의 가공원리와 식품응용, 이동연 (2009)
- 국제-국내 학회 발표 내용 논문화 후 SCI(E) 2건 발표 예정.

(마) 인력양성: 석사 3명 졸업

- 중앙대학교 조성진 (2011)
- 연세대학교 김수현 (2010), 이종건 (2011)

2. 연구개발 성과 활용 계획

- 연구 과제 계획서 상의 목표는 실험실적 수준에서의 효과 검증이었으나 현재 일부 파일럿 스케일의 실험이 수행되어 산업화 적용을 실험 결과를 축적하고 있음.
- 지적재산권과 관련하여서는, 현재 정진 특허변리사사무소를 통해“고전압 펄스 전기장을 이용한 천연발효식초 생산용 천연발효주정의 비열 살균기술”란 제목으로 특허 명세서가 작성 중이며 2011년 4월 중 출원 예정임.
- 도출된 결과와 고전압 펄스 기술에 대한 전문가 홍보를 위해 2011년 한국식품과학회 학술대회 및 전시회에 전시 부스를 설치 할 예정임.
- 도출된 결과를 이용 (주)대상, 샘표식품, 오투기, 동성감식초 등 천연발효식초 생산 기업들과 접촉하여 기술이전에 대한 협의를 지속적으로 추진할 예정임.
- 현재 군 부대 중 정상적인 물 공급이 어려운 지역(비무장지대 등)의 물탱크에 이산화티탄/자외선 살균장치가 장착되어 사용되고 있으며 차후 전평시 정수장비의 삼투압, 여과식 정수방법에 연속식 이산화티탄/자외선 살균 방법을 도입한다면 보다 안정적인 군 급수지원에 기여할 것으로 기대됨.
- 도출된 결과는 향후 전통 발효주나 발효음료, 장류 등의 비가열 살균이나 발효정지 기술에 적용할 수 있음. 따라서 관련 기술 개발을 위한 spin-off 프로젝트를 기획하여 지속적인 연구 개발을 수행 할 예정임.

제 6 장 참고문헌

- 김숙경, 이기동, 정신교. 감귤질을 이용한 감식초 발효조건 모니터링. *Korean J. Food Sci. Technol.* Vol. 35, No. 4, 642~647 (2003)
- 서지형, 박난형, 정용진. Solid-Phase Microextraction(SPME)을 이용한 감식초의 휘발성 성분 분석. *Korean J. Food Sci. Technol.* Vol. 33, No. 1, 153~156 (2001)
- 식품공전. 식품별 기준 및 규격. 150~151 (2010)
- 윤희남, 문수연, 송상훈. 식초의 휘발성 성분 및 관능적 특성. *Korean J. Food Sci. Technol.* Vol. 30, No. 2, 299~305 (1998)
- 윤희남. 식초의 종류별 화학성분의 특징. *Korean J. Food Sci. Technol.* Vol. 31, No. 6, 1440~1446 (1999)
- 장원영, 주경호, 이재하, 백창규. 정치배양중 식초 오염균의 생육특성과 cellulose 생산. *Korean J. Food Sci. Technol.* Vol. 35, No. 6, 1150~1154 (2003)
- 정용진. 국내 식초 시장의 현황 및 전망. *Food Science and Industry.* Vol. 35, No. 2, 52~59 (2009)
- 조형용, 신정규, 변유량. 고전압 펄스 전기장 비열 가공기술. *Food Science and Industry.* Vol. 29, No. 3, 28~35 (1996)
- Aguilar-Rosas, S.F., Ballinas-Casarrubias, M.L., Nevarez-Moorillon, G.V., Martin-Belloso, O., Ortega-Rivas, E. Thermal and pulsed electric fields pasteurization of apple juice: Effects on physicochemical properties and flavour compounds. *Journal of Food Engineering*, 83, 41~46 (2007)
- Aguilo-Aguayo, I., Oms-Oliu, G., Soliva-Fortuny, R., Martin-Belloso, O. Changes in quality attributes throughout storage of strawberry juice processed by high-intensity pulsed electric fields or heat treatments. *LWT*, 42, 813~818 (2009)
- Akdemir Evrendilek, G., Jin, Z.T., Ruhlman, K.T., Qiu, X. Zhang, Q.H., Richter, E.R. Microbial safety and shelf-life of apple juice and cider processed by bench and pilot scale PEF systems. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 1, 77~86 (2000)
- Basaran, N., Quintero-Ramos, A., Moake, M.M., Churey, J. J and Worobo R. W. 2004. Influence of apple cultivars on inactivation of different strains of *E. coli* O157:H7 in apple cider by UV irradiation. *Appl. Environ. Microbiol.* 70:6061-6065 (2004)
- Cho, M., Chung, H., Choi, W. and Yoon, J. Different inactivation behaviors of MS-2 phage and *E. coli* in TiO₂ photocatalytic disinfection. *Appl. Environ. Microbiol.* 71:270 (2005)
- Cho, M., Choi, Y., Park, H., Kim, K., Woo, G. J. and Park, J. Titanium dioxide/UV photocatalytic disinfection in fresh carrots. *J. Food Prot.* 70:97-101 (2007).
- Craven, H.M., Swiergon, P., Ng, S., Midgely, J., Versteeg, C., Coventry, M.J., Wan, J. Evaluation of pulsed electric field and minimal heat treatments for inactivation of pseudomonads and enhancement of milk shelf-life. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 9, 211~216 (2008)

- Cserhalmia, Zs., Vidacs, I., Beczner, J., Czukorb, B. Inactivation of *Saccharomyces cerevisiae* and *Bacillus cereus* by pulsed electric fields technology. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 3, 41~45 (2002)
- Donsi, G., Ferrari, G., Pataro, G. Inactivation kinetics of *Saccharomyces cerevisiae* by pulsed electric fields in a batch treatment chamber: The effect of electric field unevenness and initial cell concentration. *Journal of Food Engineering*, 78, 784~792 (2007)
- Gerlach, D., Alleborn, N., Baar, A., Delgado, A., Moritz, J., Knorr, D. Numerical simulations of pulsed electric fields for food preservation: A review. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 9, 408~417 (2008)
- Gongora-Nieto, M.M., Sepulveda, D.R., Pedrow, P., Barbosa-Canovas G.V., Swanson, B. G. Food processing by pulsed electric fields: treatment delivery, inactivation level, and regulatory aspects. *LWT*, 35, 375~388 (2002)
- Guerrero-Beltran, J.A., Barbosa-Canovas, G.V. Reduction of *S. cerevisiae*, *E. coli* and *L. innocua* in apple juice by ultraviolet light. *J. Food Process Eng.* 28:437. (2005)
- Harrison, S.L., Barbosa-Canovas, G.V., Swanson, B.G. *Saccharomyces cerevisiae* structural changes induced by pulsed electric field treatment. *LWT*, 30, 236~40 (1997)
- Horuchi, J.I., Kanno, T., Kobayashi, M. New Vinegar Production from Onions. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, Vol. 88, No. 1, 107~109 (1999)
- Hirakawa, K., Mori, M., Yoshida, M., Oikawa, S., Kawanishi, S. Photo-irradiated titanium dioxide catalyzes site specific DNA damage via generation of hydrogen peroxide. *Free Radical Res.* 38:439. (2004)
- Huang, Z., Maness, P. C., Blake, D. M., Wolfrum, E. J., Smolinski, S. L. and Jacoby, W. A. Bactericidal mode of titanium dioxide photocatalysis. *J. Photochem. Photobiol., A.* 130:163-170 (2000)
- Jayaram, S.H. Sterilization of Liquid Foods by Pulsed Electric Fields. *IEEE Electrical Insulation Magazine*, Vol. 16, No. 6, 17~25 (2000)
- Kikuchi, Y., Sunada, K., Iyoda, T., Hashimoto, K. and Fujishima, A. Photocatalytic bactericidal effect of TiO₂ thin films: Dynamic view of the active oxygen species responsible for the effect. *J. Photochem. Photobiol., A.* 106:51-56 (1997)
- Liang, Z., Cheng, Z., Mittal, G.S. Inactivation of spoilage microorganisms in apple cider using a continuous flow pulsed electric field system. *LWT*, 39, 350~356 (2006)
- Maness, P. C., Smolinski, S., Blake, D.M., Huang, Z., Wolfrum, E.J., Jacoby, W.A. Bactericidal activity of photocatalytic TiO₂ reaction: Toward an understanding of its killing mechanism. *Appl. Environ. Microbiol.* 65:4094-4098 (1999)
- Matsunaga, T., Tomoda, R., Nakajima, T. and Wake, H. Photo-electrochemical sterilization of microbial cells by semiconductor powders. *FEMS Microbiol. Lett.* 29:211-214 (1985)
- McDonnell, G., and Russell, A. D. Antiseptics and disinfectants: Activity, action, and resistance. *J. Clin. Microbiol.* 12:147-179 (1999)

- Oms-Oliu, G., Odriozola-Serrano, I., Soliva-Fortuny, R., Martín-Belloso, O. Effects of high-intensity pulsed electric field processing conditions on lycopene, vitamin C and antioxidant capacity of watermelon juice *Food Chemistry*, 115, 1312~1319 (2009)
- Paleologou, A., Marakas, H., Xekoukoulotakis, N. P., Moya, A., Vergara, Y., Kalogerakis, N., Gikas, P. and Mantzavinos, D. Disinfection of water and wastewater by TiO₂ photocatalysis, sonolysis and UV-C irradiation. *Catal. Today*. 129:136-142 (1997)
- Pina-Pérez, M.C., Silva-Angulo, A.B., Rodrigo, D., Martínez-López, A. Synergistic effect of Pulsed Electric Fields and CocoanOX 12% on the inactivation kinetics of *Bacillus cereus* in a mixed beverage of liquid whole egg and skim milk. *International Journal of Food Microbiology*, 130, 196~204 (2009)
- Puc, M., Corovic, S., Flisar, K., Petkovsek, M., Nastran, J., Miklavcic, D. Techniques of signal generation required for electropermeabilization. *Survey of electropermeabilization devices. Bioelectrochemistry*, 64, 113~124 (2004)
- Puertolas, E., Lopez, N., Condon S., Raso, J., Alvarez, I. Pulsed electric fields inactivation of wine spoilage yeast and bacteria. *International Journal of Food Microbiology*, 130, 49~55 (2009)
- Qin, B.L., Chang, F.J., Barbosa-Canova, G.V., Swanson, B.G. Nonthermal Inactivation of *Saccharomyces cerevisiae* in Apple Juice Using Pulsed Electric Fields. *LWT*, 28, 564~568 (1995)
- Rehm, H. J. and Reed, G. 1983. Verlag Chemie, Weinheim. *J. Biotechnol.* 3:389-404.
- Srinivasan, C. and Somasundaram, N. Bactericidal and detoxification effects of irradiated semiconductor catalyst, TiO₂. *Curr. Sci.* 85:1431-1438 (2003).
- Sepulveda, D.R., Gongora-Nieto M.M., Guerrero, J.A., Barbosa-Canova, G.V. Shelf life of whole milk processed by pulsed electric fields in combination with PEF-generated heat. *LWT*, 42, 735~739 (2009)
- Sepulveda, D.R., Gongora-Nieto M.M., Guerrero, J.A., Barbosa-Cañovas, G.V. Production of extended-shelf life milk by processing pasteurized milk with pulsed electric fields. *Journal of Food Engineering*, 67, 81~86 (2005)
- Tesfaye, W., Morales, M. L., Benítez, B., García-Parrilla, M. C. and Troncoso, A. M. Evolution of wine vinegar composition during accelerated aging with oak chips. *Anal. Chim. Acta.* 513:239-245 (2004)
- Tesfaye, W., Morales, M.L., Garca-Parrilla, M.C., Troncoso, A.M. Wine vinegar: technology, authenticity and quality evaluation. *Trends in Food Science & Technology*, 13, 12~21 (2002)
- Toda, K., Asakura, T., Fukaya, M., Entani, E., Kawamura, Y. Cellulose Production by Acetic Acid-Resistant *Acetobacter xylinum*. *Journal of Fermentation and Bioengineering*, Vol. 84, No. 3, 228~231 (1997)
- Toepfl, S., Heinz, V., Knorr, D. High intensity pulsed electric fields applied for food preservation. *Chemical Engineering and Processing*, 46, 537-546 (2007)
- Uchida, S, Houjo, M., Tochikubo, F. Efficient sterilization of bacteria by pulse electric

- field in micro-gap, Journal of Electrostatics, 66, 427~431 (2008)
- Yang, Y.K., Park, S.H., Hwang, J.W., Pyun, Y. R., Kim, Y.S. Cellulose Production by Acetobacter xylinum BRC Sunder Agitated Condition. Journal of Fermentation and Bioengineering, Vol. 85, No. 3, 312-317 (1998)
- Yoshino, T., Asakura, T., Toda, K. Cellulose Production by Acetobacter pasteurianus on Silicone Membrane. Journal of Fermentation and Bioengineering, Vol. 81, No. 1, 32-36 (1996)
- Zahoor, T. Isolation and characterization of vinegar culture (A. aceti) from indigenous sources. British Food J. 108:429 (2006)

주 의

1. 이 보고서는 농림수산식품부에서 시행한 연구과제개발 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표할 때에는 반드시 농림수산식품부에서 시행한 연구과제개발의 연구결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니됩니다.