

서 론

현대 식품공학에서 식품을 가공하는데 이용하는 driving force로는 온도(temperature), 압력(pressure), 농도(concentration), 전기(electricity) 등을 들 수 있다. 지금까지 이들을 이용하여 가열, 살균, 냉동, 건조, 분리, 혼합, 농축, 증류, 전자파가열 등 많은 단위공정들이 연구·개발되어 왔으며, 그 중에서도 특히 熱的가공은 가장 중요한 공정이다.

가열매체로 熱風, 스팀, 熱水 등이 일반적으로 사용되고 있으며, 가열 매체와 식품과의 온도차(ΔT)에 의해 식품의 외측에서 내측으로 열이 전달된다. 그러나 식품은 일반적으로 열전도도가 작기 때문에 목적하는 온도까지 가열하는 데 시간이 걸리며 영양성분의 파괴, 가열취의 발생, 퇴색, 조직감의 손상 등 품질 저하가 일어나기 쉽다. 특히 고상, 페이스트상 또는 액상, 고상이 혼재되어 있는 식품에서는 가열가공하는데 많은 문제점이 있다.

溫度差에 의한 기존 가열가공의 문제점을 해결할 수 있는 방법으로는 전기를 이용하는 ohmic heating, dielectric heating, microwave heating 등이 있다. 최근 식품 가공에서 관심을 끌고 있는 ohmic heating은 식품에 交流전류를 통과시키면 전기에너지가 열에너지로 전환되어 내부에서 급속히 전기저항열이 발생하는데 이 원리를 이용한 가열 방법이다.

한편 소비자들의 건강에 대한 관심이 고조됨에 따라 천연상태의 품질을 가능한 유지한 최소가공식품(minimal processing foods)에 대한 수요가 증가하고 있으며, “less heat, less drying, less salt, less sugar, less acid, less use of additives”의 경향이 강하다. 그러나 이와 같은 경향은 식품의 보존성 및 품질 측면에서 본다면 마이너스 요인이므로 이와 같은 소비자의 욕구를 충족시키기 위하여 천연상태의 품질을 가능한 유지할 수 있는 신기술 개발이 요청된다.

특히, 과일 및 채소 주스, 유제품, 액체 난제품 등은 신선도가 중요하며 열에 의하여 쉽게 영양성분이 파괴되고 텍스처가 손상되기 때문에 품질저하를 최소화하면서 효율적으로 유해 미생물을 사멸 내지 억제시켜 변패를 방지하고 장기 보존하기 위해서는 熱에너지를 이용하지 않는 방법 즉, 전기에너지 또는 고압을 이용한 電氣的, 物理的인 새로운 가공기술을 개발하지 않으면 안된다.

비열살균

신선식품의 개발과 보존을 위해 전혀 열을 가하지 않거나 제한적 열처리를 하므로써 고품질을 유지할 수 있는 非熱 식품 가공 기술(nonthermal process)중에서 본인이 관심을 가지고 연구한 분야는 고전압 펄스 전기장(high voltage pulsed electric field)과 고압 CO₂에 의한 비열살균 기술이다.

1. 고전압 펄스 전기장 살균

1) 고전압 펄스 전기장의 원리

고전압 펄스 전기장(PEF)은 매우 짧은 고전압의 펄스를 식품에 걸어주어 미생물을 사멸시키는 방법이다. 펄스 전기장에 의하여 식품을 처리하면 온도가 거의 상승하지 않고, 처리 시간이 짧으며, 연속처리가 가능하고, 처리 후에도 식품의 물리적, 화학적 및 영양학적인 특성들이 거의 변하지 않는다. 이러한 고전압 펄스 전기장 가공 기술은 미생물의 비열 살균 뿐만 아니라 식물이나 미생물로부터 유효 성분의 추출 및 회수에도 이용할 수 있는 등 그 응용범위가 확대될 것으로 기대된다.

PEF processing system의 기본원리는 Fig. 1에 나타낸 것처럼 직류전원장치에서 발생된 고전압 전류를 충전기(capacitor)에 충전하고 충전이 끝난 후 방전 스위치가 접촉되면 두 전극 사이의 식품을 통하여 방전된다. 일반적으로 식품은 이온을 함유하고 있기 때문에 고전압 펄스는 순간적으로 용기내의 식품 속으로 흘러 방전된다. 방전이 끝나면 방전 스위치는 다시 떨어지고 충전기는 다시 충전된다. 이와 같은 충전, 방전 사이클이 μs (microsecond)단위로 매우 짧은 시간 일어나며, 펄스 사이의 간격을 펄스폭보다 훨씬 길게 하여 식품에 펄스를 반복처리하면 실제 총 처리 시간은 매우 짧기(1초이하) 때문에 식품은 거의 가열되지 않는다. 현재 PEF 발생장치에서 일반적으로 사용되고 있는 파형에는 exponential decay pulse와 square wave pulse가 있다.

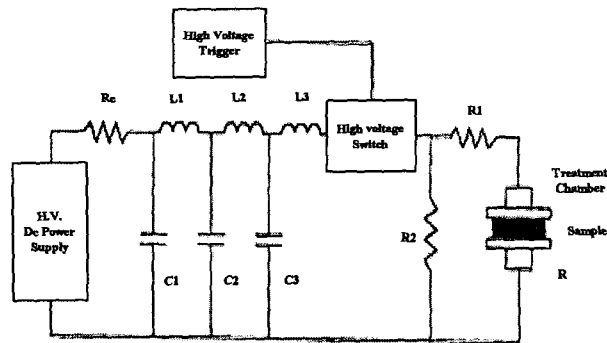


Fig. 1. Pulse generating circuit

고전압 펄스 전기장에 의해 미생물이 불활성화되는 주요 기작은 유전 파괴(dielectric breakdown)현상에 의한 세포막의 파괴이다. 세포가 강한 전기장에 노출되면 전기장 내의 전자의 흐름에 따라 이온이 이동되어 세포막의 phospholipid의 이중층이 극성화된다. 세포막의 지질 이중층은 전기 부도체이기 때문에 극성화된 지질 이중층의 표면에 이온이 축적되게 되고 세포막 전위차(transmembrane potential)를 유도하게 된다. 외부에서 걸어주는 전기장의 강도가 증가하면 유도되는 세포막 전위차가 증가되며, 이 값이 임계값(약 1 volt) 이상이 되면, 세포막이 파괴되기 시작하며 세공(pores)이 형성된다.

세포막은 낮은 유전상수(dielectric constant)를 갖는 유전체(dielectric material), 즉 부도체로서 축전지와 비슷한 성질을 갖는다. 대개 세포막은 2 정도의 유전상수를 갖고, 세포내부 세포질과 세포가 현탁되어 있는 용액의 유전상수는 세포막의 유전상수보다 크기 때문에 외부에서 높은 전기장이 가해지면 세포막 표면에 보다 많은 자유 전하가 축적되게 되고, 세포

막 전위차가 증가하게 된다. 따라서 세포막 안과 밖에 축적된 반대 극성을 갖는 자유 전하의 전기적 인력에 의해 세포막은 전기 압축(electro-compression)을 일으키게 된다. 또한 세포막의 양쪽 표면에 축적된 전하에 의해 세포막은 장력을 받게 되며 전기 압축과 장력에 의한 힘이 세포막의 탄력이상이 되면 세포막에 세공이 형성되고, 계속되는 압축에 의해 형성된 세공이 커지면서 세포의 내부 물질의 유출 등에 의한 세포 기능의 상실로 인하여 사멸하게 된다(Fig. 2).

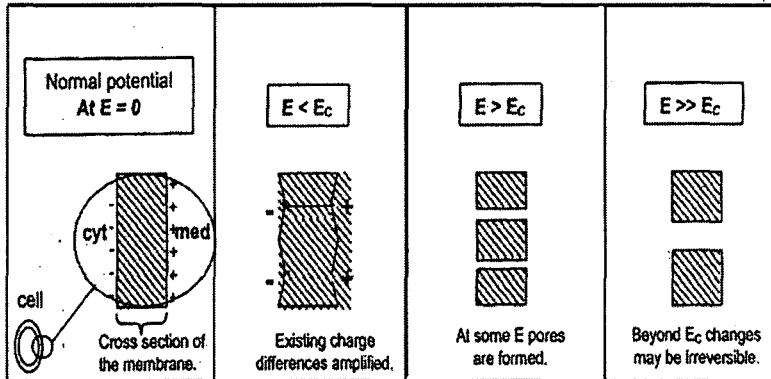


Fig. 2. Electroporation of cell membrane when exposed to HELPEc

2) 고전압 펄스 장치의 개발

고전압 펄스를 이용한 비열 가공 기술의 개발을 위해서는 우선적으로 우수한 고전압 pulse generator의 개발이 필수적이다. 본인이 본 과제의 연구를 시작한 1990년대 초에는 상업적으로 제작·판매되는 실험장치가 없고 미국 OSU, WSU, 독일 Berlin 공대, 일본의 일부 그룹에서 장치를 연구·개발하는 단계였다. 따라서 기술 경쟁을 위하여 우리나라에서도 PEF system 개발을 시작하여 Table 1에 나타난 것과 같이 약 5년에 걸쳐 단계적으로 4개의 모델을 개발하였다. 초기 개발한 YU-1 모델은 자체 제작한 mini scale로 pulse generator, pulse counter, oscilloscope를 사양에 맞추도록 구입하고 thyration driver(TRX)는 미국에서 직접 구매한 후 설계를 일부 변경하여 전체 시스템을 완성하였다(6000 VDC, 500mA).

Table 1. Development of PEF Equipments

○ Laboratory PEF Unit	<ul style="list-style-type: none"> • YU-1 Model : mini scale (1996) • YU-2 Model : Bench scale, Exponential wave (1997)
○ Pilot PEF Unit	<ul style="list-style-type: none"> • YU-3 Model : square wave(1~8μs), 100l/h • DC-DC power supply (1997) • Pulse forming network (1997-1998) • Pulse transformer (1998)
○ Portable Demonstration PEF Unit	<ul style="list-style-type: none"> • YU-4 Model : square wave(2μs), 100l/h (1999) • System integration : compact, low cost

이어서 인하대 기계공학과 채재우 교수와 벤처기업인 제페하이텍과 협력 연구를 통하여 실험실 규모의 exponential decay wave를 발생하는 YU-2 모델을 개발하였다. 그러나, exponential decay wave는 살균 효율이 낮아, 50kW급의 DC-DC Power supply와 square wave pulse generator를 설계·제작하여 pilot장치 YU-3 모델을 완성하였다. YU-3 모델은 연구 목적으로 펄스폭, 주파수, peak voltage 등을 광범위하게 변화시킬 수 있게 제작하였으며, pulse transformer를 설치하여 펄스폭을 0.5~8 μ s로 조절이 가능하도록 하였다. YU-3 모델을 이용하여 당근 주스, 전통주류, 우유에 대한 살균 실험을 통하여 장치의 최적화 연구를 수행하였으며, 최종적으로 소형화한 실용화 모델 YU-4를 개발 완료하였다. 따라서 국내에서도 PEF에 대한 연구의 활성화가 가능하게 되었으며, 여러 가지 제품에 대한 pilot test 및 실증연구 등에 광범위하게 활용할 수 있게 되었다.

3) 처리용기 개발

우수한 고전압 펄스 발생장치 개발에 못지 않게 중요한 것은 식품에 직접 고전압 펄스를 걸어주는 처리 chamber의 개발이다. 고전압 펄스 처리 chamber는 기본적으로 식품과 접촉하는 2개의 전극으로 이루어져 있으며, 식품과 접촉하는 전극 면적에 비하여 전극과 전극 사이의 간격이 아주 작아야 한다. 처리용기는 기본적으로 static chamber와 continuous chamber의 두 가지 형태가 개발되고 있다.

본 연구자들은 초기에는 여러 가지 형태의 static chamber를 설계·제작하여 실험에 사용하였으나, static chamber는 회분식으로 소용량의 시료를 사용한 기초연구에 적당하며, 대량 연속처리를 위해서는 continuous chamber의 개발이 필수적이다. 식품은 0.2~0.6 S/m의 비교적 높은 전기전도도를 가지고 있으므로 chamber 내에 고전류가 흐르면 안정성 및 arc 등의 문제가 발생되기 쉽다. 이러한 문제를 해결하기 위하여 그동안 여러 가지 형태의 처리용기를 설계·제작한 경험을 토대로 하여, 고스피드 switch를 사용할 수 있고 용기 내의 전류 밀도와 spark에 의한 시료의 breakdown을 최소화하며, 액체식품 뿐만 아니라 작은 입자를 함유한 액체식품까지 처리할 수 있도록 co-field의 개념을 도입한 chamber를 개발하였다. 개발 초기의 chamber는 1개당 처리부피가 0.0063ml로서 최대처리용량이 3.6 l/h였다. 그 후 용기 부피 0.063ml/chamber, 최대처리량 50 l/h의 처리 chamber를 개발하여 현재 각종 시료의 처리에 사용하고 있다.

4) 고전압 펄스 전기장에 의한 미생물의 살균

고전압 펄스 전기장에 의한 미생물의 효과에 영향을 미치는 인자는 Table 2에 나타낸 것

Table 2. Variables in PEF processing

Primary	Secondary
<ul style="list-style-type: none"> ● Electric field strength <ul style="list-style-type: none"> • Average peak field U/d • Uniformity of field ● Total treatment time <ul style="list-style-type: none"> • Resident time in PEF zone • Flow velocity profile • Pulse repetition rate • Number of PEF chambers 	<ul style="list-style-type: none"> ● Processing / conditioning temperature ● Electrical conductivity / ionic strength ● Growth stage of microorganisms / adaptation ● pH ● gas liquid mix

처럼 가열살균에 비하여 매우 복잡하다. 그 중에서도 가장 중요한 인자는 전기장의 세기와 처리시간(펄스수×펄스폭)이다. 현재의 가열 살균 기술로서는 영양성분의 파괴, 품질 손실의 한계를 극복하기 어려운 대표적인 시료로서 i) 과일·야채 주스, ii) 전통주류, iii) 우유를 선택하여 PEF에 의한 미생물의 살균효과를 연구하였으며, 조작변수에 따라 대표적인 몇가지 연구결과를 간략히 기술한다.

Square wave pulse와 exponential decay pulse의 살균 효과 비교 : 전기장의 세기는 50~60kV/cm로 하고 연속 처리 용기에서 1ml/sec의 flow rate로 신선한 당근 주스를 흘려 보내면서, frequency 1500Hz로 처리시간을 66~198 μ s까지 달리하여 동일한 처리조건으로 pulse의 모양에 따른 살균 효과의 차이를 조사하였다. Fig. 3에 나타낸 것과 같이 pH 4.25에서 square wave pulse의 경우 55kV/cm, 132 μ s 처리시 효모 및 곰팡이는 약 4 log 감소하여 완전히 사멸이 되었지만 exponential decay pulse에서는 1.5 log cycle만 감소하였으며, 60kV/cm로 198 μ s 처리하여도 약 3 log 정도 감소하였다(21). 이러한 결과를 보아 exponential decay pulse보다 square wave pulse의 살균 효과가 훨씬 우수한 것을 알 수 있었다. Square wave pulse의 에너지 효율은 91%인데 비하여 exponential decay pulse는 64%로 보고되고 있다.

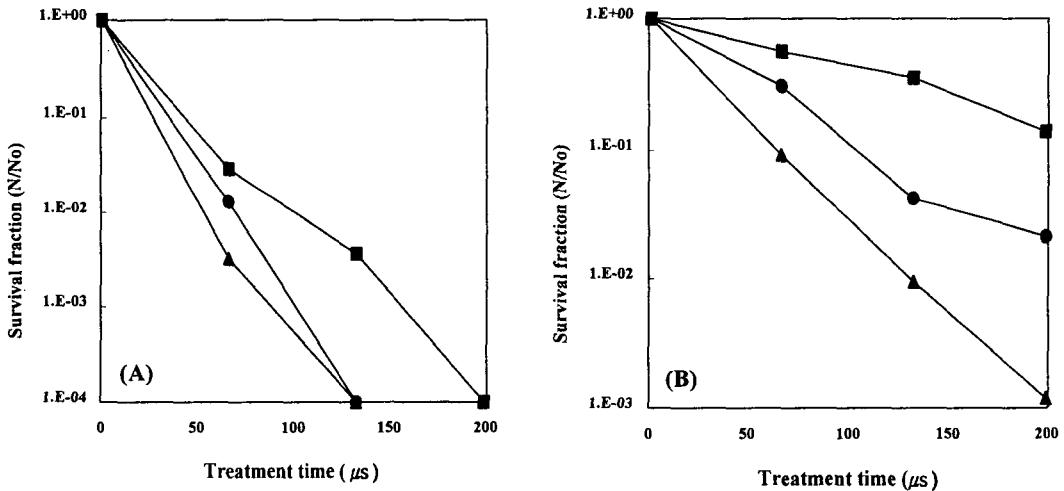


Fig. 3. Effect of pulse form on inactivation of yeast and molds in carrot juice by high voltage pulsed electric field treatment at pH 4.25 and room temperature. A: exponential decay pulse, B: square wave pulse
 ■ 50 kV/cm, ● 55 kV/cm, ▲ 60 kV/cm

전기장의 세기 및 처리 시간의 영향, 살균 kinetics : 고전압 펄스 전기장에 의한 미생물의 치사효과에 미치는 가장 직접적인 영향인자는 전기장의 세기와 처리시간이다. 살균된 전지 우유에 *E. coli*를 초기 균수 10⁸cfu/ml 되게 접종하고 50℃에서 특수 제작한 연속식 PEF 처리용기에서 1 μ s의 펄스폭을 갖는 20~60kV/cm의 square wave pulse를 처리했을 때 전기장의 세기의 영향을 Fig. 4에 나타내었다. 미생물의 가열살균에 대해서는 이론이 잘 정립되어 있으며, D, Z, F 값을 이용하여 살균공정을 해석한다. 그러나 PEF에 의한 미생물의 불활성화는 열에 의한 살균이 아니므로 온도-시간 관계가 큰 의미가 없다. 따라서 전통적인 살균 이론은 적용할 수 없으며 새로운 모델이 제시되지 않으면 안된다.

미생물의 PEF에 의한 불활성화에 대해서는 다음과 같은 수학적 모델식이 제안되어 있다.

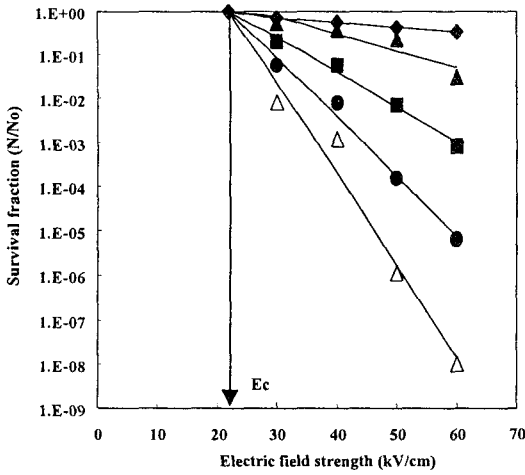


Fig. 4. Inactivation of *E. coli* in whole milk as a function of electric fields strength using continuous chamber at 50 °C.
Treatment time: ◆ 26.25 μs, ▲ 52.5 μs, ■ 105 μs, ● 155 μs, △ 210 μs

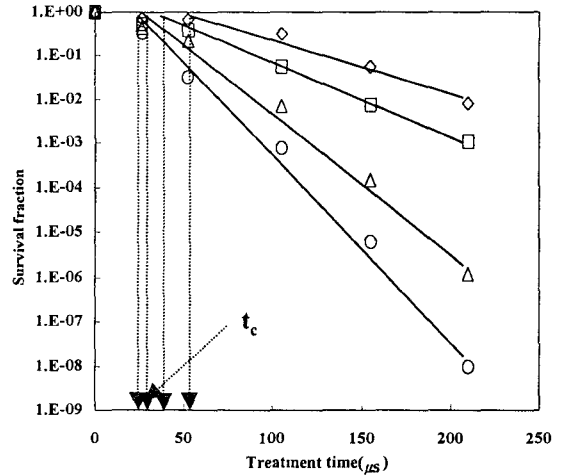


Fig. 5. Inactivation of *E. coli* in whole milk as a function of treatment time using continuous chamber at 50 °C.
Electric field strength: ◇ 30 kV/cm, □ 40 kV/cm, △ 50 kV/cm, ○ 60 kV/cm

$$S = (t/t_c)^{-(E-E_c)/k} \text{ 또는 } \log S = - \left(\frac{E-E_c}{k} \right) \log \left(\frac{t}{t_c} \right) \quad (1)$$

여기서 S는 생존율(N/N₀)이며, E는 전기장의 세기, E_c는 임계전기장의 세기, t는 처리시간, t_c는 임계처리시간, k는 미생물상수이다. 이 식에 의하면, PEF에 의한 사멸효과는 전기장의 세기에 지수함수적으로 의존하며, 처리시간에 대해서는 비례적임을 알 수 있다. Fig. 4에 나타난 것과 같이 *E. coli*는 일정한 임계전기장(E_c)이상의 전기장을 걸어주어야만 불활성화되었으며, E_c이상의 전기장을 걸어주었을 때 생존율과 전기장의 세기 사이에는 식(1)의 관계가 성립되었다. 그러나, 생존율과 처리시간과의 관계는 Fig. 5에 나타난 것과 같이 식(1)이 성립되지 않았으며, 1차 반응속도 모델인 lnS=-b₁(t-t_c)이 잘 적용되었다. E_c와 t_c는 일정한 값을 나타내지 않고 E_c는 처리시간이 길수록, t_c는 전기장의 세기가 증가할수록 감소하는 상호의존성을 보였다(20). 처리시간(t)은 펄스폭(τ)와 펄스수(n)의 곱이므로 살균율은 펄스수 뿐만 아니라 펄스폭에 의해서도 영향을 받는다. 펄스폭이 살균율에 미치는 영향을 살펴본 결과 동일한 전기장의 세기에서 펄스폭이 클수록 살균효과가 증가하였다. 이와 같이 PEF 살균에 영향을 미치는 공정변수와 환경인자는 매우 복잡할 뿐만 아니라 상호의존성을 나타내므로 일반화된 kinetic model을 개발하기가 어려우며 앞으로 광범위한 연구가 추진되어야 한다. 또한 가열살균에서는 지표미생물과 표준온도(250°F)에서의 살균시간 F₂₅₀이 살균 공정평가의 기준이 되어있으나, PEF에서는 지표미생물 및 표준온도와 유사한 개념의 표준 전기장의 세기(E₀)에 대해서도 전혀 연구된 바 없다.

처리온도 및 pH의 영향 : 고전압 펄스 전기장에 의한 미생물의 불활성화에 미치는 또 다른 인자는 미생물이 포함되어 있는 매질의 온도와 pH이다. 일반적으로 온도가 증가하면 세포막의 유동성이 증가하여 세포막이 더 잘 수축되므로 고전압 펄스에 의한 세포막의 파괴

가 쉽게 일어난다. Fig. 6에 탁주를 PEF 살균할 때 온도의 영향을 나타내었다. 탁주를 60℃ 이상으로 가열 살균하면 화독냄새와 같은 이취가 발생하고 쓴맛이 생기며, 변색되는 등 상품성이 저하되므로 막걸리의 품질에 영향을 주지 않을 정도의 저온인 55℃ 이하의 온도에서 PEF-열 병합처리 효과를 연구하였다. 시판탁주의 초기 효모수는 2.01×10^8 cfu/ml 였으며, 50℃ 및 55℃에서 20kV/cm exponential decay pulse(pulse width 1 μ s)로 256 pulse 처리했을 때 효모는 완전히 사멸되었다. 그러나 단지 온도를 55℃로 상승시켜 온도의 효과를 검증한 결과 1.53×10^8 cfu/ml로 단순히 열에 의한 살균효과는 미미하였다. 이와 같은 결과로 미루어 볼 때 탁주와 같은 전통주류를 50℃에서 PEF 처리하므로써 고품질을 유지하면서 효과적으로 살균할 수 있을 것으로 판단되며, 실제 PEF 살균한 탁주를 4℃, 30℃에서 저장 실험한 결과 4주 후에도 균수, 산도의 변화가 거의 없었다(19).

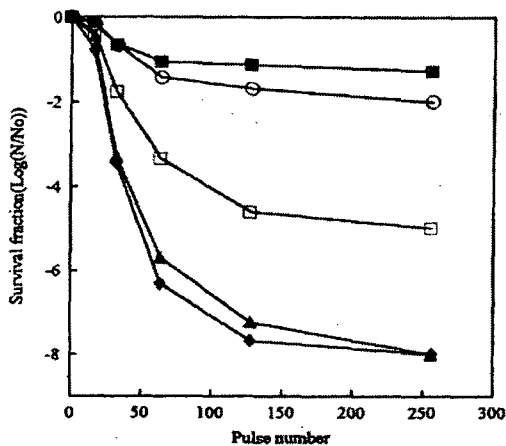


Fig. 6. Effect of treatment temperature on survival fraction of yeasts in *Takju*(electric field strength : 20kV/cm, exponential decay pulse) ■ 25℃, ○ 35℃, □ 45℃, ▲ 50℃, ◆ 55℃

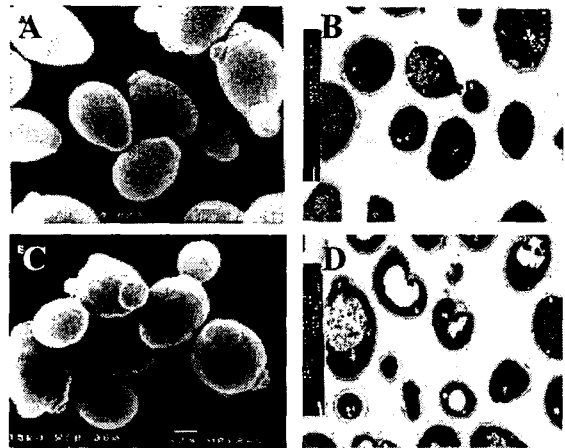


Fig. 7. SEM and TEM of untreated *S. cerevisiae* cells (A,B) and treated cells (C,D) with high voltage pulsed electric fields for 53 μ s at 40℃ and 50 kV/cm

pH는 미생물의 대사활동에 매우 큰 영향을 미치며, pH가 낮아질수록 미생물의 사멸 저항성이 감소하여 pH가 낮을수록 PEF의 살균효과는 증가하였다(19). 미생물 현탁액이 산성화 되면 세포 내부로 수소이온이 침투하여 세포막의 pH 구배를 감소시키는데, 이때 미생물은 자체적으로 내부 pH를 유지하기 위해 H⁺-ATPase를 작동시켜서 세포외부로 수소이온을 계속 방출한다. 이러한 미생물의 'protein motive force' (PMF)에 의한 pH 항상성(homeostasis)유지에는 다량의 에너지가 소모되므로 결국 다른 대사활동에 지장을 초래하여 저항성이 떨어지게 된다.

세포구조의 변화 : 고전압 펄스 전기장 처리를 받은 세포는 세포막이 손상되어 처리 초기부터 220nm, 260nm 및 280nm의 자외선 흡수물질과 세포내 이온인 K⁺와 Na⁺이 유출되었다. 고전압 펄스 전기장 처리를 한 *S. cerevisiae* 세포의 구조 변화를 관찰하기 위하여 Phloxine B 색소로 염색하였을 때, 살아있는 세포는 염색되지 않았으나, 고전압 펄스 전기장 처리를 받기 시작하면서 시간이 증가할수록 염색되는 세포의 수가 증가하여 50 μ s 처리 후에는 완전히 염색되는 것으로 세포막이 손상되었음을 알 수 있었다(22). 또한 Fig. 7에 나타낸 것과 같이 주사현미경(SEM)으로 관찰한 결과 처리받지 않은 세포에 비하여 처리받은 세포는 세

포의 표면이 거칠어지고 주름같은 것이 생겼다. 투과현미경(TEM)으로 관찰한 결과 Fig. 10을 살펴보면 고전압 펄스 전기장 처리를 받은 세포는 처리 받지 않은 세포에 비해 세포내 물질이 상당 부분 소실되었으며, 일부 세포막과 세포벽에 손상이 일어났음을 알 수 있었다.

고전압 펄스 처리를 받은 세포는 세포막이나 세포벽이 손상되었거나, 세포내 물질이 유출되었음에도 불구하고 세포의 형태를 그대로 유지한 세포들도 많이 관찰되었다. 따라서 세포막 손상 이외에 세포의 대사부분에 손상이 있을 것으로 추정되어 손상 부위를 측정 한 결과, 세포 단백질이나 단백질 합성 체계에 손상을 입었음을 확인하였다(22).

5) 고전압 펄스 전기장에 의한 효소의 불활성화

고전압 펄스 전기장에 의한 非熱 살균 기술이 실용화되기 위해서는 식품의 변패 내지는 병원성 미생물의 살균뿐만 아니라 저장 기간 중에 식품 성분에 변화를 가져오는 target enzyme의 불활성에 대한 연구가 필요하다. 그러나 지금까지 고전압 펄스 전기장을 이용한 미생물의 살균에 대해서는 많은 연구가 이루어졌으나, 고전압 펄스 전기장 처리에 의한 효소의 불활성화에 대한 연구는 거의 이루어지지 않았다. 따라서 식품을 저장할 때 식미와 풍미를 저하시키는 대표적인 효소인 lipase와 polyphenol oxidase의 고전압 펄스 전기장에 의한 불활성에 대하여 연구를 하였다. 미생물의 불활성화에서와 마찬가지로 PEF에 의한 효소의 불활성화도 전기장의 세기 및 처리시간이 증가할수록 증가하여, *Pseudomonas fluorescens*가 생산하는 lipase의 경우 40kV/cm square로 처리한 결과 약 70%의 활성이 소실되었다. 또한 버섯으로부터 추출한 정제 tyrosinase의 PEF 불활성화는 Fig. 8에 나타낸 것과 같이 내성이 강하여 미생물에 비하여 약 10배의 긴 처리시간이 소요되었다. 한편 효소 현탁액의 온도(10~60℃)의 영향을 살펴본 결과 현탁액의 온도가 높을수록 효소의 활성은 직선적으로 감소하였으나 미생물의 불활성에서와 같이 온도 의존성은 크지 않았다(23).

Fluorescence spectrophotometer를 이용하여 처리한 효소와 무처리 효소의 변성여부를 조사한 결과 emission spectrum이 shift되고 intensity가 감소하는 차이를 보여 단백질의 구조적인 변화에 기인하는 것으로 판단되었다(23). 또한 Far UV-CD spectrum을 조사한 결과 효소의 열과 전기장에 의한 변성이 다른 것으로 추정되었다(Fig. 9).

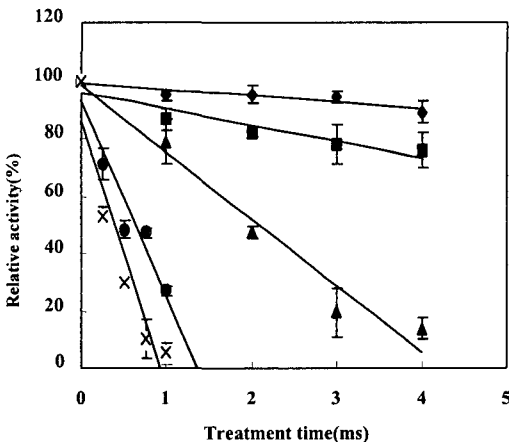


Fig. 8. Residual activity of tyrosinase by high voltage pulse electric fields treatment as a function of treatment time
 ◆ : 10kV/cm, ■ : 20kV/cm, ▲ : 30kV/cm, ● : 40kV/cm, x : 50kV/cm

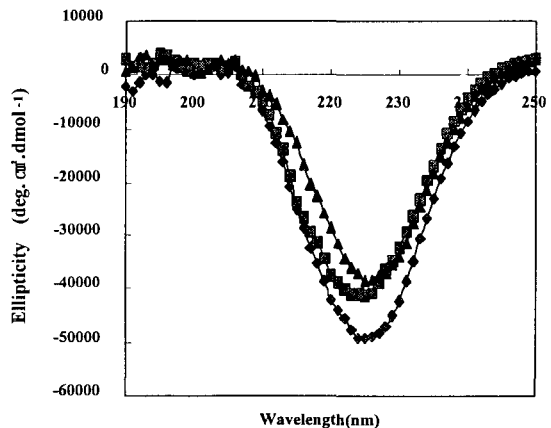


Fig. 9. CD spectra of control, heat-treated and PEF treated tyrosinases (protein concentration : 100 µg/ml)
 ◆ : Control
 ■ : Heat-treated (80 °C for 5minutes)
 ▲ : PEF-treated (intensity : 50kV/cm, pulse width : 2 µs, pulse frequency : 1500Hz, treatment time : 4ms)

2. 고압 이산화탄소에 의한 살균

비가열처리 방법의 하나로 최근 새롭게 주목받기 시작한 기체가압법이란, 미생물에 수십 기압의 기체 압력을 가하여 균체 내에 기체를 용해시킨 후 대기압까지 급속히 감압시키므로서 미생물을 불활성화시키는 방법이며, 가압 매체로는 CO₂가 가장 널리 사용된다. 고압 이산화탄소에 의한 미생물 불활성화는 CO₂ 용해에 따른 균체내 pH 감소, 가압 또는 감압시 CO₂에 의한 세포막의 기능적 손상 등의 요인에 기인한 것으로 생각되나 아직까지 그 기작이 분명하게 입증되지 않았다.

식품의 신선도를 유지하면서 효과적으로 미생물을 불활성화시킬 수 있는 PEF이외의 비가열 살균기술을 개발하기 위하여 이산화탄소에 대해 강한 저항성을 갖는 것으로 알려진 젖산균 *Lactobacillus plantarum*을 대상 미생물로 하여 고압 CO₂에 의한 살균에 대해 체계적으로 연구하였다(11, 24).

1) 조작인자가 고압 CO₂ 살균에 미치는 영향

고압 CO₂ 처리에 의하여 미생물이 불활성화되기 위해서는 우선 CO₂가 수용액에 용해되어 개별세포와 접촉하므로서 치사효과를 나타내므로 주요 조작인자는 기본적으로 CO₂의 물질 전달에 영향을 미치는 압력, 처리시간 및 처리온도이다.

임계압력(73 atm, 31.1℃) 전후인 50~80kg/cm² 범위의 고압 CO₂를 이용하여 가압처리 조건이 미생물의 불활성화에 미치는 영향을 검토한 결과, CO₂의 용해속도는 *L. plantarum*의 사멸속도에 큰 영향을 미쳐 압력이 증가할수록 지연시간이 거의 없이 살균효과가 증대되었다(Fig. 10)(15). CO₂압력 50kg/cm²에서는 비교적 세포가 완만히 사멸되어 초기 균수가 5 log cycle만큼 감소되는데 약 150분이 소요되었으나, 70kg/cm²에서는 살균효과가 급속히 향상되어 약 50분 가량이 소요되었으며 120분 후 완전히 사멸되었다. 또한 70kg/cm²의 일정한 압력으로 젖산균을 CO₂ 가압처리하였을 때 30℃까지는 처리온도가 증가함에 따라 사멸효과가 증가하였으나 40℃에서는 오히려 감소하였다(14). 이는 임계점 부근에서의 온도 증가는 CO₂의 용해도를 감소시키기 때문인 것으로 생각되었다.

2) 환경인자의 영향

고압 CO₂ 처리는 수분함량, pH, 균종, 배지조성, 생육조건, 생육단계 등의 외부 환경인자에 의해 영향을 받아 초기 pH가 낮을수록, 완숙 세포보다 미숙세포, 저온 배양 세포보다는 적온 배양 세포에서 살균 효과가 증대되었다. 완충액을 사용하여 세포 현탁액의 pH 영향을 검토한 결과, 세포 현탁액의 pH가 낮을수록 사멸효과가 현저히 증대되었다(13). 한편 0.5M sodium bicarbonate를 첨가한 경우 강력한 염기성 완충작용으로 고압 CO₂를 처리하여도 pH 8을 유지하였으며 120분 처리하여도 사멸되지 않았다(Fig. 11). 이와 같은 결과로 미루어 볼 때 CO₂ 처리에 의하여 pH가 저하되지 않을 때는 사멸효과가 인정되지 않아 CO₂ 가압처리에 따른 미생물 살균효과는 CO₂ 용해에 의한 pH 저하가 주요 원인임을 알 수 있었다. 또한 *L. plantarum*의 생육조건이 CO₂ 가압 처리시 살균 효과에 미치는 영향을 검토한 결과, 대수 증식기의 세포보다는 정지기의 세포가 고압 CO₂ 처리에 대한 내성이 훨씬 높았고, 37℃에서 생육한 세포가 30℃ 이하에서 생육한 세포보다 CO₂ 가압처리에 다소 민감하였다.

3) 고압 CO₂에 의한 미생물의 불활성화 메커니즘

고압 CO₂ 처리는 *L. plantarum* 세포의 세포막을 손상시켜 가압 초기 10분 동안에 260nm 및 280nm의 자외선 흡수물질 유출, Mg와 K 이온 유출이 급격히 증가하였으며 30분 이후에는 거의 일정하였다. 한편 세포 내외의 pH차(ΔpH)를 간접적으로 측정된 결과, CO₂ 가압처

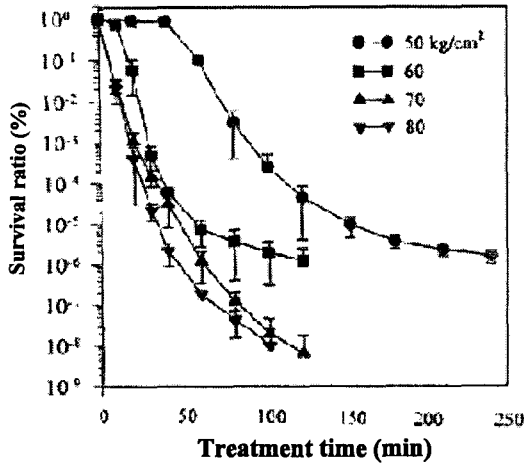


Fig. 10. Inactivation of *L. plantarum* cells as related to pressure during high pressure CO₂ treatment. Experiments were carried out at 30 °C. Initial cell numbers (N₀) ranged from 2.4x10⁸ to 6.2x10⁸ CFU/mL. The microbial survival rate was expressed by the ratio of the viable cell counts after CO₂ treatment (N) to the initial cell counts (N₀)

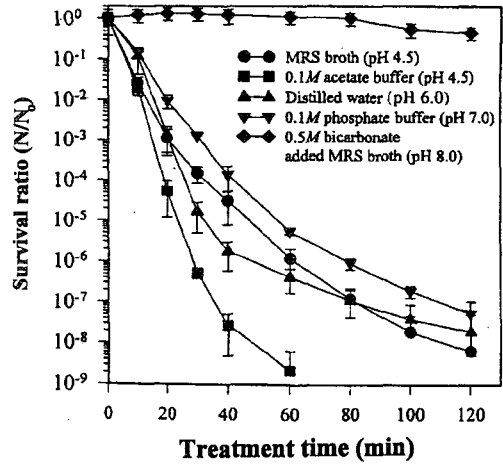


Fig. 11. Inactivation of *L. plantarum* cells as affected by initial environments pH during high pressure CO₂ treatment. Experiments were carried out at 30 °C and 70kg/cm² of CO₂

리 초기 10분 동안에 ΔpH는 급격히 감소하였으며 그 후 완만히 감소하여 약 40분 후에는 세포 내외의 pH가 거의 동일하였다(14). 이와 같은 현상은 고압 CO₂ 처리에 의하여 세포막의 고유 기능인 H⁺-translocation 기능이 상실되었거나 세포막 자체가 손상되어 pH 항상성이 파괴되었기 때문으로 판단되었고, 세포의 H⁺-ATPase 활성이 가압처리 20분 후 완전히 소실된 것은 이를 뒷받침하였다. 또한 세포의 해당활성은 고압 CO₂ 처리 30분 후 20% 수준으로 감소되어 CO₂ 처리에 의한 세포기능 손실 또는 대사작용에 직·간접적으로 관여하는 각종 효소의 불활성화를 시사하였다. 실제로 APIZYM 시스템을 이용하여 CO₂ 가압처리에 따른 젖산균 세포의 13가지 구성 효소 활성변화를 관찰한 결과, esterase lipase, β-galactosidase, β-glucosidase, N-acetyl-β-glucosaminidase, leucine acryl- amidase 등 대부분의 효소가 불활성화되었다(16).

고압 CO₂ 처리에 의한 *L. plantarum* 세포의 형태적 변화를 주사전자현미경(SEM)으로 관찰한 결과 외형상의 변화는 발견되지 않았다. 그러나 세포의 미세구조를 투과전자현미경(TEM)으로 관찰한 결과, Fig. 12에 나타난 것과 같이 CO₂ 가압처리된 균체의 세포벽은 그

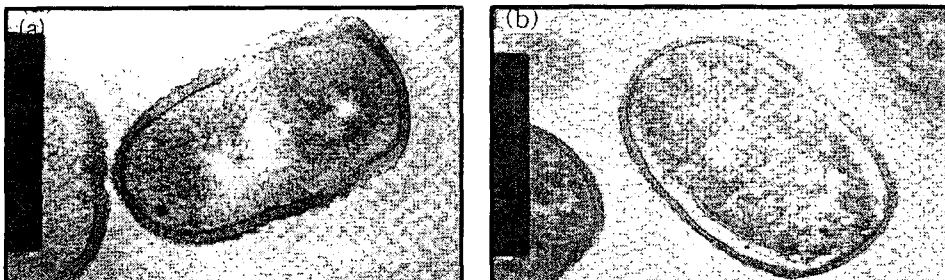


Fig. 12. Transmission electron micrographs of *L. plantarum* cells untreated (a) and treated (b) with 70kg/cm² of CO₂ pressure at 30 °C for 1hr

대로 유지되었으나 세포막은 상당 부분이 손상되었음을 알 수 있다. 즉, 가압처리된 균체는 세포벽과 세포막 사이의 공간(periplasmic space)이 눈에 띄게 커지고 세포막의 여러 곳에서 분열이 발생하였으며, 원형질의 분포가 대부분 세포막 주위로 몰려 중심부 곳곳이 비어 있는 것을 발견할 수 있었다. 따라서 이러한 젯산균 세포의 형태학적 변화는 앞서 언급한 자외선 흡수물질의 유출, 이온 성분 유출, 세포 내의 pH 구배 파괴, 염색 색소 흡수 등의 세포막 손상을 간접적으로 확인한 실험 결과를 입증할 수 있을 것이라 판단된다.

3. Ohmic heating을 이용한 신가공 공정

1) Ohmic heating 가열의 원리

Ohmic heating은 주파수 100kHz이하의 장파를 식품에 걸어 주어 전기저항을 발생시키는 가열 방법이다. Fig. 13에 나타난 것과 같이 전기저항이 R인 식품의 양쪽 끝에 전극을 접촉시키고 전압이 V인 교류전원을 걸어주면 식품내부에 균일하게 전기저항열이 발생된다. 그 기본 원리는 Ohm의 법칙으로서 발열속도 $Q(W/m^2)$ 는 다음 식 (2)로 표현된다.

여기서 E는 전계강도(V/m), V는 전압(volt), k는 전기전도도(S/m)이다. 식품의 밀도가 ρ 이고, 비열이 C_p 인 경우 가열속도는 식 (3, 4)과 같다.

$$Q = kE^2 = k(grad V)^2 \quad (2)$$

$$\frac{dT}{dt} = (grad V)^2 \frac{k}{\rho C_p} \quad (3)$$

$$\frac{dT}{dt} = \frac{Q}{\rho C_p} \quad (4)$$

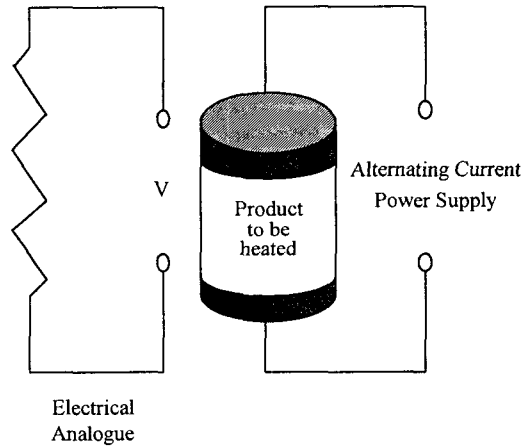


Fig 13. Ohmic heating

Ohmic heating에서의 driving force는 식

(4)에서와 같이 전압으로서 식품 내외부의 온도차에 관계없이 균일하게 식품 내부에서 열이 발생된다. 전기전도도 k가 조건에 따라서 크게 변화하지 않는 경우 온도는 직선적으로 상승하고, 온도가 증가함에 따라 driving force가 감소하지 않는 장점이 있다.

2) Ohmic heating을 이용한 대두단백질의 응고

대두단백질은 식품가공에 있어서 중요한 역할을 하는 단백질로 다양하게 이용되고 있다. 특히 대두단백질의 겔화는 가열속도, 가열시간, 가열최종온도 등의 가열조건에 크게 영향을 받는다. 대두단백질의 추출, 가열응고에 교류 통전에 의한 ohmic heating을 이용하면 단백질 구조, 형태변화 및 응고 특성이 재래가열법과 다를 것으로 예상된다(2). 따라서, 단백질 기능 개선을 목적으로 ohmic heating을 가열 수단으로 사용했을 때, 두유의 대두단백질 응고와 gel의 수율 및 품질 변화를 재래 가열방법과 비교 검토하였다(17).

재래가열 방법과 음가열에 의하여 두유를 가열했을 때 두유의 응고에 미치는 영향을 살펴 보기 위하여 동일한 온도 profile로 가열했을 때 겔의 수율, 고형분함량, 고형분 회수율 및

hardness를 Fig. 14에 나타내었다. 대두단백질 겔의 bulk 수율은 음가열한 경우가 전통적인 가열방법보다 10~30%정도 높았으며, 겔의 총고용분 회수율은 재래가열법의 경우 41.1~51.2% 수준이었으나 음가열의 경우 52.6~54.6% 범위의 높은 수율을 나타내었다. 재래가열법으로 가열응고한 겔의 고형분 함량은 13.1~16.4% 인데 비하여 음가열한 겔은 11.1~13.6%로 전반적으로 낮다. 이는 음가열한 겔의 경우 보수력이 향상되므로 bulk 수율이 증가하고 재래가열 방법과 비교하여 고형분 함량이 상대적으로 적어지며, 연한 텍스처를 갖게 된다.

음가열의 경우 가열속도는 전기장의 세기 즉 전압에 의해 가장 크게 영향을 받는다. 전기장의 세기가 16.8V/cm에서 21.1V/cm로 증가하였을 때 가열속도는 2.2°C/min에서 27.7°C/min으로 증가하였다. 대두단백질 겔의 bulk 수율은 전기장의 세기가 증가함에 따라 약간 감소하는 경향을 보였으나 고형분 회수율은 약 55%로 거의 일정한 값을 보였으며 고형분 함량과 hardness는 전기장의 세기가 클수록 증가하였다(17). 이러한 가열속도의 급속한 조절은 음가열에서만 가능한 특징이며, 전기장의 세기를 가열속도를 조절하여 최적의 응고수율과 텍스처를 갖는 겔을 얻을 수 있을 것으로 생각된다.

대두단백질의 7S와 11S 분획을 각각 재래가열 및 음가열하여 특성의 변화를 비교·관찰하였다. 흡수속도는 음가열한 시료가 재래가열 방법으로 가열한 시료보다 2배 높았으며 surface hydrophobicity는 음가열한 시료가 낮았다. 흡수속도와 surface hydrophobicity는 단백질의 변성과 관계가 있는데 DSC 분석결과 음가열에의해 7S와 11S를 모두 100% 변성되었는데 비해 재래가열은 두유 중의 11S를 79%, 11S 분획은 96%밖에 변성시키지 못하였다(Fig. 15). 이와 같은 결과를 종합해 볼 때 동일 온도 profile로 가열했을 때 음가열은 재래가열법에 비해 단백질의 변성을 촉진하며, 특히 11S 분획의 변성을 촉진하는 것으로 판단된다.

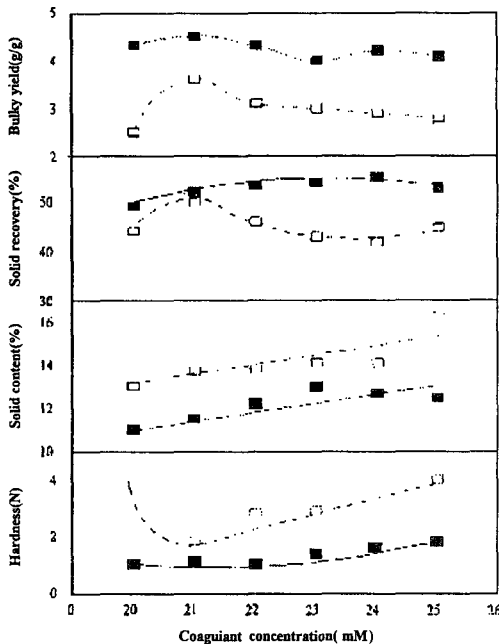


Fig. 14. Comparisons of bulk yield, solid recovery and hardness of tofu made with different heating method

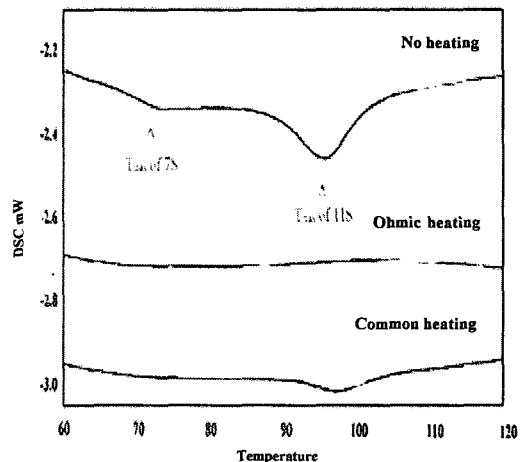


Fig. 15. DSC thermograms of soy milk by different heating methods. Heating rate : 10°C/min

두부는 보존성이 없어 유통기간이 짧기 때문에 두부 제조 공장에서 두부를 제조하여 냉장 판매하고 있다. 그러나, 전술한 ohmic heating에 의한 대두단백질의 응고를 이용한 전기응고 장치는 시설이 간단하고 조작이 편리하므로, 냉장두유 유통시스템을 구축하여 백화점, 대형 슈퍼마켓 등에 설치하여 즉석에서 제조한 신선한 두부를 판매할 수 있으며, 응고, 압착 시설만 갖춘 소단위 두부류 전문 생산판매점이 탄생할 수도 있을 것이다. 이와 같은 냉장두유→신선두부 유통체계는 앞으로 두부 가공기술에 혁신을 가져올 것으로 기대된다.

3) Ohmic heating에 의한 급속가열이 전분입자의 팽윤특성에 미치는 영향과 전분 신소재 개발 전분은 식품산업 및 화학공업 등 여러 산업에서 광범위하게 활용되고 있는 중요한 자원으로, 천연상태 그대로 이용되기도 하지만 가공성, 기능성, 적용성 등을 향상시키기 위해서 각종 형태로 변성시켜 사용되고 있다. 본 연구자들은 전분 또는 전분이 함유된 곡류를 수분 및 전해질이 존재하는 상태에서 ohmic heating을 이용하여 매우 빠른 속도로 순간적으로 가열함으로써 기존의 천연 전분 및 변성 전분이 갖지 못하는 특성을 가진 전분을 제조할 수 있을 것으로 기대하였다. 왜냐하면, 전분현탁액의 가열속도는 전분입자의 팽윤에 큰 영향을 미치며 팽윤된 전분입자의 크기와 그 분포는 호화된 전분의 특성을 좌우한다. 그러나 종래의 가열방법으로는 일정한 가열속도를 얻기 곤란하므로 가열속도의 영향에 관한 연구는 매우 제한적이다. Ohmic heating은 식품에 교류전류를 통하여 식품내부에 균일하게 급속히 전기 저항열이 발생하게 하는 가열이므로, ohmic heating에 의하여 가열속도를 일정하게 유지할 수 있으며 광범위한 범위에서 가열속도의 조절이 용이하다. 따라서 본 연구에서는 ohmic heating에 의한 급속가열이 옥수수전분 및 감자전분입자의 팽윤특성에 미치는 영향 및 전분 현탁액의 리올로지 특성을 연구하였다(18).

옥수수 및 감자전분 3% 현탁액을 0.5~50.4°C/min의 범위에서 가열속도를 변화시키면서 90°C까지 가열한 후 냉각시키고 현미경 관찰과 laser 입도분석기로 입도분포를 측정하였다(Fig. 16). 생옥수수 전분입자의 크기는 2~20 μm 의 좁은 분포를 나타내었으며, 평균 직경은 13.7 μm 였다. 가열속도가 증가함에 따라 전분입자의 크기 분포도는 넓게 퍼지면서 분포도 곡선 전체가 입자가 큰 쪽으로 이동하였다. 가열속도에 따라 옥수수전분 입자의 평균직경은 0.6°C/min의 속도로 가열했을 경우 30.97 μm , 16.1°C/min으로 가열한 경우는 37.88 μm 로 평균직경이 급격히 증가하였으나 16.1°C/min 이상의 가열속도에서는 완만히 증가하여 45.5°C/min 일 때는 41.56 μm 로 증가하였다. 한편 감자전분의 경우에는 생전분의 평균직경이 34.26 μm 에서 완만 가열인 0.2°C/min으로 가열했을 때 137.22 μm 로 8.6°C/min에서는 155.57 μm 로 급격히 증가하였으나 8.6°C/min 이상의 가열속도에서는 전분입자의 크기가 거의 증가하지 않아 64.7°C/min의 급속 가열을 할 경우에는 159.92 μm 의 크기를 나타내었다. 가열속도에 따라 전분 입자의 팽윤도와 용해도도 입자크기와 거의 동일한 경향으로 증가하였으며, 가열속도가 증가할수록 현탁액으로 용출된 다당류 중 아밀로펙틴의 비율이 높아졌다(Fig. 17). 또한 가열 전분현탁액의 침강특성도 가열속도에 영향을 받아 가열속도가 증가할수록 침강성이 감소하였으며, 45.5°C/min으로 급속 가열한 전분은 12시간 동안 방치하여도 전혀 침강하지 않는 특성을 보였다(Fig. 18).

10°C/min이하의 낮은 속도로 가열한 3% 옥수수 전분현탁액은 Newtonian fluid 에 가까운 유동곡선 특성을 보였다. 그러나 가열속도 10°C/min 이상에서는 가열속도가 증가할수록 pseudoplastic fluid의 거동을 나타내었으며, 특히 가열속도 30°C/min 이상의 경우에는 yield stress가 현저히 증가되었다(Fig. 19). 또한 겔보기 점도는 가열속도가 증가함에 따라 선형적으로 증가하였다.

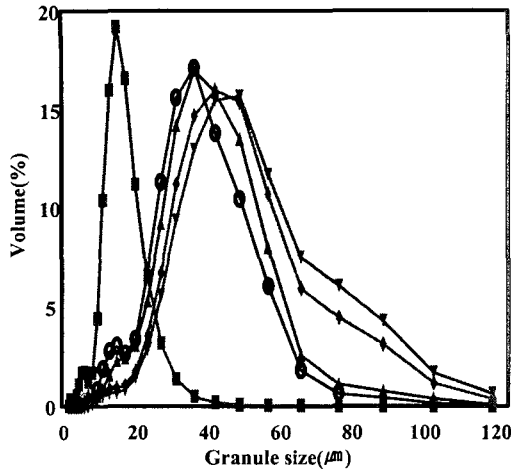


Fig. 16. Size distributions of corn starch granules heated to 90°C at different heating rates.
 ■: raw starch, ○: 0.3(°C/min), ▲:15.3, ◆:22.2, ▼:47.7

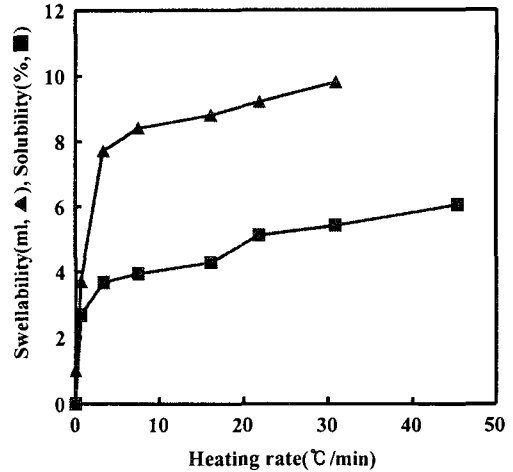


Fig. 17. Effect of heating rates on swellability and solubility of corn starch heated to 90°C at different heating rates.

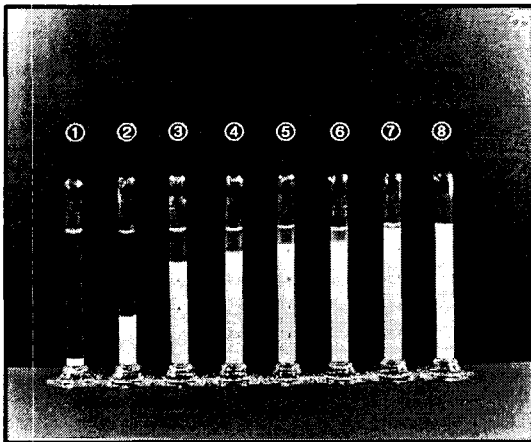


Fig. 18. Sedimented volume of 3% corn starch dispersions heated to 90°C at different heating rates. ① unheated, ② 0.1, ③ 3.3, ④ 7.5, ⑤ 16.1, ⑥ 21.9, ⑦ 30.9, ⑧ 45.5 (°C/min)

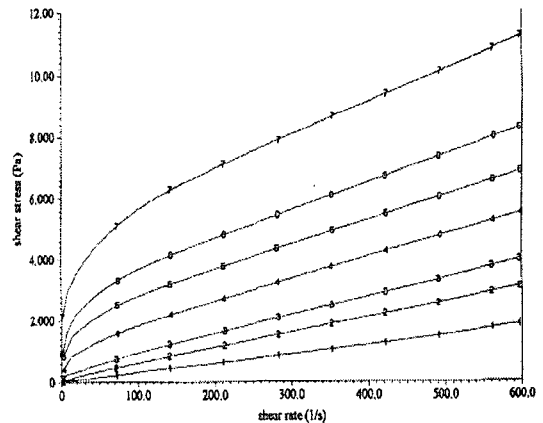


Fig. 19. Flow curves of 3% corn starch dispersions heated to 90°C at different heating rates. Heating rate (°C/min) 1: 1.4, 2:3.3, 3: 7.5, 4: 16.4, 5: 21.9, 6: 30.9, 7: 45.5

이상의 결과를 종합해 볼 때 가열속도가 증가할수록 전분입자의 크기, 팽윤도 및 용해도가 현저히 증가하였으며 급속히 호화온도대를 통과한 옥수수 전분은 전혀 침강하지 않는 특성을 보였다. 또한 급속히 호화온도대를 통과하여 호화된 전분은 가열속도가 증가할수록 호화점 이동 현상이 관찰되었으며, X-선 회절계로 결정구조는 관찰되지 않았으나 대부분 팽윤된 전분 입자 상태를 유지하고 있었다. 이와 같이 조제된 변성전분 현탁액은 점도 특성이 현저히 변하고, 전분젤의 hardness 증가 및 texture에도 큰 영향을 미쳤다. 따라서, ohmic heating을 전분의 가열변성에 응용하여 새로운 특성을 가진 전분 및 곡류, 서류 등 전분질 소재의 개발이 가능할 것으로 판단된다.

결 론

오늘날 식품 가공 공정에서 한계를 극복할 수 있는 가공기술의 breakthrough를 찾아 보 고자 최근 10여년간 관심을 가지고 연구한 고전압 펄스 전기장, 고압 CO₂ 및 ohmic heating의 작은 연구성과를 정리하였다. 이 모든 결과는 석·박사 대학원생들의 노력의 결 정체로 이들에 감사드리며, 우리나라 식품공학 발전에 조그만 밑거름이 될 수 있도록 미력 하나마 이 분야의 심도있는 연구를 계속할 수 있게 되기를 기대한다.

참 고 문 헌

1. Cho, Won-Il, Do-Un Kim, Young-Suk Kim and Yu-Ryang Pyun : Ohmic heating characterization of fermented soybean pasta and Kochujang, *Korean J. Food Sci. Technol.*, Vol. 26, No. 6, 791-798 (1994)
2. Kim, Jin-Sung and Yu-Ryang Pyun : Extraction of Soybean Milk Using Ohmic Heating, *Korean J. Food Sci. Technol.*, Vol. 12, No. 1, 33-38 (1995)
3. Cho, Won-Il, Yu-Ryang Pyun, Young-Soo Lee and Ik-Boo Kwon : Dewatering of Soybean Milk Residue by Hydraulic Press with Ohmic Heating, *Korean J. Food Sci. Technol.*, Vol. 28, No. 2, 324-329 (1996)
4. Hong, Seok-In, Wan-Soo Park and Yu-Ryang Pyun : Effect of High Pressure Carbon Dioxide in Inactivation of *Leuconostoc* sp., *Korean J. Food Sci. Technol.*, Vol. 29, No. 6, 1202-1207 (1997)
5. Shin, Hae-Hyun and Yu-Ryang Pyun : Inactivation of *Lactobacillus plantarum* by High Voltage Pulsed Electric Fields Treatment, *Korean J. Food Sci. Technol.*, Vol. 29, No. 6, 1175-1183 (1997)
6. Kim, Nam-Hoon, Jung-Kue Shin, Hyung-Yong Cho and Yu-Ryang Pyun : Effects of High Voltage Pulsed Electric Fields on the Extraction of Carotenoid from *Phaffia rhodozyma*, *Korean J. Food Sci. Technol.*, Vol. 31, No. 3, 720 - 726 (1999)
7. Kim, Su-Yeon, Chulkyoon Mok and Yu-Ryang Pyun : Continuously Recycling Sterilization of Yakju (Rice Wine) Using Pulsed Electric Fields, *Korean J. Food Sci. Technol.*, Vol. 31, No. 2, 410 -415 (1999)
8. Shin, Hae-hun and Yu-Ryang Pyun : Cell Damage and Recovery Characteristics of *Lactobacillus plantarum* by High Voltage Pulsed Electric Fields Treatment, *Food Sci. Biotechnol.*, Vol. 8, No. 4, 261-266 (1999)
9. Ha, Koo-Yong, Jung-Kue Shin, Seok-Hoon Lee, Hyung-Yong Cho and Yu-Ryang Pyun : Non-thermal Pasteurization of Carrot Juice by High Voltage Pulsed Electric Fields with Exponential Decay Pulse, *Kor. J. Food Sci. Technol.*, Vol. 31, No. 6, 1577-1582 (1999)
10. Kim, Nam-Hoon, Jung-Kue Shin, Seok-Hoon Lee, Hyung-Yong Cho and Yu-Ryang Pyun : Extraction of Carotenoid from *Phaffia rhodozyma* by Combining Permeabilizing Methods and Pulsed Electric Fields Treatments, *Kor. J. Food Sci. Technol.*, Vol. 31, No. 6, 1529-1535 (1999)

11. Hong, Seok-In, Wan-Soo Park and Yu-Ryang Pyun : Inactivation of *Lactobacillus* sp. from *Kimchi* by High Pressure Carbon Dioxide, *Lebensm.-Wiss. u.-Technol.*, Vol. 30, 681-685 (1997)
12. Shin, J.K. and Pyun, Y.R. : Inactivation of *Lactobacillus plantarum* by Pulsed-microwave Irradiation. *J. Food Sci.*, Vol. 62, No. 1, 163-166 (1997)
13. Hong, S.-I., Y.-J. Kim and Y.-R. Pyun : Acid Tolerance of *Lactobacillus plantarum* from *Kimchi*, *Lebensm.-Wiss. u.-Technol.*, 32, 142-148 (1999)
14. Hong, Seok-In and Yu-Ryang Pyun : Inactivation Kinetics of *Lactobacillus plantarum* by High Pressure Carbon Dioxide, *J. Food Sci.*, Vol. 64, No. 4, 728-733 (1999)
15. Hong, Seok-In., Wan-Soo Park and Yu-Ryang Pyun : Non-thermal Inactivation of *Lactobacillus plantarum* as Influenced by Pressure and Temperature of Pressured Carbon Dioxide, *Intern. J. Food Sci. Technol.*, Vol. 34, 125-130 (1999)
16. Hong, Seok-In and Yu-Ryang Pyun : Membrane Damage and Enzyme Inactivation of *Lactobacillus plantarum* by High Pressure CO₂ Treatment, *Int. J. Food Microbiol.* - (2000) (in printing)
17. 김민홍 : 음가열에 의한 대두단백질의 응고 특성에 관한 연구, 연세대 석사학위논문 (1998. 8)
18. 이석훈 : Ohmic heating 에 의한 급속가열이 전분입자의 팽윤 특성에 미치는 영향, 연세대 박사학위논문 (1999. 8)
19. 정태범 : 고전압 펄스 전기장을 이용한 탁주의 비열 살균에 관한 연구, 연세대 석사학위논문 (1999. 8)
20. 정관재 : 고전압 펄스 전기장을 이용한 우유의 살균, 연세대 석사학위논문 (2000. 2)
21. 하구용 : 고전압 펄스 전기장을 이용한 당근 쥬스의 비열 살균, 연세대 석사학위논문 (2000. 2)
22. 신정규 : 고전압 펄스 전기장에 의한 *Saccharomyces cerevisiae*의 불활성화 연구, 연세대 박사학위논문 (2000. 8)
23. 문권주 : 고전압 펄스 전기장을 이용한 Tyrosinase의 불활성화에 관한 연구, 연세대 석사학위논문 (2000. 12)

