

초음파살균을 위한 실험적 연구

허필우*, 이양래, 임의수

한국기계연구원

The Experimental Research for Ultrasonic Sterilization

Pil Woo Heo*, Yang Lae Lee, Eui Su Lim

Korean Institute of Machinery and Materials

pwheo@mailgw.kimm.re.kr

Abstract

초음파에 의한 살균효과는 SONAR가 대잠수함전에 이용되면서 초음파에 의해 물고기가 죽는 현상으로부터 최초로 확인되었다. 그후 세균을 죽이거나 비활성화하는 방법으로서 초음파에 대한 연구가 오랫동안 수행되어 왔다. 본 논문에서는 음료수의 맛과 향을 유지함으로써 품질을 개선하기 위한 초음파멸균의 기초적 단계로 연구를 수행하였으며, 초음파와 부가적인 열을 이용한 효과와 초음파와 부가적인 압력을 이용한 효과 등을 중심으로 지금까지 초음파살균효과를 분석하였다. 이 분석자료에 근거하여 배양한 대장균에 대해 40kHz 주파수로 살균실험을 수행하였다. 또한 대장균, 일반세균에 대해 주파수와 전기적 power의 변화에 따른 살균실험을 수행하였다.

I. 서론

초음파에 의한 살균효과는 sonar가 대잠수함전에 이용되면서 초음파에 의해 물고기가 죽는 현상으로부터 최초로 확인되었다. 그후 세균을 죽이거나 비활성화하는 방법으로서 초음파를 이용한 연구가 오랫동안 수행되어 왔다. 1960년대의 연구(Hughes 및 Nyborg, 1962)에서는 미생물의 세포와 초음파간의 상호작용에 관한 메카니즘을 이해하는데 연구의 주안점이 두어졌으며, cavitation 현상과 그의 파괴력, 국소가열현상과 free radical의 형성 등의 문제도 연구내용에 포함되어 있다. 1975년 Alliger는 초음파의 순간적인 조사에 의해 세포 벽으로부터 cytoplasmic membrane이 유출되면서 세포 벽이 얇아지게 된다는 연구결과를 발표하였으며, 1980

년대에 들어서는 초음파와 열을 동시에 가했을 때의 효과에 대한 연구(Evans, 1986; Ordonez, 1987; Garsia, 1989; Wrigley, 1992)와 화학살균제를 동시에 사용했을 때의 효과에 대한 연구(Lillard, 1993)들이 주류를 이루고 있다.

이제까지의 연구결과들을 분석해보면 대체적으로 다음과 같은 결론을 얻을 수가 있다.

- 1) 실험실차원에서 초음파와 열(약 60℃)을 동시에 가했을 때의 살균효과는 충분히 입증되고 있다. 단, 미생물의 종류에 따라 이 효과는 서로 차이가 있다.
- 2) 이러한 연구결과를 식품 등의 제조공정에 직접 적용하기 위해서는 처리용량을 증대시키고 처리 방식도 batch식 대신에 continuous flow 방식으로 하는 등의 실용화 단계가 숙제로 남아있다.
- 3) 특히, 1986년의 Evans의 연구결과는 apple cider를 1134 l/hr로 살균처리함으로써 실용화에 근접한 예로 볼 수 있다.

본 연구는 이와 같은 배경하에서 초음파를 이용한 처리조 개발에 착수하였는바, 본 논문에서는 batch type으로서 clean bath형(약 2ℓ 용량) 초음파실험장치를 제작한 후 기초실험을 수행하여 살균효과를 확인하였다.

II. 본론

제 1절 미생물에 미치는 초음파영향

1. 살균원리

그림 1과 같이 강한 초음파가 수중에 전달될 때 부압(negative pressure)이 걸리는 지점에서 cavitation bubble이 발생하게 되며, 그 내부는 진공으로 되어있기

때문에 붕괴시 그 내부에서는 약 5000℃, 1000기압의 초고온·고압의 특수한 초임계반응장 또는 bomb reaction condition이라고 불리는 조건이 생성된다. 이러한 cavitation의 interface에서는 약 2000℃의 고온과 강한 충격파가 존재하게 되며, cavitation 주변의 bulk media에서는 강한 충격파와 변형력이 동시에 존재하게 된다. 따라서 초음파의 살균효과는 cavitation 붕괴시 발생하는 이러한 강한 충격파에 의한 것으로 분석되고 있으며, 일반적으로 cavitation은 매질의 viscosity 등의 물성에 따라 발생양상이 다르기 때문에 초음파의 주파수와 강도를 적절히 선택하여야 한다.

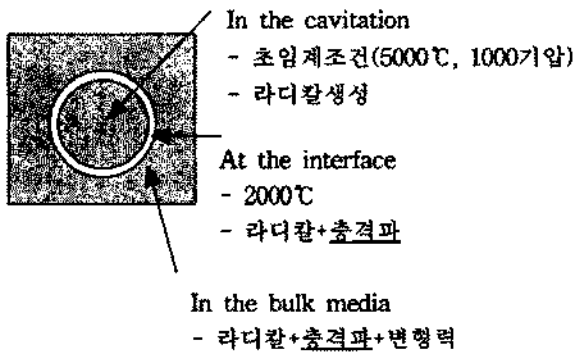


그림 1. cavitation 구조

2. 초음파에 대한 세균의 sensitivity

일반적으로 세균의 종류에 따라 초음파에 의해 영향을 받는 정도가 다르며, 세포의 크기가 큰 것이 초음파에 의한 사멸효과가 더 크고, rod 모양의 세균이 coccus 모양보다 사멸효과가 더 좋다.

한편, bacillus 같이 포자를 만드는 미생물은 식물성 박테리아와는 달리 열이나 초음파에도 영향을 덜 받는 것으로 보고되고 있다.

3. 초음파와 부가적인 열(50~60℃)을 이용한 효과

Massachusetts 대학의 David A. Evans는 1986년에 그림 2와 같은 연구결과를 발표하였다. continuous flow 방식을 이용하여 과일음료에서의 Saccharomyces Yeast를 살균처리한 결과로서 초기의 약 10^5 cells/ml의 세균수가 6분 후 1 cells/ml 이하로 줄어들었으며, 특히 시간당 1134 l의 처리용량을 구현하여 현재까지는 실용화에 가장 접근한 결과로 분석된다.

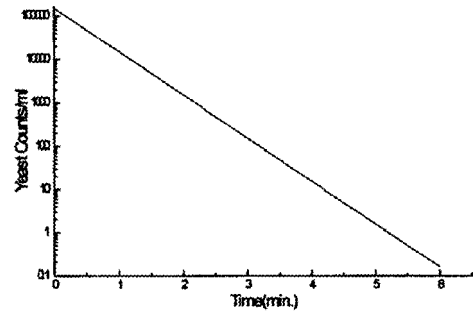


그림 2. 과일음료에서의 Saccharomyces Yeast류의 사멸효과(온도54℃, 40 kHz pentagonal형 처리조, 18.9 l/min)

4. 초음파와 부가적인 압력을 이용한 효과

그림 3은 Chlorella에 대해서 850 kHz, 300W의 초음파와 압력을 이용하여 실험한 결과로서, 4기압까지는 사멸효과가 급격히 증가하며 처리시간이 6분 이상일 경우에는 거의 100%에 가까운 사멸효과를 보이고 있다. 각 parameter의 적당한 값으로서 초음파강도는 water solution에서 $0.5\sim 10W/cm^2$, organic solvent에서 $0.5\sim 3W/cm^2$, 압력 3~7기압, 주파수 20~200 kHz, 온도는 40~50℃를 제안하고 있다.

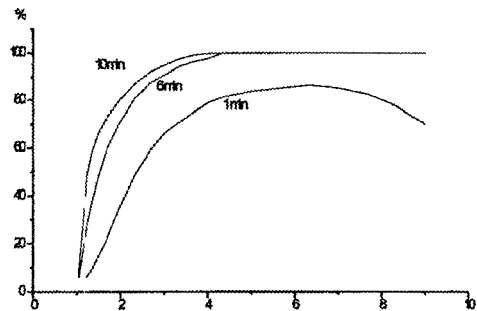


그림 3. 초음파와 부가압력에 의한 사멸효과

제 2 절 Cavitation의 메카니즘

Cavitation은 일반적으로 유체속의 기포의 발생을 말하는데 기포의 공진주파수로 음장을 가해주면 기포가 발생된다. 초음파를 이용한 살균시스템에 필요한 적합한 음원의 주파수와 음압레벨의 특징을 알아보았다.

표면 장력을 σ , 기포의 반지름을 R_B , 외부 정압을 P_0 , P_A 는 기포 여기를 위한 최소 음압이라 할 때 P_A 는 기포 크기의 함수로 표현하면 다음과 같다.

$$P_A = P_0 + 8 \frac{\sigma}{9} \left[\frac{3\sigma}{2(P_0 + 2\sigma/R_B)R_B^3} \right]^{1/2}$$

살균에 쓰일 반지름이 R_r 인 기포의 공진주파수는 다음과 같다.

$$f = \frac{1}{2\pi R_r} \left\{ \frac{3xP_0}{\rho} \left[1 + X_r \left(1 - \frac{1}{3x} \right) \right] \right\}^{1/2}$$

$$\text{단, } X_r = \frac{2\sigma}{P_0 R_r}$$

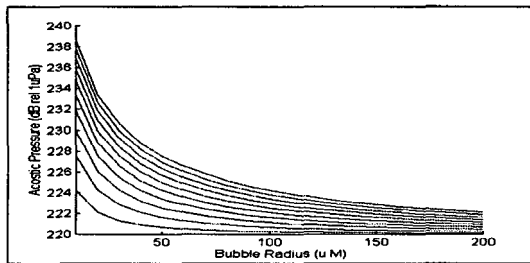


그림 4. 표면장력에 따른 기포여기를 위한 최소음압과 기포 반지름간의 관계

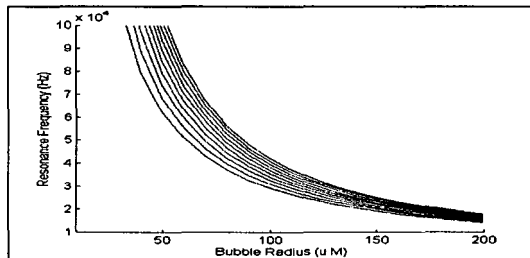


그림 5. 표면장력에 따른 기포의 반지름과 공진주파수와의 관계

그림 4와 그림 5에서 보면 반지름이 수십 μm 정도의 기포를 여기시키기 위해서는 최소 225dB 이상의 음압레벨이 필요하다. 원하는 기포와의 공진을 위해서는 약 10-100kHz의 주파수를 쓰는 것이 타당하다.

제 3 절. 살균 실험

1. 시간에 따른 살균 효과

본 연구를 통해 제작한 초음파 살균 실험용 시스템

(압전소자 Type)을 이용하여 실험실에서 살균실험을 수행하였다. 본 실험은 초음파멸균의 예비 단계로서 실험조건은 다음과 같다.

- 초음파 처리조건 : 40 KHz, 40W
(살균조의 Electric Power)
- 시 료 : 배양한 대장균을 멸균수로 희석한 액, 약 1 ℓ
- 실험방법 : 시료를 얇은 비닐봉지에 넣은후 물을 약간 채운 살균조에 투입하여 실험함
- 초기 대장균의 수 : 1.1×10^7
- 처리시간 : 30분 간격으로 2시간
- 시료의 자연온도 상승 : 처리전 31℃
처리후 59℃

실험결과는 그림6에 나타내었다. 2시간후의 살균효과는 약 99% 이었으며, 30분까지는 살균효과가 급상승하다가 점차 포화되는 경향을 보이고 있다.

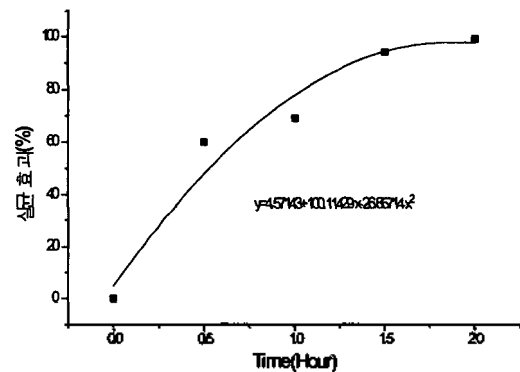


그림 6. 시간에 따른 살균효과

2. 주파수에 따른 살균효과

주파수와 살균조에 공급되는 Electric Power에 따른 살균 실험을 하였으며, 실험조건은 다음과 같다.

- 초음파 주파수 : 28, 40, 80 KHz
- Electric Power : 20, 40, 80 W
- 세균의 종류 : 대장균, 일반세균
- 세균의 초기치 : 대장균 1.5×10^7
일반세균 7.0×10^7
- 처리시간 : 30분
- 시료의 자연온도 상승 : 20W /처리전 31~34℃, 처리후 36~38℃

40W / 처리전 31~34℃, 처리후 39~41℃

80W / 처리전 31~34℃, 처리후 48~50℃

- 기타 실험조건 : 전과 동일함

실험결과는 그림 7, 8에 나타내었다. 대장균의 경우는 80KHz의 경우가 평균적으로 가장 높은 살균효과를 보이고 있으며 최고치 (97%) 역시 80 KHz, 80 W에서 나타나고 있다.

일반 세균의 경우에는 40 KHz가 평균적으로 가장 높은 살균효과를 보이고 있으며 최고치 (98%) 역시 40 KHz, 40W에서 형성되고 있음을 알수가 있다. 한편, 살균조에 공급되는 Electric Power 와 살균효과의 상호관계가 일정치 않게 나타난 것은 실험방법상의 오차로 분석되며 추후 보완할 예정이다.

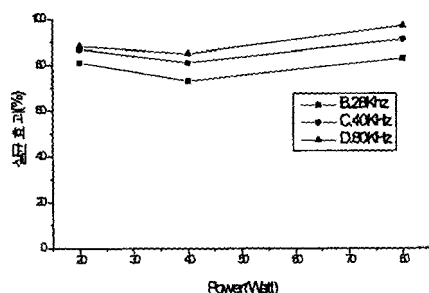


그림 7. 대장균의 살균효과

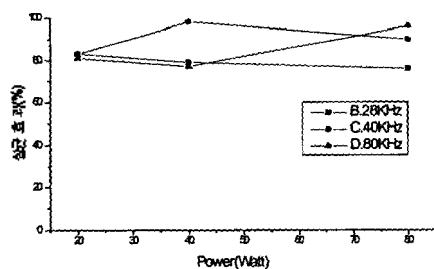


그림 8. 일반세균의 살균효과

III. 결 론

이상으로 초음파에 의한 살균 메카니즘과 제작된 소형 살균실험장치를 이용한 살균 실험내용을 살펴 보았다. 본 연구결과의 내용을 정리하면 다음과 같다.

1) 초음파를 이용하면 비교적 낮은 열 (50~60℃) 에서

도 멸균이 가능하다. 단, 미생물의 종류에 따라 초음파에 대한 내성이 다를수 있으므로 대상 미생물의 선정은 아직 신중히 할 필요가 있다.

- 2) 초음파 멸균에서의 관건은 소형실험장치로부터 얻어진 실험실차원의 연구결과를 상용화 규모로 발전시키는 데 있는 것으로 분석되므로 앞으로 이점에 중점을 두고 연구가 진행되어야 할 것으로 보인다.
- 3) 압전소자를 이용한 소형 살균 실험장치 (28, 40, 80 KHz 겸용, 약 1ℓ 용)를 제작하여 살균실험을 한 결과, 대장균은 97% (80 KHz, 80 W, 30분), 일반세균은 98% (40 KHz, 40 W, 30분)까지의 살균효과를 나타내었으며, 실험장치 및 방법은 앞으로 좀더 보완할 예정이다.
- 4) 앞으로 대상 식품이 구체적으로 선정되면 그 식품에 있을 수 있는 미생물을 대상으로 최적의 멸균 조건 (주파수, 에너지 등)을 찾는 연구가 향후 수행될 예정이다.
- 5) 본 연구를 통하여 초음파 멸균기 개발을 위한 기반 기술이 어느정도 확보되었으며, 향후 연구에 유용하게 될 것이다.

참고문헌

1. D. A. Evans, 'Application of ultrasound for disinfection and pasteurization', Dep. of Food Science and Nutrition Univ. of Massachusetts, pp. 259-271, 1986
2. M. L. Garcia, J. Burgos, B. Sanz, J. A. Ordonez, 'Effect of heat and ultrasonic waves on the survival strains of bacillus subtilis', J. of Applied Bacteriology 67, pp. 619-628, 1989
3. J. A. Ordonez, M. A. Aguilera, M. L. Garcia, B. Sanz, 'Effects of combined ultrasonic and heat treatment (thermoultrasonication) on the survival of a strain of staphylococcus aureus', J. of Dairy Research, v.54, pp.61-67, 1987
4. D. M. Wrigley, N. G. Llorca, 'Decrease of salmonella typhimurium in skim milk and egg by heat and ultrasonic wave treatment', J. of Food Protection, v.55, n.9, pp 678-680, 1992
5. H. S. Lillard, 'Bactericidal effect of chlorine on attached salmonellae with and without sonification', J. of Food Protection, v.56, n.8, pp 716-717, 1993