

고전압 Exponential Decay Pulse를 이용한 당근주스의 非熱 살균

하구용 · 신정규 · 이석훈 · 조형용* · 변유량

연세대학교 생명공학과 및 생물산업소재연구센터, *전주기전여자대학 식품과학과

Non-thermal Pasteurization of Carrot Juice by High Voltage Pulsed Electric Fields with Exponential Decay Pulse

Koo-Yong Ha, Jung-Kue Shin, Seok-Hoon Lee, Hyung-Yong Cho* and Yu-Ryang Pyun

Department of Biotechnology & Bioproducts Research Center, Yonsei University,

*Department of Food Science and Technology, Chonju Kijeon Women's College

Abstract

Carrot juice inoculated with 2×10^8 cfu/mL of *Escherichia coli* was treated with pulsed electric fields(PEF) for the purpose of a development of new cold pasteurization processes. Inactivation of *E. coli* in carrot juice increased with increase in intensity of the electric field strength and treatment time. The cells were suspended at concentration of ca. 2×10^8 cells per ml. A reduction of 4D was obtained at 40 kV/cm and 256 exponential decay pulses at room temperature. Critical electric field strength(E_c) and treatment time(t_c) needed for inactivation of *E. coli* were 11.74 kV/cm and 3.6 μ s at room temperature, respectively. The combination of PEF and thermal treatment inactivated *E. coli* more effectively. The reductions of up to 5.5D were observed when the carrot juice was treated with PEF of 22.5 kV/cm and 205 μ s at 50°C. PEF treatment did not effect in color, pH, °Brix, titratable acidity and α -, β -carotene contents of carrot juice.

key words : high voltage pulsed electric fields (PEF), carrot juice, *Escherichia coli*, pasteurization

서 론

최근 소비자들의 건강과 천연 지향적인 가공 식품에 대한 선호가 증가함에 따라 야채 주스에 대한 관심이 높아지고 있다^(1,2). 우리나라에서는 당근을 주로 생식용 또는 라면 스프용으로 이용하고 있었으나 최근에 주스로의 개발이 활발히 이루어지고 있다.

당근 주스의 제조 공정 시 당근 주스의 고유의 pH가 6.1~6.5 정도의 중성범위에 위치하기 때문에 매우 높은 온도에서 처리해야만 적절한 살균효과를 기대할 수 있다^(3,4). 이러한 과도한 열처리 공정단계를 거치게 되면 당근주스의 영양성분, 풍미 및 품질저하를 초래하게 된다. 또한 유통과정과 저장중의 유해미생물의 증식을 방지하기 위하여 pH를 4.0이하로 낮추어서 시판하고 있다.

이런 문제점들을 해결하기 위하여 기존의 방법들을 대체할 만한 여러 가지 신기술들이 연구되고 있다. 현

재 식품산업에서 개발되고 있는 비열처리 기술은 고전압 펄스 전기장(high voltage pulsed electric fields, PEF), 진동자기장, 초고압, 광펄스, 마이크로웨이브^(5,6), 이온화조사, 초음파 등을 이용한 물리적 방법과 antimicrobials, bacteriocins, 이산화탄소, 양이온 다중고분자와 같은 화학 물질 및 세포벽 분해효소 등이 있다⁽⁷⁾. 이와 같은 여러 가지 방법 중에서 고전압 펄스 전기장을 이용한 미생물의 불활성화는 처리 중 온도가 거의 상승하지 않고, 처리 시간이 짧으며, 연속 처리가 가능하고, 처리 후에 식품의 물리적, 화학적 및 영양학적 특성들이 거의 변화지 않기 때문에 최근 관심이 집중되고 있는 신기술이다⁽⁸⁻¹¹⁾.

고전압 펄스 전기장에 의해 미생물에 일어나는 현상은 크게 electrofusion과 electroporation으로 나눌 수 있다⁽¹²⁾. Electrofusion은 고전압 펄스 전기장을 걸어주면 일시적으로 세포의 특정 부분에서 세포막이 불안정한 상태로 변하면서 주변의 세포들과 달라붙는 현상을 말한다. 고전압 펄스 전기장에 의해 electrofusion에 관여하는 세포들의 수는 전기장의 세기, 세포의 크기, 세포의 종류 등에 의해 결정된다. Electroporation

Corresponding author : Department of Biotechnology and Bioproducts Research Center, Yonsei university, Seoul 120-749, Korea

은 고전압 펄스 전기장을 걸어주었을 때에, 세포막이 불안정한 상태에서 세포막에 있는 구멍이 커지면서 세포 주변의 배지에 잔존하고 있는 외부물질들의 투과성이 증가하는 현상을 말한다. 매우 짧은 시간동안 크지 않은 전기장의 세기를 걸어주면 세포는 다시 원래 상태로 회복이 된다. 이런 현상을 이용해 microinjection technique에 널리 이용되고 있다. 그러나 임계점 이상의 전기장의 세기를 걸어주게 되면 세포는 비가역적인 구멍을 형성하며 불활성화된다.

고전압 펄스 전기장 처리기술은 개발의 역사는 짧지만 비가열 공정이므로 특히 영양학적 손실을 최소화할 수 있고, 고품질의 제품을 생산할 수 있다는 점에서 잠재력이 큰 첨단 가공기술의 하나인 것으로 평가되고 있지만 이 분야의 국내 연구는 극히 초보적인 수준에 불과한 실정이다⁽¹³⁾.

따라서 본 연구에서는 자체 제작한 고전압 펄스 전기장 장치를 이용하여 당근주스의 주요 변패 미생물인 대장균(*Escherichia coli*)의 불활성화와 식품화학적 품질특성을 연구하였다.

재료 및 방법

재료 및 사용균주

당근 주스는 시중에서 유통되고 있는 G사의 제품을 구입하여 사용하였다. 균주는 *Escherichia coli* ATCC 10536이며, nutrient broth(Difco, USA)를 사용하여 37°C에서 12시간 전배양한 배양액을 500mL 배지에 2%(v/v) 접종한 후 37°C에서 150 rpm으로 12시간 동안 진탕 배양하였다. 균체배양액을 4000 rpm에서 10분간 원심분리한 후 생리식염수로 2회 세척하고 구입한 당근 주스에 초기균수가 108 CFU/mL가 되게 재현탁하여 실험에 사용하였다. 균체 배양액 시료는 매번 동일 조건에서 새로이 배양하여 사용하였다.

고전압펄스전기장(PEF) 처리

PEF 발생장치는 김⁽¹⁴⁾등이 사용했던 것과 동일한 장치를 이용하였으며 Oscilloscope(Lecroy Digital Oscilloscope, Model 9300, USA)를 이용하여 처리 용기에 형성되는 파형과 전파의 세기를 측정하였다.

고전압펄스전기장 처리는 자체 제작한 처리용기를 사용하여 실시하였으며, 이때 사용된 파형은 exponential decay pulse로 펄스폭은 0.8 μ s였다. PEF처리용기는 절연을 위하여 acetal을 사용하였으며, 전극 재질은 stainless이며 전극간격이 0.4 cm이며, 처리부피는 1 mL이다. 균체가 현탁된 시료는 처리용기에 넣은 후, 전

기장(10~40 kV/cm)과 처리시간(8~256회, 6.4~204.8 μ s)을 변화시키면서 처리하였다. 온도별 실험은 자체 제작한 처리용기에 water bath를 이용하여 처리용기 외부의 water jacket에 냉각수를 순환시켜 일정하게 온도를 유지시켰다. 온도의 변화는 10~50°C까지 10°C단위로 변화시켰으며 전기장의 세기는 22.5kV/cm, 펄스수는 256회로 하였다.

생균수의 측정

PEF 처리전후의 생균수를 pour plate method로 측정하여, CFU/mL로 나타내었다. 생균수를 측정할 때 한 천평판상의 colony수가 30~300개가 나오도록 희석하였으며, 각 희석배수에서 3번 반복하여 측정하였다.

효모와 곰팡이는 potato dextrose agar에서 3반복으로 30°C에서 3일간 배양하였다. 총 세균수는 plate count agar에서 역시 3반복으로 37°C에서 3일간 배양한 후 균수를 측정하였다.

pH

pH는 pH meter(model 520A, Orion, USA)로 상온에서 세 번 반복하여 측정하여 평균치를 구하였다.

가용성 고형분(°Brix)

가용성 고형분(soluble solid)은 당도계(Hand refractometer, model N-1E, range: 0~32%, Atago, Japan)를 이용하여 상온에서 측정하였다.

적정산도

당근주스의 적정산도는 2g의 시료에 10 mL의 증류수를 가한 후 0.1 N NaOH로 적정하여 사과산(%)으로 나타내었다⁽¹⁵⁾.

색도측정

당근주스의 색도는 색차계(Color and Color difference meter, Chromometer CR 200, Minolta Co., Japan)를 이용하여 L(명도), a(적색도), b(황청도)값을 3회 반복 측정하여 평균치를 구하였다.

α - β -carotenes의 분석

α -와 β -carotene 함량은 HPLC법⁽¹⁶⁾에 의하여 분석하였다. 100 mL separation funnel에 당근주스 4mL, 추출용액(hexane:acetone: absolute alcohol: toluene = 10: 7: 6: 7 v/v/v/v) 30 mL와 40% methanolic KOH 6 mL를 넣은 후 1분간 흔들어 준 다음 16시간동안 암실에서 saponification를 하였다. 30 mL hexane과 동량의 10%

Na₂SO₄를 넣고 1분간 흔들어 준 다음 두층이 분리될 때까지 압실에 넣어 두었다. 상등액은 진공증발 농축기를 이용하여 건조시킨 후에 10 mL의 methanol과 methylene chloride 혼합용액(45 : 55 v/v)으로 다시 용해시켜서 0.2 μm membrane filter에 여과 한 후 HPLC 분석용 시료로 사용하였다.

HPLC 시스템은 Waters사의 Model M-45 solvent delivery system과 Hewlett Packard사의 Model 3396 SERIES intergrator, Young In사의 Model M720 Absorbance Detector, Capcell pak C₁₈ column (Shiseido, 4.6×250 mm)로 구성되어 있다. 검출 파장은 450 nm였으며 이동상은 acetonitrile : methanol : acetone (40 : 20 : 20)이며, 유속은 1.5 mL/min이었다. 검량선은 Sigma사의 α-(type V), β-(type IV) carotene을 구입하여 methanol과 methylene chloride 혼합용액(45 : 55 v/v)에 일정량을 용해시켜 HPLC로 분석하여 피크면적으로 작성하였다.

통계분석

생균수, pH, 가용성고형분, 적정산도, 색도, α-β-carotenes등의 data는 ANOVA 분석을 하여 유의성을 검증하였다.

결과 및 고찰

전기장세기와 처리시간에 따른 살균효과

일반적으로 PEF 처리에 의하여 미생물을 불활성화시킬 때 영향을 주는 인자는 전기장 세기와 처리시간으로서 특히 전기장 세기가 큰 영향을 미친다고 보고⁽¹⁷⁾ 되었으며, 미생물의 크기가 클수록 그 효과는 큰 것으로 알려져 있다^(18,19). 이는 세포막의 전위차 (trans-membrane potential)가 미생물의 크기가 증가함에 따라 커져서 미생물의 불활성화가 증대되는 것으로 설명하고 있다.

전기장 세기가 당근주스의 살균에 미치는 효과를 검토하기 위하여, 펄스수는 8~256회로 하고 각각 전기장 세기를 변화시키면서 실험하여 Fig. 1에 나타내었다. 당근주스가 살균되기 시작하는 최소 전기장세기인 임계전기장 세기(Ec)를 외삽한 결과 11.74 kV/cm였다. 이 이상의 전기장세기에서는 전기장의 세기가 증가할수록 지수적으로 살균효과는 증가하였으며 40 kV/cm의 전기장세기에서는 약 4 log 정도의 살균효과를 나타내었다.

처리시간에 따른 E. coli의 불활성화를 살펴보면 다음과 같다(Fig. 2). 그 결과 전기장의 세기 40 kV/cm 처리시간 204.8 μs에서 약 4 log 정도의 살균효과를 나

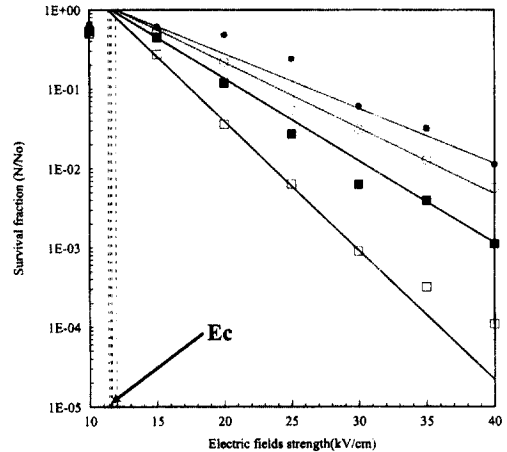


Fig. 1. Effect of electric field strength(E) on inactivation of *E. coli* suspended in carrot juice by pulsed electric field (0.8 μs pulse width) treatment at room temperature. Pulse number ● ; 32, ○ ; 64, ■ ; 128, □ ; 256

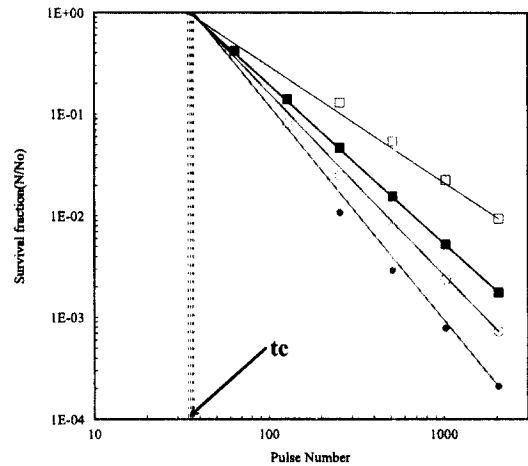


Fig. 2. Effect of treatment time(μs) on inactivation of *E. coli* suspended in carrot juice by pulsed electric field (0.8 μs pulse width) treatment at room temperature. □ ; 25 kV/cm ■ ; 30 kV/cm ○ ; 35 kV/cm ● ; 40 kV/cm

타내었다. 이러한 결과로 볼 때 처리시간과 전기장의 세기를 높일수록 살균효과는 증대된다. Jayaram 등⁽¹⁷⁾은 처리시간의 영향을 검토한 결과 Survivor fraction (log (N/No))은 처리시간에 비례한다고 보고하였다. 본 연구에서도 log(N/No)와 log T는 직선적으로 감소하며, 임계처리시간 tc를 구한결과 3.6 μs였다.

처리온도에 따른 효과

PEF 처리에 의한 미생물의 불활성화 연구에서 전기장세기 및 처리시간이 중요한 인자이지만, 이외에 pH

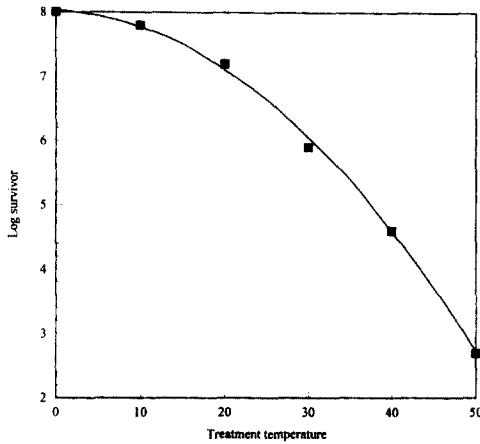


Fig. 3. High kill levels of *E. coli* suspended in carrot juice by the combined treatment with heating and PEF. Electric field strength : 22.5 kV/cm, pulse period : 2 sec

와 처리온도 등을 병합하여 처리하여 그 효율을 높이는 연구가 보고⁽²⁰⁾되고 있다. pH의 경우 알칼리보다는 산성에서, 그리고 온도는 높을수록 그 효과가 증가된다^(20,21). 본 실험에서도 처리온도의 효과를 보기 위하여 전기장세기와 주파수를 고정시키고, 열에 의한 처사효과를 배제하기 위하여 처리온도를 치사온도 이하인 10, 20, 30, 40, 50°C로 변화시키면서 PEF 처리를 하여 *E. coli*의 살균효과를 측정하였다(Fig. 3). 그 결과 온도가 상승함에 따라 생존율이 감소하여 50°C, 205 μ s처리 시에 6 log까지 생존수가 감소되었다. 이는 온도증가에 따라 균체 사멸속도가 증가된 다른 보고⁽²¹⁾와 동일한 결과로 PEF 처리 시에 온도처리를 병합하므로써 미생물의 불활성화 정도를 향상시킬 수 있음을 알 수 있었다. 이와 같은 결과는 처리시료의 온도가 균체막의 유동성에 영향을 주어, 저온에서의 세포막 인지질은 밀접하게 충전된 rigid gel 구조를 가지고 있으나 온도가 높아지면 세포막은 약간 느슨한 구조의 liquid crystalline 구조를 가지게 되며, 또한 온도가 상승하면 지방의 측면확산속도가 증가하게 되어 세포막 이중층의 두께가 감소하게 되고 따라서 고온에서는 상대적으로 세포막은 파괴되기 쉬어지게 되어, 고온에서 세포막의 이와 같은 변화가 고전압 전기장하에서 세포막 지질층의 구조적 변화를 촉진하여 세포막의 파괴를 보다 쉽게 일으키고, 따라서 osmotic shock을 받아서 세포의 사멸이 촉진되는 것으로 설명할 수 있다⁽¹⁷⁾.

pH, 가용성고형분(°Brix), 적정산도의 변화

처리하지 않은 시판주스를 대조구로 하고 실온에서

Table 1. Effects of PEF treatment on pH, °Brix and titratable acidity of carrot juice

Sample	pH	°Brix	Titratable acidity(%)
Control ¹⁾	4.3	10	0.469
PEF	4.31	9.8	0.458
PEF+50°C	4.32	9.8	0.464
Heating 50°C	4.35	9.8	0.462

¹⁾Untreated carrot juice

Table 2. Effects of PEF treatment on color of carrot juice.

Sample	Color		
	L	a	b
Control ¹⁾	12.63	+20.06	+21.68
PEF	12.81	+20.04	+22.01
PEF+50°C	12.53	+19.92	+21.56
Heating 50°C	12.62	+19.93	+21.71

¹⁾Untreated carrot juice

PEF처리 주스, 50°C 열병합 PEF처리 주스, 50°C 열처리 주스의 pH, 가용성고형분(°Brix), 적정 산도를 측정 한 결과는 Table 1과 같다. 무처리 주스의 pH는 4.30이었고 처리시료들도 pH의 변화가 없었다. 50°C 열처리 당근주스만이 pH가 0.05정도 증가되는 경향을 보였다. 가용성 고형분(°Brix)은 대조구는 10이고 다른 처리구들은 9.8로 거의 변화가 없었는데 이는 PEF 처리와 저온 열처리에 의한 당과 아미노산의 용출유실이 없는 것으로 추정된다⁽¹⁵⁾.

적정산도는 대조구가 0.469이었으며 다른 처리구들도 거의 차이가 없었다. 열병합 PEF처리는 당근주스의 pH, 가용성고형분(°Brix), 적정산도를 변화시키지 않는다는 것을 알 수 있었다.

색도변화

시판주스를 대조구로 하고 실온에서 PEF처리 주스, 50°C 열병합 PEF처리 주스, 50°C 열처리 주스의 명도(L값), 적색도(a값), 황청도(b값)를 측정한 결과는 Table 2와 같다. 명도는 모든 처리구들이 거의 비슷하였으나 50°C 열병합 PEF처리 주스만이 약간 낮았다. 적색도와 황청도는 모두 비슷하였다. Chen⁽¹⁶⁾등은 가열살균에서의 당근 주스의 색도 변화를 관찰한 결과 열처리한 당근 주스가 많은 색도 변화를 보였음을 보고하였다. 따라서 PEF처리는 가열 살균 당근 주스보다 색도를 변화시키지 않는다는 것을 알 수 있다.

α - β -carotene의 함량 변화

시판주스를 대조구로 하고 실온에서 PEF처리 주스, 50°C 열병합 PEF처리 주스, 50°C 열처리 주스의 α - β -

Table 3. α - and β -carotene contents and vitamin A activities of the carrot juices by HPLC.

Carotene content	Treatment							
	Control ³⁾	s.d ⁴⁾	PEF	s.d	PEF+50°C	s.d	Heating 50°C	s.d
α -carotene ($\mu\text{g/mL}$)	30.27	1.01	30.11	0.99	29.62	0.91	29.08	0.90
(RE/mL) ¹⁾	2.51		2.50		2.46		2.41	
β -carotene ($\mu\text{g/mL}$)	65.65	4.02	65.21	3.74	61.11	0.88	59.40	0.82
(RE/mL)	10.96		10.89		10.20		9.92	
Vitamin A content ²⁾ (RE/mL)	13.47		13.39		12.66		12.33	

¹⁾RE represents retinol equivalent

²⁾Vitamin A contents from α - and β -carotene

³⁾Untreated carrot juice

⁴⁾Standard deviation

carotenes 함량을 측정 한 결과는 Table 3과 같다. 모든 처리구들이 control과 비교하여 볼 때 약간의 감소를 보이고 있지만 함량의 변화는 거의 관찰되지 않았다($p < 0.05$). α -carotene에 경우 제일 손실이 많았던 것은 50°C 열처리 당근주스로 약 0.1 RE/mL의 감소를 보였다. β -carotene도 제일 손실이 많았던 것은 50°C 열처리 당근주스로 약 1.04 RE/mL의 감소를 나타냈었다. Chen 등⁽¹⁶⁾이 가열처리한 당근 주스의 α, β -carotenes 함량을 분석한 결과, 무처리구에 비해 많은 감소가 일어난 것을 볼 수 있었다. 이와 같은 결과로 볼 때 PEF 처리는 당근주스의 영양성분인 α, β -carotene의 함량변화를 일으키지 않는다는 것을 알 수 있었다.

요 약

자체 제작한 고전압 펄스 전기장 장치를 이용하여 당근주스의 주요 변패 미생물인 대장균(*Escherichia coli*)의 불활성에 미치는 전기장 세기, 처리시간, 온도 등을 관찰하고 품질변화에 관하여 연구하였다. *E. coli*의 불활성에 필요한 최소 전기장세기인 임계전기장 세기(Ec)는 11.74 kV/cm, 최소처리시간(tc)는 3.6 μ s이었다. 사멸효과는 전기장의 세기가 클수록, 처리시간이 길수록 그리고 처리온도가 높을수록 증가하였다. 당근주스의 pH, 가용성 고형분 ($^{\circ}$ Brix), 적정산도는 거의 변화가 없었다. 색도는 50°C 열병합 PEF처리 주스만이 약간 감소하는 경향을 보였지만 다른 처리구들은 변화가 거의 없었다. α, β -carotene의 함량도 거의 변화가 없었다.

문 헌

1. Peto, R., Doll, R., Buckley, J.D. and Sporn, M.B. Can dietary β -carotene materially reduce human cancer rates Nature 290: 201-209 (1981)
2. Krinsky, N.I. The evidence for the role of carotenes in

preventative health. Clin. Nutr. 7: 107-110 (1988)

3. Ogunlesi, A.T. and Lee, C.Y. Effect of thermal processing on the stereo-isomerization of major carotenoids and vitamin A value of carrots. Food Chem. 4: 311-320 (1979)
4. Panalaks, T. and Murray, Y.K. Effect of processing on the content of carotenoids isomers in vegetables and peaches. J. Ins. Can. Technol. 3: 145-152 (1970)
5. Mertens, B. and Knorr, D. Developments of nonthermal processes for food preservation. Food Technol. 46(5): 124-133 (1992)
6. Qin, B., Pothakamury, U.R., Vega, H., Martin, O., Barbosa-Canovas, G.V., and Swanson, B.G. Food pasteurization using high-intensity pulsed electric fields. Food technol. 49(12): 55-60 (1995)
7. Ray, B. Control by nonthermal methods, pp. 441-460. In: Fundamental Food Microbiology. CRC Press, New York, USA (1996)
8. Castro, A.J., Barbosa-Canovas, G.V. and Swanson, B.G. Microbial inactivation of foods by pulsed electric fields. J. Food Proc. Preserv. 17: 47-73 (1993)
9. Kalchayanada, N., Sikes, T., Dunne, C.P. and Ray, B. Hydrostatic pressure and electroporation have increased bactericidal efficiency in combination with bacteriocins. Appl. Environ. Microbiol. 60(11): 4174-4177 (1994)
10. Palaniappan, S. and Sastry, S.K. Effects of electricity on microorganism: a review. J. Food Proc. Preserv. 14: 393-414 (1990)
11. Cho, H.Y., Shin, J.K. and Pyun, Y.R. Nonthermal food process technology by high voltage pulsed electric fields. Food Sci. Ind. 29(3): 28-35 (1996)
12. Chang, D.C., Chassy, B.M., Saunders, J.A. and Sowers, A.E. Guide to electroporation and eletrofusion. Academic Press Inc., New York, USA (1992)
13. Kim, K.T., Kim, S.S. and Lee, Y.C. Changes in quality of PEF treated apple juice during storage. Kor. J. Food Sci. Technol. 31(2): 375-379 (1999)
14. Kim, N.H., Shin, J.K., Cho, H.Y. and Pyun, Y.R. Effects of high voltage pulsed electric fields on the extraction of carotenoid from *Phaffia rhodozymba*. Kor. J. Food Sci. Technol. 31(3): 720-726 (1999)
15. Lim, S.B. and Jwa, M.K. Effect of blanching condition on the quality of carrot juice. J. Korean Soc. Food Sci.

- Nutr. 25(4): 680-686 (1996)
16. Chen, B.H., Peng, H.Y. and Chen, H.E. Changes of carotenoids, color, and vitamin A contents during processing of carrot juice. *J. Agric. Food Chem.* 43(7): 1912-1918 (1995)
 17. Jayaram, S., Castle, G.S.P. and Margaritis, A. Kinetics of sterilization of *Lactobacillus brevis* cells by the application of voltage pulses. *Biotechnol. Bioeng.* 40(11): 1412-1420 (1992)
 18. Mazurek, B., Lubicki, P. and Staroniewicz, Z. Effect of short HV pulses on bacteria and fungi. *IEEE Trans. on Dielectrics and Electrical Insulation* 2(3): 418-425 (1995)
 19. Gaskova, D., Siger, K., Janderova, B. and Plasek, J. Effect of high-voltage electric pulses on yeast cells; factors influencing the killing efficiency. *Bioelectrochem. Bioenerg.* 39: 195-202 (1996)
 20. Vera-Mercado, H., Pothakamury, U.R., Chang, F.J., Barbosa-Canovas, G.V. and Swanson, B.G. Inactivation of *Escherichia coli* by combining pH, ionic strength and pulsed electric field hurdles. *Food Res. Int.* 29(2): 117-121 (1996)
 21. Qin, B.L., Pothakamury, U.R., Barbosa-Canovas, G.V. and Swanson, B.G. Nonthermal pasteurization of liquid foods using high-intensity pulsed electric fields. *Critical Reviews in Food Sci. Nutrition* 36(6): 603-610 (1996)

(1999년 8월 18일 접수)