

Effect of continuous pulsed electric fields treatments on quality of apple juice

Seong-Hwan Ahn¹, Jeong-Ho Lim¹, Young-Ho Kim, Suk Jin Chung², Kee-Jai Park^{1*}

¹Korea Food Research Institute, Seongnam 463-746, Korea

²Department of Food Science and Technology, Seoul National University of Science and Technology, Seoul 139-743, Korea

사과주스의 품질에 미치는 pulsed electric field 연속 처리효과

안성환¹ · 임정호¹ · 김영호¹ · 정석진² · 박기재^{1*}

¹한국식품연구원, ²서울과학기술대학교 식품공학부

Abstract

Apple juices were sterilized by continuous pulsed electric field (PEF) treatments of pulse width of 25 μ s at electric field intensity of 20.0 kV/cm, and with the varied pulse frequencies of 35 Hz (40 kJ/L), 55 Hz (70 kJ/L), 72 Hz (100 kJ/L) and 85 Hz (130 kJ/L). The PEF treatments of apple juice reduced the microbial counts from 5.3 log CFU/mL of initial state to 3.0 log CFU/mL after PEF treatment at energy density of 130 kJ/L. Also yeast and fungi after PEF treatments were reduced from 5.3 log CFU/mL to 3.0 log CFU/mL and *Escherichia coli* were from 5.3 log CFU/mL of initial state to 4.7 log CFU/mL to $<10^1$ CFU/mL. The soluble solids and free sugars did not significantly differ ($p<0.05$) depending on conditions of PEF treatment. The total phenolic contents and antioxidant activity such as the DPPH and ferric reducing antioxidant power (FRAP) by PEF treatments were significantly partly reduced, but the PEF-reduced value came in smaller quantities than the heat treatment at 65°C. The iterative PEF treatments with pulse width of 25 μ s and pulse frequency of 85 Hz at electric field intensity of 20.0 kV/cm showed limited in microbial reduction. Also, total phenolic contents and antioxidant activity such as DPPH and FRAP, significantly decreased depending on treatment numbers of PEF ($p<0.05$).

Key words : pulsed electric fields, processing, sterilization, quality, antioxidant activity

서 론

최근 소비자들은 고품질의 자연식품에 대한 관심이 증가하여 향미, 색택 등 관능적 특성뿐만 아니라 영양성이 높은 식품을 선호하지만 위생안전과 제품안정을 위해 가열처리를 하는 경우에는 가열과정에서 색상, 향미뿐만 아니라 영양성분의 손실을 수반하게 된다. 일반적인 가열공정에서 고상-액상 혼합 식품의 균질 가열은 가장 중요한 요소이지만 액상은 고체에 비해 가열속도가 빠르고 열이 교류와 전도를 통해 전달됨으로써 액상-고상 혼합 식품인 경우에는 액상과 고상의 온도차가 발생하여 고상입자의 열전달이

지연되며 이를 극복하기 위한 과도한 가열은 영양분의 손실과 식품의 관능적 가치 저하를 초래하게 된다. 이러한 문제점을 해결하기 위한 방법으로 에너지를 효율적으로 사용하기 위한 비가열 처리기술이나 균질가열이 가능한 대체가열 기술이 주목을 받고 있다(1,2).

Pulsed electric field(PEF) 기술은 일반적으로 투입 에너지에 따라 스트레스 반응 유도(0.5~1.5 kV/cm, 0.5~5 kJ/kg), 세포의 electropermeabilisation(0.7 kV/cm, 1~10 kJ/kg), 동식물 세포의 물질 전달 향상(0.7~3.0 kV/cm, 1.0-20 kJ/kg), 미생물 불활성화(15~40 kV/cm, 40~1,000 kJ/kg), sludge disintegration(10-20 kV/cm, 50~200 kJ/kg) 등의 활용범위를 갖는다. PEF 기술의 효과적 활용을 위해서는 전기적인 처리 효과를 나타내는 임계영역의 결정과 기존 공정과 PEF 활용 공정에 의한 제품의 품질에 대한 연구가 선행되어야

*Corresponding author. E-mail : jake@kfri.re.kr
Phone : 82-31-780-9157, Fax : 82-31-780-9343

한다. 식품가공분야에서의 PEF 살균 기술의 활용범위는 액상과 액상-고상 혼합물질의 추출, 살균, 건조 등에 폭넓게 사용할 수 있다. 특히 과일 주스의 살균에 비교적 많은 응용 연구가 이루어지고 있는 것은 에너지 절감 효과와 더불어 가열살균에 따른 향미와 영양성분의 손실을 최소화할 수 있기 때문이다(3). 사과를 원료로 한 PEF의 처리 효과에 대해서는 살균효과와 더불어 품질요소인 pH, 가용성 고형물, 산도, polyphenol oxidase(PPO) 및 peroxidase(POD) 활성, 비타민 C 및 폴리페놀성 화합물, 색도 등에 대한 연구가 주로 이루어 졌고(4-8), PEF 처리가 pH, 산도, 가용성 고형물, 비타민 C 함량, 색도 등에는 영향을 미치지 않는다고 하였다(4-11). 다만 PEF 처리(1~5 kV/cm, n=30 pulses)한 사과 착즙액의 폴리페놀 함량과 항산화 활성은 대조구와 유의적인 차이가 없었다는 보고(12)도 있는 반면 35 kV/cm, n=1,200 pulses로 처리한 사과 주스에서는 페놀성 화합물의 함량이 14.49% 감소하였고 휘발성 화합물이 동시에 감소했다는 보고도 있다(3). 이것은 PPO나 POD와 같은 효소 활성과 관련이 있는 것으로 해석하고 있지만 PEF 처리(100 μ s, 40 kV/cm)로 PPO와 POD 효소의 활성이 각각 최대 71%와 68% 감소했다는 연구결과(13)도 있기 때문에 부분적인 온도상승에 따른 영향인지에 대해서는 좀더 많은 연구가 필요하다. 주스류에 대한 PEF 처리 효과는 매우 다양하게 연구가 이루어져 있지만 펄스 프로파일(pulse profile), 펄스의 극성(pulse polarity), 펄스의 지속성(pulse duration), 펄스 빈도(pulse frequency), 전기장의 강도(electric field strength) 등의 변수중에서 전기장의 강도와 처리 시간이 가장 중요한 요소로 고려되고 있다(14,15).

따라서 PEF의 살균효과와 더불어 품질과 관련된 성분들에 대한 자료는 PEF의 활용성 측면에서 매우 중요한 의미를 가지는 바 본 연구에서는 착즙한 사과주스에 대해 상업적으로 행해지고 있는 가열처리와 PEF 연속살균에 따른 살균력, 이화학적 품질 지표 성분 및 페놀성 화합물 함량, 항산화 활성을 비교분석하고자 하였다.

재료 및 방법

사과 주스의 제조

실험에 사용한 사과는 ‘후지(Fuji)’ 품종으로 2012년에 경남 밀양 지역에서 수확한 것을 경기도 성남 소재의 대형 유통센터에서 구입한 후 외관이 건전하고 크기가 균일한 것만을 선별하여 사용하였다. 실험에 사용한 사과의 평균 당도는 14.35 ± 0.44 °Brix이었으며, 수분함량은 $86.72 \pm 0.37\%$ 였다. 사과를 유수에 약 20초간 세척한 다음 껍질을 포함한 과육부위를 거칠게 세절하여(MGB-32, Hankook Fucee Industries Co., Suwon, Korea) 균일하게 혼합한 다음 screw press type 유압착즙기(Angelia 5000, Angeljuicer Co.,

Busan, Korea)로 착즙하고 여과포로 여과한 것을 즉시 실험에 시료로 사용하였다.

시약 및 배지

배양에 사용한 nutrient medium, LB medium, plate count agar, deoxycholate agar, potato dextrose agar medium 등은 Difco사(Difco lab., Michigan, MI, USA)의 제품을 사용하였고, 시약은 Sigma Aldrich 사(Sigma-Aldrich Corp., St. Louis, MO, USA)의 tannic acid, Folin-Ciocalteus's phenol reagent, 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, 2,4,6-tris(2-pyridyl)-s-triazine, acetic acid, sodium acetate, iron(III) chloride hexahydrate, iron (II)sulfate heptahydrate를 사용하였다.

Pulsed electric field(PEF) 처리

PEF 처리는 중앙대학교에 보유중인 PEF 장치를 이용하였다. 본 실험에 사용한 펄스전기장 장치는 5 kW급 펄스발생기(pulse generator), 펄스처리용기(treatment chamber), 조작패널(control panel)로 구성된 것으로 펄스형성장치는 외부로부터 3상 400V의 전류를 공급 받으며 냉각을 위해 oil bath안에 위치한 capacitor에 축전하며 IGBT(Insulated gate bipolar transistor)로 구성되는 스위치를 사용하였다. 사용된 펄스의 형태는 bipolar square 형태의 펄스가 사용되었다. PEF 처리는 사과 착즙액을 40, 70, 100, 130 kJ/L의 에너지를 얻기 위해 연속처리장치내에서 전기장 세기 20 kV/cm에서 펄스 폭(pulse width) 25 μ s, 펄스 빈도(pulse frequency) 35, 55, 72, 85 Hz로 각각 처리를 하였다. 연속식 처리는 treatment chamber 10 mm에 21 L/hr의 압력으로 흘러주면서 처리하였다.

가열살균 처리

시료 100 mL를 멸균 처리한 시험관에 주입하고 가열교환기(BT5D, Grant, Cambridge, UK)에 주입하고 처리조건을 65°C, 10 min 및 30 min, 75°C, 10 min, 95°C, 1 min으로 하였다.

미생물검사

총균수 및 대장균은 시료에 10배수의 멸균생리식염수 [0.85%(w/v) NaCl]를 가한 후 스토마커(Stomacher 400 circulator, Seward, Worthing, UK)로 260 rpm에서 2분간 균질화한 다음 희석액을 배지를 pour plating하고 35 \pm 1°C 배양기에서 48시간 동안 배양한 후 나타난 집락수를 CFU/mL으로 환산하여 나타내었다. 곰팡이와 효모수는 전술한 균질화한 시료를 10진 희석하여 희석시료에 배지를 pour plating하고 25 \pm 1°C 배양기에서 72시간동안 배양한 후 나타난 집락수를 CFU/mL으로 환산하여 나타내었다.

이화학적 품질

가용성 고형분 함량은 굴절당도계(PAL-1, Atago Co.,

Tokyo, Japan)를 사용하여 측정하였다. 유리당의 조성 및 함량은 압착주스 시료를 0.45 μm membrane filter (Millipore Co., Bedford, MA, USA)로 여과한 후 HPLC(LC-20A, Shimadzu Co., Kyoto, Japan)로 분석하였다. 이때 유리당의 분석조건으로 컬럼은 carbohydrate column(3.9 \times 300 mm), 컬럼온도는 40 $^{\circ}\text{C}$, 이동상은 80:20=acetonitrile:water(1.5 mL/min), 검출기는 RI를 각각 사용하였다. 유리당의 동정 및 정량은 각 물질의 표준품을 사용하여 외부 표준법으로 실시하였다.

총 페놀 함량은 압착주스 0.1 mL에 Folin-ciocalteu's phenol reagent(2 N Folin-ciocalteu's phenol reagent : DW(distilled water)=1:2, v/v) 0.2 mL를 가하여 25 $^{\circ}\text{C}$ 에서 1분간 반응시킨 다음 5% Na_2CO_3 용액 3 mL를 가하여 실온에서 2시간동안 반응시켰다. 이 반응용액을 분광광도계(V-760, Jasco, Tokyo, Japan)를 이용하여 765 nm에서 흡광도를 측정하였다. Gallic acid로 작성한 표준 검량곡선을 이용하여 흡광도로부터 총 페놀 함량을 구하였다.

항산화 활성 측정

DPPH 라디칼 소거능

DPPH 라디칼 소거능은 α, α -Diphenyl- β -picrylhydrazyl (DPPH, Sigma, St. Louis, MO, USA) 8 mg을 300 mL에 녹여 여과하고 이 용액 5 mL에 압착주스 희석액 0.5 mL를 혼합한 후 원심분리(3,500g, 3 min) 하여 상정액을 회수하여서 10분 후에 UV/VIS spectrophotometer(V-570, Jasco Co., Tokyo, Japan)로 525 nm에서 흡광도를 측정하였다. DPPH 라디칼 소거능은 다음과 같이 계산하였다.

$$\text{DPPH 라디칼 소거능(\%)} = (\text{Ab} - \text{As}) / \text{Ab} \times 100$$

Ab: 시료 무첨가 흡광도, As: 시료 첨가 흡광도

FRAP(ferric reducing antioxidant power)

FRAP을 측정하기 위하여 반응 용액 300 mM acetate buffer(pH 3.6), 10 mM TPTZ (2,4,6-tripyridyl-s-triazine) 용액과 20 mM ferric chloride(iron(III) chloride hexahydrate)를 10:1:1의 비율로 혼합하여 Working frap reagent(WFR)를 제조한 후, 실험 전까지 37 $^{\circ}\text{C}$ 를 유지하여 사용하였다. 압착주스 여과액 60 μL 에 증류수 250 μL 과 WFR solution 3.6 mL를 혼합하여 30분간 반응시킨 후 593 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 표준물질로는 iron(II) sulfate heptahydrate를 사용하였다.

통계처리

실험결과의 통계처리는 SPSS software(ver. 14, SPSS Inc., Chicago, IL, USA)를 이용하여 $p < 0.05$ 에서 유의성 분석을 실시하였다.

결과 및 고찰

투입 에너지별 살균 효과

전기장의 세기 20 kV/cm, 펄스 폭 25 μs 에서 펄스 빈도 35 Hz(40 kJ/L), 55 Hz(70 kJ/L), 72 Hz(100 kJ/L) 및 85 Hz(130 kJ/L)로 달리하여 투입 에너지를 기준으로 사과 착즙액의 PEF 연속처리 살균 효과를 분석한 결과는 Fig. 1과

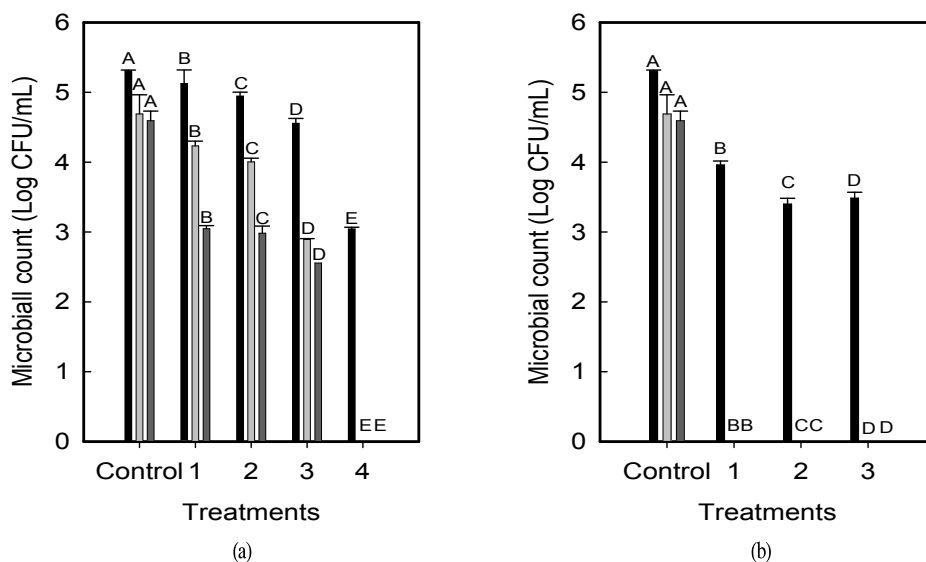


Fig. 1. Effect of pulsed electric field treatments of different input energy (a) and heat treatment (b) on microbial reduction in apple juice.

Symbols: ■; Total aerobes count, □; Coliform count, ▒; Yeast and mold count. PEF treatment parameters: Control; untreated, 1; 40 kJ/L(20.0 kV/cm, 35 Hz, 25 μs), 2; 70 kJ/L(20.0 kV/cm, 55 Hz, 25 μs), 3; 100 kJ/L(20.0 kV/cm, 72 Hz, 25 μs), 4; 130 kJ/L(20.0 kV/cm, 85 Hz, 25 μs). Heat treatment conditions: Control; untreated, 1; 65 $^{\circ}\text{C}$ for 10 min, 2; 65 $^{\circ}\text{C}$ for 30min, 3; 75 $^{\circ}\text{C}$ for 10 min. Different letters are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test. All values are expressed as mean \pm SD triplicate determinations.

같았다. 투입 에너지 증가에 따라 일반세균수, 효모 및 곰팡이수, 대장균군수는 모두 유의적으로 감소하였다. 일반세균수는 초기 5.3 log CFU/mL에서 130 kJ/L의 에너지로 처리하였을 때 3.0 log CFU/mL로 감소하였고 효모 및 곰팡이는 초기 4.6 log CFU/mL에서 130 kJ/L의 에너지로 처리로 $<10^1$ CFU/mL 이하로 감소하였다. 그리고 대장균군수도 초기 4.7 log CFU/mL에서 130 kJ/L의 에너지 처리로 1 log CFU/mL 이하로 감소하였다. Ha 등(16)은 당근 주스의 비가열 살균 실험에서는 전기장 세기(10~40 kV/cm)에서 처리시간(8~256회, 6.4~204.8 μ s)을 변화시키면서 처리한 결과 전기장의 세기가 미생물에 미치는 영향이 처리시간 보다 크다고 하였고, 11.74 kV/cm 이상의 전기장에서는 전기장의 세기가 증가할수록 살균효과가 증가한다고 하였다. 일반세균의 경우 40 kV/cm의 전기장에서는 약 4 log CFU/mL 정도의 살균 효과를 보였다고 한다. PEF에 의한 비가열살균 효과는 일차적으로는 미생물 유형에 가장 큰 영향을 받는다. 즉, 초기 오염도나 생리적인 상태, 크기나 모양 등에 의한 영향이 크다고 알려져 있다. 일반적으로는 대수증식기에 있는 미생물의 감수성이 가장 높다. 또한 Gram 양성균보다는 Gram 음성균이나 효모가 감수성이 높고 곰팡이나 포자의 저항성에 대해서는 아직 명확하게 알려져 있지 않다. 사과 주스와 같은 과실음료는 약 5 log CFU/mL 수준의 저감화 효과가 있다고 보고된 바 있다. 본 실험에서는 투입 에너지에 따른 경향을 분석하고자 하였기 때문에 전기장의 세기와 빈도를 증가시킬 경우 보다 높은 감소효과가 있을 것으로 판단되었다. 한편, 가열 살균의 경우 Fig. 2에서와 같이 65°C, 10 min 이상의 조건에서는 일반세균의 경우

약 2 log CFU/mL 정도 감소되고 대장균, 효모 및 곰팡이의 경우에는 $<10^1$ CFU/mL 이하로 검출되지 않았다. Park 등(17)은 사과 주스의 저온 살균 및 고온 살균에서 65°C, 10분 이상의 처리조건에서는 대부분의 미생물이 사멸 된다고 보고한 바 있지만 본 실험 시료와는 초기 오염도가 달랐기 때문에 불활성화율에 차이가 나타난 것으로 판단된다.

이화학적 성분의 변화

일반적으로 과실주스의 가용성 고형분 함량과 pH는 가공 공정과 제품 품질 관리에서 지표로 사용되는데 이를 측정된 결과는 Table 1과 같다. 가용성 고형분 함량은 PEF 처리구, 가열 처리구와 무처리구 사이에 유의적인 차이가 없었으며 12 °Brix 내외로 나타났다. 착즙 후 PEF 처리 및 가열처리가 가용성 고형분 함량에는 영향을 미치지 않는 것으로 판단되었다.

PEF 처리와 가열 처리에 따른 사과 주스의 유리당 함량 변화는 Table 2와 같다. 펄스 빈도의 증가 및 가열처리는 사과주스의 유리당 함량의 유의적인 차이를 주지 않는 것으로 판단되었다. Glucose, sucrose 및 fructose의 함량은 72 Hz와 75°C 10분 처리 시료에서는 다소 감소되는 경향을 보였으나 유의적인 차이를 나타내지는 않았다. 이러한 경향은 가용성 고형분 함량에서도 유사하였으며 사과주스의 PEF 처리는 당 함량에도 영향을 미치지 않는 것으로 판단되었다. 사탕무에 대한 PEF 처리 후 착즙한 사탕무의 당함량이 70°C의 가열처리 후 착즙한 사탕무의 당함량보다 높은 값을 보였으나(18), 으깬 사과에 대한 PEF 처리시 유리당 함량의 유의적인 변화가 없는 것으로 보고(12)하여 착즙

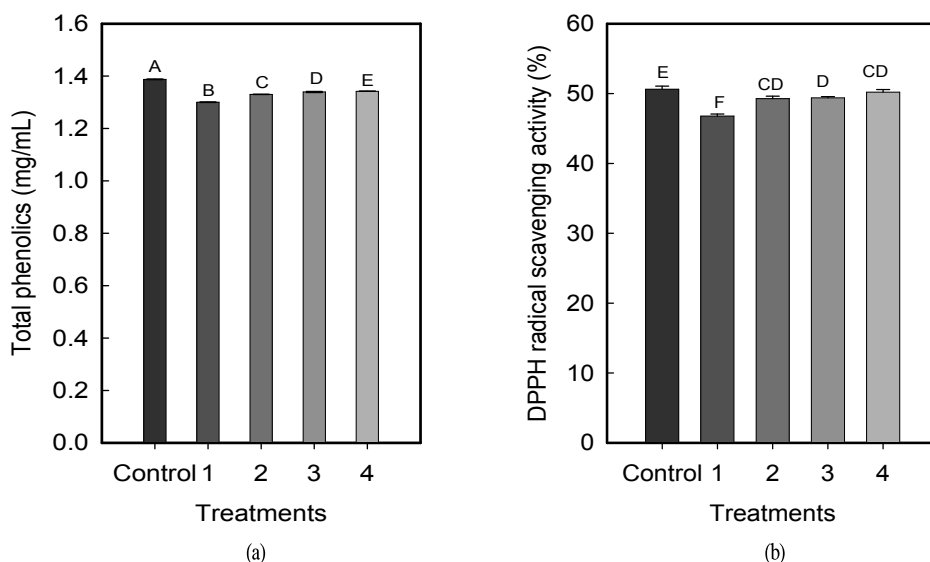


Fig. 2. Effect of pulsed electric field treatments of different input energy (a) and heat treatment (b) on total phenolics content in apple juice.

PEF treatment parameters: Control; untreated, 1; 40 kJ/L (20.0 kV/cm, 35 Hz, 25 μ s), 2; 70 kJ/L (20.0 kV/cm, 55 Hz, 25 μ s), 3; 100 kJ/L (20.0 kV/cm, 72 Hz, 25 μ s), 4; 130 kJ/L (20.0 kV/cm, 85 Hz, 25 μ s). Heat treatment conditions: Control; untreated, 1; 65°C for 10 min, 2; 65°C for 30 min, 3; 75°C for 10 min. Different letters are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test. All values are expressed as mean \pm SD triplicate determinations.

Table 1. Effect of pulsed electric field treatment of different input energy and heating treatment on soluble solids, pH and titratable acidity of apple juice

Treatments	Soluble solids (°Brix)	pH	Titratable acidity (%)
Control ¹⁾	12.30±0.00 ²⁾³⁾	4.49±0.01 ^b	0.28±0.00 ^c
PEF	40 kJ/L(35 Hz)	12.03±0.06 ^c	4.43±0.06 ^b
	70 kJ/L(55 Hz)	12.43±0.06 ^{bc}	4.54±0.08 ^{ab}
	100 kJ/L(72 Hz)	12.47±0.06 ^b	4.59±0.08 ^{ab}
	130 kJ/L(85 Hz)	12.30±0.00 ^d	4.48±0.11 ^b
Heating	65 °C, 10 min	12.37±0.06 ^{cd}	4.55±0.05 ^b
	65 °C, 30 min	12.47±0.06 ^b	4.48±0.06 ^b
	75 °C, 10 min	12.40±0.00 ^{bc}	4.47±0.04 ^{ab}

¹⁾Control presents non-treatment apple juice.²⁾Each value presents the mean±SD.³⁾Means with different letters within the width are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test.**Table 2. Effect of pulsed electric field treatments of different input energy and heating treatment on free sugar contents of apple juice**

Treatments	Free sugars (% , w/v)				
	Glucose	Sucrose	Fructose	Total	
Control ¹⁾	7.48±0.10 ²⁾³⁾	2.31±0.02 ⁴⁾	3.14±0.06 ^{ns}	12.93±0.18 ^{ns}	
PEF	40 kJ/L(35 Hz)	7.35±0.06 ^{ns}	2.26±0.09 ^{ns}	2.85±0.09 ^{ns}	12.46±0.23 ^{ns}
	70 kJ/L(55 Hz)	7.42±0.07 ^{ns}	2.17±0.02 ^{ns}	2.68±0.09 ^{ns}	12.27±0.18 ^{ns}
	100 kJ/L(72 Hz)	6.93±0.06 ^{ns}	2.80±0.03 ^{ns}	2.78±0.25 ^{ns}	11.86±0.34 ^{ns}
	130 kJ/L(85 Hz)	7.33±0.17 ^{ns}	2.24±0.17 ^{ns}	2.88±0.03 ^{ns}	12.45±0.27 ^{ns}
Heating	65 °C, 10 min	7.13±0.04 ^{ns}	2.23±0.01 ^{ns}	2.90±0.01 ^{ns}	12.26±0.05 ^{ns}
	65 °C, 30 min	6.56±0.12 ^{ns}	2.05±0.02 ^{ns}	2.93±0.01 ^{ns}	11.54±0.14 ^{ns}
	75 °C, 10 min	7.04±0.06 ^{ns}	2.10±0.03 ^{ns}	2.90±0.02 ^{ns}	12.05±0.10 ^{ns}

¹⁾Control presents non-treatment apple juice.²⁾Each value presents the mean±SD.³⁾Not significant.⁴⁾Means with different letters within the width are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

전 PEF 처리된 주스의 유리당 함량은 시료 특성에 따라서 처리 효과의 차이가 발생하는 것으로 판단되었다.

한편, 총 페놀함량의 변화는 Fig. 2에서와 같이 PEF 처리에 따라 유의적으로 다소 감소하였다. 또한 가열 처리 사과 주스의 경우에도 가열 조건에 따라서 유의적인 감소를 나타내었다. 그러나 총 함량에 있어서는 무처리구와 PEF 처리구에서는 1.3~1.38 mg/g의 수준을 나타내었고 가열처리구에서는 1.21~1.27 mg/g의 수준이었다. 이러한 PEF 처리에 따른 총 페놀 함량의 감소 현상은 Xiufang 등(19)은 polyphenol oxidase(PPO)의 작용과 관련이 있는 것으로 추정하였으며 Aguilar-Rosas 등(3)도 PEF 처리로 약 14.49%의 페놀성 화합물 감소를 보고한 바 있다. PEF의 전기장의

세기와 페놀성 화합물의 감소에 상관관계가 있다고 추정하고 있다. PPO는 사과 주스의 품질 열화와 관련이 있고 페놀성 화합물의 산화적 분해에 있어 수반되는 효소이다(20). 따라서 PEF 처리에 따른 총 페놀 함량의 PPO의 활성화와 관련이 있다고 판단하는 것이 합리적인 추론으로 생각된다. 다만 온도에 의한 영향은 가열에 따른 페놀성 화합물이 파괴를 시사한 Lee 등(21)의 결과로 유추할 수 있다고 생각된다.

항산화 활성

DPPH radical이 환원되어 활성 radical에 전자를 공여함으로써 DPPH 용액 자체의 자색성을 소실하는 특성을 이용하여 PEF 처리에 의한 사과주스의 DPPH radical 소거능을 측정된 결과는 Fig. 3에 나타내었다. DPPH radical 소거능은 총 페놀 함량과 유사한 경향을 나타내어 펄스 빈도는 무처리구와 비교하여 유의적인 차이가 없었고, 가열 온도와 시간에 따른 유의적인 차이는 없었으나 무처리구와 가열처리구와의 관계에서는 유의적인 차이가 발견 되었다. 무처리구와 PEF 처리구에서는 46~50%의 수준을 나타내었고 가열처리구에서는 42~48%의 수준을 나타내었다. 총 페놀과 DPPH 값과의 상관관계는 일반적으로 매우 낮은 것으로 알려져 있고 PEF 처리에 따른 DPPH 값의 유의적 차이는 없다는 것이 대체적인 연구결과(19,22,23)로 본 실험의 결과는 이전의 연구결과와 유사한 경향을 나타낸 것으로 판단된다.

PEF 처리에 따른 사과주스의 ferric reducing antioxidant power(FRAP)를 측정된 결과는 Fig. 4에 나타내었다. FRAP 측정 결과는 펄스 빈도와 무처리구를 비교하였을 때 유의적인 차이가 없었고, 가열 온도와 시간에 따른 유의적인 차이는 없었으나 무처리구와 가열처리구와의 관계에서는 유의적인 차이를 보였다. 무처리구와 PEF 처리구에서는 51~58 mM/g의 수준을 나타내었고 가열처리구에서는 43~51 mM/g의 수준을 나타내었다. 이러한 경향은 DPPH radical 소거능 및 총 페놀함량과 유사한 변화를 나타내었다. Eberhardt 등(24)은 사과의 항산화능이 그들의 폴리페놀함량에 기인하는 것으로 보고하였으며, 토마토 추출 전 PEF 처리로 토마토 추출물의 항산화활성을 증가시키고(25), PEF 처리된 포도 추출물의 항산화활성과 관련하여 처리구가 무처리구에 비하여 항산화활성이 증가한 보고(26)와 유사한 결과를 나타내었다. 총 페놀 함량과 FRAP 및 ORAC값 사이에는 유의적인(p<0.05) 또는 유의성은 없지만 일정한 상관관계를 보이는 것이 일반적이다(12,19).

PEF 반복 처리 효과

살균을 목적으로 한 PEF 처리에서 전기장의 세기는 처리 시간의 증가보다 균수 감소에 보다 효과적인 것이 일반적이다. 연속 처리 챔버의 설계에 있어 전극을 배치함에 있어 상대적으로 낮은 에너지를 유체 시료에 대해 반복적으로

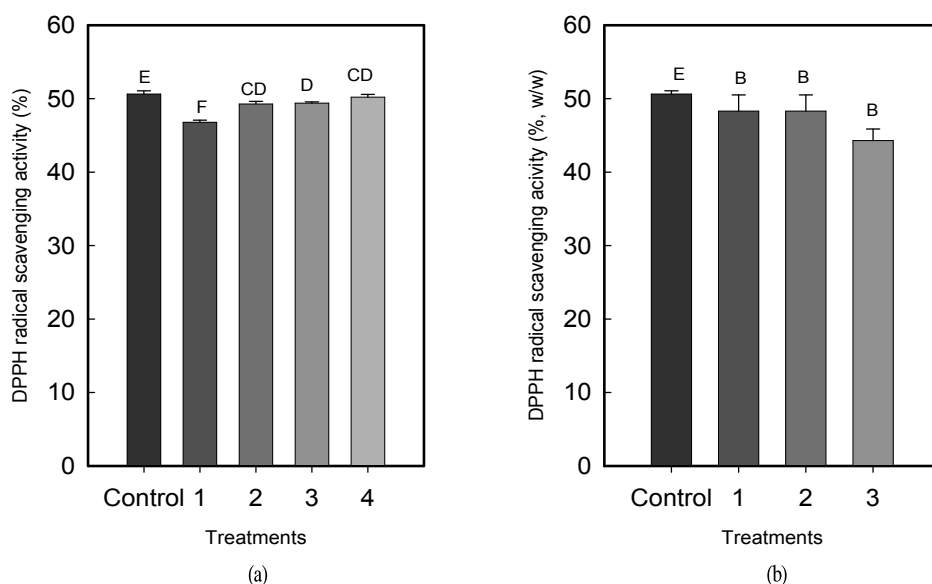


Fig. 3. Effect of pulsed electric field treatments of different input energy (a) and heat treatment (b) on DPPH radical scavenging activity in apple juice. PEF treatment parameters: Control; untreated, 1; 40 kJ/L (20.0 kV/cm, 35 Hz, 25 μ s), 2; 70 kJ/L (20.0 kV/cm, 55 Hz, 25 μ s), 3; 100 kJ/L (20.0 kV/cm, 72 Hz, 25 μ s), 4; 130 kJ/L (20.0 kV/cm, 85 Hz, 25 μ s).

Heat treatment conditions: Control; untreated, 1; 65°C for 10 min, 2; 65°C for 30 min, 3; 75°C for 10 min. Different letters are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test. All values are expressed as mean \pm SD triplicate determinations.

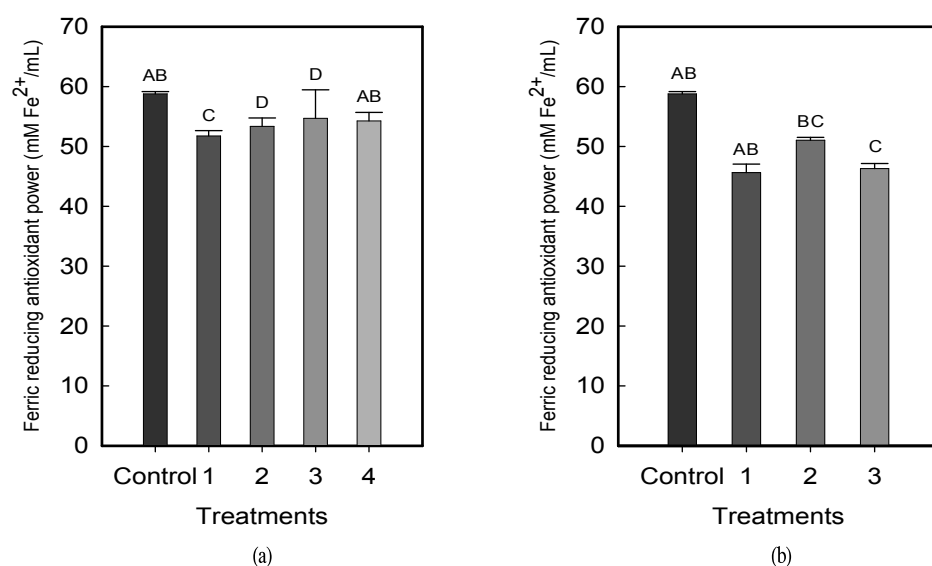


Fig. 4. Effect of pulsed electric field treatments of different input energy (a) and heat treatment (b) on ferric reducing antioxidant power (FRAP) in apple juice. PEF treatment parameters: Control; untreated, 1; 40 kJ/L (20.0 kV/cm, 35 Hz, 25 μ s), 2; 70 kJ/L (20.0 kV/cm, 55 Hz, 25 μ s), 3; 100 kJ/L (20.0 kV/cm, 72 Hz, 25 μ s), 4; 130 kJ/L (20.0 kV/cm, 85 Hz, 25 μ s). Heat treatment conditions: Control; untreated, 1; 65°C for 10 min, 2; 65°C for 30 min, 3; 75°C for 10 min.

Different letters are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test. All values are expressed as mean \pm SD triplicate determinations.

병렬처리 하는 것이 효과적이지를 검토하는 것은 실질적인 공정의 설계에서 중요한 요소이다. 본 실험에서는 이를 검증하기 위해 20.0 kV/cm, 85 Hz, 25 μ s(130 kJ/L)의 조건에서 1~4번 반복처리 당함량, 미생물 살균 효과 및 항산화성 물질의 함량을 분석한 결과는 다음과 같다. 무처리구와 1~

4회 반복처리구의 유리당 함량은 fructose 40~41%, glucose 12~13%, sucrose 약 18%로 무처리구와 반복 처리구 사이에 유의적인 차이가 나타나지 않았다(Table 3). 즉, PEF 반복 처리가 유리당 함량에 직접적으로 영향을 미치지 않은 것으로 나타났다. 총 페놀 함량은 PEF 처리 회수에 비례하

여 감소하였다(Fig. 5). 무처리 사과 주스는 4.6 mg/mL, 1회 처리 사과 주스는 4.5 mg/mL, 2회 처리 사과 주스는 3.7 mg/mL, 3회 처리 사과 주스는 3.5 mg/mL, 4회 처리 사과 주스는 3.6 mg/mL로 유의적 차이($p < 0.05$)를 나타내었다. 또한 DPPH값에서도 무처리 사과 주스는 57.5% 1회 처리 사과 주스는 52.4%, 2회 처리 사과 주스는 48.2%, 3회 처리 사과 주스는 30.0%, 4회 처리 사과 주스는 32.2%로 유의적 차이($p < 0.05$)를 나타내었다(Fig. 6). FRAP의 경우에도 무처리 사과 주스는 53.8 mM/g, 1회 처리 사과 주스는 44.6 mM/g, 2회 처리 사과 주스는 36.8 mM/g, 3회 처리 사과 주스는 22.6 mM/g, 4회 처리 사과 주스는 21.8 mM/g로 유의적 차이($p < 0.05$)를 나타내었다(Fig. 7). 일반적으로 70°C, 30분 정도의 저온 살균보다는 100°C 정도의 고온살균 처리가 폴리페놀의 열분해를 유발할 가능성이 있고(26),

Table 3. Effect of intensities and frequency on free sugar contents of apple juice by number of pulsed electric field treatments. PEF treatment parameters were 2 kV/cm electric field strength, 200 Hz of frequency, 25 μ s of pulse width and pulse number of 175

Number of PEF treatments	Free sugars (% w/v)			
	Glucose	Sucrose	Fructose	Total
control	7.93 \pm 0.11 ^{2)ns3)}	2.46 \pm 0.01 ^{ns4)}	3.66 \pm 0.03 ^{ns}	14.05 \pm 0.15 ^{ns}
1	8.0 \pm 0.05 ^{ns}	2.48 \pm 0.04 ^{ns}	3.62 \pm 0.05 ^{ns}	14.10 \pm 0.14 ^{ns}
2	8.09 \pm 0.04 ^{ns}	2.55 \pm 0.04 ^{ns}	3.62 \pm 0.04 ^{ns}	14.26 \pm 0.16 ^{ns}
3	8.13 \pm 0.06 ^{ns}	2.53 \pm 0.05 ^{ns}	3.67 \pm 0.04 ^{ns}	14.33 \pm 0.18 ^{ns}
4	7.92 \pm 0.05 ^{ns}	2.47 \pm 0.03 ^{ns}	3.61 \pm 0.04 ^{ns}	14.00 \pm 0.12 ^{ns}

¹⁾Control presents non-treatment apple juice.

²⁾Each value presents the mean \pm SD.

³⁾Not significant.

⁴⁾Means with different letters within the width are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

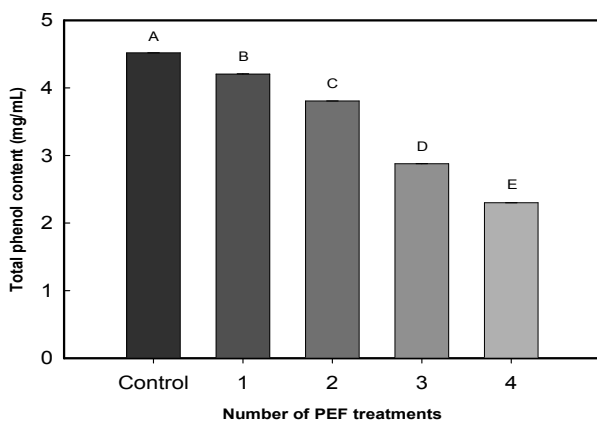


Fig. 5. Effect of pulsed electric field treatments on total phenolics content in apple juice by number of pulsed electric fields treatment. PEF treatment parameters were 20.0 kV/cm electric field strength, 85 Hz of frequency, 25 μ s of pulse width.

Different letters are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test. All values are expressed as mean \pm SD triplicate determinations.

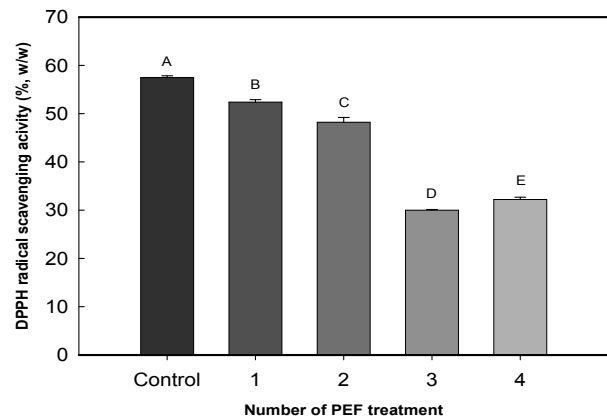


Fig. 6. Effect of pulsed electric field treatments on DPPH radical scavenging activity in apple juice by number of pulsed electric fields treatment.

PEF treatment parameters were 20.0 kV/cm electric field strength, 85 Hz of frequency, 25 μ s of pulse width. Different letters are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test. All values are expressed as mean \pm SD triplicate determinations.

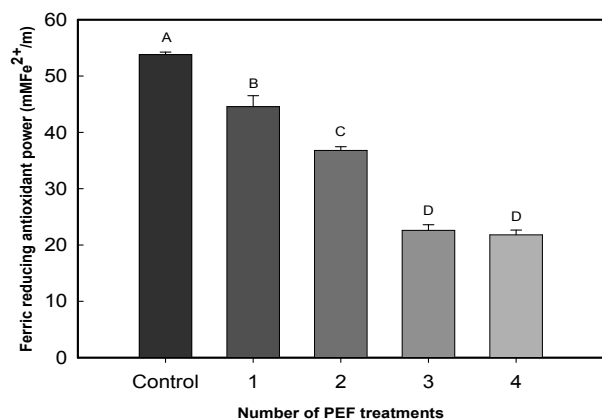


Fig. 7. Effect of pulsed electric field treatments on ferric reducing antioxidant power (FRAP) in apple juice by number of pulsed electric fields treatment.

PEF treatment parameters were 20.0 kV/cm electric field strength, 85 Hz of frequency, 25 μ s of pulse width. Different letters are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test. All values are expressed as mean \pm SD triplicate determinations.

직접으로는 총폴리페놀 함량과 항산화 활성이 상관관계를 가진다(23). 다만 PEF 처리의 경우에도 부분적인 온도 상승 효과가 나타나기 때문에 이러한 총폴리페놀 함량의 감소와 DPPH값 및 FRAP값의 감소가 전술한 PPO와 같은 효소적 반응에 의한 것으로만 단정하는 것은 무리가 있다고 생각된다.

반복 처리에 따른 미생물 감균 효과를 분석한 결과 Fig. 8에서와 같이 총균수는 전기장 세기 20.0 kV/cm, 펄스 빈도 85 Hz, 펄스 폭 25 μ s의 처리로 무처리 사과 주스 3.5 log CFU/mL, 1회 처리시 2.2 log CFU/mL, 2회 처리시 2.4 log CFU/mL, 3회 처리시 2.2 log CFU/mL, 4회 처리시 2.2 log CFU/mL로 1~4회 처리 사과 주스에서는 유의적인 차이

($p < 0.05$)를 나타내지 않아 동일 조건에서의 반복 처리가 미생물 살균 측면에서는 효과적이지 않은 것으로 판단되었다. PEF 처리에 따른 미생물의 살균 효과에 영향을 미치는 인자는 미생물의 종류, 전기장의 세기, 펄스 웨이브의 모양, 온도, pH, 시료의 전도도와 이온 강도 등으로 매우 다양하다 (27). 통상적으로 그람 양성균이 그람 음성균에 비해 PEF 처리에 대한 저항성이 크고(28) 효모와 곰팡이의 경우에는 박테리아에 비해 감수성이 높기 때문에 1회 처리후 대장균이나 효모 및 곰팡이가 불검출 수준으로 감소하였음에도 불구하고 총균수의 감소가 제한적이었던 것은 20.0 kV/cm의 전기장 세기에 저항성이 높은 세균들이 잔존하기 때문인 것으로 판단되었다.

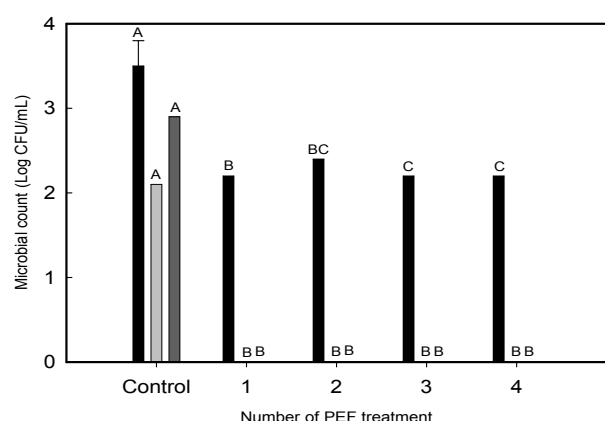


Fig. 8. Microbial inactivation on microorganism in apple juice by number of pulsed electric fields treatments. PEF treatment parameters were 20.0 kV/cm electric field strength, 85 Hz of frequency, 25 μ s of pulse width.

Symbols: ■; Total aerobes count, □; Coliform count, ▒; Yeast and mold count. Different letters are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test. All values are expressed as mean \pm SD triplicate determinations.

요 약

전기장의 세기 20 kV/cm, 펄스 폭 25 μ s에서 펄스 빈도 35 Hz(40 kJ/L), 55 Hz(70 kJ/L), 72 Hz(100 kJ/L) 및 85 Hz(130 kJ/L)로 달리하여 투입 에너지를 기준으로 사과 착즙액의 PEF 연속처리 살균 효과를 분석한 결과 일반세균수는 초기 5.3 log CFU/mL에서 130 kJ/L의 에너지로 처리하였을 때 3.0 log CFU/mL로 감소하였고 효모 및 곰팡이는 초기 4.6 log CFU/mL에서 130 kJ/L의 에너지로 처리로 $< 10^1$ CFU/mL 이하로 감소하였다. 그리고 대장균수도 초기 4.7 log CFU/mL에서 130 kJ/L의 에너지 처리로 $< 10^1$ CFU/mL 이하로 감소하였다. PEF 처리에 따른 가용성 고형분, 유리당 등에는 처리 조건에 따른 유의적 차이가 없었으며($p < 0.05$), 총 페놀함량, DPPH 및 FRAP 값은 처리조건에 따라 부분적으로 유의적인 감소를 보였지만 65°C에서의

가열처리보다는 감소량이 작았다. 전기장 세기 20.0 kV/cm, 펄스 빈도 85 Hz, 펄스 폭 25 μ s에서의 반복처리는 미생물 살균 효과가 제한적이었고 처리회수에 따라 총 페놀함량, DPPH 및 FRAP 값을 유의적($p < 0.05$)으로 감소시켰다.

References

- Clark P (2006) Pulsed electric field processing. Food Technol, 60, 66-67
- Nguyen LT, Choi W, Lee SH, Jun S (2013) Exploring the heating patterns of multiphase foods in a continuous flow, simultaneous microwave and ohmic combination heater. J Food Eng, 116, 65-71
- Aguilar-Rosas SF, Ballinas-Casarrubias ML, Nevarez-Moorillon GV, Martin-Belloso O, Ortega-Rivas E (2007) Thermal and pulsed electric fields pasteurization of apple juice: Effects on physicochemical properties and flavour compounds. J Food Eng, 83, 41-46
- Choi YH, Lee SJ (2005) A survey on uses, preference and recognition of apple. Korean J Food Culture, 20, 204-213
- Hwang IW, Kim CS, Chung SK (2011) The physicochemical qualities and antioxidant activities of apple juices marketed in Korea. Korean J Food Preserv, 18, 700-705
- Hong HD, Kim SS, Kim KT, Choi HD (1999) Changes in quality of domestic apple juice concentrates during long-term storage. J Korean Soc Agric Chem Biotechnol, 42, 235-239
- Kim SY, Mok CK, Pyun YR (1999) Continuously recycling sterilization of Yakju (rice wine) using pulsed electric fields. Korean J Food Sci Technol, 31, 420-425
- Soliva-Fortuny R, Balasa A, Knorr D, Martín-Belloso O (2009) Effects of pulsed electric fields on bioactive compounds in foods: a review. Trends Food Sci Technol, 20, 544-556
- Ade-Omowaye BI, Taiwo K, Eshtiaghi N, Angersbach A, Knorr D (2003) Comparative evaluation of the effects of pulsed electric field and freezing on cell membrane permeabilisation and mass transfer during dehydration of red bell peppers. Innov Food Sci Emerg Technol, 4, 177-188
- Taiwo KA, Angersbach A, Knorr D (2002) Influence of high intensity electric field pulses and osmotic dehydration on the rehydration characteristics of apple slices at different temperatures. J Food Eng, 52, 185-192

11. Shin JK (2008) The Effect of operating parameters on inactivation of *Saccharomyces cerevisiae* by high voltage pulsed electric fields. *Food Eng Progress*, 12, 90-96
12. Schilling S, Alber T, Toepfl S, Neidhart N, Knorr D, Schieber A (2007) Effects of pulsed electric field treatment of apple mash on juice yield and quality attributes of apple juices. *Innov Food Sci Emerg Technol*, 8, 127-134
13. Noci J, Riener M, Walkling-Ribeiro DA, Cronin DJ, Morgan JG (2008) Ultraviolet irradiation and pulsed electric fields (PEF) in a hurdle strategy for the preservation of fresh apple juice. *J Food Eng*, 85, 141-146
14. Armando J. Castro, Gustavo V. BarbosaA-Canovas, Barry G. Swanson (1993) Microbial inactivation of foods by pulsed electric fields. *Korean J Food Preserv*, 17, 47-73
15. Huang K, Wang JP (2009) Designs of pulsed electric fields treatment chambers for liquid foods pasteurization process: A review. *J Food Eng*, 95, 227-239
16. Ha YK, Shin JK, Cho HY, Pyun RY (1999) Non-thermal pasteurization of carrot juice by high voltage pulsed electric fields with exponential decay pulse. *Korean J Food Sci Technol*, 31, 1577-1582
17. Park YN, Kim WJ, Woo SC, Jeong JY (2010) Quality changes in apple juice containing pulp upon sterilization by hot water. *Korean J Food Preserv*, 17, 230-235
18. Kamal EB, Zied R, Eugene V (2005) Kinetic model of sugar diffusion from sugar beet tissue treated by pulsed electric field. *J Sci Food Agri*, 85, 213-218
19. Xiufang B, Fengxia L, Lei R, Jing L, Bingjing L, Xiaojun L, and Jihong W (2013) Effects of electric field strength and pulse rise time on physicochemical and sensory properties of apple juice by pulsed electric field. *Innov Food Sci Emerg Technol*, 17, 85-92
20. Amiot MJ, Fleuriet A, Cheynier V, Nicolas J (1997) Phenolic compounds and oxidative mechanisms in fruits and vegetables. In: *Phytochemistry of fruit and vegetables*, Tomás-Barberán FA & Robins RJ(Editor), Oxford University Press, Oxford, UK, p 51-85
21. Lee SJ, Jang HL, Shin SR, Yoon KY (2012) Quality Characteristics of apple juice according to the sterilization methods. *Korean J Food Preserv*, 19, 178-184
22. Odriozola-Serrano I, Soliva-Fortuny R, Hernández-Jover T, Martín-Belloso O (2009) Carotenoid and phenolic profile of tomato juices processed by high intensity pulsed electric fields compared with conventional thermal treatments. *Food Chem*, 112, 258-266.
23. Kim EY, Baik JH, Kim JH, Kim SR, Rhyu MR (2004) Screening antioxidant activity of some medical plants. *Korean J Food Sci Technol*, 36, 333-338
24. Eberhardt MV, Lee CY, Liu RH (2000) Antioxidant activity of fresh apple peels. *Nature*, 405, 903-904
25. Anna VQ, Gemma OO (2012) Effects of Pulsed electric fields on the bioactive compound content and antioxidant capacity of Tomato fruit. *J Agric Food Chem*, 60, 3126-3134
26. Corrales M, Toepfl S, Butz P, Knorr D, Tauscher B (2008) Extraction of anthocyanins from grape by-products assisted by ultrasonics, high hydrostatic pressure or pulsed electric fields: A comparison. *Innov Food Sci Emerg*, 9, 85-91
27. Shamsi K, Sherkat F (2009), Application of pulsed electric field in non-thermal processing of milk. *As J Food Ag-Ind*, 2009, 2, 216-244
28. Hülshager H, Potel J, Niemann EG (1983) Electric field effects on bacteria and yeast cells, *Radiat Environ Bioph*, 22, 149-162

(접수 2013년 7월 4일 수정 2013년 8월 14일 채택 2013년 8월 23일)