

고전압 펄스에 의한 전기 살균에서 임펄스 전압 파형의 영향

이희규 · 소명환*

부천대 전자과, *부천대 식품영양학과

Effect of Impulse Voltage Waveform on Electrical Sterilization by High Voltage Pulsed Electric Fields

Hee-Kyu Lee and Myung-Hwan So*

Department of Electronic Engineering, Bucheon College

*Department of Food and Nutrition, Bucheon College

Abstract

By the sterilization system using High Voltage (HV) impulse, we evaluated cell survivability by changing resistance, inductance and capacitance (RLC) values of input parameters. Especially, when the inductance (L) was changed from 0 to 14 mH in this circuit, the cell survivabilities were remarkably declined with 4~10 mH of L value and 20 kV of applied power. With respect to these results, when the waveforms of oscillatory decay was presented along the variation of L value on RLC circuit, we analyzed whether the discharge waveform properties had an effect on sterilization and measured threshold voltage as the minimum peak voltage of a single pulse which can sterilize cells. Finally, we found that the sterilization effect was related to the number of threshold voltage waveforms (Ne) being applied and that the sterilization ratio seemed to be proportional to Ne.

Key words: survivability, sterilization, HV impulse, threshold voltage

서 론

미생물 세포의 고전압 펄스에 의한 전기적 살균은 종래의 화학적 살균이나 가열살균 보다도 좋은 점을 가지고 있기 때문에 지금까지 많은 연구가 되고있다 (Sale와 Hamilton, 1967; Jayaram *et al.*, 1992; Mertens와 Knorr, 1992; Castro *et al.*, 1993). 이 기술은 미생물체에 고전압 펄스를 가할 때 미생물 세포막의 절연 파괴로 인하여 세포내외의 단백질, DNA 등 비교적 큰 분자들이 이동하게 됨으로서 가역 반응에 의한 막파괴가 일어나는 현상으로 밝혀지고 있다 (Sale와 Hamilton, 1967; Sale와 Hamilton, 1968; Mazurek과 Lubicki, 1995; Pothakamury *et al.*, 1994; Zhang *et al.*, 1995; 이희규 등, 1996). 전기 세포조작이라고

하는 이 기술은 세포 내로의 물질 도입법으로 이용되기도 한다. 특히 이 기술이 살균 기술로 이용될 때는 전압만을 사용하고 전류는 사용하지 않게 된다. 이러한 특성은 살균 처리과정에서 온도 상승이 없기 때문에 열에 의하여 야기될 수 있는 물질의 특성 변화 등에 대한 문제가 야기되지 않는다 (Mazurek과 Lubicki, 1995; 이희규 등, 1996).

이와 같은 장점들 때문에 고전압 펄스 전기장 처리를 식품의 살균에 이용하기 위한 연구가 국내에서도 1996년 이후부터 시작되어 활발한 연구가 진행되고 있는 실정이다 (조형용 등, 1996; 신해현 등, 1997; 김경탁 등, 1999; 김수연 등, 1999; 하구용 등, 1999; 신정규 등, 2000; 목철균 등, 2000). 고전압 펄스에 의한 살균의 효율은 현탁액 속에 인가된 펄스의 수와 펄스 길이와 전계 강도에 의하여 결정된다 (Sale와 Hamilton, 1967; Sale와 Hamilton, 1968; Mazurek과 Lubicki, 1995; 이희규 등, 1996; 이희규 등, 1997). 또한 이때의 살균 효율은 전기장의 세기와 처리시간 이외에 펄

Corresponding author: Hee-Kyu Lee, Professor, Department of Electronic Engineering, Bucheon College, 424, Simgok-dong, Wonmi-ku, Bucheon-si 421-735, Korea
(phone: 032-610-3343)

스의 형태에 의해서도 영향을 받는 것으로, oscillatory pulse가 살균 효과가 가장 낮고, exponential decay pulse 보다는 square wave pulse가 살균 효과가 높으며, bipolar pulse가 monopolar pulse 보다 살균 효과가 높은 것으로 보고 되고 있다(Qin, et al., 1994; Zhang, et al., 1994). 이 연구에서는 resistance, inductance 및 capacitance (RLC) 회로에서 L(인덕턴스)값의 변화에 따른 방전 발전 파형이 미생물의 생존율에 미치는 영향을 조사하기 위하여 이 연구에서 설계된 network에서 여러 가지 L값을 교환하여 그때마다 살균챔버 속의 현탁액에 인가된 펄스의 감쇄파형을 측정하였고, 발전 감쇄 파형이 세포의 생존율에 영향을 주기 시작하는 threshold 전압점 보다 높은 파형의 갯수(이하 Ne로 표시함)를 조사하여 살균율과의 관계성을 분석하여 보았다.

재료 및 방법

펄스고전압 발생장치 및 살균 챔버

펄스 고전압 발생장치는 Fig. 1과 같이 Vdc는 직류 안정화 전원이고 Rc는 콘덴서저항, Rp는 보호저항이며 Gs는 갭(gap)스위치로 트랜지스터 스위치(HVS-24K20, Pulse Electronic Co, Japan)를 사용 하였다. Co는 콘덴서로 0.1 μF 이며, ES는 전극이 달린 살균 챔버(chamber)이다. 살균 챔버는 Fig. 2와 같은 구조로 직경 40 mm, 높이 10 mm인 아크릴(acryl)로 된 원통이며, 전극은 평판 전극으로 직경 20 mm인 스테인레스(stainless steel)로 제작되었다.

살균처리 방법

살균 챔버에 대장균을 함유하고 있는 생리식염수 (1 mL당 대장균 1×10^5 함유) 10 mL를 넣고 펄스의 형태 및 인덕턴스값을 변화시키면서 전기충격을 가하였다. 이때 전극의 간격은 1 mm로 조종되었고 시료에 방전되는 펄스의 인가 횟수를 측정하였다.

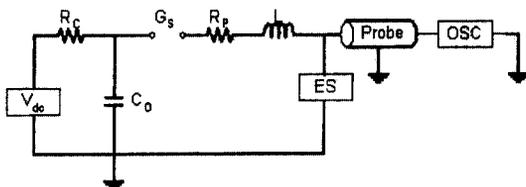
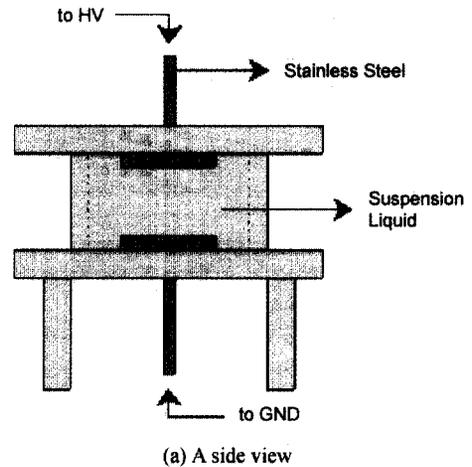
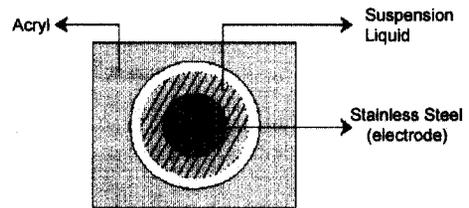


Fig. 1. Schematic diagram of HV pulse apparatus. Vdc: dc HV source, Co: condenser (0.1 μF), Rc: condenser's resistor (2 k Ω), Rp: protected resistor, Gs: gap switch, L: inductance, Es: sterilization chamber



(a) A side view



(b) A plane figure

Fig. 2. Structure of sterilization chamber.

생존율 측정

생존율 측정은 살균처리 전후의 시료(생리식염수)에 존재하는 대장균 생존수를 측정하여 살균처리 전의 균수에 대한 살균처리 후의 생존균수의 백분율로 나타내었다. 살균 챔버에서 시료를 채취할 때는 흔들어서 균질화 시킨 후에 채취하였다. 생존수의 측정에는 Desoxycholate agar를 사용하는 평판 도말 법에 의하였으며(Atlas et al., 1995) 35°C에서 48 시간 배양하였다. 생존율은 3회 반복한 결과의 평균치로 나타내었다.

결과 및 고찰

RC와 RLC회로

Fig. 3은 resistance와 capacitance (RC) 회로와 RLC회로에서 10kV일 때 현탁액에 방전 파형을 인가하였을 때 세포의 생존율에 대한 비교 데이터를 나타낸 것이다. 펄스 인가수가 10~80 일 때 RLC회로의 생존율은 RC회로의 생존율보다 20% 감소되었다. 펄스인가 회수는 갭 스위치 온 오프에 의하여 방전되는 펄스가 챔버 속의 시료에 인가되는 횟수이다. RC회로 보다는 RLC회로의 경우에서 생존율은 더 낮게 나타

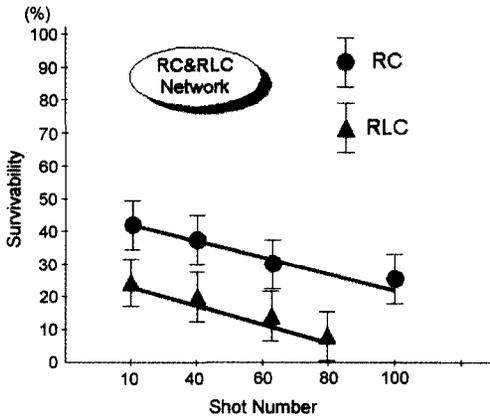


Fig. 3. Survivability of RC and RLC circuit with decay waveforms.

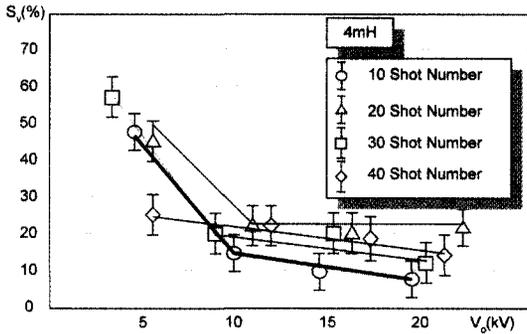


Fig. 4. Survivability due to pulse voltage and applied pulse number.

나고 있는 이유는 RC회로에서의 지수 함수적인 단일 감쇄 파형보다는 RLC회로에서의 감쇄 진동파형이 미생물에 더 큰 충격을 주기 때문인 것으로 해석된다. 전계밀도와 펄스당 인가된 에너지는 공급전압이 10 kV 경우 100 kV/cm에서 500 J 이었다.

또 동일한 RLC의 회로 조건에서는 펄스 인가의 횟수가 증가하면 세포의 생존율은 더욱 감소하는 경향을 나타내었다.

펄스인가회수 및 인덕턴스

Fig. 4는 인덕턴스 값이 4 mH 일 때 펄스의 인가회수와 인가 전압(V_0)에 따른 생존율(S_v) 변화를 나타낸 것이다. 펄스 인가회수가 10일 경우, 인가전압 10 kV 일 때는 5 kV 일 때에 비하여 4배의 생존율 감소를 가져왔다. 여기서 특히 최초 5 kV에서 10 kV로 증가하였을 때는 cell의 치사율이 크게 감소하였으나 15 kV 이상에서 둔화된 경향을 보인 것은 펄스에 의한 충격을 받는 지역이 한정되어 있기 때문인 것으로 생각된다.

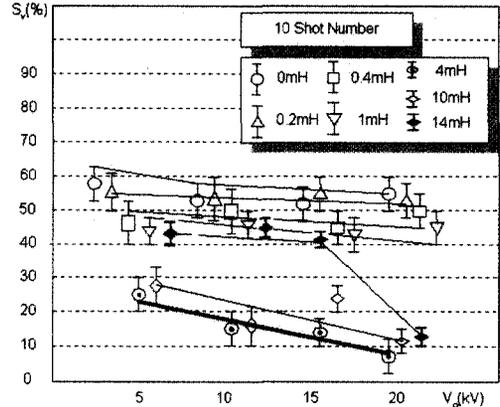


Fig. 5. Survivability due to pulse voltage and inductance values.

다. 펄스 인가회수의 경우도 최초에 10번 반복하였을 때에 비하여 그 후에 반복횟수를 점차 증가시켜도 치사율이 오히려 둔화된 경향을 나타내었다. 그러나 인가회수가 10회인 경우는 가장 선명하게 생존율 감소를 보였다. 그러므로 치사율을 크게 증가시키기 위해서는 펄스 인가회수에 대하여 처리기간의 단축과 10 kV이상의 펄스 발생전압이 유효할 것으로 생각된다.

Fig. 5는 펄스 인가회수가 10일 때 인가전압과 인덕턴스값에 따른 생존율의 변화를 나타낸 것이다. 인덕턴스 값이 4 mH와 10 mH일 때 특히 다른 인덕턴스 값에 비하여 2배에서 3배 정도의 생존율 감소를 나타내었다. 10 mH의 경우 10 kV일때, 4 mH에 비하여 생존율의 감소가 3% 차이가 있으나, 14 mH일때는 오히려 35%의 생존율 증가를 보이고 있다. 이러한 결과는 Fig. 7에서 분석된 threshold 전압의 차이에서 오는 결과로 생각된다. 그러나 V_0 가 20 kV 일 때 4 mH 이상에서 생존율의 비슷한 결과를 얻고 있는 것은 인가전압의 크기가 더 큰 요인으로 작용하고 있는 것으로 생각된다. 그러므로 펄스 발생전압과 인덕턴스 값의 변화에 따른 생존율의 비교에서는 4 mH 일때 생존율 감소가 현저하게 나타났고, 펄스 발생전압이 10 kV 이상에서는 생존율 감소 정도가 4 mH 미만의 경우에 비하여 3배 이상의 감소율을 나타내고 있다. 따라서 인덕턴스 값을 4 mH로 설정하는 것이 생존율 감소에 적절할 것으로 생각된다.

살균 Threshold 전압

Fig. 6은 살균에 대한 threshold 전압을 측정된 것으로 살균 작용이 시작되는 전압점을 관측한 결과이다. Fig. 6에서 보면 1500 V일 때 세포의 생존율이 평균

30%로 급격히 감소되었으며, 반면에 1300 V 일 때는 평균 생존율이 82%이었고, 1400 V에서는 평균 생존율이 63%로 나타났다. 그러므로 살균 threshold 전압은 1500 V로 설정하였다.

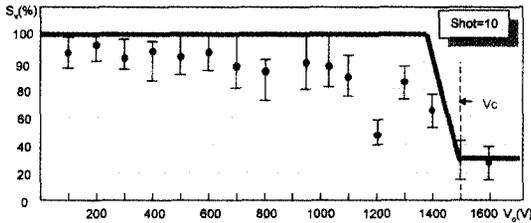


Fig. 6. Threshold voltage of sterilization.

Table 1. Ne number and sterilizing ratio depend on inductance values

| L (mH) | Ne number | Sterilizing ratio (%) |
|--------|-----------|-----------------------|
| 0 | 1 | 45 |
| 0.2 | 1 | 48 |
| 0.4 | 1 | 52 |
| 1.0 | 1 | 48 |
| 4.0 | 2 | 89 |
| 10.0 | 2 | 92 |
| 14.0 | 1 | 54 |

Fig. 7은 Ne 값을 산출하기 위하여 각 인가 펄스에 대한 방전 파형을 오실로스코프 상에서 관측한 것이며 인가된 방전 파형에 대하여 살균 threshold 전압인 V_c 를 측정된 결과를 점선으로 표시하고 있다.

Table 1은 측정된 인가 펄스파형에서 설정된 살균 threshold 전압인 1500 V를 측정하여 피크치가 1500 V 이상되는 감쇄 파형의 개수를 Ne 값으로 산출한 것이다. 이 Ne값은 클수록 살균율이 좋게 나타나고 있다.

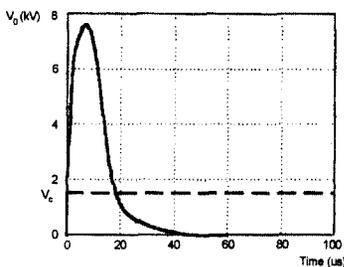
세포(cell)의 생존율에 크게 영향을 주었던 조건은 L 값이 4 mH일 때부터로 나타났으며 평균 살균율은 89 퍼센트로 나타났다.

L값이 4 mH 이상 일때 관측된 발진 감쇄 파형에서 나타난 진폭에 대하여 살균 threshold 전압점 이상인 진폭의 개수는 2개 이었고, 이 경우에 두 가지의 데이터를 비교하여 보면, Ne의 갯수와 살균율 간에는 비례적 관계를 갖고 있음을 알 수 있다.

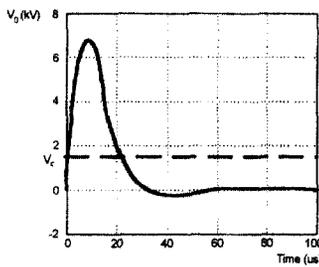
결론적으로 임펄스 방전 파형이 수중 살균에서 치사율에 직접 영향을 주는 요소가 됨을 결론 내릴 수 있다.

요 약

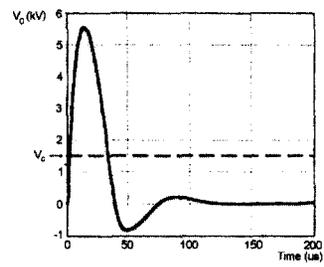
고전압 임펄스회로에서 RLC의 파라미터 값을 변화 시켜서 인가 전압원의 형태를 바꾸었을때 시료에 인



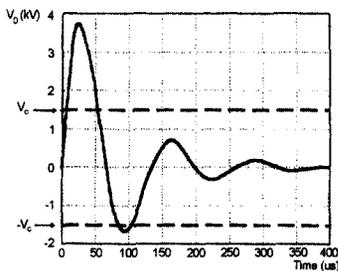
(a) $L = 0.2\text{mH}, Ne=1$



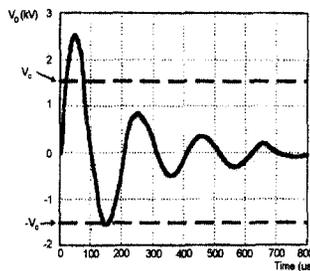
(b) $L = 0.4\text{mH}, Ne =1$



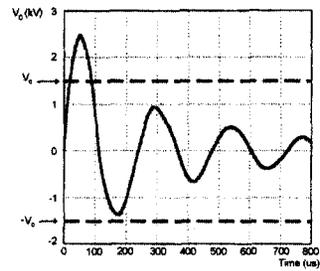
(c) $L = 1\text{mH}, Ne=1$



(d) $L = 4\text{mH}, Ne=2$



(e) $L = 10\text{mH}, Ne=2$



(f) $L = 14\text{mH}, Ne=1$

Fig. 7. Threshold voltage (V_c) and Ne number on applied voltage waveforms.

가되는 방전 파형의 형태에 따른 살균율을 비교 분석하였다. 특히 방전 파형의 특성이 살균율에 영향이 있는지를 알아보기 위하여 회로에서 인덕턴스값을 몇가지의 다른값으로 변화시켰을 때 측정된 방전 감쇄 진동파형에 대하여 살균 threshold 전압치 이상의 진폭을 가진 파형의 갯수를 측정하여 살균율과 비교 분석하였다. 그 결과 인덕턴스를 0~14 mH로 변화시켰을 때 시료에 인가된 임펄스파형 중에서 인가전압이 10 kV 이고 L값이 4 mH~10 mH일 때 세포의 생존율이 크게 감소됨을 알 수 있었다. 결과적으로 감쇄 진동파형에서 threshold 전압파형의 개수(N_e)는 살균율과 비례 관계가 성립되고 있음을 알 수 있었다.

문 헌

- 김경탁, 김성수, 이영춘. 1999. 고전압 펄스 전기장 처리된 사과 주스의 저장중 품질 변화. *한국식품과학회지* **31**: 375-379
- 김경탁, 김성수, 최희돈, 홍희도, 하상도, 이영춘. 1999. 고전압 펄스 전기장 처리된 미생물 세포의 생리 특성. *한국식품과학회지* **31**: 368-374
- 김수연, 박영서, 목철균. 1999. 고전압 펄스를 이용한 약주의 회분식 살균. *한국식품과학회지* **31**: 1247-1253
- 목철균, 이상기. 2000. 직렬배열 다중전극 고전압 펄스 전기장 처리장치를 이용한 약주의 살균. *한국식품과학회지* **32**: 356-362
- 신해현, 변유량. 1997. 고전압 펄스 전기장 처리에 의한 *Lactobacillus plantarum*의 불활성화. *한국식품과학회지* **29**: 1175-1183
- 신정규, 변유량. 2000. 고전압 펄스 전기장에 의한 식품의 살균. *식품과학과 산업* **33**: 27-35
- 조형용, 신정규, 변유량. 1996. 고전압 펄스 전기장 비열살균. *식품과학과 산업* **29**: 28-35
- 하구용, 신정규, 이석훈, 조형용, 변유량. 1999. 고전압 Exponential decay pulse를 이용한 당근 주스의 비열 살균. *한국식품과학회지* **31**: 1577-1582
- Atlas, R.M., A.E. Brown and L.C. Parks. 1995. *Laboratory Manual of Experimental Microbiology*. Musby-Year Book Inc., St. Louis, Missouri, USA
- Castro, A., J.G.V. Barbosa-Canovas, and B.G. Swanson. 1993. Microbial inactivation of foods by pulsed electric fields. *J. Food Proc. Pres.* **148**: 47-73
- Jayaram, S., G. S. P. Castle, and A. Margaritis. 1992. Kinetics of sterilization of lactobacillus brevis cells by the application of HV pulses. *Biotech. Bioeng.* **40**(11): 1412-1420
- Lee, H.K., J. Suehiro, M.H. So, M. Hara, D.C. Lee. 1996. Electrical sterilization of Escherichia coli by HV impulse and effect of voltage waveforms. *Proc. of Korea-Japan sympo. on Electrical Discharge and HVE* No. 3-3
- Lee, H.K., J. Suehiro, M.H. So, M. Hara, D.C. Lee. 1997. Measurement of excellent condition to RLC parameter for electrical sterilization on *E. coli*. *Proc. of the 5th ICPADM 2*: 1436-1439
- Mertens, B. and D. Knorr. 1992. Developments of nonthermal processes for food preservation, *Food Technology* **46**(5): 124-133
- Pothakamury, U.R., A. Monsalve-gozalez, G.V. Barbosa-Canovas, and B.G. Swanson. 1994. Inactivation of *E. coli* and staphylococcus aureus in model foods by pulsed electric field technology. *Food Preservation Proceedings, Natick, MA*
- Qin, B., Q. Zhang, G.V. Barbosa-Canovas, B.G. Swanson and P.D. Pedrow. 1994. Inactivation of micro-organisms by pulsed electric fields with different voltage waveforms. *IEEE Trans, Dielectrics and Electrical Insulation* **1**: 1047-1057
- Sale, A.J.H. and W.A. Hamilton. 1967. Effect of high electric fields on microorganisms-I, killing of bacteria and yeasts. *Biochem. Biophys. Acts* **148**: 781-788
- Sale, A.J.H. and W.A. Hamilton. 1968. Effects of high electric fields on microorganisms-III, Lysis of erythrocytes and protoplasts. *Biochim. Biophys. Acta* **163**: 37-43
- Zhang, Q., A. Monsalve-Gonzalez, B. Qin, G.V. Barbosa-Canovas and B.G. Swanson. 1994. Inactivation of saccharomyces cerevisiae by square wave and exponential decay pulsed electric field. *J. Food Process Eng.* **17**: 469-479