

식품 적용 병원균 제어기술 연구동향

Current Thermal / Non-thermal Technologies to Control Foodborne Pathogens

강 동 현

Dong-Hyun Kang

서울대학교 식품공학과

Department of Food and Animal Biotechnology, Seoul National University

I. 서론

식품가공과 저장에서 열처리공정은 가장 중요한 공정 중의 하나이다. 열처리의 주된 목적은 미생물의 사멸뿐만 아니라 식미개선 및 효소와 독성분의 파괴 등 식품의 안전성과 저장성을 부여하는 식품가공의 한 수단이 된다. 그러나 이와 같은 긍정적인 변화 이외에도 영양성분, 색소, 조직감, 향미 성분 등의 파괴 또는 손실에서 오는 부정적인 품질 변화도 동시에 일어난다. 따라서 미생물, 효소, 독성분의 파괴 또는 불활성화를 최대화하고 식품의 영양적 성분과 관능적 특성의 감소 등을 최소화하기 위해서는 각 식품에 알맞은 열처리공정을 선택하여야 한다. 전통적으로 사용되던 가열방법들은 식품의 외부에서 발생된 열이 대류나 전도에 의해서 내부로 전달되는 메커니즘에 의존한다. 하지만 식품의 심부까지 충분한 열이 전달되기 위해서는 많은 시간이 소요되어 과열로 인한 품질 손상이나 과정중의 열 손실로 인해 효율이 저하되는 문제점을 안고 있다(1). 이에 최근 식품 산업계에서는 전자기를 활용한

가열 기술들이 각광을 받고 있으며 기존 가열 방법들의 대안으로 제시되고 있다(2). 본 고에서는 유전자열 중 가장 보편화된 마이크로파 가열과 음 가열에 대해 다루어 보았다. 이 기술 들은 열 에너지가 식품 내부에서부터 발생하여 열 효율이 높고 짧은 시간 내에 균일한 가열이 가능한 장점이 있다.

최근 유기농 및 최소가공식품 시장의 급격한 성장에 따라 그들에게 존재할 수 있는 식중독 미생물과 부패 미생물을 제어하여 식품 미생물 안전성과 저장성을 높이는데 있어, 열 유입을 최소화하여 식품 품질(영양적, 생리 활성적, 관능적 품질) 저해를 최소화하는 비열처리 공정이 많은 주목을 받고 있다. 대표적으로는 방사선조사, 천연항균물질, 가스치환포장, 초고압처리, 고전압 펄스 전기장 등의 기술들이 있다. 그러나 대량 생산체계를 지닌 현재의 식품산업계에서 현실적으로 적용 가능한 비열처리기술에 대한 연구가 미비한 상황이므로, 그들의 연구에 대한 요구는 점차 증가되고 있다.

따라서 본 고에서는 최근 연구가 활발히 진행 중인 열

Corresponding author: Dong-Hyun Kang
Department of Food and Animal Biotechnology, Seoul National University,
Seoul, 151-921, Korea
Tel: +82-2-880-4927
Fax: +82-2-883-4928
e-mail: kang7820@snu.ac.kr

처리 제어법(thermal)과 비 열처리 제어법(non-thermal) 들을 구체적으로 살펴보고 식품 가공 산업에서의 적극적인 도입과 관련 규제 수립에 도움이 될 수 있는 기초 자료를 제공하고자 한다.

II. 병원성 미생물 제어기술

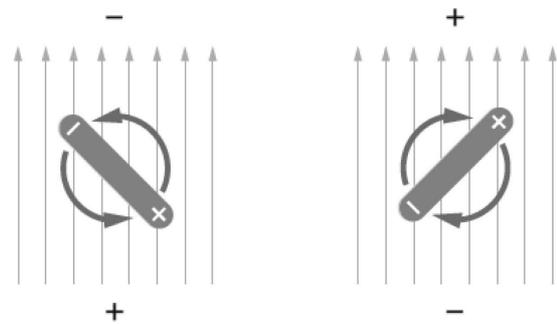
I. 열처리 제어기술 (thermal technologies)

1) 마이크로파(microwave)

마이크로파(microwave)란 주파수 300 MHz에서 30 GHz(파장 1 cm ~ 1 m)에 이르는 매우 짧은 영역의 전자파를 말하며, 빔처럼 직진하는 성질을 가지고 있다. 마이크로파 가열 원리는 유전가열(dielectric heating) 방식이라 불린다. 자연 상태를 유지하는 물질(전기적 성질을 갖지 않고 존재하는 것 : 파라핀, 벤젠 등)은 마이크로파에 의해 영향을 받지 않고 파를 통과시키지만 물 분자나 그 외 지방, 당과 같은 분자는 파를 흡수하여 물질을 가열시키는 작용을 한다. 대부분의 물질들은 자연 상태로 존재하지 않기 때문에 전자장이 형성된 곳에 놓이면 그림처럼 일직선의 전자장이 형성된다.

음식물에 마이크로파를 처리하면 음식물 내에 존재하는 극성 분자들은 전자기파의 전기장이 양과 음으로 진동할 때 양과 음의 방향을 바꾸며 매우 빠르게 회전하여 전자기장을 따라 정렬하게 된다(그림 1). 분자의 회전에 의해 분자 간에 충돌과 마찰이 생기는데, 이때 생긴 열이 식품 내부 및 표면으로 전달된다. 또한 마이크로파에 의해 생긴 열은 연속적인 전도과정을 통해 증가된다.

마이크로파를 이용한 열처리 방법은 기존의 열처리 방법과 비교했을 때 식품의 온도를 매우 빠르게 증가시키며, 원하는 온도를 만드는데 적은 시간이 소요된다. 특히 고체나 반고체 물질의 적용이 용이하며, 포장된 식품에서도



출처 : 식품가공저장학 (장학길, 2008)

그림 1. 마이크로파장에서 극성 분자의 움직임

이용이 가능하다. 물체자체가 발열체이기 때문에 가열장치를 예열할 필요가 없어 열효율이 매우 좋으며 짧은 시간 동안 높은열을 생산함으로써 병원균을 효과적으로 파괴하고, 열에 의한 식품 성분의 분해를 줄일 수 있다. 식품의 각 부분이 동시에 발열하기 때문에 복잡한 형태의 물질에 대해서도 비교적 균일하게 가열 및 살균을 할 수 있고 손실계수의 차를 이용해 부분적으로 선택 살균할 수 있다(3-4).

기존 연구를 통해 밝혀진 여러 식품군에서의 마이크로파의 살균 효과를 살펴보면 다음과 같다. Lakins 등(5)은 마이크로파를 이용하여 달걀 껍질을 살균하였을 때 달걀의 품질 저하 없이 *Salmonella Enteritidis*를 살균할 수 있다고 하였으며, *Escherichia coli* O157:H7를 접종한 닭고기에서 마이크로파를 처리한 경우 *E. coli* O157:H7를 완전히 제거할 수는 없었지만 높은 저감화 정도를 확인할 수 있었다(6). Teotia 등(7)은 2,450 MHz의 마이크로파가 가금류에 존재하는 *Salmonella Senftenberg*를 완전히 파괴했다고 하였으며, 이 외에도 두유에 접종한 *Salmonella* 속과 소고기에 오염된 세균 제거에 효과적이라고 보고되어 있다(8-9).

표 1. 마이크로파 열처리에 영향을 줄 수 있는 주요 요소들

Food	shape, size, composition (moisture, salt, and so on), multiple components (e.g. frozen dinner), liquid against solid
Package	presence of metallic elements such as aluminum foil, susceptor
Process	power level, cycling, presence of hot water or air around the food, equilibrium time
Equipment	demensions, shape and other electromagnetic characteristics of the oven, frequency, agitation of the food, presence of mode stirrers and turntables

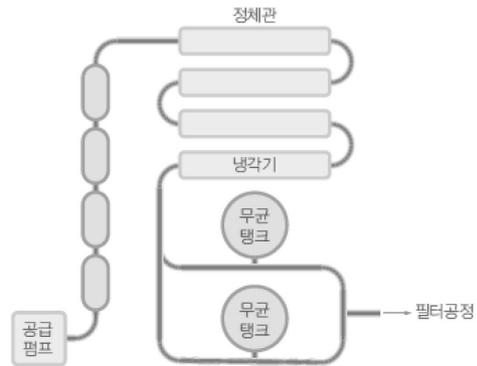
마이크로파의 살균이나 멸균 효과는 여러 가지 요소에 의해서 영향을 받을 수 있으며(표 1), 장치의 디자인이 전통적인 열처리 방법과 다르게 결과에 큰 영향을 미칠 수 있다. 예를 들면, 포장식품의 경우, 포장 물질은 마이크로파의 통과가 가능해야 하고, 열변성을 견딜 수 있어야 한다. 또한 몇몇 금속물질은 마이크로파의 투과를 저하시키고 식품 온도의 변화를 야기할 수 있다. 또한 일반 가열 방법에 비해 온도 차이는 적지만 가열이 균일하지 않게 일어나는 점도 마이크로파의 단점이라고 할 수 있다. 이러한 단점을 개선시키기 한 연구가 계속해서 진행 중에 있다. 그러한 예로써 마이크로파 처리 동안 회전판 등을 이용하여 균일한 열처리를 가능하게 하는 방법이 개발되었으며, 산업적으로는 기존의 열처리나 화학 약품 등과 결합된 형태의 처리가 고려되고 있다.

2) 옴 가열(ohmic heating)

옴 가열이나 전기적 저항 가열은 연속적으로 흐르는 식품에 저압의 교류 전류를 적용하게 되는데 이 과정 동안 식품의 전기전도도에 의해서 열이 발생하게 된다. 즉, 이 방법은 액체 혹은 고체 물질내의 전기 저항 효과를 이용하여 전기 에너지를 열로 전환시키는 방법이다. 여러 개의 전극이 장치된 관 속으로 식품을 투입하여 처리하게 되는데 옴 가열의 장점은 신속하고 균일하게 물질에 열을 처리할 수 있다는 것이며, 신속한 온도의 상승으로 식품 내 미생물을 보다 효과적으로 제어할 수 있다.

전류를 이용한 미생물 저감화 메카니즘과 관련된 연구가 많이 진행되어 있지만 그 기작에 대해 확실한 이유는 아직 밝혀지지 않았다. 현재까지 전류를 통해 생성되는 열과 화학적, 물리적인 변화에 의해서 미생물의 저감화가 이루어지는 것으로 알려져 있다. 옴 가열을 통해 발생된 열은 미생물을 저감화 시키는 데 가장 큰 요소라고 할 수 있다. 전극 반응에 의해 식품 내에 생성되는 화학적 물질 또한 균 사멸을 야기 할 수 있으며, 이는 전극 판의 종류, 전류밀도, 주파수, 사용되는 식품에 따라 달라지게 된다. 낮은 주파수(50~60Hz)를 이용하여 식품에 처리를 하게 되면 세포벽에 구멍 생성과 전하 축적을 야기하게 되는데 이러한 전기천공(electroporation) 효과가 미생물 사멸을 유도한다고 알려져 있다.

옴 가열은 기존의 열처리 방법을 대체할 수 있는 기술이다. 내부에서 열을 발생시킨다는 점에서 마이크로파와



출처 : Improving the thermal processing of foods, 2004

그림 2. 옴 가열의 연속공정 개략도

유사하지만 마이크로파에 비해서 일정하게 가열이 되며, 가열 속도의 경우에도 기존의 기술에 비해 월등히 빠르다는 것이 옴 가열의 장점이라고 할 수 있다. 따라서 옴 가열은 식품의 안전성과 더불어 높은 수준의 식품 품질을 유지시켜 줄 수 있는 기술이며 식품의 데치기 과정, 증류수화, 발효, 그리고 추출 등의 과정에서 이용이 기대된다. 그림 2는 옴 가열의 연속공정의 개략도를 나타낸 것이다. 더불어 액화 식품이나 미립자 식품, 특히 인스턴트음식, 과일, 채소, 고기, 또는 어류 등의 살균이나 멸균 등에 이용될 수 있다.

2. 비 열처리 제어기술 (non-thermal technologies)

1) 방사선조사

방사능 물질에서 나오는 이온화된 방사선 에너지를 식품에 쬐이는 것을 방사선 조사라고 한다. 방사선 조사에 많이 이용되는 조사 선원으로는 γ 선, X-선, 전자빔 등이 있으며(표 2), 이는 식품의 발아 및 숙성을 지연시키거나 식품의 병원균, 기생충 및 해충을 사멸시켜 위생적인 식품을 만든다. 산업적으로 식품 조사에는 특정 종류의 방사선원만이 사용될 수 있다. 방사성 동위원소(Co-60 또는 Cs-137)가 5 MeV 이하의 에너지를 가진 엑스선 발생장치나 10 MeV 이하의 에너지를 가진 전자선 장치에 의해 방사선 에너지를 발생하여 식품을 조사하게 된다.

Co-60은 침투력이 좋고 균일하게 조사되며, 쉽게 이용할 수 있고, 환경에 유해한 위험도가 적은 장점을 가지며,

표 2. 산업적으로 이용될 수 있는 방사선의 종류

방사선	선원	반감기	이동에너지(MeV)
감마(γ)선	Co-60	5.3년	1.17, 1.33
	Cs-137	30년	0.66
전자선	전자가속기에서 발생(10MeV이하)		
X선	기계적으로 발생(5MeV이하)		

출처: 방사선조사에 의한 식자재의 살·멸균 원리 (김동호, 2006)

반감기가 5.3년으로 짧고 다소 식품 가공 속도가 느린 단점을 가진다. Cs-137의 경우 반감기가 30년으로 길며, 방출 에너지가 적어 차폐기물이 적은 반면, 침투력이 약하고 균일하게 조사되지 않고 공정 속도가 느리다. 또한 수용성과 낮은 용점 때문에 환경 유해성이 크며 연료보급이 핵 폐기물에 의존하므로 공급이 한정된다. 이 같은 이유로 식품에 조사되는 감마선원은 주로 Co-60을 사용한다.

방사선은 생체조직의 구성 물질을 이온화 함으로써 에너지를 부여함으로써 직접 및 간접적으로 작용하여 생체에 영향을 미치게 된다. 이온화된 에너지가 직접적으로 작용할 경우, 생체 내 세포벽 및 DNA에 직접적으로 작용하여 화학적 결합구조를 파괴함으로써 치사효과를 일으킨다. 간접적으로 생체 내 물 분자 및 다른 구성성분이 방사선의 이온화 작용에 의하여 자유라디칼(free radical)이나 이온을 생성하여 생체에 손상을 입히기도 한다. 이온화 작용에 의해 물 분자가 들뜬 상태(excited state)가 되어 $H \cdot$, $OH \cdot$, $O_2 \cdot$, H_2O_2 , H^+ , OH^- 을 생성하며 이러한 분해산물들이 강한 산화제와 환원제로 작용하는 것이다.

조사된 물질이 받은 방사선 선량은 그 물질이 받은 에너지인 흡수선량으로 표시할 수 있는데, 식품의 저장성을 향상시킬 목적으로 방사선 조사가 이루어질 때 각기 목적에 따라 선량의 범위가 다르게 적용이 된다. 국제식량기구와 세계보건기구는 목적 및 적용식품에 따라 저선량 조사, 중선량 조사, 고선량 조사의 3가지로 구별하여 기준을 제시 하였다(표 3).

저선량 조사에서는 살균 효과보다는 과채소의 발아억제와 기생충이나 해충의 억제에 그 목적을 두고 이용한다. 감자의 경우 수확 후 3개월 정도 지나면 발아하기 시작해 가치가 떨어지는데 발아 억제제를 사용하는 경우 발아는 억제되나 환원당이 축적되고 미생물의 오염이 발생할 수 있는 단점이 있다. 0.05~0.15 kGy 정도의 저선량 조사만으로도 감자의 품질에 영향을 미치지 않으면서 6개월 이상 발아가 억제된다(10). 쌀, 밀, 밀가루, 돼지고기의 선모충, 건조식품, 향신료의 해충 등을 살충할 목적으로 저선량 조사를 사용할 수 있다. 1~10 kGy 정도의 중선량 처리로는 완전살균은 불가능하지만 육류, 과일, 채소, 어

표 3. 방사선 조사량의 식품에 대한 기준 (WHO/FDA, 1988 채택)

구분	조사량(kGy)	적용 식품
저선량 조사(1kGy 이하)		
■ 발아억제	0.05~0.15	감자, 양파, 마늘, 생강 등
■ 해충, 기생충의 살충	0.15~0.50	곡류, 콩, 생선, 과일, 건조식품, 생돈육 등
■ 성숙지연	0.50~1.00	과일, 채소 등
중선량 조사(1~10kGy)		
■ 선도의 연장	1.00~3.00	생선, 딸기 등
■ 식품 소재 또는 첨가물의 살균	1.00~7.00	생수산물, 냉동 수산물, 생육, 냉동육 등
■ 식품 특성의 개선	2.00~7.00	포도(주스의 수율 향상), 건조 채소 등
고선량 조사(10~50kGy)		
■ 멸균, 비열의 병용	30.0~50.0	육류, 닭고기, 수산물, 가공식품, 환자식
■ 식품소재 또는 첨가물의 살균	10.0~50.0	향신료, 효소 제제, 천연 가스 등

출처: 식자재 안전공급을 위한 식품 방사선 조사 이용현황 및 전망 (이주은, 2006)

패류 등의 품질에 영향을 끼치지 않고 흡착된 부패균을 사멸시킬 수 있다(11). 또한 냉장과 병용처리를 통해서 저장기간을 연장시킬 수 있으며 냉장 이외에도 진공포장 및 질소가스를 충전하거나 가벼운 열처리를 함께 실시한다면 선량을 줄이는 데 효과적인 것으로 알려져 있다. 이처럼 몇 가지 방법을 함께 사용하는 허들기술을 통해 지나친 품질 변화를 최소화할 수 있다. 고선량의 방사선 조사를 통해 식품에 존재하는 모든 미생물의 완전 멸균이 가능하다. 그러나 식품 조직 내에 존재하는 효소까지 불활성화시키는 것은 어렵다. 이 경우 미생물이 아닌 식품 내에서 효소에 의한 바람직하지 못한 반응이 계속 일어나 품질 저하를 야기한다. 간혹 방사선의 간섭반응(side reaction)에 의해서도 품질 변화가 심하게 일어나는 식품들도 있다. 이런 간섭반응(side reaction)에 의한 피해를 줄이기 위해 여러 가지 방법들이 이용되는데, 예를 들면 식품 내에 생성된 유리기가 이동하는 것을 방지하기 위해 동결 상태에서 방사선 조사 처리를 실시한다. 지방이 많이 함유된 식품의 경우 산패가 진행될 수 있으므로 진공 상태를 유지하거나 질소를 충전한 상태에서 방사선 조사 처리함으로써 산화를 억제시킬 수 있다. 또 고선량 조사로 인한 조사취가 발생되는데 이를 상쇄할 목적으로 다른 향신료나 소스류를 첨가하기도 한다. 따라서 중선량 조사와 마찬가지로 허들기술을 함께 적용하는 것이 바람직하다.

식품에 방사선 조사 시 생성되는 분해 산물 및 식품 성분과 기능에 영향을 주는 요인 중 가장 중요한 것은 선량이며, 곡물의 경우 해충 방제에 필요한 선량 0.5 kGy 이하에서는 조사한 식품 속의 화학적 변화가 일어나지 않는다(12). 멸균에 필요한 선량 10 kGy과 같은 고선량에서 처리하였을 경우에도 아미노산, 비타민, 당 등 개개의 식품 성분에 변화가 일어나지 않았다는 연구결과가 많으며(13), WHO에서도 1994년 이에 대한 안전성을 발표한 바 있다. 60 kGy로 조사한 식품 속에서 60종류의 방사선 분해 생성물이 검출되었으나 이 또한 대부분 소량 생성되었을 뿐이며 이러한 화합물들 모두가 조사하지 않은 식품에서도 일부 검출되는 수준이다(14).

과거 몇 십 년에 걸쳐 여러 가지 동물 연구들이 이루어져 왔으나 방사선 조사된 식품의 소비가 해로운 효과를 유발한다는 증거는 없었다. 독성학의 모든 면을 다룰 수 있는 반성, 아만성 효과, 생식, 기형학, 돌연변이 유도에 대한 시험의 결과 조사된 식품을 소비하였을 때 유해한 효

과가 없었으며(15), 국제적 계획 사업에 의해 1970년에서 1981년까지 수행된 다수의 동물 투여 실험에 대한 각종 보고서에서도 유해한 효과는 보이지 않았다(16). 따라서 1992년 5월 제네바에서 과거 40년간의 식품 조사에 관한 다양한 연구보고서를 토대로 세계보건기구, 국제식량농업기구, 국제원자력기구 등을 비롯한 국제기구와 국제소비자연맹 등은 방사선 조사된 식품이 영양적, 화학적 변화를 겪지 않으면서 미생물적 안전성을 보장해주는 안전한 식품으로 규정하였다. 그러므로 방사선 기술은 개개의 식품 조사 목적에 부합되는 정확한 방사선량을 결정하여 관리할 경우 식품안전 분야에 효과적으로 적용할 수 있다.

2) 천연항균물질

최근 소비자의 건강 지향적 성향으로 인하여 식품산업계에서도 인공합성보존제의 사용을 될 수 있는 한 제한하려는 추세이고, 안전성이 확보된 천연항균성 물질에 대한 요구가 높아지고 있다. 천연항균물질의 개발과 이용은 인공합성보존제의 대체라는 의미와 소비자 기피 현상을 유발시키지 않는다는 측면에서 그 중요성이 강조된다. 미국에서는 일반적으로 인간이 장기간 식용으로 사용했던 천연물을 그대로 이용하거나 추출하여 보존제로 사용하는 경우에 이를 generally recognized as safe(GRAS) list로 분류하여 관리하고 있다.

식품에 적용 가능한 천연항균물질은 전통적으로 사용해 온 소금, 식초 등 일반 식품 소재 뿐만 아니라 동물이나 식물에 천연적으로 존재하는 특정 단백질 및 효소류, 갑각류의 키틴질에서 추출한 키토산, 유기산, 식물의 정유(essential oil) 및 미생물에서 유래된 nisin, e-polylysine, natamycin 등이 있다(17).

식용으로 이용 가능한 식물자원의 각종 기능성 물질과 항균물질을 탐색하고 그 유효성을 평가하는 것은 매우 중요하다. 식물로부터 분리된 물질 중 항균 및 항산화작용, 그리고 다양한 생리활성을 갖는 물질들이 매년 보고되고 있다.

식물 유래 천연항균물질의 항균력에 대한 작용 기작은 모두 밝혀지진 않았지만 이 중 phenolic과 terpenoid는 미생물의 세포막을 파괴하는 기작을 통해 항균작용을 지닌다고 보고되었고(18-19), coumarin과 alkaloid는 유전자 수준에서 미생물의 성장을 억제한다고 알려져 있으며(20-21), phenol과 flavonoid는 미생물의 대사 작용에 필

표 4. 염소 수 및 바질오일 세척 후 양상추의 세균 수 변화

처리		배지별 미생물 로그수(log cfu/g)			
		PCA	CFC	AA	VRBGA
대조군	양상추	5.11	4.54	3.51	4.06
물	양상추	4.63	4.1	3.15	4.09
	세척용	4.15	3.11	2.09	3.39
염소(125ppm)	양상추	3.76	3.01	<2.31	2.31
	세척용	<1.31	<1.31	<1.31	<1.31
바질오일(0.1%)	양상추	3.31	2.31	<2.31	<2.31
	세척용	<1.31	<1.31	<1.31	<1.31
바질오일(1%)	양상추	<2.31	<2.31	<2.31	<2.31
	세척용	<1.31	<1.31	<1.31	<1.31

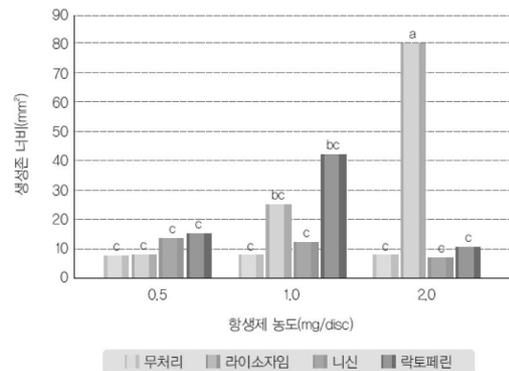
출처: Journal of Applied Microbiology. 84: 152-158 (1998)

수적인 물질에 결합함으로써 미생물의 성장을 억제한다고 알려져 있다(22). Phenolic compound는 낮은 수용성에도 불구하고 hydroxyl group이 있어 항균활성이 높고, 차나무의 항균활성은 monoterpene류의 미생물 세포벽과 세포막에 대한 투과율과 관계가 깊으며 이들 물질이 세포막 구조의 투과벽을 파괴함으로써 살균 효과를 나타낸다(17). 표 4는 천연항균제로서 바질오일(basil oil : 0.1%, 1%)을 양상추의 세척에 이용하였을 때 125 ppm chlorine과 비교할 만한 효과를 보여주는 자료이다.

동물에는 자신을 보호하기 위한 수단인 자기방어 기작이 잘 발달되어 있어, 체계적인 면역 시스템과 함께 다양한 항균물질들이 존재하는 것으로 알려져 있다. 예를 들어 우유 속에 존재하는 lactoferrin이나 lactoperoxidase, 계란을 세균의 감염으로부터 오랜 기간 동안 막아주는 역할을 하는 lysozyme, ovotransferrin, avidin, ovoflavoprotein, ovomucoid, cystatin 등이 있다(23). 특히 lysozyme은 인간에게 독성이 없고 세균 특이적인 가수분해 활성을 갖고 있으며, 용해도가 크고 무미, 무취의 특성을 지녀 천연 항균제로서의 이상적인 조건을 갖추고 있다(24). 그림 3은 lysozyme을 키토산 필름과 함께 적용하였을 때 다른 물질보다 살균 효과가 더 높음을 보여준다.

이러한 항균물질들은 본래 생체 내에 존재하는 분자들이기 때문에 그 안전성 면에서는 탁월하다고 할 수 있다. 최근 이러한 bioactive compound들에 대한 연구가 활발히 진행되고 있으며 이와 함께 그 기능이 다양하고 항균 스펙트럼이 넓은 새로운 동물 유래 물질을 탐색하여 유전공학 기술을 통해 대량생산하려는 연구가 진행되고 있다.

미생물이 다른 미생물에 대해 성장을 억제하는 항균물질을 생산해 내는 경우가 많은데, 이 중 유산균이 생성해 낸 항균성 peptide 또는 단백질인 박테리오신(bacteriocin)이 가장 대표적이다. 이것이 인체에 섭취되면 소화기관 내에 존재하는 단백질 가수분해 효소에 의해 분해되므로 장내 유익균에 영향을 주지 않고, 잔류성이 없어 생체 내에서 안전하다. 그러나 대부분의 박테리오신은 항균작용의 범위가 좁기 때문에 천연항균제로서의 사용에 제한을 받는다. 대표적인 박테리오신인 nisin은 미국에서 1988년에 GRAS로 인정받았으며, 현재 80개국 이상의 국가에서 그 사용이 허가되어 있으나, 국내에서는 아직 사용이 허가되어 있지 않다.



출처: Journal of Food Protection. 71(2): 319-324 (2008)

그림 3. 라이소자임, 니신, 락토페린을 처리한 키토산 필름에서의 병원성 대장균 저감화

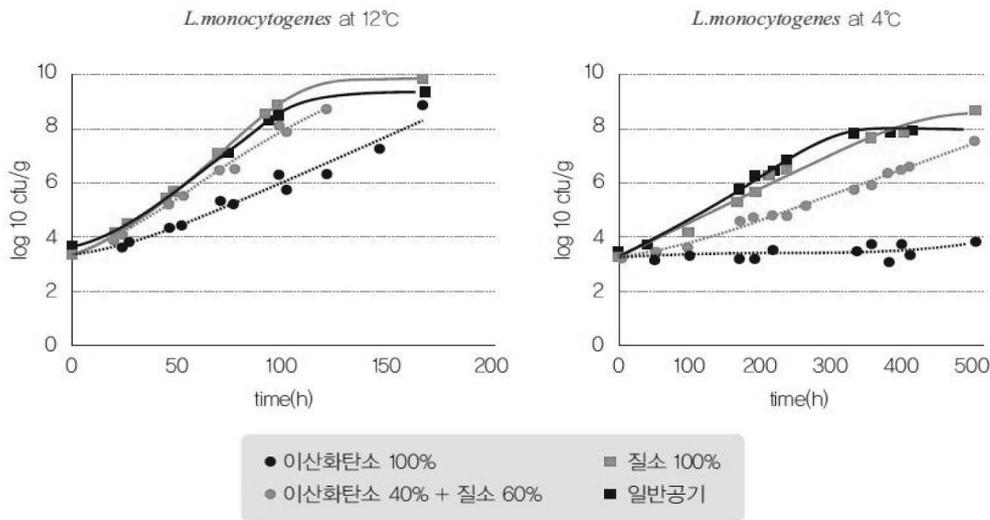
3) 가스치환포장 (modified atmosphere packaging)

가스치환포장(MAP)은 포장 내부의 공기를 고정된 가스 혼합물로 대체하여 기체의 조성을 바꾸어 주는 기술로 그 가장 큰 장점은 유통기한을 증가시켜 이에 따른 경제적 손실을 최소화해 주고 나아가 미생물의 성장 저해 효과를 기대해 볼 수 있다. 가스치환포장은 식품의 종류, 원재료의 초기 품질, 저장온도, 혼합가스, 포장하는 동안의 위생상태, 가스와 생산물의 부피비율 등의 요인에 대한 영향을 받는다.

식품의 종류에 따라서 주로 이산화탄소, 산소, 질소가 다양한 혼합조성으로 사용되는데 일반적으로 호흡을 하는 생산물에는 이산화탄소와 산소를 낮은 농도로 사용하고 호흡을 하지 않는 생산물에는 이산화탄소의 비율을 높게 한다. MAP에서의 기체조성은 저장성을 향상 시키기도 하지만 식품에 존재하는 미생물에 대한 살균효과에 지대한 영향을 미친다. 그림 4는 12°C와 4°C의 기체조성의 차이에 따라 *L. monocytogenes*에 대한 니신의 살균효과와 정도를 나타낸다.

이산화탄소는 세균과 곰팡이 발육의 상당한 저해효과가 있어 가스치환포장에서 매우 중요하다. 또한 이산화탄소는 식품 부패균의 성장을 저해한다. 이산화탄소의 용해도는 온도가 낮아질수록 증가하고 물과 지방에 녹기 쉽다.

따라서 저장온도가 이산화탄소의 효과에 있어서 가장 중요한 요인이 될 수 있으며, 온도가 낮아질수록 그만큼 세균 성장 저해 효과는 증가한다. 가스치환포장에서 세균의 성장억제는 식품에 용해된 이산화탄소의 농도에 의존하는데 식품 표면의 pH가 용해된 이산화탄소의 산성화효과에 의해 낮아진다. 또한 이산화탄소의 세균 저해작용은 세포막을 투과하여 세포내 pH를 낮추고 세포막의 기능을 변화시켜 영양분의 흡수에 영향을 주며, 효소의 작용역제나 효소의 반응률을 낮추고 단백질의 물리화학적 특성을 변화시키는 현상들이 복합적으로 일어나 발생한다. 질소는 비활성 가스로 낮은 용해도로 인해 가스치환포장에서 충전제로 많이 사용된다. 질소는 식품에 잘 흡수 되지 않으며 물과 지방에 잘 용해되지 않기 때문에 이산화탄소의 용해에 의해서 야기되는 포장 변패를 예방하기 위해 사용된다. 또한 질소는 산소에 의한 변패가 잘 일어나는 식품에서 산소를 대체하기 위해 사용되거나 호기성 세균의 성장을 억제하기 위해 진공포장대신 사용된다. 산소는 호기성 부패세균의 성장을 억제하기 위해 가능한 낮은 농도로 사용하는 것이 일반적이다. 산소의 존재는 산화형 산패를 일으킬 수도 있지만 80-90%의 고농도 산소는 특정 과일과 채소류의 유통기한을 증가시키기 위해 사용되고 30% 정도의 산소는 어패류의 육즙손실과 색변화를 줄이기 위



출처: International Journal of Food Microbiology, 1998, 43, 21-31

그림 4. MA조성별, 온도별, 니신의 살균효과 변화

해 사용된다.

이러한 가스들은 식품 포장에서 각기 다른 식품들에 고유한 혼합 조성으로 적용된다. 가스 조성 혼합 시 포장 변패, 식품 시출물, 맛의 변질을 야기하지 않는 범위 내에서 가능한 한 높은 농도로 사용해야한다. 일반적으로 30-60%의 이산화탄소와 40-70%의 질소가 적당한 범위이고 주된 부패 지표가 산화형 산패인 식품에서 혼합 가스는 산소를 포함하지 않아야하며 식품의 종류에 따라 혼합 가스는 100% 질소나 이산화탄소와 질소의 혼합가스가 사용된다. 반대로 호흡을 하는 식품에서는 너무 높은 농도의 이산화탄소나 너무 낮은 농도의 산소는 피해야 한다. 표 5는 각 식품별 가스치환포장(MAP)의 가스 혼합 조성을 나타낸다.

생선과 조개류는 높은 A_w , 중성 pH, 그리고 자기분해 효소가 존재하여 쉽게 변패되기 쉽다. 품질저하는 온도에 크게 의존하기 때문에 낮은 온도에 저장함으로써 예방할 수 있다. 특히, 저온저장과 함께 높은 농도의 이산화탄소를 사용한 가스 치환저장을 병행하게 되면 월등한 효과를 볼 수 있다. 선행 연구들을 통해 날 생선에 있어서 50-

100%의 유통기한 증가, 조리된 생선에서는 100-200%의 유통기한 증가가 관찰되었다. 표 5와 같이 지방질이 많은 어류에는 40-60% CO_2 , 40-60% N_2 가 적합하는데 이것은 세균에 의한 부패예방과 함께 불포화지방의 산화형 산패에 의한 악취를 예방한다. 또한 흰 살 어류에서 40% CO_2 , 30% O_2 , 30% N_2 의 조성이 바람직하고, 이때 30% 산소는 육즙의 손실을 막아주는 역할을 한다. 육류에서는 20-30% 이산화탄소, 70-80% 산소의 혼합가스 사용으로 고기의 색 유지와 세균의 성장 저해 효과를 얻을 수 있다. 또한 신선과채류의 경우, 신선과일 및 채소류는 수확 후에도 지속적으로 호흡을 하는데 호기적 조건에서는 이산화탄소와 수증기가 생성되는데 반해, 혐기적 조건에서는 에탄올, 아세트 알데하이드, 유기산등의 산물이 생성된다. 혐기적 조건에서는 악취를 유발하고 빠른 품질변화를 초래하기 때문에 최소 2-3%의 산소를 요구한다. 이에 따른 적절한 투과율의 포장 필름이 사용되어야한다.

가스치환포장(MAP)은 포장물질과 식품과의 상호작용의 유무에 따라서 능동 포장법과 수동 포장법으로 구분되어진다. 수동포장법은 지금까지 살펴본 것처럼 포장내의

표 5. 식품별 최적 공기 조성

식품	가스조성
흰 살 어류	40 CO_2 : 30% O_2 : 30% N_2
지방질이 많은 어류	40-60% CO_2 : 40-60% N_2
베이컨	20-35 CO_2 : 65-80% N_2
조리된 가금류	30% CO_2 : 70% N_2
가금류	100% CO_2
	25%-30% CO_2 : 70-75% N_2
	20-40% CO_2 : 60-80% O_2 60-75% CO_2 : 5-10% O_2 : 20% N_2
염지육	20-50% CO_2 : 50-80% N_2
신선육	30% CO_2 : 30% O_2 : 40% N_2
	15-40% CO_2 : 60-85% O_2
파스타(육류를 넣은)	50-80% CO_2 : 20-80% N_2
치즈	0-70 CO_2 : 0-30% N_2
베이커리	100% N_2
	100% CO_2
	20-70% CO_2 : 20-80% N_2
과채소류	3-8% CO_2 : 2-5% O_2 : 87-95% N_2
파스타	100% N_2

출처: Journal of Food Protection, 1991, 54, 58-70,

Meat and Meat Products : Principles and Applications of Modified Atmosphere Packaging of Food (1993, edited R.T.Parry, 170-187)

혼합 기체를 직접 조성해주는 방법이고, 능동 포장법은 포장물질과 식품과의 능동적인 상호작용이 이루어지게 하는 방법이다. 능동포장의 포장물질로는 산소제거/흡수제, 이산화탄소 흡수/생산제, 에탄올 발포제, 수분 흡수제 등이 사용된다.

여러 가지 혁신적인 포장기술의 개발 및 포장 주변 환경과의 상호작용을 통해 가스 치환 포장은 식품의 안전성 확보와 유통기한의 증진을 이끌 수 있을 것이다. 능동포장의 포장물질로 산소 흡수제, 이산화탄소 발포제가 이미 상업적으로 이용되고 있으며 연구가 활발하게 이루어지고 있지만 상업적으로 적용되지 못하는 기술도 있다. 실제적인 적용을 위해서는 가스치환포장의 안전성에 대한 논의도 지속적으로 이루어져야 한다.

4) 초고압처리

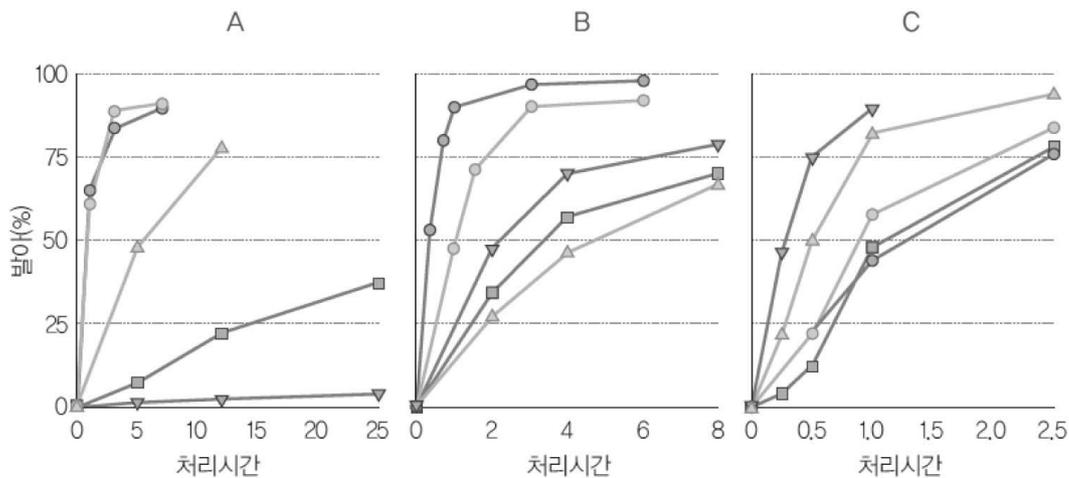
초고압 처리 기술은 약간의 온도 상승을 동반할 수는 있지만 비 가열 처리로 분류된다. 식품을 50~1000 MPa 범위의 초고압으로 처리한 경우 식품의 향이나 영양분의 손실 없이 미생물과 미생물의 효소를 효과적으로 제어할 수 있다고 알려져 있다.

이러한 초고압 처리에 대해 일반적으로 그람양성균이나 구균이 그람음성균이나 간균에 비해 높은 압력 저항성을 가진다. 또한 원핵생물이 진핵생물에 비해 압력에 더 저항성을 나타낸다. 압력 처리는 세포 주요 효소의 불활성

화, 세포막의 형태 변화, 단백질 합성 저해, 유전자 전사 및 번역의 저해 등 미생물 세포의 여러 가지 생리 변화를 유도한다. 여기서 세포의 형태 변화는 세포막의 세포벽으로부터의 분리, 세포막의 수축, 가스 액포(gas vacuoles)의 수축 등을 포함한다. 또한, 식품을 구성하고 있는 물질의 함량은 압력 처리 시 미생물의 반응에 큰 영향을 미친다. 예를 들어, 단백질, 탄수화물, 지방, 그리고 다른 식품 구성물들이 미생물에 대한 보호 작용을 나타낼 수 있다(25). 필수 비타민과 아미노산을 많이 함유한 식품은 다른 식품에 비해 더 효과적인 보호 작용을 보인다.

미생물의 성장 단계도 압력에 대한 민감도를 결정하는데 중요한 역할을 한다. 정체기(Stationary phase)에 있는 세포는 증폭기(exponential phase)에 있는 세포에 비하여 압력 처리에 대해 더 저항성을 나타낸다. 이는 주위 환경 변화에 반응하여 생성되는 단백질에 의한 것으로 알려져 있다(26-28).

처리 과정 중의 온도 또한 초고압 처리 시 미생물의 생존에 영향을 주는 요인이다. 이는 상온 이상의 온도에서 초고압이 처리되었을 때 온도의 증가로 미생물 포자가 발아되고, 발아된 세포는 초고압 처리에 더 민감하기 때문이다. 따라서 그림 5와 같이 열처리 이후에 초고압 처리를 순차적으로 하는 것이 열처리와 초고압 처리를 동시에 처리하는 것보다 미생물 포자를 제어하는 데 더 효과적일 수 있다. 반대로 상대적으로 낮은 압력을 처리하여 포자의 발아



출처: Applied and Environmental Microbiology, 71:5879-5887 (2005)

그림 5. 압력과 가열 병행 처리를 통한 포자제어 [기호-균종 구분]

를 유도한 후 열처리를 하여 포자를 제어하는 방법도 연구된 바 있다. 이러한 처리는 어느 정도 포자를 제어하는 데 효과를 나타내었지만, 미생물의 종, 처리 압력, 처리 시간, pH, 온도 등에 따라 효과 차이가 발생할 수 있다.

최근에는 초고압 처리가 어떻게 미생물, 바이러스, 곰팡이를 불활성화 시키는지 그 메커니즘에 초점을 맞춘 연구가 많이 이루어지고 있다. 그 결과로 압력 스트레스에 대해 유전자와 단백질 수준에서의 반응에 관심을 두게 되었다. 마이크로어레이(Microarray)와 프로테옴분석(proteome analysis)를 통해 초고압 처리에 대한 저항성과 관련된 유전자와 단백질에 대해 연구가 이루어졌다. 이와 같은 연구는 주로 식중독과 관련된 대장균(*E. coli*), 리스테리아균(*Listeria monocytogenes*), 그리고 유산균에 대해서 이루어졌으며 초고압 처리가 산화스트레스, 열/냉 스트레스 반응, SOS 반응, 주화성과 관련된 유전자의 재형성, 광전이 효소 체계(phosphotransferase systems) 등의 반응을 유도하는 것으로 밝혀졌다.

초고압 처리를 통해 미생물학적으로 안전하면서 높은 품질의 식품을 생산할 수 있다. 초고압 처리는 고단백질 식품에서 어느 정도의 단백질 변성을 야기할 수 있지만, 열처리를 한 경우에 비해 그 영향은 적은 편이다. 그리고 초고압 처리에 의해 유도된 단백질의 변성은 처리 조건과 단백질의 종류에 따라 다시 회복 가능하다. 신선육이나 가금류를 초고압 처리하면 미오글로빈의 변화, 철 원자의 산화 등에 의한 색 변화가 일어날 수 있다. 그러나 백색육이나 염지육에서는 이러한 색 변화가 거의 일어나지 않는다.

식품의 관능적 특성도 색 변화 못지않게 제품의 판매에 큰 영향을 미친다. 따라서 식품의 유동학적 특성을 이해하는 것이 제품의 품질을 유지하는 데 있어 중요하다. 일

반적으로 수분함량이 높은 식품의 물리적 구조는 초고압 처리 후에도 변화가 없는데, 이는 수분의 존재에 의해 초고압 처리에 의한 전단력이 약해지기 때문이다. 과일과 같은 식품에서는 공기주머니가 파괴되고, 물리적 수축으로 인해 식품 외관의 비가역적인 변화가 일어난다.

초고압 처리는 식품산업에서 안전성과 품질 유지에 있어 큰 잠재력을 지니고 있다. 육안상의 식품의 품질을 유지해 줄 수 있을 뿐만 아니라 영양소도 유지시켜 줄 수 있기에 소비자로 하여금 신선한 식품으로 인식될 수 있으며 이는 산업에서 매우 중요한 부분이다. 현재 고가의 초고압 처리 시스템을 식품 산업에 적용하는 데에는 한계점이 있지만, 항균물질과 병행으로 처리하는 등의 지속적인 연구를 통해 이러한 문제를 해결할 수 있을 것이다.

5) 고전압 펄스 전기장

고전압 펄스 전기장(pulsed electric field)은 미생물, 효모, 곰팡이의 사멸에 효과적인 방법으로 각광받고 있다. 미생물이 포함된 액상식품에 짧은 시간 높은 전압으로 처리하면 세포막에 큰 충격을 주어 미생물을 사멸할 수 있다. Mittal 등은(29) 고전압 펄스 전기장의 가장 큰 장점으로 낮은 에너지를 이용하여, 살균효과를 얻을 수 있다고 보고하였다. 전통적인 가열 방법으로 1 L의 우유를 살균하기 위해서는 300 kJ 이상의 에너지가 필요하지만, 고전압 펄스 전기장을 이용하면 200~240 kJ이면 충분히 살균할 수 있으며, 미생물의 spore 제거도 가능하다. 전통적인 가열 살균은 미생물의 사멸, 효소의 불활성화뿐만 아니라, 영양성분 및 기의 감소, 지방산화, 단백질의 변성을 초래할 수 있다. 하지만 고전압 펄스 전기장 처리는 상온 혹은 냉장온도에서 몇 초 이내에 가능하기 때문에 식품의

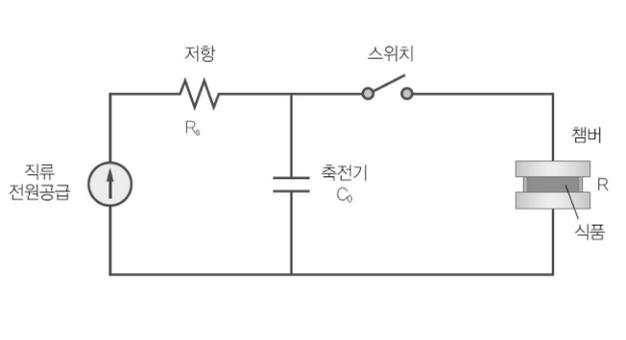


그림 6. 전기장 발생기 및 설비 계략도

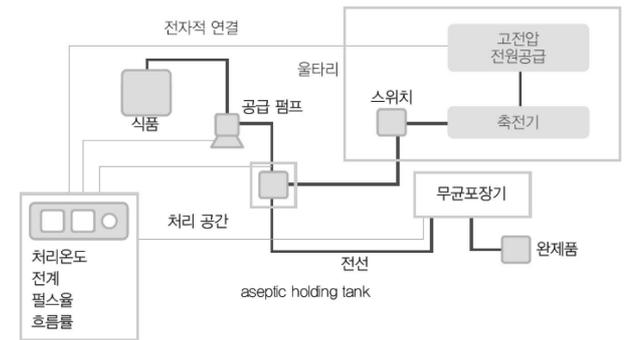


그림 7. 고전압 펄스 전기장의 산업 적용 설비

품질에는 변화를 주지 않으면서, 미생물의 사멸이 가능하다. 탈지유(skim milk-2% fat)에서 고전압 펄스 전기장 처리는 우유의 물리화학적 변화를 일으키지 않으면서, 유통기한이 2주간 지속된다. 또한 고전압 펄스 전기장 처리와 기존의 열처리를 이용한 살균효과에서 큰 차이가 보이지 않는다고 보고하였다.

고전압 펄스 전기장의 비가열 살균효과에 대하여 많은 연구들이 이루어졌다. Castro 등은(30) 우유, 발효유, 오렌지주스, 액상 난황에서 고전압 펄스 전기장 처리를 통하여 세균, 효모, 곰팡이가 5 log 정도 감소되는 것을 관찰하였다. Zhang 등은(31) 유식품에서 70 kV/cm의 강도와 160 μ s 동안의 고전압 펄스 전기장 처리를 통하여 *E. coli*의 9 log 감소를 관찰하였다.

일반적인 액상식품은 많은 양의 이온을 함유하고 있어 전기가 전달되는 도체이기도 하다. Zhang 등의(32) 연구에 의하면 고전압 펄스 전기장 처리를 위해서는 짧은 시간 동안(μ s)에 많은 양의 전류가 식품을 통하여 흘러야 한다. 펄스 생성기와 상업용 고전압 펄스 전기장 장치의 일반적인 계략도를 그림 6, 그림 7에서 확인할 수 있다. 고전압 펄스 전기장 처리는 고전압을 이용하기 때문에 전력 공급기(power supply), 축전기(capacitor), 챔버(chamber)는 반드시 안전한 구역에 있어야 한다(그림 7).

III. 맺음말

지금까지 현재 식품보존방법으로 이용되고 있거나 혹은 이용이 기대되는 열처리 제어법과 비열처리 제어법에 대해서 살펴보았다. 본 고에서 설명된 제어법 중 몇 가지는 현재 제한적으로 식품 산업에 이용되고 있지만, 대부분은 여러 가지 제약으로 인하여 아직까지 그 이용이 제한되고 있다. 하지만 전통적인 식품보존방법과 비교했을 때, 이러한 기술들은 식품의 안전성 증가와 더불어 처리의 효율성이나 품질의 보존 등 많은 장점을 가지고 있으므로 이용 가능성이 매우 높다고 할 수 있다. 또한, 계속해서 나아지는 기술력과 증가되는 과학적 정보에 힘입어 머지않아 식품 산업에 폭넓게 이용될 수 있을 것으로 기대된다.

우리나라의 경우 아직까지 식품 안전성의 연구나 보고가 미흡하고, 식품 중의 병원성 미생물을 제어하기 위한 기술의 응용 정도가 많이 부족한 실정이다. 소비되는 식품의 종류는 국가별로 많은 차이를 보이고 있기 때문에

그에 대한 식품보존방법도 달라져야 한다. 따라서 국가적으로 새로운 식품보존기술의 도입이나 독자적인 기술 개발을 통해 이를 우리나라 식품 산업에 응용하고, 그 효과에 대한 검증이 반드시 수행되어야 한다고 생각된다. 또한 그에 앞서 병원균의 생태학적 혹은 지역적 특성에 관한 연구와 식중독 발생에 대한 전반적인 연구가 선행되어야 할 것이다.

참고문헌

1. Pereira R.N., Vicente A.A., Environmental impact of novel thermal and non-thermal technologies in food processing. Food Research International. 43: 1936-1943 (2010)
2. Vicente A. & Castro I. Novel thermal processing technologies. In G. Tewari & V. Juneja (Eds.), Advances in thermal and non-thermal food preservation. Oxford, UK: Blackwell Publishing. (2007).
3. 임성일, 마이크로파를 이용한 미생물의 살균. 식품과학과 산업. 32:20-23 (1999)
4. Lim S.I., Use of microwave in food industry. Sterilization of pathogens through the microwave. Food Sci. Ind. 32(1):19-34 (1996)
5. Lakins D.G., Alvarado C.Z., Thompson L.D., Brashears M.T., Brooks J.C., Brashears M.M., Reduction of *Salmonella* Enteritidis in Shell Eggs using Directional Microwave Technology. Poultry Science. 87:985-991 (2008)
6. Apostolou I., Papadopoulou C., Levidiotou S., Ioannides K., The effect of short-time microwave exposures on *Escherichia coli* O157:H7 inoculated onto chicken meat portions and whole chickens. International Journal of Food Microbiology. 101:105-110 (2005).
7. Teotia J.S., Miller B.F., Destruction of salmonella on poultry meat with lysozyme, EDTA, X-ray microwave and chlorine, Poultry science. 54:1388-1394 (1975)
8. Bookwalter G.N., Shukla T.P., Kwolek W.F., Microwave processing to destroy salmonella in corn-soy-milk blend and effect on product quality, Journal of food science. 47:1683-1686 (1982)
9. Lin W., Sawyer C., Bacterial survival and thermal responses of beef loaf after microwave processing. Journal of microwave power and electromagnetic energy. 23:183-194 (1988)
10. Matsuyama A., Umeda K., Sprout inhibition in tubers and bulbs. Vol. III, pp159-213. In: Preservation of Food by Ionizing Radiation. Josephson ES and Peterson MS (ed). CRC Press., Boca Raton, FL, USA (1983)
11. Renner H.W., In vivo mutagenicity studies in rats mice and Chinese hamsters fed irradiated food stuffs-chicken, fish, dates, pulses, mangoes and cocoa beans. Tech. Rept. IFIP-R64. International Project in the Field of Food Irradiation, Federal Research Centre for Nutrition, Karlsruhe, FR, Germany (1982)

12. Lorenz K., Irradiation of cereal grains and cereal grain products. *Critical. Rev. Food Sci. Nutrition* 6: 317-382 (1975)
13. Radiation chemistry of vitamins. In *Radiation Chemistry of Major Food Components*, 6:187-220, (P. S. Elias and A. J. Cohen (ed). Elsevier Scientific Publishing Company, Amsterdam, The Netherlands (1977)
14. Diehl J.F., Food irradiation: past, present and future. *Radiation Physics and Chemistry*. 63: 211–215 (2002)
15. WHO. Wholesomeness of Irradiated Food. Technical Report Series 659. World Health Organization, Geneva. (1981)
16. Tesh J.M., Irradiated dates: Toxicity and effects upon reproductive function and growth development of dietary administration to rats for 98 days. Tech. Rpt. IFIP-R56. International Project in the Field of Food Irradiation. Federal Research Centre for Nutrition, Karlsruhe, F.R. Germany (1981)
17. Kim Y.S., Shin D.H., Researches on the volatile antimicrobial compounds from edible plants and their food application. *Kor. J. Food Sci. Technol.* 35(2): 159-165 (2003)
18. Cichewicz R.H., Thorpe P.A., The antimicrobial properties of chile peppers (*Capsicum* species) and their use in Mayan medicine. *J. Ethnopharmacol.* 52: 61-70 (1996)
19. Lambert R. J. W., Skandamis P. N., Coote P. J., Nychas G. J. E. A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. *J. Appl. Microbiol.* 91: 453-562 (2001)
20. Hoult J.R.S. and Paya M., Pharmacological and biochemical actions of simple coumarins : Natural products with therapeutic potential. *Gen. Pharmacol.* 27: 713-722 (1996)
21. Rahman A., Choudhary M.I., Diterpenoid and steroidal alkaloids. *Nat. Prod. Rep.* 12: 361-379 (1995)
22. Peres M.T., Monache F.D., Cruz A.B., Pizzolatti M.G., Yunes R.A., Chemical composition and antimicrobial activity of *Croton urucurana* Baillon (Euphorbiaceae). *J. Ethnopharmacol.* 56: 223-226 (1997)
23. Sibel R., Natural antimicrobials for the minimal processing of foods. Sibel R. (Ed.). Woodhead Publishing Limited, Cambridge, UK. (2003)
24. Losso J.N., Nakai S., Charter E.A., Lysozyme. In *Natural food antimicrobial system*, Naidu, A. S. (ed.). 17-102 (2000)
25. Simpson R.K., Gilmour A., The effect of high hydrostatic pressure on *Listeria monocytogenes* in phosphate-buffered saline and model food systems. *Journal of Applied Microbiology* 83:181-188 (2007)
26. Hill C., Cotter P.D., Sleator R.D. & Gahan C.G.M., Bacterial stress response in *Listeria monocytogenes*: jumping the hurdles imposed by minimal processing. *International Dairy Journal* 12:273–283 (2002)
27. Robey M., Benito A., Hutson R.H., Pascaul C., Park S.F. & Mackey B.M., Variation in resistance to high hydrostatic pressure and rpoS heterogeneity in natural isolates of *Escherichia coli* O157:H7. *Applied Environmental and Microbiology* 67: 4901–4907 (2001)
28. Wemekamp-Kamphuis H.H., Wouters J.A., de Leeuw P.P.L.A., Hain T., Chakraborty T. & Abee T., Identification of sigma factor sB-controlled genes and their impact on acid stress, high hydrostatic pressure, and freeze survival in *Listeria monocytogenes* EGD-e. *Applied Environmental and Microbiology* 70:3457–3466 (2004)
29. Marquez V.O., Mitta G.S.I., Griffiths M.W., Destruction and Inhibition of Bacterial Spores by High Voltage Pulsed Electric Field. *Journal of Food Science.* 62:399–401 (1997)
30. Armando J. Castro, Gustavo V. Barbosa-Cánovas, Barry G. Swanson, Microbial inactivation of foods by pulsed electric fields. *Journal of Food Processing and Preservation.* 17:47–73 (1993)
31. Qinghua Zhang, Bai-lin Qin, Gustavo V. Barbosa-Cánovas, Barry G. Swanson, Inactivation of e. coli for food pasteurization by high-strength pulsed electric fields. *Journal of Food Processing and Preservation.* 19:103–118 (1995)
32. Qinghua Zhanga, Gustavo V. Barbosa-Cánovas, Barry G. Swanson, Engineering aspects of pulsed electric field pasteurization. *Journal of Food Engineering.* 25:261–281 (1995)