

콜드 플라즈마 처리를 이용한 분유와 양파분말 살균

오영지 · 이한나 · 김정은 · 이석훈¹ · 조형용² · 민세철*
서울여자대학교 식품공학과, ¹(주)바이오벤, ²차의과대학교 식품생명공학과

Cold Plasma Treatment Application to Improve Microbiological Safety of Infant Milk Powder and Onion Powder

Yeong Ji Oh, Hanna Lee, Jung Eun Kim, Seok Hoon Lee, Hyung Yong Cho, and Sea Cheol Min*

Department of Food Science and Technology, Seoul Women's University

¹R&D Division, Biovan Co.

²Department of Food Science & Biotechnology, CHA University

Abstract The potential of applying cold plasma (CP) treatments to improve microbiological safety of powdered products has been investigated using infant milk powder (IMP) and onion powder (OP). Among the different kinds of CP-forming gases, He-O₂ (99.8:0.2) gas mixture and He gas were most effective in reducing the number of *Cronobacter sakazakii* in IMP and *Bacillus cereus* spores in OP, respectively. *C. sakazakii* counts in IMP decreased by 0.9 ± 0.1 log CFU/g after CP treatment, and the extent of *C. sakazakii* inhibition increased in a time-dependent manner. CP treatment at 900 W for 20 min reduced the number of *B. cereus* spores by ~ 0.4 log spores/g. Treatments that integrated CP with microwave (MW-CP treatment) as well as those that integrated CP with heat and microwave (H-MW-CP treatment) resulted in a 90% reduction in the number of spores in OP. Thus, CP treatments demonstrated potential for decontaminating foodborne pathogens from powdered products, in combination with heat for improved effect.

Keywords: non-thermal treatment, cold plasma, powdered products, *Cronobacter sakazakii*, *Bacillus cereus*

서 론

양파(*Allium cepa* L.)는 전세계적으로 그 재배 면적이 꾸준히 증가해왔다. 우리나라의 경우에도 2014년 기준으로 재배면적이 23,908 ha로 해마다 증가하고 있다(1). 양파는 요리의 향신료나 단맛을 내는 양념류로서 첨가할 뿐만 아니라, 약용으로도 사용되기도 한다. 양파는 그 가공방식과 형태에 따라 양파즙, 양파분말, 양파칩 등으로 생산되어 각종 음식에 응용된다. 특히, 분말형태의 양파는 주로 향신료로 사용되며, 빵이나 면류의 요리에서 향산화능의 기능성을 향상시키는 재료로서 첨가되기도 한다(2,3). 분말식품에서의 미생물 오염은 가공, 운반 등의 유통과정 경로에서 발생하는 것으로서, 양파분말의 경우 대장균(*Escherichia coli*), *Bacillus*의 세균류나 누룩곰팡이속(*Aspergillus*)의 곰팡이 등이 주 오염 미생물로 대두되어 왔고 이러한 미생물에 의한 오염 억제 방안에 관련된 연구가 진행되어 오고 있다(4,5).

조제 분유는 대부분 분말형태로 생산되며 면역력이 가장 취약한 영유아가 그 대상이므로, 유통과정과 살균 공정에 있어 미생물 안전성을 확보하는 것이 무엇보다 중요하다. 분유 분말제품에

서는 주로, *Cronobacter sakazakii*에 의한 영유아 식중독 사고가 보고되어 왔다(6). *C. sakazakii*는 면역체계가 미숙한 신생아나 영유아에게 감염을 일으켜 뇌수막염, 폐혈증 등을 일으킬 수 있으며 50-80%의 높은 치사율을 보인다(7).

분말식품의 살균을 위해 초고온증기 살균(8), 훈증 처리(9), 방사선 또는 자외선 조사(10,11), 마이크로파(microwave) 조사(12), 초고압 처리(13,14), 고주파 가열법(15) 등이 개발되어 왔다. 그 중에서도 전통적으로 행해져 온 훈증 처리나 방사선 조사에 의한 살균은 산화에틸렌(ethylene oxide) 등의 가스분자가 암의 유발원인이 되거나, 소비자들의 수용도가 낮아 기피되고 있으며 현재 금지되고 있는 국가도 존재한다. 그 대안으로서 초고온 증기살균 등의 방법이 사용되어져 왔으나 식품의 갈변화, 식품 속 열에 민감한 물질들의 맛과 향기 성분의 변성, 단백질 변성(16) 등의 문제가 대두되어 왔다. 따라서, 분말 식품에 대한 재료 본연의 물성 변화를 최소화 하는 새로운 살균 공정이 요구되고 있는 실정이다.

최근, 콜드 플라즈마(cold plasma) 처리는 식품 표면 비가열 살균 기술로서 전세계적으로 활발히 연구가 진행되고 있다(17,18). 콜드 플라즈마는 다양한 종류의 가스로 형성되며, 생성된 플라즈마는 전자, 자유라디칼, 양이온, 음이온, 자외선 광자 등이 포함되어 있어 하나의 화학적 활성종 집합체로 간주될 수 있다(19). 콜드 플라즈마 처리의 미생물 저감화 효과에 영향을 주는 요인에는 플라즈마 형성 가스, 에너지 수준, 처리 시간 등을 포함한 처리 공정 요인들, 미생물의 종류 및 성장 단계, 그리고 식품의 조성 및 표면상태 등이 있다(19).

분말 식품인 고춧가루에 대하여 콜드 플라즈마 처리 공정을 제

*Corresponding author: Sea Cheol Min, Department of Food Science and Technology, Seoul Women's University, Seoul 01797, Korea

Tel: +82-2-970-5635

Fax: +82-2-970-5977

E-mail: smin@swu.ac.kr

Received June 24, 2015; revised July 18, 2015;

accepted July 19, 2015

시한 이전 연구에 의하면, 플라즈마 형성가스로서 헬륨(He)을 사용하여 900 W에서 20분 동안 처리한 결과, *Aspergillus flavus*를 2.5±0.3 log spores/g까지 억제하였으며, 마이크로파와 병합처리하는 *Bacillus cereus*의 포자를 3.4±0.7 log spores/g까지 저해하여 콜드 플라즈마 처리가 고춧가루 살균에 효과적임을 밝힌 바 있다(18).

본 연구에서는 양파분말과 조제분유를 모델 식품으로 사용하여 *C. sakazakii*와 *B. cereus* 내생 포자를 저해 대상 미생물로 선정하여 분체 살균 기술로서의 콜드 플라즈마 적용 가능성에 대하여 알아보았다. 따라서, 본 연구의 목적은 콜드 플라즈마 처리 공정 요인인 플라즈마 형성 가스와 전력 그리고 처리 시간에 따라 분체 식품에 접종된 *C. sakazakii*와 *B. cereus* 포자 저해에 대한 영향을 연구하고, 열과 마이크로파를 콜드 플라즈마 처리와 병합하였을 때 양파분말에 접종된 *B. cereus*의 포자 저해에 대한 효과를 확인하는 것이었다.

재료 및 방법

시료 준비

본 실험의 재료는 두 종류의 분말형태의 제품으로 양파분말(Tae Kyung Nong San Co., Ltd, Seoul, Korea)과 시중 마트에서 구입한 조제 분유(Soo S level 2, Namyang Dairy Products Co., Ltd., Cheonan, Korea)를 사용하였다. 양파분말 시료는 양파를 탈피한 후 300 ppm 농도의 차아염소산나트륨(NaClO) 살균액으로 4-5분간 처리하고, 63±2°C에서 8시간 동안 열풍 건조 후(Fisher isotemp vacuum oven model 281, Fisher Scientific, Pittsburgh, PA, USA) 분말화하여 준비하였다.

양파 분말 내의 미생물 농도

양파 분말에 존재하는 호기성 미생물의 농도를 알아보기 위해 5 g의 양파분말을 0.1% 펩톤수로 10배 희석하여 멸균 백에 넣은 후, 블렌더(Stomacher Lab Blender model 400, Seward Medical, London, UK)를 이용하여 3분 동안 혼합하였다. 혼합된 시료액은 단계별 희석하여 도말평판 배양법(spread plate method)으로 생균수를 확인하였다. 시료 내 호기성 미생물의 검출은 plate count agar (PCA, Difco Laboratories, Detroit, MI, USA)를 사용하였고 곰팡이와 효모의 검출에는 potato dextrose agar (PDA, Difco)가 사용되었다. 또한 분말에 오염된 *B. cereus*의 농도를 측정하기 위해 mannitol-egg yolk-polymyxin B (MYPP) agar (Difco)를 *Salmonella* Typhimurium은 xylose lysine desoxycholate (XLD) agar (Difco)를 *E. coli*는 MacConkey agar (Difco), *Staphylococcus aureus*는 baired parker agar (Difco), *Clostridium perfringenes*는 tryptose sulfite cycloserine agar (Difco)를 사용하여 각각의 오염 농도를 측정하였다. *C. perfringenes*는 시료 1 mL를 분주한 후, TSC agar 15 mL를 중첩시켜 분주하여 혐기 상태를 유지하며 배양하였다. PDA 배양 배지는 25°C에서 5일 동안 배양되었고, 그 이외의 PCA와 모든 선택배지는 37°C에서 24-48시간 동안 배양되었다.

균주와 접종원 준비

본 연구에 사용된 균주는 분유분말의 경우, *C. sakazakii* (ATCC 29544)를 이용하였고 양파분말의 경우 *B. cereus* (ATCC 10876, ATCC 13061, W-1)를 이용하였다. 균주의 배양배지로서 tryptic soy agar (TSA, Difco)와 tryptic soy broth (TSB, Difco)를 사용하였고, 모든 균주는 37°C에서 24시간 동안 배양 후, 2-3회 계대 후 활성화시켜 사용하였다. 액체로 배양된 균액은 원심분리(7000×g, 2분)하여 균체를 취한 후, 0.1% (w/v) 펩톤수로 2회 세척하였

다. 최종 미생물 현탁액의 접종 농도는 동일 용매로 원하는 농도로 조정하여 사용하였다. 또한, *B. cereus*의 영양 세포(vegetative cells) 접종 시, 3종의 균주 현탁액을 같은 부피로 혼합하여 접종원(~8 log spores/g)을 만들었다. *B. cereus* 포자의 경우, Finley와 Fields (20)의 방법을 변형하여 준비하였다. 즉, 37°C에서 각 종별로 7 일간 TSA에 배양한 후, 영양세포의 80%가 포자로 된 것을 포자염색을 통하여 현미경으로 관찰하였고 페트리 접시(petri dish)에 2 mL의 0.1% (w/v) 펩톤수로 현탁시켜 살균된 루프를 이용해 균체를 긁어 수집하였다. 수집된 균주별 현탁액을 15 mL 시험관으로 옮겨 항온수조에서 80°C에서 11분간 열처리한 후 원심분리하였다. 원심분리(3,600×g, 4°C, 20분) 후, 3회 세척하여 상층액은 버리고 가라앉은 포자를 취하여, 각 균주별로 동등한 양을 섞어 포자 접종원을 만들었다.

접종 방법

양파분말의 경우, 121°C에서 15분 동안 고압증기멸균된 양파분말 3 g을 petri dish에 고르게 펴서, 각각의 접종원 별로 유리분무기를 사용하여 1 g을 접종하였다. 이 때, 접종 전후의 무게로서 1 g의 접종여부를 확인하였다. 또한, 모든 시료는 접종 후, 1시간 동안 클린 벤치 내에서 건조과정을 거쳤다. 분유 분말의 경우, 1시간 동안 UV 처리한 조제분유 5 g을 테플론평판(Teflon plate) (25×25 cm) 위에 15×15 cm 면적으로 고르게 편 후, 멸균된 분무기를 이용하여 *C. sakazakii*를 접종하였다. 균주가 접종된 각각의 시료는 콜드 플라즈마를 처리하기 전 1시간 동안 클린 벤치(22±2°C)에서 건조되었다.

콜드 플라즈마 처리의 분유 내 *C. sakazakii* 저해

콜드 플라즈마 처리를 위한 시스템은 SWU-2 (Seoul Women's University, Seoul, Korea)를 이용하여 이루어졌다(18). 분유와 양파분말의 콜드 플라즈마 처리에 있어서 최적의 가스를 선정하기 위해 질소-산소(N₂-O₂) 혼합가스(4:1, N₂-O₂ (I)), N₂-O₂ 혼합가스(99.3:0.7, N₂-O₂ (II)), 헬륨-산소(He-O₂) 혼합가스(He-O₂, 99.8:0.2), N₂ 가스, 그리고 He 가스를 사용했다. N₂-O₂ (I)의 가스 흐름 속도는 2.5 L/min이었고, N₂-O₂ (II), N₂, He-O₂, 그리고 He의 가스 흐름속도는 1 L/min이었다. 플라즈마 형성 전력, 처리 시간, 그리고 처리 압력은 각각 900 W, 20분 그리고 0.7 kPa이었다. 최적 플라즈마 형성가스를 결정한 후, 분유시료를 사용한 *C. sakazakii*의 저해 실험에서는 플라즈마 형성 가스로서 He-O₂ (1 L/min)를 사용하였고, 플라즈마 형성 전력을 474, 650, 그리고 900 W로, 처리 시간을 2.15, 10, 20 그리고 40분으로 설정하여 전력과 시간 변수에 의한 저해 영향을 알아보았다.

콜드 플라즈마 처리의 양파 분말 내 *B. cereus* 저해

마이크로파와 병합된 콜드 플라즈마 처리(MW-CP 처리)는 Fig. 1에 묘사된 바와 같이 콜드 플라즈마 처리 챔버 내 마이크로파가 크게 존재하는 곳(Teflon plate로부터 24 cm 지점)에 시료를 놓고 처리함으로써 이루어졌고 이때 마이크로파의 전력 밀도는 시물레이션을 통해 예측하였을 때 0.25 W/cm²이었다(21). 양파 분말 시료(5 g)를 멸균백(19×30 cm, Nasco Whirl-Pak®, Fort Atkinson, WI, USA)에 넣고 항온수조에서 열처리하였다. 열처리 후, 각각의 시료를 CP 처리(H-CP 처리) 또는 MW-CP 처리(H-MW-CP 처리)하였다. 이 때, 사용된 가스는 단독 He 가스였으며 유속, 처리전력, 시간 그리고 압력은 각각 1 L/min, 900 W, 0.7 kPa, 그리고 20분이었다. 열처리 조건은 포자의 발아율을 높이는 조건으로 결정하였으며 이를 결정하기 위하여 온도와 시간을 각각 80과

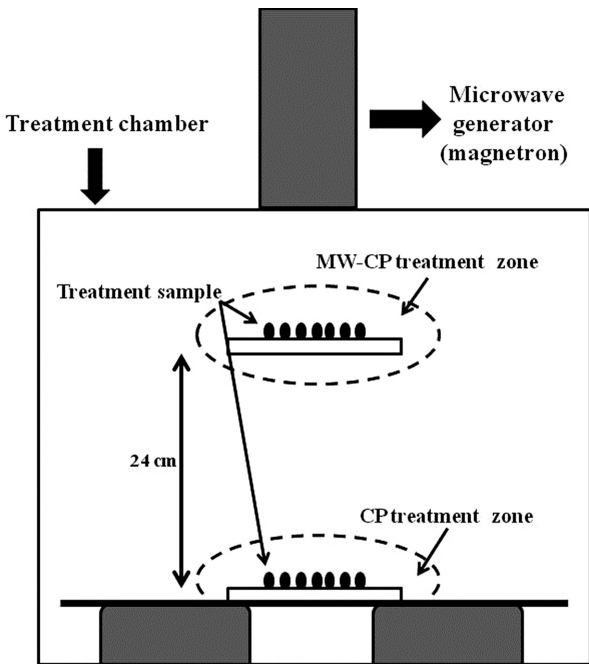


Fig. 1. Location of treatment zones for cold plasma (CP treatment) and cold plasma integrated with microwave (MW-CP treatment) in the treatment chamber.

90°C, 그리고 1, 3, 5, 10, 그리고 30분으로 변경하며 시험하였다. 발아율은 처리하지 않은 시료의 농도(A_0 , log CFU/g)와 열처리 후의 시료의 농도(A , log CFU/g)를 이용하여 다음과 같이 결정하였다.

$$\text{Germination rate (\%)} = \frac{A_0 - A}{A_0} \times 100$$

미생물의 저해 효과

처리된 시료에 대한 저해효과를 보기 위해 연속희석법에 의한 도말 평판 배양법(spread plate method)을 이용한 생균수 측정이 이루어졌다. 시료는 멸균백(19×30 cm, Nasco Whirl-Pak®)에 넣어 0.1%의 펩톤수를 이용하여 10배 희석하고 230±5 rpm에서 3분간 혼합하였다(Stomacher Lab Blender Model 400, Seward Medical, London, UK). 혼합된 시료는 단계별 희석 후, 곰팡이와 효모의 경우 PDA를 사용하였고, total aerobic bacteria는 PCA를, *C. sakazakii*와 *B. cereus*는 TSA를 사용하여 100 µL를 분주한 후 도말하였다.

온도 측정

콜드 플라즈마 처리 동안 분말 표면의 온도는 적외선 온도계(infrared thermometer) (DT 44L, DIAS Infrared GmbH, Dresden, Germany)를 이용하여 측정하였다.

실험 설계 및 통계분석

모든 실험은 3 회 반복 측정하였으며, SAS 프로그램(SAS version 9.2, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA)을 이용하여 각 표본 평균간의 차이를 검증하기 위해 분산분석법(ANOVA, Analysis of variance)을 적용하였고, 유의차가 있는 경우, 사후검정방법으로서 던컨(Duncan)의 다중범위검정(Duncan's Multiple Range Test)을 적용하였다.

Table 1. Effects of plasma-forming gases for cold plasma treatments on the inhibition of *C. sakazakii* on infant milk powder (Unit: log CFU/g)

Gas	Initial counts	Final counts	Reduction rates
N ₂	5.9±0.1	5.4±0.1	0.4±0.1 ^b
N ₂ -O ₂ (I)	5.9±0.1	5.5±0.1	0.4±0.1 ^b
N ₂ -O ₂ (II)	5.6±0.0	5.3±0.1	0.3±0.1 ^b
He	5.5±0.1	5.4±0.1	0.1±0.1 ^c
He-O ₂	5.5±0.0	4.6±0.1	0.9±0.1 ^a

Means±standard deviation with different letters in the same column indicate significant difference ($p < 0.05$).

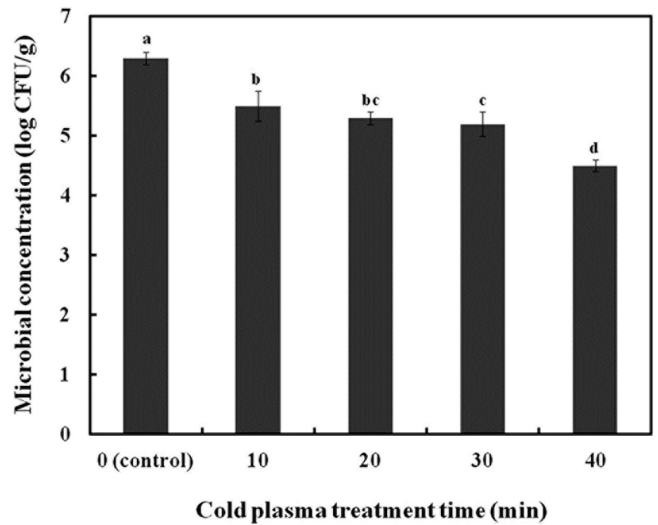


Fig. 2. Effects of treatment time for the cold plasma treatment on the inhibition of *C. sakazakii* in infant milk powder. Plasma-forming gas, helium-oxygen mixture (helium:oxygen=99.8:0.2); plasma-forming power, 900 W; pressure, 0.7 kPa; gas flow rate, 1 L/min. Data values with different superscripts indicate significant difference ($p < 0.05$).

결과 및 고찰

콜드 플라즈마 처리의 분유 내 *C. sakazakii* 저해

다양한 종류의 플라즈마 형성가스를 이용하여 콜드 플라즈마 처리 된 분유 내 *C. sakazakii*의 저해율을 Table 1에 나타내었다. He으로 생성된 콜드 플라즈마에 의해서 *C. sakazakii*는 거의 저해되지 않았으며 N₂와 N₂-O₂ (I)로 생성된 콜드 플라즈마는 약 0.4 log CFU/g의 억제력을 보였고, He-O₂로 생성된 콜드 플라즈마 처리에서는 약 1 log CFU/g의 억제력을 보였다. He-O₂를 이용하는 콜드 플라즈마 처리는 진균의 일종인 *Candida* 속의 저해에 효율적이었다는 보고가 있었으며(22), *Enterococcus faecalis* 균주의 경우에도 순수한 He 단독 가스보다 O₂와의 혼합가스를 이용한 콜드 플라즈마 처리에서 더 높은 저해가 일어났다는 보고가 있었다(23). Kim과 Shim (2)은 He-O₂에 의해 생성되는 낮은 농도의 UV와 함께 저해의 주된 요인으로서 활성 산소종에 의한 저해를 증명한 바 있어, He 단독 가스보다 O₂ 혼합가스에서 더 효율적임을 알 수 있었다.

He-O₂에 의한 콜드 플라즈마 처리(20분)의 플라즈마 형성 전력이 474, 650, 그리고 900 W이었을 때, *C. sakazakii* 저해율은 각각 0.5±0.1, 0.8±0.1, 그리고 0.9±0.1 log CFU/g이었다(Table 2). 이를 통해 전력이 높아질 때 *C. sakazakii* 저해율도 대략 증가함

Table 2. Effects of plasma-forming power for cold plasma treatments on the inhibition of *C. sakazakii* on infant milk powder (Unit: log CFU/g)

Power (W)	Initial counts	Final counts	Reduction rates
474 W		5.7±0.1	0.5±0.2 ^b
650 W	6.2±0.1	5.4±0.1	0.8±0.1 ^a
900 W		5.3±0.1	0.9±0.1 ^a

Means±standard deviation with different letters in the same column indicate significant differences ($p<0.05$).

을 알 수 있었다. 900 W의 전력을 처리하였을 때, 474 W의 전력보다 그 저해율은 약 19% 증가하였다.

900 W의 전력에서 처리시간을 10, 20, 30, 그리고 40분으로 달리했을 때, *C. sakazakii* (초기 접종 농도: 6.3±0.1 log CFU/g)의 콜드 플라즈마 처리에 의한 저해율은 각각 0.8±0.0, 1.1±0.1, 1.1±0.0, 그리고 1.8±0.0 log CFU/g이었다. 대체로 처리시간이 길어질수록 *C. sakazakii*의 저해율이 커짐을 확인할 수 있었다(Fig. 2). 40분 처리하였을 때 분유의 온도 변화(DT)는 5.0±0.3°C이었다 (초기온도: 24.5±0.2°C). 온도 변화 정도를 통해 분유에 대한 콜드 플라즈마 처리가 비가열 형태로 이루어 졌음을 알 수 있었다.

*C. sakazakii*는 *E. coli* 나 *S. Enteritidis* 등의 다른 식중독 세균류보다 저해율이 낮아 살균 방법이나 항균물질에 대해 높은 저항성을 보였다(24). Joshi 등(25)은 콜드 플라즈마 처리시간이 길어질수록 *C. sakazakii*의 저해율이 커졌으나, *E. coli* K-12에 비해 그 내성이 컸다고 보고하였다. 이는 *C. sakazakii* 균주가 열 스트레스에 노출되면 포화지방산과 불포화지방산의 비율을 변화시켜 열 스트레스에 대한 저항력을 높이는 것과 유사한 균주 자체의 내성기작(26)과 관련 있다고 판단된다. Arroyo 등(27)은 열처리 조건에 의해 효과적으로 저해되지 않던 *C. sakazakii*가 초음파 또는 압력의 저해요인을 더했을 때 비로소 저해됨을 발표하여 *C. sakazakii*를 저해시키는데 있어 병합처리가 효과적임을 시사하였다.

본 연구에서 행해진 콜드 플라즈마 처리는 분유에 감염되어 있는 *C. sakazakii*의 저감화 방법으로서의 가능성을 보여주었다. 저감화 효과는 다른 살균 공정과의 병합처리 방법을 통해 향상될 수 있을 것으로 기대되며 향후, 이와 관련된 연구가 저해 대상 미생물의 생리적 작용 기작과 함께 이루어져야 할 것이다.

콜드 플라즈마 처리의 양파 분말 내 *B. cereus* 저해

다양한 균주의 선택배지를 이용하여 양파분말에 존재하는 미생물의 농도를 확인한 결과, 곰팡이 및 효모, *Salmonella*속, *E. coli*, 대장균군, *Clostridium*속, *S. aureus*가 검출한계(detection limit:

Table 4. Germination rate of *B. cereus* spores inoculated on onion powder after heat treatments (Unit: log spores/g)

Untreated	Heat treatment (HT) conditions		Concentration of germinated cells	Germination rate (%)
	Temperature (°C)	Time (min)		
5.6±0.2	80	10	1.7±0.2	97.81
		30	2.4±0.2	99.61
	90	1	2.1±0.1	99.27
		3	2.3±0.1	99.52
		5	2.6±0.1	99.75
		10	<1	99.99
30	<1	99.99		

10⁴ CFU/g) 이하의 수치를 보였다. 호기성 미생물의 경우 4.8±0.3 log의 농도로 존재하였고, 특히 *B. cereus*가 3.6±0.1 log 농도로 검출되었다.

다양한 종류의 가스에 의해 형성된 콜드 플라즈마를 양파분말에 처리하여, 분말 내 토착 미생물 중 호기성 미생물과 곰팡이 및 효모에 대한 저해율을 Table 3에 나타내었다. N₂-O₂ (II)에 의한 콜드 플라즈마 처리는 호기성 미생물을 0.6±0.1 log CFU/g까지 억제하여 가장 큰 저해율을 보였으나, He과 He-O₂ 가스에 의해 형성된 콜드 플라즈마 처리에 의한 저해율과 유의적인 차이를 보이지 않았다($p>0.05$). 곰팡이 및 효모에 대한 저해율도 각 가스간의 유의적인 차이를 보이지 않았다($p>0.05$). 따라서, N₂-O₂ (II), He, 그리고 He-O₂에 의해 유의적인 차이가 나지 않았으나, 상대적으로 경제 효율성이 높은 He 단독가스를 병합처리에 사용하는 플라즈마 형성 가스로 최종 선택하였다. He을 이용한 콜드 플라즈마 처리(900 W)를 20분간 하였을 때 양파 분말의 온도는 25.0±0.2에서 29.8±0.2°C (DT=4.7±0.2°C)로 상승하였으나 그 정도가 크지 않아 양파 분말에 대하여 비가열 처리가 이루어졌음을 알 수 있었다.

열과 마이크로파를 병합한 콜드 플라즈마 처리의 *B. cereus* 포자 저해에 대한 효과

*B. cereus*의 경우 고온에서 임의적인 열 충격을 가했을 때 포자를 발아시킬 수도 있다(28,29). 발아된 포자는 그 구조가 파괴되면서 외부 작용에 저항성이 낮아지게 된다(30). 본 연구에서는 포자의 발아율을 고려한 열처리 온도를 결정하기 위해 다양한 온도와 처리 시간을 이용하여 열 충격을 가했다(Table 4). 각각의

Table 3. Effects of cold plasma treatments¹⁾ on the inhibition of indigenous aerobic microorganisms in onion powder (Unit: log CFU/g)

Sample	Microbial concentration level		Reduction rate		
	TAB ²⁾	YM ³⁾	TAB	YM	
Untreated	4.1±0.1	3.7±0.1	0.0±0.0 ^{c4)}	0.0±0.0 ^c	
Treated using the plasma-forming gas	N ₂	3.7±0.2	3.4±0.1	0.3±0.1 ^b	0.3±0.1 ^a
	N ₂ -O ₂ (I)	3.6±0.1	3.3±0.1	0.4±0.1 ^{ab}	0.3±0.1 ^a
	N ₂ -O ₂ (II)	3.5±0.0	3.3±0.1	0.6±0.1 ^a	0.4±0.1 ^a
	He	3.6±0.1	3.3±0.1	0.5±0.1 ^a	0.4±0.1 ^a
	He-O ₂	3.6±0.3	3.2±0.2	0.5±0.1 ^a	0.4±0.1 ^a

¹⁾Plasma-forming power: 900 W, treatment time: 20 min

²⁾Total aerobic bacteria: TAB

³⁾Yeast and molds: YM

⁴⁾Means±standard deviation with different letters in the same column indicate significant difference ($p<0.05$).

Table 5. Inhibition effects of cold plasma (CP) treatments combined with microwave and heating treatments against *B. cereus* spores inoculated on onion powder (Unit: log spores/g)

Untreated	CP treatment ¹⁾	MW-CP ²⁾	HT-CPT ³⁾		H-MW-CP ⁴⁾	
			Heating 1 ⁵⁾	Heating 2 ⁶⁾	Heating 1	Heating 2
5.8±0.3 ^{a7)}	5.2±0.2 ^b	5.2±0.2 ^b	4.8±0.2 ^c	4.8±0.3 ^c	4.8±0.3 ^c	4.8±0.4 ^c

¹⁾CP-forming power: 900 W, Treatment time: 20 min,

²⁾MW-CP: Treatment of CP combined with microwave (0 W/cm³)

³⁾H-CP: CP treatment after heating.

⁴⁾H-MW-CP: Treatment of CP combined with microwave (21.7 W/cm³) heating

⁵⁾Heating 1: 90 °C, 1 min

⁶⁾Heating 2: 80 °C, 5 min

⁷⁾Means±standard deviation with different letters in the same column indicate significant difference ($p < 0.05$).

온도에서 처리 시간이 증가함에 따라 포자의 발아율이 높아지는 것을 확인할 수 있었다. 90°C에서 10분간 열처리하였을 때, 거의 대부분의 포자는 영양세포로 발아되었고 이러한 결과를 토대로, 90°C, 1분을 콜드 플라즈마 처리 전 열처리 조건으로 결정하였다.

콜드 플라즈마 단독 처리와 MW-CP 처리에서 비슷한 저해율을 보여, 마이크로파 병합의 추가적인 저해 효과는 관찰할 수 없었다($p > 0.05$)(Table 5). 하지만 H-CP 처리는 콜드 플라즈마 단독 처리보다 약 0.6 log spores/g의 높은 저해율을 보였고, 열처리가 수반된 H-CP와 H-MW-CP 처리는 *B. cereus* 포자를 약 1.0 log spores/g 저해시켰다. 마이크로파와의 병합처리는 *B. cereus* 포자를 저해시키는데 효과적이지 못하였으나 콜드 플라즈마 처리 전 열처리는 포자를 저해 시키는데 효과적임을 알 수 있었다. 이전 연구(18)에서도 90°C, 30분 열처리와 병합된 N₂-플라즈마 처리가 고춧가루에 접종된 *B. cereus* 포자를 효과적으로 저해(3.4±0.7 log spores/g) 시켰음이 보고된 바 있다. 최소 열처리와 콜드 플라즈마를 병합시키는 처리의 지속적인 연구를 통해 새로운 분체 살균 기술을 개발할 수 있을 것으로 사료되었다.

요 약

분유 분말의 *C. sakazakii*와 양파 분말의 *B. cereus*의 포자를 저해하는데 있어 가장 효과적인 플라즈마 형성 가스는 각각 He-O₂와 He 이었다. 분유 분말에 대한 콜드 플라즈마 처리시간이 길어질수록 그리고 형성 전력이 높아질수록 *C. sakazakii*의 저해도가 커졌으며, 900 W, 40분 처리시 가장 큰 저해율을 나타내었다. 양파 분말에 접종된 *B. cereus* 포자는 콜드 플라즈마 단독 처리와 마이크로파와 병합된 콜드 플라즈마 처리에 대하여 강한 저항력을 가지고 있었으나 열처리(90°C, 1분)를 두 형태의 플라즈마 처리에 선병합시켰을 때 약 90%가 저해되었다. 병합 처리한 결과, 각각의 방법을 단독으로 처리한 것보다 병합 처리시 *B. cereus* 포자의 저해율(약 1.0 log spores/g)이 높아졌다. 본 연구는 분체 식품에 존재하는 식중독 균의 효율적인 살균 방법을 제시하였고, 분체 식품의 새로운 살균 공정으로서의 콜드 플라즈마의 적용 가능성을 보여주었다.

감사의 글

본 연구는 농림축산식품부 고부가가치 식품기술개발사업(313031-03)에 의해 이루어진 것임

References

1. Dungkuk Regional Statistics Korea. Cultivation area for onion

- and garlic in Korea, 2015. Available from: http://kostat.go.kr/office/dbro/rodb_nw/2/6/index.board?bmode=read&aSeq=335464. Accessed Mar. 2, 2015.
- Kim JG, Shim JY. Quality Characteristics of Wheat flour noodle added with onion powder. Food Eng. Prog. 10: 269-274 (2006)
 - Dziki D, Różyło R, Gawlik-Dziki U, Świeca M. Current trends in the enhancement of antioxidant activity of wheat bread by the addition of plant materials rich in phenolic compounds. Trends Food Sci. Technol. 40: 48-61 (2014)
 - Pezzutti A, Marucci PL, Sica MG, Matzkin MR, Croci CA. Gamma-ray sanitization of argentinean dehydrated garlic (*Allium Sativum* L.) and onion (*Allium Cepa* L.) products. Food Res. Int. 38: 797-802 (2005)
 - Irkin R, Korukluoglu M. Control of some filamentous fungi and yeasts by dehydrated *allium* extracts. J. Verbr. Lebensm. 4: 3-6 (2009)
 - Hunter CJ, Petrosyan M, Ford HR, Prasadarao NV. *Enterobacter Sakazakii*: An emerging pathogen in infants and neonates. Surg. Infect. 9: 533-539 (2008)
 - Healy B, Cooney S, O'Brien S, Iversen C, Whyte P, Nally J, Callanan JJ, Fanning S. *Cronobacter (Enterobacter Sakazakii)*: An opportunistic foodborne pathogen. Foodborne Pathog. Dis. 7: 339-350 (2010)
 - Anto A, Bv K, Gc J, Hebbar HU. Recent developments in superheated steam processing of foods-A review. Crit. Rev. Food Sci. Nutr. published on-line (2014)
 - Tateo F, Bononi M. Determination of ethylene chlorohydrin as marker of spices fumigation with ethylene oxide. J. Food Compos. Anal. 19: 83-87 (2006)
 - Farkas J. Radiation decontamination of spices, herbs, condiments and other dried food ingredients. pp. 291-312. In: Food irradiation: Principles and Applications. Molins RA (ed). John Wiley & Sons, New York, NY, USA (2001)
 - Cheon HL, Shin JY, Park KH, Chung MS, Kang DH. Inactivation of foodborne pathogens in powdered red pepper (*Capsicum annuum* L.) using combined UV-C irradiation and mild heat treatment. Food Control 50: 441-445 (2015)
 - Aydin A, Boston K. Microbial decontamination of powdered black pepper (*Piper nigrum* L.) by using microwave. J. Food Sci. Technol. 43: 575-578 (2006)
 - Tsujimoto H, Huang CC, Kinoshita N, Inoue Y, Eitoku H, Sekiguchi I. Ultra-high pressure sterilization of powdery food stuff-a new application of a roller compactor. Powder Technol. 146: 214-222 (2004)
 - Lee SB, Uhm BH, Yoon WB. Effect of high pressure processing on the rancidity of yeonhaeju soybean (bazaz) powder during storage. Food Eng. Prog. 15: 209-213 (2011)
 - Kim SY, Sagong HG, Choi SH, Ryu S, Kang DH. Radio-frequency heating to inactivate *Salmonella typhimurium* and *Escherichia coli* O157: H7 on black and red pepper spice. Int. J. Food Microbiol. 153: 171-175 (2012)
 - Taechapairoj C, Dhuchakallaya I, Soponronnarit S, Wetchacama S, Prachayawarakorn S. Superheated steam fluidised bed paddy drying. J. Food Eng. 58: 67-73 (2003)
 - Lee HN, Kim JE, Chung MS, Min SC. Cold plasma treatment for the microbiological safety of cabbage, lettuce, and dried figs.

- Food Microbiol. 51: 74-80 (2015)
18. Kim JE, Lee DU, Min SC. Microbial decontamination of red pepper powder by cold plasma. Food Microbiol. 38: 128-136 (2014)
 19. Niemira BA. Cold plasma decontamination of foods. Annu. Rev. Food Sci. Technol. 3: 125-142 (2012)
 20. Finley N, Fields ML. Heat activation and heat-induced dormancy of *Bacillus stearothermophilus* spores. Appl. Environ. Microb. 10: 231-236 (1962)
 21. Song AY, Oh YA, Oh SJ, Min SC. Cold plasma treatment effects on the physicochemical and biodegradable properties of a corn biomass-containing polyester film. Korean J. Food Sci. Technol. 47: 224-232 (2015)
 22. Sun P, Sun Y, Wu H, Zhu W, Lopez JL, Liu W, Zhang J, Li R, Fang J. Atmospheric pressure cold plasma as an antifungal therapy. Appl. Phys. Lett. 98: 021501 (2011)
 23. Chen W, Huang J, Du N, Liu XD, Wang XQ, Lv GH, Zhang GP, Guo LH, Yang SZ. Treatment of *Enterococcus faecalis* bacteria by a helium atmospheric cold plasma brush with oxygen addition. J. Appl. Phys. 112: 013304 (2012)
 24. Nair M, Kumar M, Joy J, Venkitanarayanan KS. Inactivation of *Enterobacter sakazakii* in reconstituted infant formula by monocaprylin. J. Food Protect. 67: 2815-2819 (2004)
 25. Joshi DK, Fleischman GJ, Keller S, Narayanan K, Anderson NM. Non-thermal decontamination of a model dry particle food system. In: Abstracts: IFT Annual Meeting. July 17-20, McCormick Place South, Chicago, IL, USA. Institute of Food Technologists, Chicago, IL, USA (2010)
 26. Arku B, Fanning S, Jordan K. Flow cytometry to assess biochemical pathways in heat-stressed *Cronobacter* spp. (formerly *Enterobacter sakazakii*). J. Appl. Microbiol. 111: 616-624 (2011)
 27. Arroyo C, Cebrián G, Pagán R, Condón S. Inactivation of *Cronobacter sakazakii* by manothermosonication in buffer and milk. Int. J. Food Microbiol. 151: 21-28 (2011)
 28. Alderton G, Ito KA, Chen JK. Chemical manipulation of the heat resistance of *Clostridium botulinum* spores. Appl. Environ. Microb. 31: 492-498 (1976)
 29. Tomida M, Suwa N, Machida H, Nishimura A, Makino S. Inhibition of germination of *Bacillus stearothermophilus* spores by sucrose monoalkylates and other surfactants. Jpn. Soc. Food Sci. Technol. 38: 1044-1049 (1991)
 30. Leuschner RGK, Lillford PJ. Effects of temperature and heat activation on germination of individual spores of *Bacillus subtilis*. Lett. Appl. Microbiol. 29: 228-232 (1999)