

감압 플라즈마를 이용한 *Escherichia coli* 살균

목철균* · 송동명

경원대학교 식품생물공학과

Low-Pressure Plasma Inactivation of *Escherichia coli*

Chulkyoon Mok* and Dong-Myung Song

Department of Food Science and Biotechnology, College of Engineering, Kyungwon University

Abstract

Low-pressure plasmas (LPPs) were generated with different gases such as air, oxygen and nitrogen, and their inactivation effects against *Escherichia coli* were compared in order to evaluate the potential as a non-thermal microbial disinfection technology. Homogeneous plasmas were generated under low pressure below 1 Torr at gas flow rate of 350 mL/min regardless the types of gases. Temperature increases by LPPs were not detrimental showing less than 10°C and 25°C increases after 5 and 10 min treatments, respectively. The smallest temperature increase was observed with air LPP, and followed by oxygen and nitrogen LPPs. More than 5 log reduction in *E. coli* was achieved by 5 min LPP treatment but the destruction effect was retarded afterward. The LPP inactivation was represented by a biphasic first order reaction kinetics. The highest inactivation rate constant was achieved in air LPP and followed by oxygen and nitrogen LPPs. The small D-values of the LPP also supported its potentialities as a non-thermal food surface disinfection technology in addition to the substantial microbial reduction of more than 5 logs.

Key words: low-pressure plasma, air, oxygen, nitrogen, *E. coli*, inactivation, kinetics

서 론

최근 경제력 향상과 건강에 대한 관심이 증대됨에 따라 신선하고 건강에 좋은 식품에 대한 요구가 늘고 있다. 그러나 신선식품에 대한 욕구는 식품의 안전성과 상충되는 특성이 있으며 이러한 추세를 반영하듯 매년 식중독 사고가 증가하고 있다. 식품의 생물학적 위해는 오염된 식품 원료를 사용하거나 제조 또는 가공 중에 적절한 살균과정이 이루어지지 않거나 생산, 포장, 저장 등 제품의 제조·유통과정 중 작업자나 기계, 기구로부터 오염되어 발생한다. 식품의 생물학적 위해, 특히 식중독을 예방하기 위해서는 식품원료 및 기계기구, 식품포장재의 살균·소독 등 적절한 처리가 필수적이다(Mok & Lee, 2008).

식품생산 및 제조 현장에서 식품원료 및 제품에 주로 사용되는 살균방식은 스티밍, 열탕, 열풍 등의 가열살균과 훈연,

훈증 등 화학적 방법, 그리고 방사선, 전자빔, 자외선 등 전자기복사선을 이용하는 물리적 방법이 있다. 이중 가장 보편적으로 사용되는 살균법은 가열살균법이지만 에너지가 많이 소요되고 열에 의한 영양성분 파괴뿐만 아니라 향, 맛, 색 등 관능적 품질을 저하시키는 단점 때문에 향미가 주요 품질인자로 작용하는 식품에는 적용이 불가능하다. 화학적인 살균법은 methyl bromide 또는 ethylene oxide를 훈증하여 사용하는데 약품의 유독성 잔류 화합물로 인한 화학적 위해 발생과 환경파괴 등의 우려가 있어 사용이 기피되고 있다. 방사선조사는 대표적인 비열 살균기술이지만 선원의 관리와 방사선 처리의 불편성, 운반 및 처리비용, 방사선에 대한 소비자의 거부감과 사용대상 및 표시에 관한 법적 규제 등의 제약이 있다(Juri et al., 1986; Sadecka et al., 2004, 2005; Farkas, 2006; Sadecka, 2007). 그 외에 초고압, 고전압펄스전기장 등의 기술이 개발되었으나 아직까지 경제성이 확보되지 않아 그 사용이 보편화되지는 않고 있다.

이러한 제약을 극복하는 대안으로서 최근에는 식품의 품질을 유지하며 2차 오염이 없이 경제적으로 살균할 수 있는 플라즈마에 대한 관심이 고조되고 있다. 플라즈마는 전리된 기체로서 양전기를 띤 이온과 음전기를 띤 전자가 거의 같은 밀도로 분포되어 전기적으로 중성인 하전입자 집단

Corresponding author: Chulkyoon Mok, Department of Food Science and Biotechnology, College of Engineering, Kyungwon University, San 65 Bokjeong-dong, Sujeong-gu, Seongnam-si, Gyeonggi-do, 461-701, Korea

Tel: +82-31-750-5403; Fax: +82-31-750-5273

E-mail: mokck@kyungwon.ac.kr

Received March 25, 2010; revised June 21, 2010; accepted July 5, 2010

이다. 플라즈마에는 다양한 들뜬상태의 이온, 자유라디칼, 전자, 광자 등이 풍부하며 이들 이온들이 천이과정을 거치며 생성하는 자외선도 존재한다(Deng et al., 2007). 플라즈마는 들뜬상태의 이온, 자외선 및 고 에너지 전자의 생물학적 작용으로 미생물을 파괴한다(Lerouge et al., 2001; Moisan et al., 2002). 플라즈마에 의한 미생물 사멸은 생성된 자외선에 의한 DNA 변형(UV inactivation), 자외선 광자에 의한 화학결합 파괴로 생성되는 휘발성 물질의 방출(photodesorption), 그리고 플라즈마로부터 생성된 반응성 화합물의 흡착 반응(etching) 등에 기인하는 것으로 추정되고 있다(Moisan et al., 2002).

일반적으로 플라즈마는 상압 상태의 공기를 글로우 방전시켜 생성하며 화학적 처리 없이 독성물질을 제거할 수 있고 세균, 바이러스 등 미생물을 불활성화시킬 수 있어 위생 및 환경 분야에서 활용 가능성이 높은 기술이다(Montie et al., 2000; Becker et al., 2005). 또한 플라즈마는 스위치를 끄게 되면 활성상태였던 입자들이 바로 사라지기 때문에 제어가 간단하고 잔류물질을 남기지 않는 장점이 있다. 하지만 대기압(상압) 글로우 방전(glow discharge) 플라즈마는 생성속도를 제어하기가 어렵고, 과도한 에너지에 의해 온도상승이 크며 아크가 발생하므로 이를 제어하면서 사용하여야 한다. 또한 상압 플라즈마는 투입된 에너지의 일부가 열로 변환되어 대상물질의 온도를 크게 상승시키므로 펄스 형태로 적용하지 않는 이상 비열살균의 범주에 속할 수 없으며(Moisan et al., 2001), 펄스를 형성하려면 고가의 정밀제어 스위치가 필요하다. 따라서 상압 플라즈마는 열에 민감한 식품과 내열성이 없는 포장재 및 생물제품 등의 처리에는 적합하지 않다. 이러한 상압 플라즈마의 단점은 플라즈마 생성 원료인 기체(working gas)의 농도를 조절하면 극복할 수 있다.

감압 또는 진공 상태에서 플라즈마 발생 기체를 조절하면 플라즈마 생성속도를 조절할 수 있고 열 발생을 억제하면서 플라즈마 고유의 화학 및 생물학적 효과를 유지할 수 있다. 감압 방전에 의해 얻어지는 플라즈마의 전자에너지는 1-5 eV 정도이지만 이온이나 중성기체 등 고질량 물질의 온도는 상온에 가깝게 유지되는 비평형(non-equilibrium) 플라즈마이다. 또한 감압 플라즈마는 전리도 1% 이하의 약전리 상태에서 이온의 발생과 소멸이 균형을 이루는 정상상태를 유지하는 특성이 있다. 감압 플라즈마는 표면이 고르지 않고 틈새나 세공을 갖고 있는 물체의 처리에 적합하고, 상압 플라즈마에 비하여 열 또는 기계적 변형이 작으며, 환경오염 가능성이 낮아 보다 안전한 식품살균법으로 기대를 모으고 있다.

본 연구에서는 이러한 특성을 갖는 감압 플라즈마를 이용한 식품 살균기술을 개발하고자 기체 종류에 따른 감압 플라즈마의 특성을 조사하고, 미생물 살균효과를 *Escherichia coli*를 대상으로 검정하였다.

재료 및 방법

사용균주

본 실험에서 사용한 균주는 *Escherichia coli* ATCC 1175 이었으며, Tryptic Soy Broth(BD Company, Le Pont de Claix, France)에서 증균배양(37°C, 20 hr)하여 사용하였다.

감압 플라즈마 장치

본 실험에서 사용한 감압플라즈마장치의 기본 구조는 Fig. 1과 같다. 감압플라즈마장치는 진공펌프를 연결하여 감압하고 가스탱크들과 연결된 기체공급 장치를 통하여 유량을 조절하여 특정 가스를 주입함으로써 일정한 감압상태를 유지할 수 있는 구조이다. 플라즈마 발생은 저주파(LF) 글로우 방전 방식을 사용하였다.

온도 측정

플라즈마 처리실 내에서 처리지점의 시간에 따른 온도변화를 적외선온도계(TN408LC ThermoTwin, ZyTemp, Hsin Chu, Taiwan)를 사용하여 측정하였다.

플라즈마 살균처리

*Escherichia coli*를 tryptic soy broth에 접종하여 증균한 배양액 10 µL를 유성마커로 지름 24 mm의 원을 슬라이드 글라스 위에 골고루 분산시킨 후 무균상에서 15분간 상온 건조하였다. 건조시킨 슬라이드 글라스를 플라즈마 장치의 처리실 내 일정 위치(Fig. 1)에 놓고 진공펌프를 작동하여 1 Torr 이하로 감압한 후 플라즈마 생성기체로 공기, 산소(>99.9%), 질소(>99.9%)를 350 mL/min으로 유입하였다. 이어서 전압 1.5 kV, 주파수 50 kHz인 LF를 인가하여 플라즈마를 발생시키고 일정시간 동안 시료를 처리한 후 압력차단 밸브를 열어 감압을 해제하고 시료를 회수하였다.

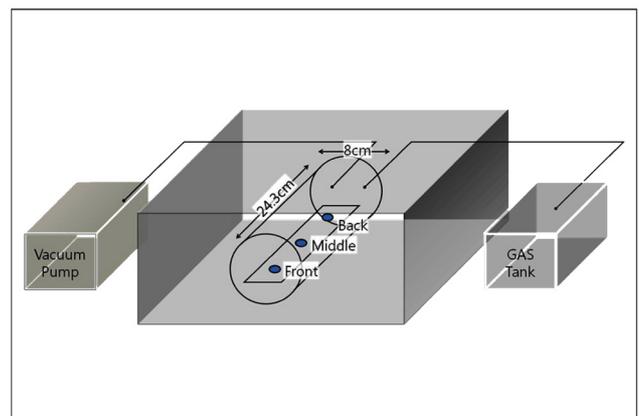


Fig. 1. Schematic diagram of low-pressure plasma generator and treatment spots.

균수 측정

플라즈마 처리 후 무균상에서 멸균 생리식염수 10 mL를 사용하여 슬라이드 글라스 상의 균체를 회수하여 test tube에 옮기고 교반시킨 다음 10진 희석하여 표준평판법(KFDA, 2005)으로 생존균수를 계수하였다. 배지는 Eosin Methylene Blue(EMB) agar(BD Company)를 사용하였으며, 도말 후 37°C에서 20-24시간 배양하고 집락수를 계수하였다.

살균패턴 조사

플라즈마 살균패턴을 식 (1)과 같이 1차 반응에 의거하여 해석하였다. 플라즈마 처리시간별 생존 미생물수 변화로부터 살균패턴을 조사하였고, 구간별 직선의 기울기로부터 살균속도상수(k)를 구하고, 식 (2)를 사용하여 D값을 계산하였다(Chun et al., 2002).

$$\ln N = \ln N_0 - kt \quad (1)$$

$$D = \frac{2.303}{k} \quad (2)$$

where N_0 : 초기 미생물 수, N : 생존 미생물 수

통계분석

감압 플라즈마의 살균속도상수와 D값에 대한 통계분석은 SAS 9.1(SAS Institute Inc., 2004)을 사용하여 분산분석을 행한 후에 가스 종류에 따른 차이의 유의성을 Duncan's new multiple range test(Ott, 1984)로 분석하였다.

결과 및 고찰

기체종류별 감압 플라즈마 성상 및 온도

감압 플라즈마는 상압 플라즈마에 비하여 아크 발생이 적고 온도상승이 작다는 특징을 갖는다. 기체별 감압 플라즈마성상은 Fig. 2와 같이 아크발생 없이 부드럽고 균일한 플라즈마가 생성되었으며 기체 종류별로 다른 색을 나타냈다. 질소 플라즈마의 경우는 청색이 가미된 분홍색을 띠는 반면, 산소의 경우는 아주 옅은 보라색을 나타냈고, 공기의

경우 질소와 산소의 중간색인 보라색이 약간 첨가된 분홍색을 보였다. 이러한 색깔의 차이는 플라즈마를 구성하고 있는 물질이 다르기 때문에 나타난 현상으로 질소의 경우는 질소원자, N-라디칼, 자외선 등에 의해 분홍색을 보이며, 산소의 경우는 산소원자, 일중항산소(singlet oxygen), 초과산화물(superoxides), 오존 등 무색의 물질이 주류를 이루지만 자외선도 함께 발생하므로 자외선에 가까운 파장의 희미한 보라색을 나타낸다.

기체 종류별로 플라즈마를 발생시키고 시간에 따른 처리 장치 내의 온도변화를 조사한 결과 Fig. 3과 같이 처리시간에 따라 온도 상승이 있었지만 그 정도가 큰 편은 아니었다. 플라즈마 생성기체별로 비교하면 최초 온도(25°C)에서 처리시간에 따라 점진적으로 증가하여 5분 처리 후 공기 플라즈마는 33.9°C, 산소 플라즈마는 35.5°C, 질소 플라즈마는 36.9°C를 보였으며, 10분 처리 후에는 각각 45.2, 46.3, 48.8°C를 나타내어 질소 플라즈마의 온도가 가장 높았으며 산소, 공기의 순으로 낮은 온도를 보였다. 사용한 3가지 기체 모두에서 10분 처리 후의 온도가 50°C 미만의 값을 보여 10분 이내로 처리할 경우 열에 의한 살균효과는 없는 것으로 추정되었다. 가열살균을 대체하는 기법의 요건으로

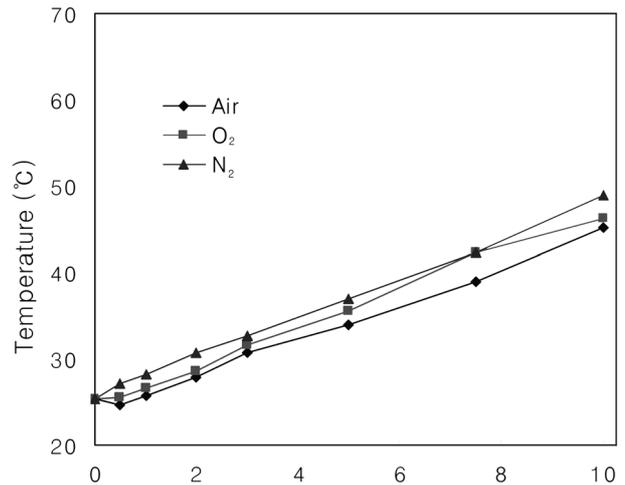


Fig. 3. Temperature increase by low-pressure plasmas of different gases.



Fig. 2. Appearance of low-pressure plasmas of different gases.

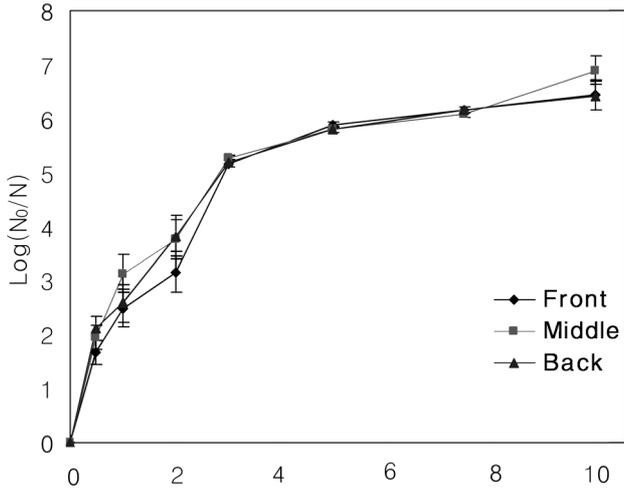


Fig. 4. Inactivation of *E. coli* by low-pressure air plasma at different spots.

ethylene oxide 처리 온도인 55°C 이하의 온도를 포함하는데 (Moisan et al., 2001), 이 기준에 따르면 본 연구에서 생성한 감압 플라즈마는 가열살균을 대체할 수 있는 비열가공기술로서의 요건을 충족하였다.

플라즈마 온도는 기체의 압력에 비례하여 높아지며, 상압에서는 펄스형태로 플라즈마를 생성하지 않을 경우 온도가 수천 도까지 상승할 수 있다(Moisan et al., 2001). 본 연구에서 시도한 감압 플라즈마는 이러한 제약을 극복할 수 있으므로 미생물 제어효과가 확인될 경우 기존의 가열 살균의 단점인 향, 맛, 색 등 관능품질의 저하와 영양성분 손실 등을 극복하며 안전성을 높일 수 있는 비열살균기술로의 사용이 가능하다.

감압 플라즈마 처리 위치별 살균효과

*E. coli*를 대상으로 1 Torr이하의 감압 상태에서 공기 플라즈마 처리에 따른 살균효과를 측정한 결과 Fig. 4와 같이 3분 처리 시 5 log 이상의 살균효과를 보였고, 이후 살균속도가 저하되어 10분 후 약 6-7 log 정도의 살균효과를 나타냈다. 감압 플라즈마의 초기 살균효과는 매우 큰 것으로 확인되어 표준균주 이외에 식품표면 살균에도 적용을 기대할 수 있다.

플라즈마 처리실 내 위치에 따른 살균치(log(N₀/N))의 차

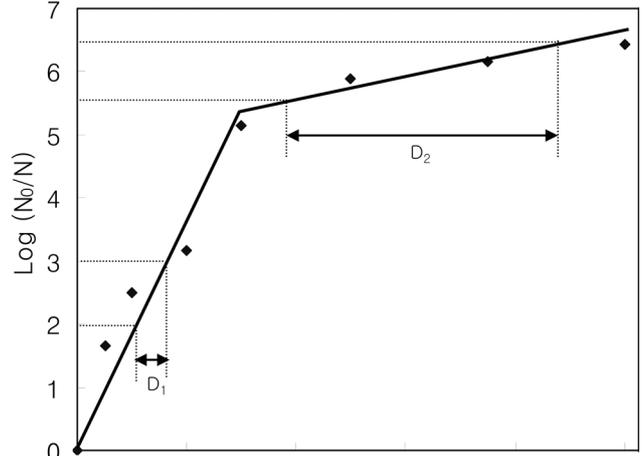


Fig. 5. Inactivation kinetics of *E. coli* by low-pressure air plasma.

이는 거의 없는 것으로 확인되었으며 10분 후 살균치는 입구, 중앙, 후방 지점에서 각각 6.438, 6.893, 6.416을 나타내었다. 이는 처리실 내의 플라즈마에 포함된 이온과 분자 등 활성종과 고 에너지 전자들이 고르게 분포하고 있음을 의미하며 위치에 관계없이 동일한 살균효과를 갖는 것으로 확인되었다.

감압 플라즈마 살균양상

감압 플라즈마의 살균패턴을 보면 Fig. 5와 같이 초기 3분 이내에서 살균효과가 크고 이후에는 살균효과가 감소하는 경향을 보였으며, 각 구간에서 시간에 따른 살균효과는 직선적으로 증가하여 *E. coli*의 감압 플라즈마 살균은 2단계 1차 반응으로 구성됨을 알 수 있었다.

플라즈마에 의한 미생물 사멸은 생성된 자외선, 자외선 광자에 의해 방출된 휘발성 물질, 플라즈마 내 반응성 화학물의 흡착 등에 의해 이루어진다(Moisan et al., 2002). 이중 자외선 조사효과는 신속하며 초기 사멸에 관여하고, 휘발성 물질의 방출과 반응성 물질의 흡착은 시간을 요하므로 후기 사멸에 관여한다. 때문에 플라즈마 살균은 2단계 또는 그 이상의 패턴을 보이며, 일반적으로 초기의 사멸속도는 크고 후기에는 작은 값을 갖는다(Moisan et al., 2001).

한편 2단계 1차 반응으로 구성된 살균패턴은 플라즈마 (Lerouge et al., 2000, 2001) 뿐만 아니라 자외선(Mok &

Table 1. Inactivation rate constants and decimal reduction times of *E. coli* by low-pressure plasmas with different gases

Gases	Inactivation rate constants (min ⁻¹) ¹⁾		Decimal reduction times (min) ¹⁾	
	k ₁	k ₂	D ₁	D ₂
Air	3.572±0.04 ^a	0.420±0.076 ^b	0.645±0.007 ^b	5.603±0.958 ^a
O ₂	3.047±0.508 ^{ab}	0.717±0.163 ^a	0.769±0.117 ^b	3.344±0.867 ^b
N ₂	2.353±0.335 ^b	0.635±0.137 ^{ab}	0.991±0.131 ^a	3.755±0.890 ^b

¹⁾ Values with same letters within the same column are not significantly different at α=0.05.

Lee, 2009), 고전장펄스(Oshima & Sato, 2004), ethylene oxide(Lucas et al., 2003) 살균에서도 흔히 관측되는 양상이다. 이는 이들 살균제가 표면에 있는 미생물에는 신속하게 작용하지만, 침투력은 크지 않아 대상 물체의 내부에 있는 미생물에 대한 영향은 제한적이기 때문에 나타나는 현상으로 해석된다.

기체종류별 감압 플라즈마 살균효과

감압 플라즈마 치사곡선의 기울기로부터 구한 구간별 살균속도상수와 D값은 Table 1과 같다. 초기 살균구간(≤ 3 min)에서의 살균속도상수(k_1)는 공기의 경우가 3.572 min^{-1} 로서 산소의 3.047 min^{-1} 및 질소의 2.353 min^{-1} 보다 높은 값을 보였으며, 공기와 질소 플라즈마 사이에는 유의적인 차이가 있었으나 공기와 산소 플라즈마 또는 산소와 질소 플라즈마 사이의 차이는 유의하지 않았다. 플라즈마에서 미생물 작용을 나타내는 물질은 자외선, 이온과 활성종 등의 입자, 전자 등이다. 산소 플라즈마에서는 자외선, 산소원자, 1중항 산소, 오존, OH-라디칼 등이, 질소 플라즈마에서는 자외선과 N-라디칼이 존재하고, 생물작용은 산소 플라즈마가 질소 플라즈마보다 큰 것으로 알려져 있다(Soloshenko et al., 2000). 공기 플라즈마는 이들 물질과 함께 NO, NO₂, NO₃ 등 NO_x 물질이 생성되는데 이들 화합물, 특히 NO₂는 강력한 살균작용이 있다(Fang, 2004; Mannick, 2006). 공기 플라즈마가 산소나 질소 플라즈마에 비해 높은 살균효과를 보인 것은 산소 또는 질소가 단독으로 존재할 때보다 함께 존재할 때 생성된 플라즈마에서보다 다양한 생물작용 물질이 발생하므로 효과적인 살균작용을 나타내는 것으로 추정된다. 한편 후기 살균구간(≥ 3 min)에서의 살균속도상수(k_2)는 산소 0.717 min^{-1} , 질소 0.635 min^{-1} , 공기 0.420 min^{-1} 순으로 감소하는 경향을 보였으며, 산소와 공기 플라즈마 사이에서만 차이가 유의적인 것으로 분석되었다. 그러나 후기 살균구간에서의 살균속도상수는 초기 살균구간에 비하여 상당히 작은 값을 보이므로 여기서의 차이는 실제 살균 시 큰 영향을 미치지 않을 것으로 판단된다.

감압 플라즈마에 의해 균의 90% 사멸에 필요한 시간을 나타내는 D값을 보면 초기 살균구간에서 공기 플라즈마의 D₁값이 0.645 min 으로 가장 작은 값을 보였고 산소와 질소 플라즈마는 각각 0.769 min , 0.991 min 을 나타내었다. 공기 플라즈마와 산소 플라즈마의 D값의 차이는 유의하지 않았으나 이들 플라즈마는 질소에 비하여 유의하게 낮아 살균 효과가 높은 것으로 분석되었다. D₂값에서는 산소와 질소 플라즈마의 경우가 공기 플라즈마에 비하여 약간 작은 값을 보였다.

이상의 결과에서 산소 플라즈마와 공기 플라즈마 사이의 살균효과에는 차이가 없는 것으로 확인됨에 따라 경제성을 감안할 때 공기 플라즈마를 사용하는 것이 바람직한 것으로 판단되었다. 아울러 감압 플라즈마의 비열살균기술로서

이용가능성이 확인되었으며 이 기술을 활용한 열에 민감한 식품의 살균기술 개발이 기대된다.

요 약

저온에서 미생물을 사멸시킬 수 있는 비열살균기술로 감압 플라즈마를 활용하고자 생성기체별 감압 플라즈마 특성을 비교하고 *Escherichia coli* 살균효과를 조사하였다. 1 Torr 이하로 감압시킨 상태에서 공기, 산소, 질소를 350 mL/min으로 공급하며 플라즈마를 발생시킨 결과 아크발생 없이 균일한 플라즈마가 생성되었다. 감압 플라즈마에 의한 온도 상승은 5분 처리 시 10°C 내외, 10분 처리 시 25°C 미만이었으며, 기체 종류별로는 공기, 산소, 질소 순으로 상승도가 낮았다. 감압 플라즈마 5분간 처리로 *E. coli*는 5 log 이상 감소하였으며, 이후 감소율이 둔화되어 10분간 처리 후 6-7 log 정도의 감소를 보였다. 감압 플라즈마에 의한 *E. coli* 살균패턴은 살균속도가 높은 초기와 낮은 후기로 구분되는 2단계 1차 반응으로 확인되었으며, 초기 살균속도상수(k_1)는 공기, 산소, 질소 순으로 감소하였다. 감압 공기플라즈마 살균의 작은 D값 또한 식품 표면의 오염도를 낮추기 위한 비열살균기술로서의 가능성을 제시하였다.

감사의 글

본 연구는 울촌재단과 2010년도 경원대학교 지원에 의하여 이루어진 것으로서 이에 감사드립니다.

참고문헌

- Becker N, Schmidt M, Viggiano AA, Dressler R, Williams S. 2005. Air plasma chemistry. In: Becker KH, Kogelschartz U, Schoenback KH, Barker RJ (eds.), Non-equilibrium Air Plasma at Atmospheric Pressure. IOP Publishing Ltd., London, England, pp.124-182.
- Chun JK, Kim KH, Mok C, Lee SJ, Kwon YA. 2002. Food Engineering. McGraw-Hill Korea, Seoul, Korea, pp. 114-115.
- Deng S, Ruan R, Mok C, Huang G, Lin X, Chen P. 2007. Inactivation of *Escherichia coli* on almonds using nonthermal plasma. J. Food Sci. 72(2):M62-M65.
- Fang FC. 2004. Antimicrobial reactive oxygen and nitrogen species: concepts and controversies. Nature Reviews: Microbiology 2: 820-832.
- Farkas J. 2006. Irradiation for better foods. Trends Food Sci. Tech. 17: 148-152.
- Juri ML, Ito H, Watanabe H, Tamura N. 1986. Distribution of microorganisms in spices and their decontamination by gamma-irradiation. J. Agric. Biol. Chem. 50: 347-355.
- KFDA. 2005. Food Codes Vol. II. Korea Food and Drug Administration, Seoul, Korea, p. 97.
- Lerouge S, Wertheimer MR, Marchand R, Tabrizian M, Yahia L.

2000. Effect of gas composition on spore mortality and etching during low-pressure plasma sterilization. *J. Biomed. Mater. Res.* 51: 128-135.
- Lerouge S, Wertheimer MR, Yahia L. 2001. Plasma sterilization: a review of parameters, mechanisms, and limitations. *Plasmas and Polymers* 6: 175-188.
- Lucas AD, Merritt K, Hitchins VM, Woods TO, NcMamee SG, Lyle DB, Brwon SA. 2003. Residual ethylene oxide in medical devices and device material. *J. Biomed. Mater. Res.* 66: 548-552.
- Mannick JB. 2006. Immunoregulatory and antimicrobial effects of nitrogen oxides. *Proc. Amer. Thoracic Soc.* 3: 161-165.
- Moisan M, Barbeau J, Moreau S, Pelletier J, Tabrizian M, Yahia LH. 2001. Low-temperature sterilization using gas plasmas: a review of the experiments and an analysis of the inactivation mechanisms. *Int. J. Pharm.* 226: 1-21.
- Moisan M, Barbeau J, Crevier MC, Pelletier J, Philip N, Saoudi B. 2002. Plasma sterilization: methods and mechanisms. *Pure Appl. Chem.* 74: 349-358.
- Mok C, Lee NH. 2009. Ultraviolet inactivation of *Escherichia coli* in stainless steel cups. *Food Eng. Prog.* 13: 122-129.
- Montie TC, Kelly-Wintenberg K, Roth JR. 2000. An overview of research using the one atmosphere uniform glow discharge plasma (OAUGDP) for sterilization of surfaces and materials. *IEEE Trans. Plasma Sci.* 28: 41-50.
- Oshima T, Sato M. 2004. Bacterial sterilization and intracellular protein release by a pulsed electric field. *Adv. Biochem. Eng. Biotechnol.* 90: 113-133.
- Ott L. 1984. *An Introduction to Statistical Methods and Data Analysis*, 2nd ed. PWS Publishers, Boston, MA, U.S.A. pp. 376-379.
- Sadecka J, Kolek E, Salkova Z, Petrikova J, Kovac M. 2004. Effect of gamma-irradiation on microbial decontamination and organoleptic quality of black pepper (*Piper nigrum* L.). *Czech J. Food Sci.* 22: 342-345.
- Sadecka J, Petka J, Suhaj M. 2005. Influence of two sterilization ways on the volatiles of black pepper (*Piper nigrum* L.). *Chemicke Listy* 99: 335-338.
- Sadecka J. 2007. Irradiation of spices - a review. *Czech J. Food Sci.* 25: 231-242.
- SAS Institute Inc. 2004. *SAS/STAT 9.1 User's Guide*. SAS Institute Inc., Cary, NC, U.S.A.
- Soloshenko IA, Tsiolko VV, Khomich VA, Shchedrin AI, Ryabtsev AV, Bazhenov VY, Mikhno IL. 2000. Sterilization of medical products in low-pressure glow discharges. *Plasma Phys. rep.* 26: 792-800.