

## 후춧가루의 감압방전플라즈마 살균

목철균\* · 전형주

가천대학교 공과대학 식품생물공학과

### Low Pressure Discharge Plasma Inactivation of Microorganisms in Black Pepper Powder

Chulkyoon Mok\* and Hyungjoo Jeon

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

#### Abstract

This study aimed to explore the potential of low-pressure discharge plasma (LPDP) as a nonthermal inactivation method for microorganisms in black pepper powder. Black pepper powder samples produced by food companies showed microbial counts of  $10^3$  CFU/g for both bacteria and mold, while those sold in bulk in local markets showed microbial counts of  $10^6$  and  $10^7$  CFU/g for bacteria and mold, respectively. The LPDP inactivation rate constants of bacteria and mold in black pepper powder were  $0.0841 \text{ min}^{-1}$  and  $0.0696 \text{ min}^{-1}$ , respectively. The LPDP treatment showed no effect on the color of black pepper powder. No effects of the LPDP treatment were observed on the sensory quality of black pepper powder despite a substantial decrease in piperine contents.

**Key words:** low pressure discharge plasma, black pepper powder, microorganism, inactivation, sensory quality

#### 서 론

식품원료 및 제품에 주로 사용되는 살균방식은 가열살균과 화학적 방법, 그리고 자외선, 방사선등을 이용하는 물리적 방법이 있다. 이중 가장 보편적인 살균법은 가열살균법이나 에너지 소비가 크고 영양성분 파괴, 향미와 색 등 관능적 품질을 저하시키는 단점이 있다. 이러한 이유로 인해 양념류와 향신제품의 살균에는 가열살균의 적용이 불가능하다. 화학적인 살균법은 methyl bromide나 ethylene oxide를 혼증하여 사용하는데 유독성 물질의 잔류에 의한 위해발생 우려 때문에 사용이 기피되고 있다. 향신제품에 적용할 수 있는 물리적 살균법으로는 방사선조사가 있으나 고가의 시설이 필요하고 선원의 관리가 까다로우며 방사선조사식품에 대한 소비자의 거부감 및 표시의무 때문에 실용화에 걸림돌이 되고 있다(Juri et al., 1986; Sadecka et al, 2004, 2005; Farkas, 2006; Sadecka, 2007; Mok & Song, 2010).

플라즈마는 고 에너지 전자, 여기상태의 이온 및 자외선

을 포함하는 전리된 기체로서 이들 물질의 생물학적 작용으로 미생물을 사멸시킨다(Lerouge et al., 2001; Moisan et al., 2002). 특히 감압상태에 기체를 유입하면서 생성하는 감압방전플라즈마(low pressure discharge plasma, LPDP)는 열발생이 거의 없으므로 향신료와 같이 열에 민감한 식품의 살균에 이용될 수 있다(Mok & Song, 2010; Mok & Jeon, 2012).

후추는 다년생 열대성 관목인 *Piper nigrum L.*의 열매로 독특한 향기와 맛을 내며 육류의 냄새를 없애는 효과가 있어 동서고금을 통하여 다양한 식품에 사용되는 기본적인 향신료이다(Ko, 1995). 후추는 재배·수확 중 다량의 세균, 곰팡이, 내열성 포자 등에 노출되어 미생물 오염이 심하며, 국내 판매 흑후추와 백후추에는 각각  $2.5 \times 10^6$  CFU/g,  $5.0 \times 10^2$  CFU/g 수준의 일반세균이 존재하는 것으로 알려져 있다(Lee & Cheon, 1996). 외국의 연구결과에서도 국내 연구결과와 유사한 미생물 오염도를 보이고 있다(Christensen et al., 1967; Baxter & Holzapfel, 1982; Juri et al., 1986; Antai, 1988).

본 연구에서는 후추의 미생물 안전성 향상을 목적으로 시판 후추의 미생물 오염도를 측정하였고, LPDP를 이용한 후추의 비가열 살균기술을 확립하고자 후추 미생물의 살균 패턴과 LPDP 처리가 후추의 품질에 미치는 영향을 조사하였다.

\*Corresponding author: Chulkyoon Mok, Department of Food Science and Biotechnology, College of Engineering, Gachon 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@gachon.ac.kr

Received December 7, 2012; revised January 28, 2013; accepted February 5, 2013

## 재료 및 방법

### 실험재료

시중에서 철관(steel can)에 포장되어 판매되는 2종의 후춧가루 제품(이하 가공제품으로 칭함.)은 대형 할인매장에서 구입하였고, 포장하지 않고 벌크로 판매되는 후춧가루 시료 2점은 경기도 성남 소재 모란시장과 중앙시장에서 구입하였다.

### LPDP 장치 및 시료 처리

구입한 시료 중 오염도가 높았던 벌크판매 후춧가루를 대상으로 예비실험 결과 도출된 조건에서 LPDP 처리하였다. 시료 0.1 g을 페트리접시에 얇게 펴서 LPDP 장치(Mok & Jeon, 2012)의 처리실에 넣고 진공펌프를 가동하여 1 Torr(133 Pa) 내외로 감압한 후 플라즈마 생성기체로 압축공기(순도 99.9%)를 350 mL/min의 속도로 처리실에 공급하면서 출력 100 W로 전력을 인가하여 LPDP를 생성하였다. 일정시간 LPDP 처리한 후 생성기체와 전원을 차단하고 서서히 감압을 풀어 시료를 회수하였다.

### 균수 측정

시료의 미생물 수는 표준평판법(KFDA, 2005)으로 측정하였다. 일반세균은 plate count agar(PCA)에, *Bacillus cereus*는 mannitol-egg yolk-polymyxin(MYP) agar에, 진균은 potato dextrose agar(PDA)에 배양하였다. 시료를 심진 희석한 용액 100 µL를 해당 agar 위에 도말한 후 일반세균과 *B. cereus*는 37°C에서 20-24 시간 배양한 후 집락수를 계수하였고, 진균은 30°C에서 24 시간 배양한 후 계수하였다.

### LPDP 살균패턴

LPDP 살균패턴을 식 (1)과 같이 1 차 반응에 의거하여 해석하고 살균곡선의 기울기로부터 살균속도상수(k)를 구하였으며, 식 (2)에 의해 D값을 산출하였다(Chun et al., 2002; Mok & Jeon, 2012).

$$\ln \frac{N_0}{N} = k \cdot t \quad (1)$$

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

### 후춧가루 품질 분석

후춧가루 색도는 시료를 Φ35 mm 페트리접시에 담고 접시의 밑면에서 색차계(color difference meter, CR-200, Minolta, Osaka, Japan)를 사용하여 5 회 반복하여 측정하였다.

Piperine 함량은 Kim & Kim(2004)의 방법을 토대로 분석하였다. 후춧가루 2.5 g을 시험관에 넣고 methanol 15 mL를 가한 후 3시간 30 분 동안 진탕하여 추출하고 상등액을 methanol로 20 배 희석하였다. 이후 희석액을 0.45 µm HPLC

용 filter로 여과하고 1.0 µL를 HPLC(Acme 9000, Young Lin Instrument Co., Anyang, Korea)에 주입하여 아래의 조건에서 분석하였다.

- Column: Nova-Pak C18 4 µm (Waters Co., Milford, MA, USA) (3.9 mm×150 mm)
- Solvent: Acetonitrile: 1% citric acid solution (45:55)
- Flow rate: 0.50 mL/min
- Injection volume: 1.0 µL
- Detector: UV absorbance detector
- Wavelength : 280 nm
- Runtime : 20 min

HPLC 분석 후 piperine(Sigma Aldrich Co., St. Louis, MO, USA) 표준용액을 분석하여 얻은 검량선을 토대로 peak 면적으로부터 piperine 함량을 구하였다.

### 관능검사

Table 1의 방법으로 조리한 고깃국에 0.08% 수준으로 후춧가루를 첨가하여 색, 맛, 향, 종합적 기호도에 대한 관능검사를 15 명의 평가원을 대상으로 9 점 채점법으로 실시하였다.

### 통계분석

실험결과에 대한 통계분석은 SAS 9.1(SAS Institute Inc., Cary, NC, USA)을 사용하여 분산분석을 행한 후에 실험변수에 따른 차이의 유의성을 Duncan의 중범위검정법으로 분석하였다.

## 결과 및 고찰

### 시중 판매 후춧가루의 미생물 오염도

후춧가루는 철관에 포장하여 판매하는 가공제품 2종과 벌크로 판매하는 2 점의 시료에 대해 미생물 오염도를 분석하였다. 가공제품의 세균 오염도는 Table 2에서 보는 바와 같이 10<sup>3</sup> CFU/g 수준의 오염도를 보여 비교적 양호한 상태였으나 시장에서 벌크상태로 판매하는 제품은 10<sup>6</sup> CFU/g 수준의 높은 오염도를 보였다. 진균류도 가공제품의

**Table 1. Recipes of beef stock prepared for sensory evaluation of LPDP treated black pepper powder.**

Prepared foods	Materials	Cooking procedures
Beef stock	Diced beef 100 g Sliced turnip 200 g Water 1000 mL Salt 4 g Soysauce 10 mL Black pepper 1 g	Boiled for 15 min, then sprinkled with black pepper powder.

**Table 2. Microbial contamination of black pepper powder sold in local markets.**

(CFU/g)

Sample code	Package status	Bacteria	<i>B. cereus</i>	Mold
C-1	Packed in steel can	$7.05 \times 10^3 \pm 6.60 \times 10^3$	N.D.	$8.33 \times 10^3 \pm 5.91 \times 10^3$
C-2	Packed in steel can	$5.40 \times 10^3 \pm 4.60 \times 10^3$	N.D.	$8.93 \times 10^3 \pm 4.55 \times 10^3$
B-1	Sold in bulk	$1.83 \times 10^6 \pm 3.52 \times 10^5$	$7.72 \times 10^6 \pm 3.57 \times 10^6$	$1.06 \times 10^7 \pm 7.23 \times 10^5$
B-2	Sold in bulk	$1.84 \times 10^6 \pm 9.77 \times 10^5$	$4.16 \times 10^6 \pm 2.50 \times 10^6$	$3.64 \times 10^7 \pm 2.11 \times 10^6$

경우는  $10^3$  CFU/g 수준인 반면, 벌크제품은  $10^7$  CFU/g 수준의 오염도를 나타냈다. 특히 가공제품에서는 *B. cereus*가 검출되지 않은 반면 벌크제품은  $4.16$ - $7.72 \times 10^6$  CFU/g 수준의 오염도를 나타내었다. 가공제품의 미생물 오염도가 낮은 이유는 이들 제품은 제조 중 세척 및 살균공정이 포함되기 때문으로 사료된다.

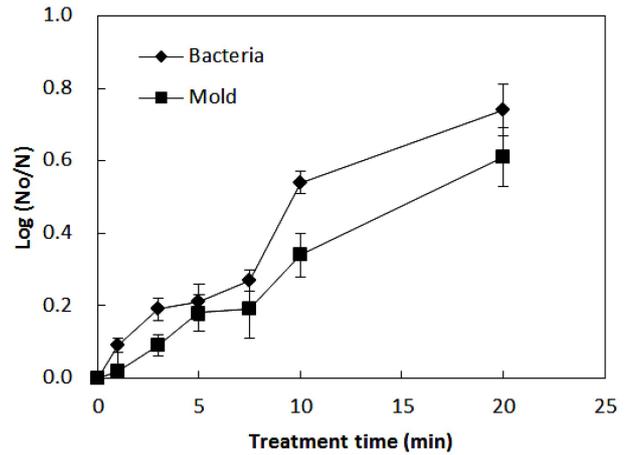
외국 후추의 오염도는 나이지리아산은 총균수는  $1.8 \times 10^4$ - $1.1 \times 10^8$  CFU/g 수준이었고, 주요 오염 미생물은 *B. cereus*를 주종으로 하여 *B. polymyxa*, *B. subtilis*, *B. coagulans*가 존재하였다(Antai, 1988). 남아프리카공화국산도  $10^6$  CFU/g 이상의 오염도를 보이며 *B. cereus* 외에 *E. coli*, *Salmonella*, fecal streptococci 등이 존재하는 것으로 보고되었다(Baxter & Holzapfel, 1982). 미국의 경우 흑후추에서  $8.3 \times 10^6$ - $7 \times 10^8$ /g 수준의 총균수를 보였으며(Christensen et al., 1967), 일본 판매 후춧가루에서는 흑후춧가루는  $4.6 \times 10^7$  CFU/g, 백후춧가루는  $4.6 \times 10^4$  CFU/g 정도를 나타내었다(Juri et al., 1986). 이러한 결과는 본 연구에서 사용한 벌크제품과 유사한 값으로서 후추는 지역을 막론하고 미생물 오염도가 높은 식품임을 입증하고 있다.

**후춧가루의 LPDP 살균**

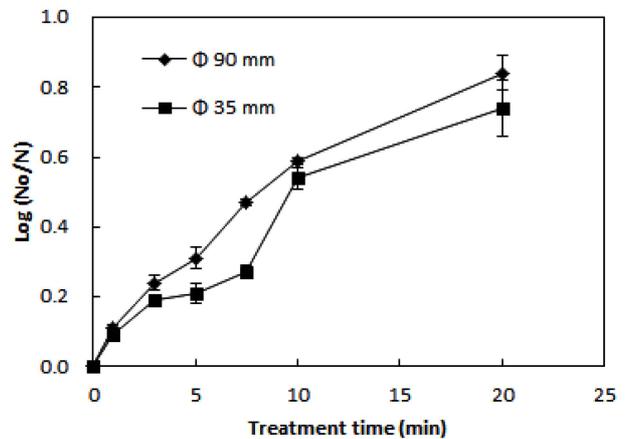
LPDP에 의한 후춧가루의 살균은 Fig. 1과 같이 살균효과는 대체로 처리시간에 비례하여 직선적으로 증가하는 경향을 보여 1차 반응에 의거함을 알 수 있었다. 살균효과는 미생물 종류별로 차이를 나타내어 20분간 처리 후 세균은 0.73 log 정도 감소한 반면 진균은 그보다 약간 낮은 0.6 log 정도의 감소를 보였다. 이러한 후춧가루의 LPDP 살균효과는 고춧가루(Mok & Jeon, 2012)에 비해서는 낮은 수준으로 후춧가루가 고춧가루보다 살균이 용이하지 않음을 의미한다.

그 이유는 후추는 향신료 중에서도  $10^6$  CFU/g 이상으로 오염도가 높고, 포자를 형성하여 살균저항성이 큰 *B. cereus*가 오염 미생물의 주종을 이루기 때문으로 사료된다(Baxter & Holzapfel, 1982). 또한 후추열매는 표면에 굴곡과 주름이 많아 오염되기 쉬운 구조이고 주름 사이에 파묻혀있는 미생물은 살균이 특히 어려우며, 이러한 살균저항성은 분쇄하여 가루로 가공한 이후에도 유지되는 것으로 생각된다.

후춧가루의 미생물 별 LPDP 살균속도상수와 D값은



**Fig. 1. LPDP inactivation of microorganisms in black pepper powder.**



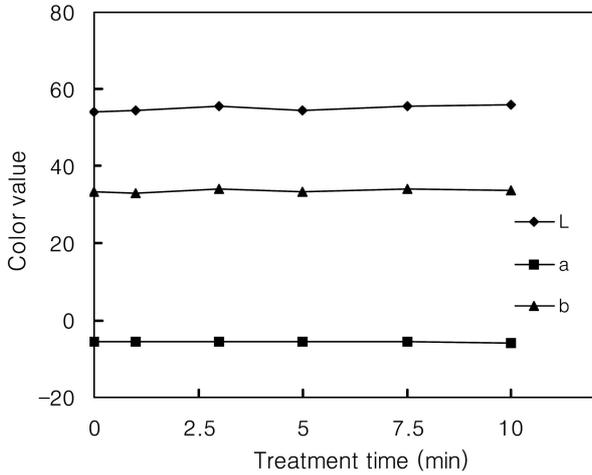
**Fig. 2. Effect of spreading on LPDP inactivation of microorganisms in black pepper powder.**

Table 3에서 보는 바와 같다. 세균과 진균의 살균속도상수는 각각  $0.0841 \text{ min}^{-1}$ 과  $0.0696 \text{ min}^{-1}$ 이었고, D값은 각각 27.40 min과 33.11 min으로 진균의 저항력이 세균에 비해 약간 높게 나타났다.

후춧가루의 LPDP 살균에 미치는 시료 두께의 영향을 보기 위해 시료 0.1 g을 직경이 다른 페트리접시에 퍼서 감압플라즈마 처리한 경우의 살균효과를 비교한 결과 Fig. 1과 같이 직경 90 mm의 큰 페트리접시에 넓게 퍼서 살균

**Table 3. LPDP inactivation rate constants and D values of microorganisms in black pepper powder.**

Microorganisms	k (min <sup>-1</sup> )	D value (min)
Bacteria	0.0841	27.40
Mold	0.0696	33.11



**Fig. 3. Changes in color of black pepper powder by LPDP treatment.**

한 경우가 직경 35 mm의 작은 페트리접시에 두텁게 펴서 살균한 경우보다 양호한 살균효과를 보였다. 이는 LPDP 살균은 플라즈마와 직접적인 접촉에 의해 이루어지므로 가능한 시료를 얇게 펴서 플라즈마에 노출되는 면적을 크게 하는 것이 유리함을 의미한다.

**색도 변화**

LPDP 처리에 의한 후춧가루의 색은 Fig. 3에서 보는 바와 같이 L, a, b값 모두 거의 변화가 없었으며, 대조구와의 색차는 Table 4에 나타난 바와 같이 10분간 처리한 후에도 육안에 의한 인식 한계인 1.5 내외(Song & Park, 1995)로 유지되었다.

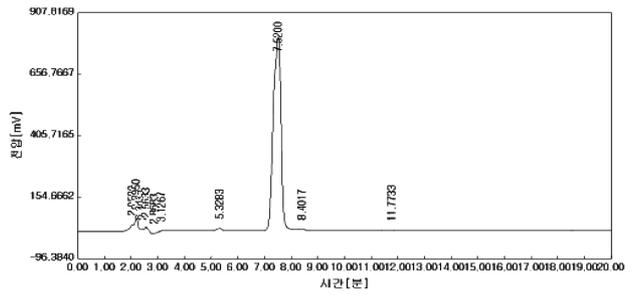
**매운맛 변화**

후춧가루의 매운맛 성분인 piperine을 HPLC를 사용하여 분석한 결과는 Fig. 4와 같이 retention time은 7.5 분 내의

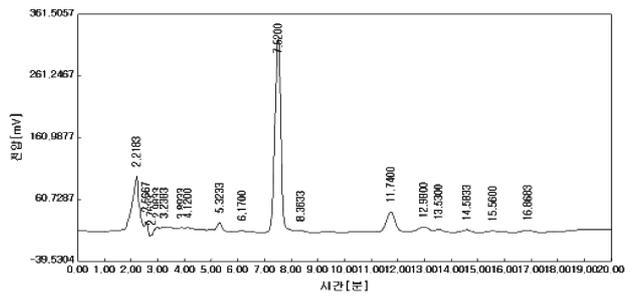
**Table 4. Color difference of black pepper powder induced by LPDP treatment.**

Treatment time (min)	ΔE
0	0
1	0.572
3	1.723
7.5	1.775
10	1.759

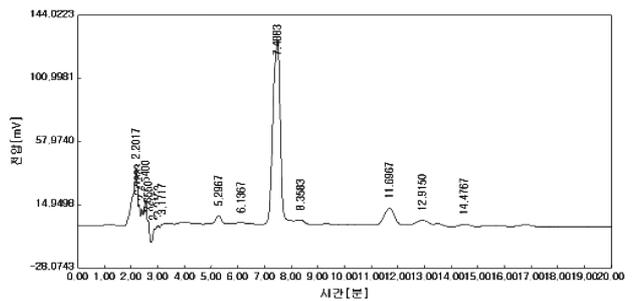
**Piperine standard**



**Control**



**LPDP treated for 5 min**



**Fig. 4. HPLC chromatogram of piperine in black pepper powder.**

로 확인되었으며 LPDP 처리에 의해 piperine 함량이 감소하는 것으로 나타났다.

LPDP 처리에 따른 piperine 함량의 변화는 Fig. 5에 나타난 바와 같이 초기 1 분 동안 급격하게 감소하였으며, 이후의 변화는 완만하였다. 대조구의 piperine 함량은 3,735 mg%로 3.76-6.65%로 보고된 기존의 결과(Ko, 1995)와 유사한 수치를 보였다. LPDP로 1분간 처리한 후에는 그 함량이 1,998 mg%로 낮아져 46.5%의 감소율을 보였다. 처리시간 1 분 이후에는 감소양상이 둔화되었으며, 10분간 처리한 후춧가루에서는 1,481 mg%로서 60.4%의 감소율을 나타내었다.

**관능특성**

LPDP 처리한 후춧가루를 0.08% 수준으로 고깃국에 첨가하여 관능검사를 실시한 결과 Table 5와 같이 색, 맛, 향, 기호도 등 모든 관능특성에서 대조구와 처리구 간에 유의한 차이를 나타내지 않아 LPDP 처리는 후춧가루의 관능특성에는 크게 영향을 미치지 않는 것으로 확인되었다.

**Table 5. Sensory scores\* of beef stock sprinkled with LPDP treated black pepper powder.**

Sensory properties	Treatment time (min)			
	0	1	5	10
Color	6.600 a**	6.667 a	7.067 a	6.467 a
Taste	6.600 a	5.867 a	5.933 a	5.533 a
Flavor	6.267 a	5.333 a	6.133 a	5.267 a
Overall quality	5.600 a	5.267 a	5.400 a	4.133 a

\* Judged by 9 point scoring method.

\*\* Values with same letters within same row are not significantly different ( $\alpha=0.05$ ).

이상의 결과로부터 LPDP 처리는 후추의 매운맛 성분인 piperine을 감소시켰으나 후춧가루의 색과 관능특성에는 영향을 주지 않고 미생물 오염도를 낮춤으로써 후춧가루의 위생성 향상에 기여함을 알 수 있다. 향후 LPDP 장치의 개량과 플라즈마에 의한 piperine 분해기작에 관한 후속 연구가 필요할 것으로 생각되며, 이를 바탕으로 piperine 감소를 최소화하면서 효과적으로 후춧가루를 살균할 수 있는 기술이 완성될 것으로 기대된다.

## 요 약

후춧가루의 비가열 살균기술을 개발하고자 감압방전플라즈마(LPDP)를 이용한 살균을 시도하였고 LPDP 처리에 의한 품질변화를 조사하였다. 시판 후춧가루의 미생물 오염도는 가공제품에서는 세균, 진균 모두  $10^3$  CFU/g 수준이었던 반면, 재래시장에서 벌크로 판매하는 제품에서는 세균은  $10^6$  CFU/g, 진균은  $10^7$  CFU/g 수준의 오염도를 보였다. 후춧가루의 LPDP 살균패턴은 1 차 반응으로 나타났으며, 세균과 진균의 살균속도상수는 각각  $0.0841 \text{ min}^{-1}$  과  $0.0696 \text{ min}^{-1}$  로서 세균이 진균에 비해 LPDP에 약간 더 민감하였다. LPDP 처리는 후춧가루의 색에는 영향을 미치지 않았으나 piperine 함량을 낮추는 것으로 확인되었다. Piperine 감소에도 불구하고 후춧가루의 관능특성은 LPDP 처리에 의해 영향을 받지 않았다.

## 감사의 글

본 연구는 울촌재단과 농림수산식품부 고부가식품기술개발사업의 지원으로 이루어진 것으로서 이에 감사드립니다.

## 참고문헌

- Antai SP. 1988. Study of the *Bacillus* flora of Nigerian spices. Int. J. Food. Microbiol. 6: 259-261.
- Baxter R, Holzapfel WH. 1982. A microbial investigation of selected spices, herbs and additives in South Africa, J. Food Sci. 47: 570-578.
- Christensen CM, Fansie HA, Nelson GH, Bates F, Mirocha CJ. 1967. Microflora of black and red pepper. Appl. Microbiol. 15: 622-626.
- Chun JK, Kim KH, Mok C, Lee SJ, Kwon YA. 2002. Food Engineering. McGraw-Hill Korea, Seoul, Korea, pp. 114-115.
- Farkas J. 2006. Irradiation for better foods. Trends Food Sci. Technol. 17: 148-152.
- Juri ML, Ito H, Watanabe H, Tamura N. 1986. Distribution of microorganisms in spices and their decontamination by gamma-irradiation. J. Agr. Biol. Chem. 50: 347-355.
- KFDA. 2005. Food Codes Vol. II. Korea Food and Drug Administration, Seoul, Korea, p. 97.
- Kim HW, Kim YJ. 2004. Optimization in analytical method and quantitation of major heat principles from soup base of commercial ramens. Korean J. Food. Sci. Technol. 36: 9-13.
- Ko JM. 1995. A study on quantitative method of piperine in pure ground black pepper. J Food Hyg. Safety 10: 169-174.
- Lee BW, Cheon SH. 1996. Change in microorganism of pepper (*Piper nigrum* L.) treated with ozonated water. Korean J. Postharvest Sci. Tech. Agr. Prod. 3: 145-148.
- Lerouge S, Wertheimer MR, Yahia L. 2001. Plasma sterilization: a review of parameters, mechanisms, and limitations. Plasma Polym. 6: 175-188.
- 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, Jeon H. 2012. Reduction of microorganisms in red pepper powder by low pressure discharge plasma. Food Eng. Prog. 16: 107-112.
- Mok C, Song DM. 2010. Low-pressure plasma inactivation of *Escherichia coli*. Food Eng. Prog. 14: 202-207.
- 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.). Chem. Listy 99: 335-338.
- Sadecka J. 2007. Irradiation of spices - a review. Czech J. Food Sci. 25: 231-242.
- Song JC, Park HJ. 1995. Physical, Functional, Textural and Rheological Properties of Foods. Ulsan University Press, Ulsan, Korea, p. 82.