

부유전극 유전체장벽방전 (floating electrode-dielctric barrier discharge) 플라즈마에 의한 가쓰오부시의 *Penicillium citrinum* 저감화 효과

송민규 · 전은비 · 김소희 · 박신영†
경상국립대학교(학생) · *경상국립대학교(교수)

Antifungal Effects of Floating Electrode-Dielectric Barrier Discharge Plasma against on Katsuobushi

Min-Gyu SONG · Eun-Bi JEON · So-Hee KIM · Shin-Young PARK†
Gyeongsang National University(student) · *Gyeongsang National University(professor)

Abstract

This study investigated the antifungal effects of floating electrode barrier discharge (FE-DBD) plasma (1.1 kV, 43 kHz, 1.5 L/min N₂ for 1~90 min) on *Penicillium citrinum* in Katsuobushi. There was no significant difference ($P>0.05$) of reduction between the control and FE-DBD plasma 1, 3, and 5 min treated samples, but there was a significant difference ($P<0.05$) of reduction between the control and FE-DBD plasma 7 min treated samples. In particular, a 0.81 log reduction was found in the 90 min treated samples. Hunter colors 'L', 'a', and 'b' values showed slightly decreased as the treatment time was longer and the pH in the plasma treated samples was not significantly different ($P>0.05$) from the control. FE-DBD plasma does not deteriorously change the quality of the food, so it can be applied to dried seafood products such as Katsuobushi, which are difficult to sterilize after manufacture, and can be applied as another antifungal alternative physical method.

Key words : Antifungal effect, FE-DBD plasma, Katsuobushi, *Penicillium citrinum*

1. 서론

가쓰오부시(Katsuobushi)는 수산가공품 중 하나로 가다랑어(*Katsuwonus pelamis*)를 원료로 만들어지며 자숙, 건조, 훈연, 곰팡이 입히기 등 다양한 단계를 거쳐 만들어진다(Sriwahyu, 2020). 가쓰오부시로 우려낸 육수는 맛과 향을 내는 400가지 이상의 향미성분을 함유하고 있다(Kawaguchi, 2005). 따라서 감칠맛과 특유의 향기를 가져 다양한 요리의 맛을 내는데 이용될 수 있어 애용하고 있다

(Oh and Lee, 1989). 하지만 가쓰오부시와 같이 수분활성이 낮은 식품은 주변환경의 습도가 높을 경우 식품내로 수분이 많이 흡수되기 때문에 미생물이 쉽게 증식할 수 있다(Rhee and Cho, 1991).

식품 종류별 소비자 불만 건수 중 12.7%는 곰팡이가 원인으로 외관상 불쾌감을 줄 뿐만 아니라 품질 저하, 곰팡이 독에 의한 건강장해를 일으킨다(Gwak et al., 2011). 곰팡이 중 특히 *Penicillium* spp.은 공기 중으로부터 분리되는 대

† Corresponding author: 055-772-9143 sypark@gun.ac.kr

표적인 곰팡이로서 알레르기원성이 있고, 일부 균종은 발암성 곰팡이 독소를 생산하기 때문에 식품위생관리상 중요한 곰팡이이다(Gwak et al., 2012). 실제로 Gwak et al.(2011)의 연구에 의하면 식품제조공장 9곳의 실내공기에서 *Penicillium* spp.가 29%가 검출된 바 있다. 또한 식품의약품 안전처는 수산건제품 60종에서 *Penicillium* spp가 분리 검출되었고 그 오염도는 3×10^4 CFU/g이라고 보고하였다(MFDS, 2012).

최근 식품에 품질변화를 일으키지 않는 차세대 기술로 플라즈마 등을 이용한 비열살균기술이 각광받고 있다. 플라즈마는 기체가 높은 에너지를 받을 때 생성되는 물질의 네번째 상태이다. 플라즈마가 형성되면 활성산소종 및 활성질소종이 발생되고 이러한 활성종은 미생물의 세포 외피 및 세포내 성분에 손상을 주어 살균효과를 나타낸다(Lopez et al., 2019). 또한 플라즈마 기술은 열을 발생하지 않아 식품에 영양소 및 품질 등에 영향을 최소화하거나 거의 미치지 않으며 이는 선행 연구를 통해 입증되었다(Yong et al., 2015; Chen et al., 2019; Rod et al., 2012; Shi et al., 2011). 플라즈마를 이용한 항곰팡이 효과는 선행연구에서 일부 진행하였으나(Nojima et al., 2007; Heinlin et al., 2010; Domonkos et al., 2021) 항세균 연구에 비해 아직 미비한 실정이다.

식품에 사용되는 대표적인 플라즈마 기술은 유전체장벽방전 (dielectric barrier discharge, DBD) 플라즈마로 두 개의 전극 사이에 플라즈마를 생성하는 기술이다. 최근에는 DBD 플라즈마를 향상시킨 기술인 부유전극 유전체장벽방전 (floating barrier discharge, FE-DBD) 플라즈마가 개발되고 있다. 부유전극 유전체장벽방전 플라즈마는 두 전극 중 하나로 시료를 사용함으로써 시료에 직접 플라즈마를 형성하여 기존의 유전체장벽방전 플라즈마보다 더 강한 살균효과를 나타낸다(Joshi et al., 2011). 따라서 본 연구에서는 플라즈마 기술 중 하나인 부유전극 유전체장벽방전 플라즈마를 활용하여 가쓰오부시 중 *P. citrinum*에 대한 항곰

팡이 효과를 조사하였으며 품질요소인 색차 및 pH의 변화도 함께 조사하였다.

II. 연구 방법

1. 시료

본 연구에서 사용한 가쓰오부시는 시중에서 유통 중인 가쓰오부시 제품을 구입하여 실험재료로 사용하였으며 구입 즉시 실험을 실시하였다. 가쓰오부시는 3 g씩 소분하였으며 표면의 잔존 미생물 제거를 위해 70% 에탄올로 닦아 클린벤치 (CHC Lab Co. Ltd., Daejeon, Korea)에 30분가량 건조를 시킨 후 시료로 사용하였다.

2. 균주 준비 및 접종

본 실험에 사용된 *P. citrinum* (NIBRFGC000128746)은 2021년 국립생물자원관 (National Institute of Biological Resources, NIBR, Incheon, Korea)에서 분양받은 균주를 사용하였다. *P. citrinum*은 포자 활성화를 위해 potato dextrose agar (PDA, Difco Co, KS, USA)에서 25°C, 7일간 배양되었다. 그 후 0.05% tween 80 (Fisher Scientific, NJ, USA) 용액을 첨가한 뒤 유리막대로 포자를 가볍게 긁어 포자 현탁액을 제조하였다. 제조된 포자 현탁액의 균사체를 제거하기 위해 멸균된 거즈를 통해 여과하고 여과된 포자 현탁액을 실험에 사용하였다. 포자 현탁액의 농도는 10^5 CFU/mL로 조절하였다. 소독 처리된 가쓰오부시 샘플 3 g을 petridish (90 × 15 mm)에 넣고 *P. citrinum* 포자 현탁액 10 µL를 균일하게 표면에 점 접종 (spot inoculation) 시켰으며 이후 클린벤치에서 1 시간동안 건조시킨 것을 실험에 사용하였다.

3. 부유전극 유전체장벽방전 플라즈마 처리

본 연구에서 사용된 FE-DBD 플라즈마 장치 (µ-DBD Surface Plasma Generator, Model; Micro

DBD Plasma)는 Plasma Biomedicine Institute (Plasma Bioscience Research Center, Seoul, Korea) 에서 공급받았다. FE-DBD 플라즈마 장치의 작동 전압은 진폭 2.8kV의 47kHz 사인파를 발생시키는 인버터로 지지하였으며, 질소를 이용하여 가상접지 역할을 하는 시료의 표면과 전기전극 아래 유리 사이에 플라즈마를 발생시켰다. 상기 과정 동안 분당 1.5 lpm의 유량을 유지하였으며, 플라즈마 방출 전극과 샘플 사이의 거리는 3 mm로 유지하였다. FE-DBD의 전기 전압 및 전류 특성은 각각 고전압 프로브(P6015A, Tektronix)와 픽업 프로브(P6021A, Tektronix)를 사용하여 측정하였다. 플라즈마 방전은 주로 1 kV에서 발생하였으며, 피크 방전은 16 mA에서 측정하였다. 전력은 0.55 W로 측정하였다. RMS(root mean square value) 전압과 전류는 각각 2.0 kV와 13.5 mA에서 측정하였다.

4. *P. citrinum* 분석

FE-DBD 플라즈마 처리된 샘플 3g을 멸균백에 넣고 0.85% 멸균생리식염수 27mL를 가한 뒤 stomacher (EASY MIX, AES Chemunex, Rennes, France)로 2분간 균질화 하였다. 균질화된 시료는 9 mL의 0.85% 멸균생리식염수를 이용하여 10배씩 연속 희석하였고 희석액 1 mL를 petridish 에 분주하고 45-50°C 정도로 식힌 PDA를 petridish에 주입평판법 (pour plate method)으로 혼합해주었다. 이후 25°C에서 7일간 배양한 후 집락을 형성한 배지만 계수하여 log CFU/g로 나타냈다.

5. 색조 측정

가쓰오부시 표면의 색조는 직시색차계 (Ne4000; Nippon denshoku, Tokyo, Japan)를 이용하여 Hunter L 값 (명도, lightness), a 값 (적색도, redness), b 값 (황색도, yellowness)을 측정하였다.

6. pH 측정

가쓰오부시 10 g과 희석수 100 mL를 혼합 후 실온에서 5분간 교반하여 pH 측정용 시료로 사용하였으며, pH meter (Orion Star A211, Thermo Scientific, MI, USA)를 사용하여 pH 값을 3회 반복 측정하였다.

7. 통계처리

FE-DBD 플라즈마 처리시간별 유의차는 통계 분석으로 확인하였다. 모든 실험은 시료당 3회 반복 분석하여 데이터를 얻은 후 통계적 유의성을 평가하였으며, 평균±표준편차로 표시하였다. 통계처리는 SPSS software (version 12.0; SPSS Inc., Chicago, IL, USA)를 사용하였으며, 일원배치 분산분석 (one-way analysis of variance) 중 Duncan's 다중범위검정 (multi-range test)을 선택하여 유의차를 5% 수준에서 검증하였다 ($P < 0.05$).

III. 연구 결과

1. 부유전극 유전체장벽방전 플라즈마 처리 시간별 저감화 효과

비가열 살균기술인 FE-DBD 플라즈마를 활용하여 가쓰오부시 중 향곰팡이 효과를 조사하였다. 가쓰오부시 중 *P. citrinum*의 FE-DBD 플라즈마 처리시간별 (1, 3, 5, 7, 10, 30, 45, 60 및 90 분) 저감화 효과는 <Table 1>에 나타내었다. FE-DBD 플라즈마를 1, 3, 5분 처리구를 대조군과 비교하였을 때 유의적인 차이는 발생하지 않았으나 ($P < 0.05$) 7분 이상부터 대조군과 유의적인 효과가 나타났다 ($P > 0.05$). 특히 90분 처리에서 최대 0.81 log의 감소가 나타났다. Choi et al.(2020b)의 연구에 따르면 아귀포에서 *Bacillus cereus*와 *Staphylococcus aureus*를 유전체장벽방전 플라즈마를 이용하여 최대 1 log 이상의 저감화 효과를 보여주었다. 본 연구와 미생물 저감화 정도의 차이가 나는 것은 곰팡이가 세균보다 저항성의 차이 때문이라고 사료된다.

<Table 1> Effect of FE-DBD plasma treatment on the reduction of *P. citrinum* on the katsuobushi.

FE-DBD plasma treatment (min)	<i>Penicillium citrinum</i> (log CFU/g)
Control	5.11 ± 0.07 ^a
1	5.02 ± 0.08 ^{ab}
3	5.01 ± 0.12 ^{ab}
5	5.01 ± 0.05 ^{ab}
7	4.91 ± 0.01 ^{bc}
10	4.79 ± 0.08 ^{cd}
30	4.68 ± 0.17 ^{de}
45	4.54 ± 0.19 ^e
60	4.33 ± 0.10 ^f
90	4.30 ± 0.04 ^f

The letters (a-f for *P. citrinum*) in a column indicate significant differences ($P < 0.05$) in reduction FE-DBD plasma treatment time for *P. citrinum* by Duncan's multiple range test with 5% probability. The data represent mean values with standard deviations (three samples/treatment).

Nojima et al.(2007)도 유전체장벽방전 플라즈마를 활용하여 *P. citrinum*을 99.9% 불활성화 시켰다고 보고하였다. 또한 Heinlin et al.(2010)과 Domonkos et al.(2021)도 저온 대기압 플라즈마가 세균 뿐 아니라 곰팡이를 효과적으로 저감화시킬 수 있다고 보고하였으며 비열 플라즈마를 활용하여 향곰팡이 처리하기 힘든 식품 등에서 곰팡이를 효과적으로 비활성화시킬 수 있다고 하였다.

2. 부유전극 유전체장벽방전 플라즈마 처리 시간별 가쓰오부시의 색조 및 pH 변화

FE-DBD 플라즈마 처리시간 별 가쓰오부시의 색조 및 pH 변화는 <Table 2>에 나타내었다. FE-DBD 플라즈마 처리구는 대조군과 비교해 보았을 때 L, a, b 값이 감소되었으며 유의적인 차

이가 나타났다($P > 0.05$). Adbi et al.(2019)에 의하면 빨간고추에 저온 플라즈마를 20분동안 처리하였을 때 L, a, b 값이 유의적인 차이를 보이며 감소하였으며, Choi et al.(2016)도 냉동 돼지고기에 저온 플라즈마를 처리하였을 때 L, a, b값의 감소를 확인하였다. 본 연구 결과를 토대로 분석해보았을 때 FE-DBD 플라즈마 특성상 하나의 전극으로 구성되어있어 시료 표면에서 플라즈마의 직접적인 반응에 의해 색조 변화가 발생했을 것으로 사료된다. 하지만 본 연구에서 비록 기계적인 색상차이는 있었을지라도 육안의 차이는 나타나지 않았으므로 (data not shown) 처리시간 및 강도를 조절한다면 관능적으로 식품의 색깔 변화 없는 살균처리가 가능하다고 판단된다.

pH는 대조군의 pH인 5.43과 비교하였을 때 FE-DBD 플라즈마 45, 60분 처리에서 유의적인 차이가 나타나지 않았다 ($P < 0.05$). Choi et al. (2020a)은 유전체장벽방전 플라즈마를 굴에 처리하였을 때 플라즈마로 인한 pH 변화가 없다고 보고하였으며 Jeon et al.(2021) 또한 조개젓갈을 FE-DBD 플라즈마 처리하였을 때 pH 변화가 나타나지 않았다고 보고하였다. 이외에도 선행 연구된 결과에서 플라즈마가 식품의 pH에 영향을 미치지 않는다고 하였다 (Xu et al., 2017; Pankaj et al.2017).

IV. 결론

본 연구는 저온 살균기술인 FE-DBD 플라즈마의 가쓰오부시에 대한 향곰팡이 효과에 대해 조사하였다. FE-DBD 플라즈마 기술은 식품에 품질을 크게 변화시키지 않아 가쓰오부시 등과 같이 제조후 추가적인 살균처리를 하지않는 제품을 대상으로 적용될 가능성을 확인하였으며, 곰팡이를 포함한 미생물의 오염제거에 효과적으로 적용될 수 있을 것으로 기대되었다.

References

- Adbi S, Hossein A, Moselehishad M and Dorranean, D(2019). Decontamination of red pepper using cold atmospheric pressure plasma as alternative technique. *Applied Food Biotechnology* 6(4), 247~254.
<http://dx.doi.org/10.22037/afb.v6i4.26002>
- Chen Y, Chen G, Wei R, Zhang Y, Li S and Chen Y(2019). Quality characteristics of fresh wet noodles treated with nonthermal plasma sterilization. *Food Chemistry* 297, 124900.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.05.174>.
- Choi MS, Jeon EB, Kim JY, Choi EH, Lim JS, Choi JS, Ha KS, Kwon JY, Jeong SH and Park SY(2020a). Virucidal Effects of Dielectric Barrier Discharge Plasma on Human Norovirus Infectivity in Fresh Oysters (*Crassostrea gigas*). *Foods* 9(12), 1731.
<https://doi.org/10.3390/foods9121731>.
- Choi MS, Jeon EB, Kim JY, Choi EH, Lim JS, Choi JS and Park SY(2020b). Impact of non-thermal dielectric barrier discharge plasma on *Staphylococcus aureus* and *Bacillus cereus* and quality of dried blackmouth angler (*Lophiomus setigerus*). *Journal of Food Engineering* 278, 109952.
<https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2020.109952>.
- Choi S, Puligundla P and Mok C(2016). Corona discharge plasma jet for inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes* on inoculated pork and its impact on meat quality attributes. *Annals of Microbiology* 66, 685~694.
<https://doi.org/10.1007/s13213-015-1147-5>.
- Domonkos M, Ticha P, Trejbal J and Demo P(2021). Applications of Cold Atmospheric Pressure Plasma Technology in Medicine, Agriculture and Food Industry. *Applied Sciences* 11(11), 4809.
<https://doi.org/10.3390/app11114809>.
- Gwak HJ, Lee HJ, Lee SH and Na HJ(2011). Identification and Concentration of Airborne Microbes in Food Manufacturing Plants. *Journal of Food Hygiene and Safety* 26(4), 361~365.
- Gwak HJ, We GJ, Cho JI and Na HJ(2012). Seafood and Fungi. *Korean Society of Food Hygiene and Safety* 7(3), 30~36.
- Heinlin J, Morfill G, Landthaler M, Stolz W, Isbary G, Zimmermann JL, Shimizu T and Karrer S(2010). Plasma medicine: possible application in dermatology. *Journal of the German Society of Dermatology* 8(12), 968~976.
<https://doi.org/10.1111/j.1610-0387.2010.07495.x>.
- Jeon EB, Choi MS, Kim JY, Choi EH, Lim JS, Choi JS, Ha KS, Kwon JY, Jeong SH and Park SY(2021). Assessment of potential infectivity of human norovirus in the traditional Korean salted clam product “Jogaejeotgal” by floating electrode-dielectric barrier discharge plasma. *Food research International* 141, 110107.
<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110107>.
- Joshi SG, Cooper M., Yost A, Paff M, Ercan UK, Fridman G and Brooks AD(2011). Nonthermal dielectric-barrier discharge plasma-induced inactivation involves oxidative DNA damage and membrane lipid peroxidation in *Escherichia coli*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 55(3), 1053~1062.
<https://doi.org/10.1128/AAC.01002-10>
- Kawaguchi H(2005). Analysis of dried bonito stock and application to development of food product. *Japanese Journal of Taste and Smell Research* 12, 123~130.
- Lopez M, Calvo T, Prieto M, Mugica-Vidal R, Muro-Fraguas I, Alba-Elis F and Alvarez-Ordóñez A(2019). A Review on Non-thermal Atmospheric Plasma for Food Preservation: Mode of Action, Determinants of effectiveness, and Applications. *Frontiers in Microbiology* 10, 622.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00622>.
- MFDS(Ministry of Food Drug Safety). 2012. A report of studies on hazardous microbiological safety management of seafood.
- Nojima H, Park RE, Kwon JH, Suh I, Jeon J, Ha E, On HK, Kim HR, Choi K and Lee KH(2007). Novel Atmospheric Pressure Plasma Device Releasing Atomic Hydrogen: Reduction of Microbial-Contaminants and OH Radicals in the Air. *Journal of Physics D Applied Physics* 40, 501~509.
<https://doi.org/10.1088/0022-3727/40/2/026>.
- Oh KS and Lee EH(1989). Studies on the processing

- of powdered katsuobushi and its flavor constituents.
4. Extractive conditions and sensory evaluation of taste compounds of powdered Katsuobushi. Korean Journal of Fisheries and Aquatic Science 22(5), 228~232.
- Pankaj SK, Wan Z, Colonna W and Keener KM(2017). Effect of high voltage atmospheric cold plasma on white grape juice quality. Journal of Science of Food and Agriculture 97, 4016~4021. <https://doi.org/10.1002/jsfa.8268>.
- Rhee C and Cho SY(1991). Effect of dextrin on sorption characteristics and quality of vacuum frying dried carrot. Korean J Food Sci Technol 23, 241~247.
- Rod SK, Hansen F, Leipold F and Knochel S(2012). Cold atmospheric pressure plasma treatment of ready-to-eat meat: Inactivation of *Listeria innocua* and changes in product quality. Food Microbiology 30, 223~238. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2011.12.018>.
- Sriwahyu IT(2020). Traditional spices in Japanese modern food. In: The 5th International Conference on Energy, Environmental and Information System. E3S Web Conf 202, 07083. <https://doi.org/10.1051/e3sconf/202020207083>.
- Shi XM, Zhang GJ, Wu XL, Peng ZY, Zhang ZH, Shao XJ and Chang ZS(2012). Effects of Low-Temperature Deactivation of Hepatitis B Virus. IEEE Transactions on Plasma Science 40(10), 2711~2716. <https://doi.org/10.1109/TPS.2012.2210567>.
- Xu L, Garner AL, Tao B and Keener KM(2017). Microbial inactivation and quality changes in orange juice treated by high voltage atmospheric cold plasma. Food and Bioprocess Technology 10, 1~14. <https://doi.org/10.1007/s11947-017-1947-7>.
- Yong HI, Kim HJ, Park, SH, Alahakoon AU, Kim KJ, Choe WH and Jo C(2015). Evaluation of pathogen inactivation on sliced cheese induced by encapsulated atmospheric pressure dielectric barrier discharge plasma. Food Microbiology 46, 46~50. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2014.07.010>.
-
- Received : 09 January, 2023
 - Revised : 01 February, 2023
 - Accepted : 07 February, 2023