

발간등록번호

11-1543000-003509-01

플라즈마 살균기술을 적용한 냉장유통
즉석섭취 편이식품의 유통기한 향상

플라즈마 살균기술을 적용한 냉장유통 즉석섭취 편이식품의 유통기한 향상

2021. 05. 11.

2021

농림식품기술기획평가원
농림축산식품부

주관연구기관/(주)폴무원
협동연구기관1/한국핵융합에너지연구원
협동연구기관2/(주)플라즈맵
협동연구기관3/서울여자대학교

농림축산식품부
(전문기관) 농림식품기술기획평가원

<제출문>

제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

본 보고서를 “플라즈마 살균기술을 적용한 냉장유통 즉석섭취 편이식품의 유통기한 향상”(개발기간 : 2018. 04. ~ 2020. 12.)과제의 최종보고서로 제출합니다.

2021. 05. 11.

주관연구기관명 : (주)폴무원	(대표자) 이효율	(인)
협동연구1기관명 : 한국핵융합에너지연구원	(대표자) 유석재	(인)
협동연구2기관명 : (주)플라즈맵	(대표자) 임유봉	(인)
협동연구3기관명 : 서울여자대학교	(대표자) 정소연	(인)

주관연구책임자 : (주)폴무원, 조상우

협동연구1책임자 : 한국핵융합에너지연구원, 김성봉

협동연구2책임자 : 서울여자대학교, 민세철

협동연구3책임자 : (주)플라즈맵, 고정익

국가연구개발사업의 관리 등에 관한 규정 제18조에 따라 보고서 열람에 동의 합니다.

보고서 요약서

과제고유번호	318026-3	해 당 단 계 연 구 기 간	2018.04.~ 2020.12.	단 계 구 분	(1)/(1)
연구사업명	단 위 사 업	농식품기술개발사업			
	사 업 명	고부가가치식품기술개발사업			
연구과제명	대 과 제 명	(해당 없음)			
	세부 과제명	플라즈마 살균기술을 적용한 냉장유통 즉석섭취 편이식품의 유통기한 향상			
연구책임자	조 상 우	해당단계 참여연구원 수	총: 111명 내부: 111명 외부: 0 명	해당단계 연구개발비	정부:762,000천원 민간:578,700천원 계:1,340,700천원
		총 연구기간 참여연구원 수	총: 111명 내부: 111명 외부: 0 명	총 연구개발비	정부:762,000천원 민간:578,700천원 계:1,340,700천원
연구기관명 및 소속부서명	(주)폴무원, 폴무원기술원			참여기업명 주식회사 플라즈맵	
국제공동연구	상대국명: 해당 없음			상대국 연구기관명: 해당 없음	
위탁연구	연구기관명: 서울대학교			연구책임자: 강동현	
연구개발성과의 보안등급 및 사유	해당 없음				

※ 국내외의 기술개발 현황은 연구개발계획서에 기재한 내용으로 같음

9대 성과 등록·기탁번호

구분	논문	특허	보고서 원문	기술요약 정보
등록·기탁 번호	0260-8774			
	0168-1605			
	1750-3841.14719	10-2018-0172085		
	1750-3841.14791	10-2019-0097237		
	0925-5214	10-2020-0166567		
	0956-7135	제10-2087619호		
	0023-6438			

국가과학기술종합정보시스템에 등록된 연구시설·장비 현황: 해당사항 없음

구입기관	연구시설·장비명	규격 (모델명)	수량	구입연월일	구입가격 (천원)	구입처 (전화)	비 9 고 (설치장소)	NTIS 등록번호

- 본 연구의 목적은 냉장 유통 즉석섭취편이식품의 안전성과 유통기한 확대를 위한 플라즈마 살균기술 개발임.
- 연구목표 1: 소포장 용기에 적용 가능한 플라즈마 살균기술 개발
 - 연구결과: 식품 제조 공정에 적용 가능한 플라즈마 살균기술 2건 (플라즈마 나노 버블 발생장치, 포장 내 플라즈마 발생 장치) 요구사항 분석 및 플라즈마 장치 설계·제작 완료하였으며, 시제품 출시 진행함
- 연구목표 2: 플라즈마 살균기술의 효과 검증 및 플라즈마 공정 개발
 - 연구결과: 미생물 제어-유통기한 연장 효과 검증 및 최적 처리 조건 확립하여, 식중독균 및 부패 미생물 2.5log 이상 저감 확인
- 연구목표 3: 시제품 개발 및 유통기한 연장, 품질 및 안전성 검증
 - 연구결과: 개발된 플라즈마 살균기술을 적용하여 냉장 즉석섭취편이식품 2종(떡볶이, 로메인)의 유통기한 150% 이상 연장가능 하였으며, 3종(떡볶이, 로메인, 생면)의 안정성 평가까지 완료 함
- 정량적 성과:
 - 기술실시: 자체실시 1건(기술료 1,776,600원), 장치 시제품 2건 출시
 - 고용창출: 정규직 7명
 - 산업재산권: 특허출원 3건, 특허등록 1건
 - 논문 게재: 국외 SCI 논문 11건
 - 국내외 학술회의 발표: 14건
 - 홍보: 국외 심포지엄 1건
 - 기타: 투자유치 1건, 협동기관 25억 투자유치
 - 인력양성: 농학박사학위 1명, 이학석사학위 7명

보고서 면수

<요약문>

<p>연구의 목적 및 내용</p>	<p>[연구 목적] 냉장 유통 즉석섭취편이식품의 안전성과 유통기한 확대를 위한 플라즈마 살균기술 개발</p> <p>[연구 내용]</p> <ul style="list-style-type: none"> • 소포장 용기에 적용 가능한 플라즈마 살균기술 개발 • 플라즈마 살균기술의 효과 검증 및 플라즈마 공정 개발 • 시제품 개발 및 유통기한 연장, 품질 및 안전성 검증 				
<p>연구개발성과</p>	<ul style="list-style-type: none"> • 소포장 용기에 적용 가능한 플라즈마 살균기술 개발 <ul style="list-style-type: none"> - 식품 제조 공정에 적용 가능한 플라즈마 살균기술 2건 (플라즈마 나노 버블 발생장치, 포장 내 플라즈마 발생 장치) 요구사항 분석 및 플라즈마 장치 설계·제작 완료하였으며, 시제품 출시 진행함 • 플라즈마 살균기술의 효과 검증 및 플라즈마 공정 개발 <ul style="list-style-type: none"> - 미생물 제어-유통기한 연장 효과 검증 및 최적 처리 조건 확립하여, 식중 독균 및 부패 미생물 2.5log 이상 저감 확인 • 시제품 개발 및 유통기한 연장, 품질 및 안전성 검증 <ul style="list-style-type: none"> - 개발된 플라즈마 살균기술을 적용하여 냉장 즉석섭취편이식품 2종(떡볶이, 로메인)의 유통기한 150% 이상 연장가능 하였으며, 3종(떡볶이, 로메인, 생면)의 안정성 평가까지 완료 함 • 정량적 성과: <ul style="list-style-type: none"> - 기술실시: 자체실시 1건(기술료 1,776,600원), 장치 시제품 2건 출시 - 고용창출: 정규직 7명 - 산업재산권: 특허출원 3건, 특허등록 1건 - 논문 게재: 국외 SCI 논문 11건 - 국내외 학술회의 발표: 14건 - 홍보: 국외 심포지엄 1건 - 기타: 투자유치 1건, 협동기관 25억 투자유치 - 인력양성: 농학박사학위 1명, 이학석사학위 7명 				
<p>연구개발성과의 활용계획 (기대효과)</p>	<ul style="list-style-type: none"> • (과학 기술) 냉장유통 즉석섭취 편이식품 제조 공정에 적용 가능한 플라즈마 살균기술 2건 확보 및 관련 과학기술 분야 선도 • (국가 사회) 식품 안전성 증진을 위한 미생물 저해 기술 개발 • (산업 경제) 떡볶이 떡과 로메인 등 즉석섭취 편이식품의 미생물 안전성 향상과 유통기한 연장으로 인한 기업 이윤 증가 				
<p>국문핵심어 (5개 이내)</p>	<p>플라즈마</p>	<p>냉장유통</p>	<p>즉석섭취 편이식품</p>	<p>유통기한</p>	<p>식품안전</p>
<p>영문핵심어 (5개 이내)</p>	<p>Plasma</p>	<p>Cold storage</p>	<p>Ready-to-eat food</p>	<p>Shelf life</p>	<p>Food safety</p>

< 목 차 >

1. 연구개발과제의 개요	6
1-1. 연구개발 목적	6
1-2. 연구개발의 필요성	6
1-3. 연구개발 범위	7
2. 연구수행 내용 및 결과	9
2-1. 플라즈마 장치 개념·설계·제작 및 성능 평가	9
2-2. 플라즈마 살균기술의 효과 검증 및 플라즈마 공정 개발	56
2-3. 시제품 유통기한 연장, 품질 및 안전성 검증	94
3. 목표 달성도 및 관련 분야 기여도	127
3-1 목표	127
3-2 목표 달성여부	128
3-3 목표 미달성 시 원인(사유) 및 차후대책(후속연구의 필요성 등)	134
4. 연구결과의 활용 계획 등	135
붙임. 참고 문헌	142

<별첨 1> 연구개발보고서 초록

<별첨 2> 자체평가의견서

<별첨 3> 연구성과 활용계획서

1. 연구개발과제의 개요

1-1. 연구개발 목적

가. 냉장 유통 즉석섭취편이식품의 안전성과 유통기한 확대를 위한 플라즈마 살균기술 개발

- (1) 냉장유통 HMR제품 3종에 대한 포장 후 플라즈마처리 기술 확보
- (2) 플라즈마 살균기술 적용 시제품 3종의 유통기한 연장 (150%)
- (3) 식품 제조 공정에 적용 가능한 플라즈마 살균기술 2건 개발

1-2. 연구개발의 필요성

가. 연구개발 배경

(1) 즉석섭취 편의식품 현황

- (가) 1인 가구의 증가와 외식산업이 발달하면서 즉석섭취 편의식품에 대한 수요가 전 세계적으로 급증하고 있음.
- (나) 1인 가구가 증가하면서 사람들의 식품 소비 패턴이 달라졌고, 즉석 섭취 편의 식품 시장의 매출이 크게 증가하고 있음.

(2) 즉석섭취 편의식품 제조 공정에서 살균 기술의 필요성

- (가) 즉석섭취 편의식품의 경우 유통기한이 짧으므로, 유통기한을 연장할 수 있는 살균, 포장 기술의 개발이 필요한 실정임
- (나) 미국 CDC 통계를 보면 지난 5년간 양상추, 토마토, 닭가슴살, 샐러드 믹스 제품과 같은 즉석섭취 편의식품 섭취로 인한 식중독 발병 건수는 즉석섭취 편의식품의 수요 증가와 함께 지속해서 증가했음.
- (다) *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* spp., 그리고 *Listeria monocytogenes*는 즉석섭취 편의식품과 관련하여 공정 후 감염을 통해 전 세계적으로 식중독을 발생시키고 있음. 따라서 즉석섭취 편의식품의 포장 후 살균 기술의 개발이 필요함
- (라) 기존의 식품 유통기한 연장을 위한 살균 기술로 가열 살균과 화학적 살균 등이 있으나 식품의 품질이 변화할 수 있고, 화학적 살균의 경우 화학물질이 잔류할 수 있다는 문제점이 있으며 살균 후 포장 공정에서 미생물이 오염될 수 있음
- (마) 비가열 식품 살균 기술인 콜드 플라즈마(cold plasma, 이후 플라즈마) 처리 기술은 식품의 품질변화를 줄이고 안전성을 높일 수 있어서, 유통 기한 향상을 위한 기술로 유용하게 적용될 수 있을 것임
- (바) 현재 포장된 즉석식품의 plasma 처리 후 유통기한 연장에 대한 연구는 부족한 실정임

1-3. 연구개발 범위

가. 연구개발 요구사항

- (1) 유통기한: 기존 기술 대비 150% 연장
- (2) 플라즈마 장치 개발 수준: Pilot scale 플라즈마 장치
- (3) 플라즈마 살균기술 안전성: 식품성분 변화 및 포장지 관련 위해요소 확인

나. 연구개발 범위 한정

(1) 플라즈마 장치 개발: 장치의 설계 및 평가

- (가) 한국핵융합에너지연구원의 경우 플라즈마 기초 연구 측면에서 장치의 개념 설계, 플라즈마 해석 및 제작된 장치의 플라즈마 평가를 추진
- (나) 플라즈맵의 경우 한국핵융합에너지연구원에서 도출된 개념을 엔지니어링 측면에서 장치 concept 도출, 상세 설계, 가공 및 시제품 제작을 진행하며, 제작된 장치의 안전성, 기계적 성능 평가와 함께 장치의 반복 신뢰성 확보를 위한 연구 중심으로 수행

(2) 플라즈마 공정 개발: 모사 환경에서 공정 최적화 수행

- (가) Pilot scale 플라즈마 장치는 생산 라인에 적용하는 것이 아니기 때문에, 생산 라인을 모사한 환경 조건하에서 생산 라인의 수많은 변수 중에서 핵심 변수를 선택하여 플라즈마 공정 개발을 수행해야 함

(3) 유통기한 연장 효과 검증: Pilot scale 플라즈마 장치와 모사 환경에서 플라즈마 공정을 고려한 유통기한 평가 기준 마련

- (가) 시제품 3종은 현재 생산 라인에서 생산 중인 제품이지만, 플라즈마 살균기술은 생산라인에 적용 바로 전 단계에서 적용하기 때문에 pilot scale 플라즈마 장치와 모사 환경에서의 플라즈마 공정을 종합적으로 고려하여, 대조군과 실험군의 유통기한 기준을 마련할 필요가 있음

(4) 플라즈마 살균기술 안전성 평가: 독성시험, 유전 돌연변이 시험 제외

- (가) 개발기간과 연구비를 고려할 때 시간과 예산이 많이 필요한 아급성 및 만성독성, 그리고 유전 돌연변이 시험은 안전성 평가 항목에 포함되기 어려움

구분	연구개발 목표	연구개발 내용
연구개발 주요내용 1	소포장 용기에 적용 가능한 플라즈마 살균기술 개발	<ul style="list-style-type: none"> ○ 플라즈마기술의 즉석섭취편의식품 적용을 위한 제조-포장-플라즈마처리 방법 확립 ○ 식품 제조 공정에 적용 가능한 플라즈마 살균기술에 대한 요구사항 분석 및 플라즈마 장치 설계 ○ 파일럿 스케일 플라즈마 장치 요구사항 도출 및 시제품 개발
연구개발 주요내용 2	플라즈마 살균기술의 효과 검증 및 플라즈마 공정 개발	<ul style="list-style-type: none"> ○ 플라즈마 살균기술을 적용한 냉장유통 즉석섭취식품의 미생물 제어 효과 검증 및 최적 처리 조건 확립 ○ 유통기한 연장을 위한 플라즈마 공정 변수 도출 및 공정 최적화 조건 확립
연구개발 주요내용 3	시제품 유통기한 연장, 품질 및 안전성 검증	<ul style="list-style-type: none"> ○ 플라즈마 살균기술을 적용한 시제품의 이화학적, 미생물학적, 관능적, 독성 안전성 검증 ○ 플라즈마 살균기술 적용에 적합한 포장 방법 설정 및 포장지 변형 등 위해요소 확인

2. 연구수행 내용 및 결과

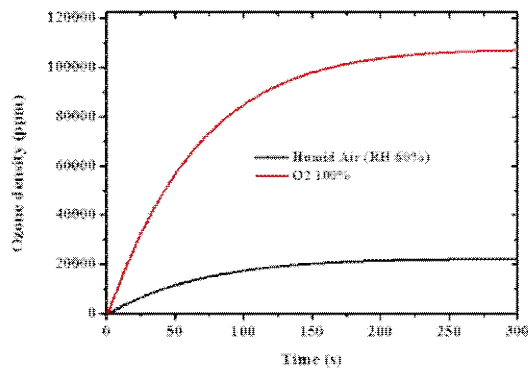
2-1. 플라즈마 장치 개념 · 설계 · 제작 및 성능 평가

가. 포장 내 방전 플라즈마 장치

(1) 포장 내 방전 플라즈마 장치 개념설계

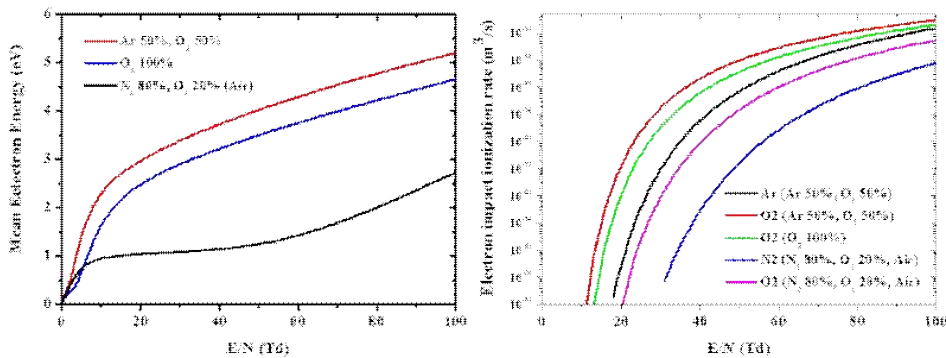
(가) 화학 모델을 통한 플라즈마 살균종 형성 조건 도출

- N_2 , O_2 , H_2O 를 포함한 기체에서 플라즈마 화학 모델을 이용한 살균종 (O_3) 농도 계산 결과, O_2 비율이 높을수록 더 많은 살균종 (O_3)이 발생함.



Humid Air (N_2 78.3%, O_2 19.6%, H_2O 2.1%, RH 60% @ 300K), O_2 100% 기체 조성에서 SDBD (Surface Dielectric Barrier Discharge, 방전 전력 6117 W/m^2 , 방전 주파수 17 kHz, 방전 면적 $80 \times 47 \text{ mm}^2$, 챔버 체적 $166 \times 85 \times 32 \text{ mm}^3$) 방전 시의 O_3 농도.

- N_2 , O_2 , H_2O 를 포함한 기체에서 Bolsig+를 이용한 전자의 평균 에너지 및 전자 충돌 이온화율 계산 결과 공기 (N_2 80%, O_2 20%) 대비 O_2 100% 기체가 평균 전자 에너지 및 전자 충돌 이온화율이 높아 더 낮은 전압에서 방전이 시작되고, 같은 전압에서 방전이 더 잘 될 것으로 예측됨.

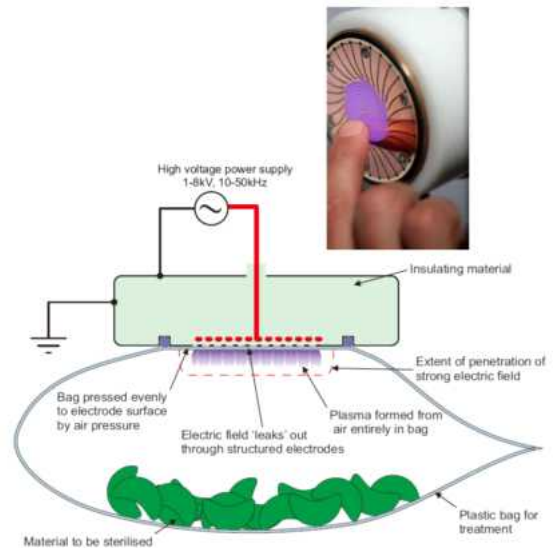
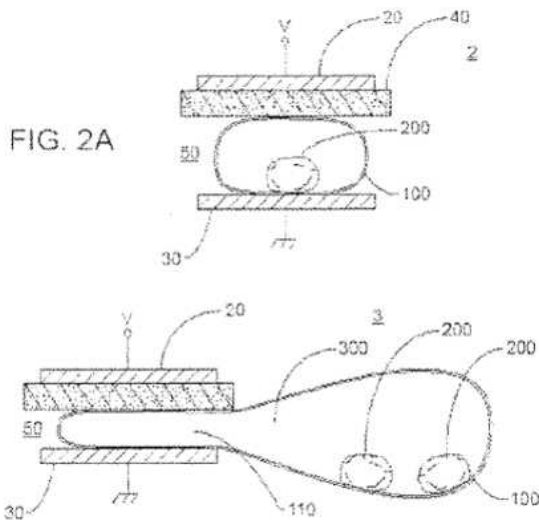


Air (N_2 80%, O_2 20%), O_2 100%, Ar 50% + O_2 50% 기체 조성에서 Bolsig+를 이용하여 계산한 전자의 평균 에너지 및 전자 충돌 이온화율.

- 이와 더불어 O₂ 100% 기체에서 플라즈마 방전 시 방전이 더 쉽게 일어나고 더 많은 살균종(오존)을 얻을 수 있을 것으로 기대할 수 있음. O₂ 기체에 불활성 기체(Ar)를 추가하면 평균 전자 에너지와 O₂의 전자 충돌 이온화율이 더 높아지며, 더 낮은 전압에서 공기 대비 쉬운 방전 개시를 기대할 수 있음

(나) 비유연 포장 내 방전 플라즈마 장치 개념 설계

- 포장 내 방전장치 문헌 조사한 결과 밀착형 체적 방전과 밀착형 표면방전이 주로 연구된 것으로 조사됨
- 밀착형 체적 방전은 서로 마주 보는 두 개의 평판형 전극 사이에 포장재를 위치시키고 두 전극에 포장재를 밀착시켜 포장재 외부 방전을 억제하고 내부에서만 방전이 유도하는 구조임.
- 밀착형 표면 방전은 SDBD 전극을 포장재에 밀착시켜 포장재 외부 방전을 억제하고 전극과 밀착한 포장재 내부 표면에만 방전을 유도하는 구조로 특히 진공 배기를 이용하여 표면방전기 쪽에 음압을 유도하여 밀착시키는 방식을 선택함.



밀착형 체적 방전의 개념도 (미국 특허, US 9,750,833 B2)

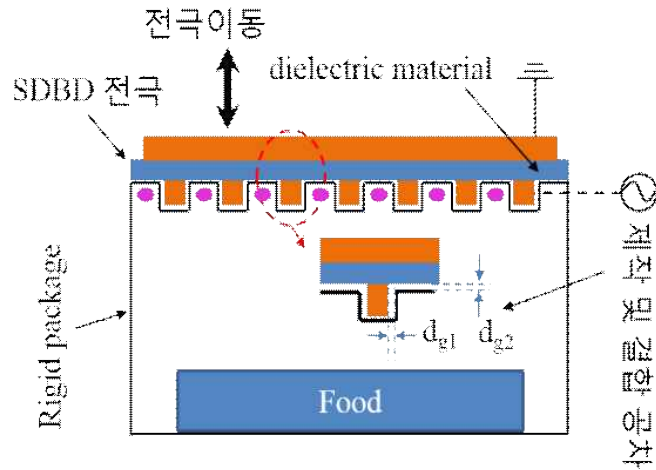
밀착형 표면방전의 개념도 (미국 특허, US 8,980,190)

- 조사된 문헌과 협동 연구기관의 요구사항은 공통적으로 포장재 외부 방전을 억제하면서 포장재 내부에서만 방전을 유도하여 에너지 효율성 및 작업자 안전성을 확보할 수 있고, 포장 내 식품 종류나 모양에 민감하지 않으면서 대량 생산에 쉬울 것 등으로 요약할 수 있음

① 개념설계 #1. 격자 구조 뚜껑과 격자 구조 SDBD 전극을 이용한 포장 내 방전장치

- 위쪽 SDBD 전극이 위아래로 움직이면서 포장재에 밀착함. 전극과 포장재 밀착 시 제작 및 결합 공차 dg1, dg2가 발생하는데, dg1, dg2의 값을 적절하게 선택하여 결합 공

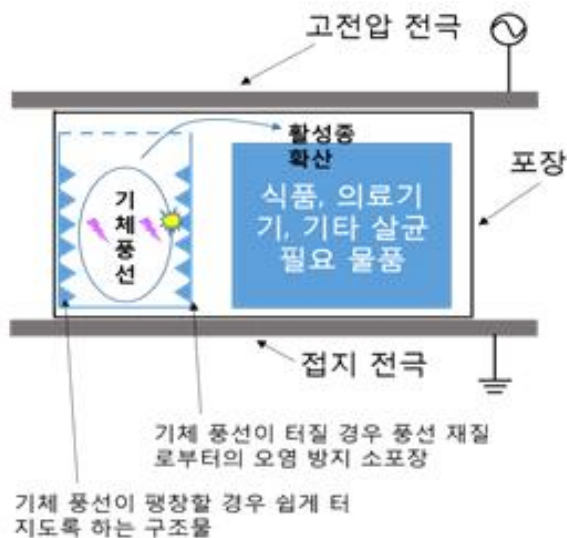
차에서는 방전이 발생하지 않고 전극과 밀착한 포장재 내부 표면에서만 방전을 유도하는 구조임



격자 구조 뚜껑 및 격자 구조 표면방전(SDBD) 전극을 이용한 포장 내 방전기 개념도

② 개념설계 #2. 기체 풍선을 이용한 포장 내 방전장치

- 포장재 내부에 기체 풍선을 넣고 서로 마주 보는 두 개의 평판형 전극 사이에 포장재를 위치하며, 포장재와 두 전극은 밀착할 필요가 없음. 기체 풍선 내부의 기체 조성은 포장재 내부의 기체 조성 (공기)와 다르며, 공기보다 더 낮은 전압 (또는 전기장)에서 방전이 개시되는 기체 조성임. 예를 들면, 그림에서 나타난 바와 같이 O_2 100%는 공기보다 더 방전이 쉽게 일어나며, 불활성 기체를 추가하면 더욱 쉽게 방전이 일어남. 또 O_2 만 포함되어 있으면 살균중(O_3)은 효과적으로 발생.



기체 풍선을 이용한 포장 내 방전장치

- 적절한 기체 조성을 이용하여 풍선 내부에서만 방전이 일어나면 열팽창에 의한 부피 증가로 풍선이 터지는 것을 유도함. 이때 터지는 현상을 돕고, 터진 풍선으로부터 살

균 대상체의 오염을 방지하기 위한 구조물이 될 수 있음.

- 이 장치는 기체 풍선 내부에서만 방전을 유도할 수 있고, 기체 조성비에 따른 방전 개시 전압 차이를 이용하므로 식품의 종류 및 모양에 둔감하며, 사전에 대량 생산한 기체 풍선을 이용할 수 있으므로 대량 생산에 쉬움.

(2) 포장 내 방전 플라즈마장치 상세설계, 시뮬레이션

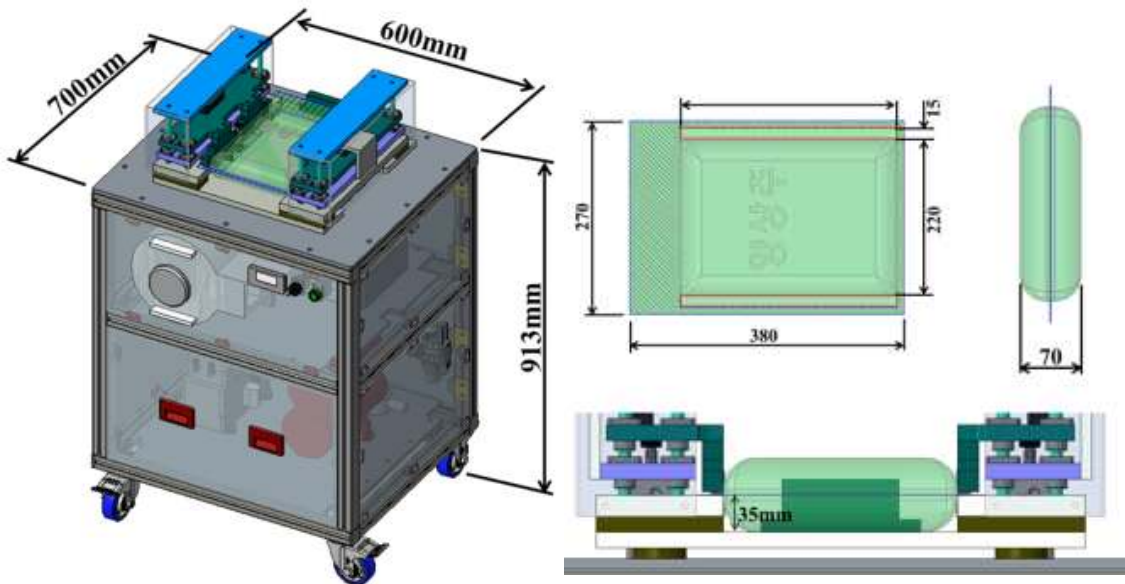
(가) 요구사항 수립 및 개념설계 (연포장)

① 요구사항 : 99.9% 살균 가능한 플라즈마 방전장치 요구

- 특허출원 1건 (10-2019-0097237) : 플라즈마 방전 살균을 위한 캡슐을 이용한 포장용기 및 이를 포함하는 발전 살균 장치

② 연포장용 플라즈마 장치 개념설계 및 프로토타입 제작

- 가로 380mm, 세로 270mm의 장치 플레이트에 가로 280 mm, 세로 220 mm 포장재 처리가 가능한 크기로, 포장재 전극 밀착을 위해 진공펌프를 사용함. 바닥면과 전극 중심부의 거리는 35 mm



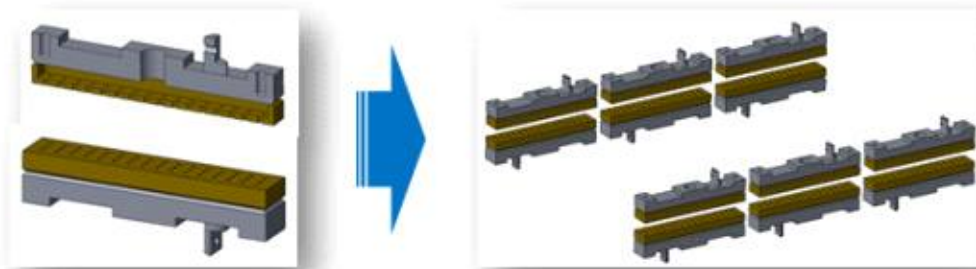
프로토타입 연포장 장치 설계안

(나) 개선안 도출 (연포장)

① 프로토타입 개선안 도출

- 다양한 포장재에 적용 가능한 전극으로 변경 필요
- 캡톤테이프 없이도 포장재 손상을 방지할 수 있는 전극 구조 필요

② 프로토타입 개선 개념 설계



다양한 포장재 적용을 위한 플라즈마 전극 분할설계



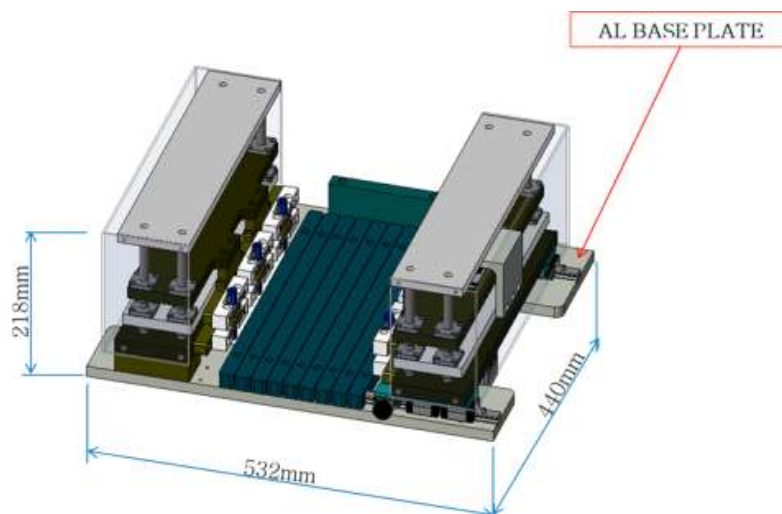
전극에 산화막을 입혀 포장재 손상 방지 : 전극 애노다이징

(3) 포장내 방전 플라즈마 장치 제작

(가) Concept 도출 및 상세설계 진행

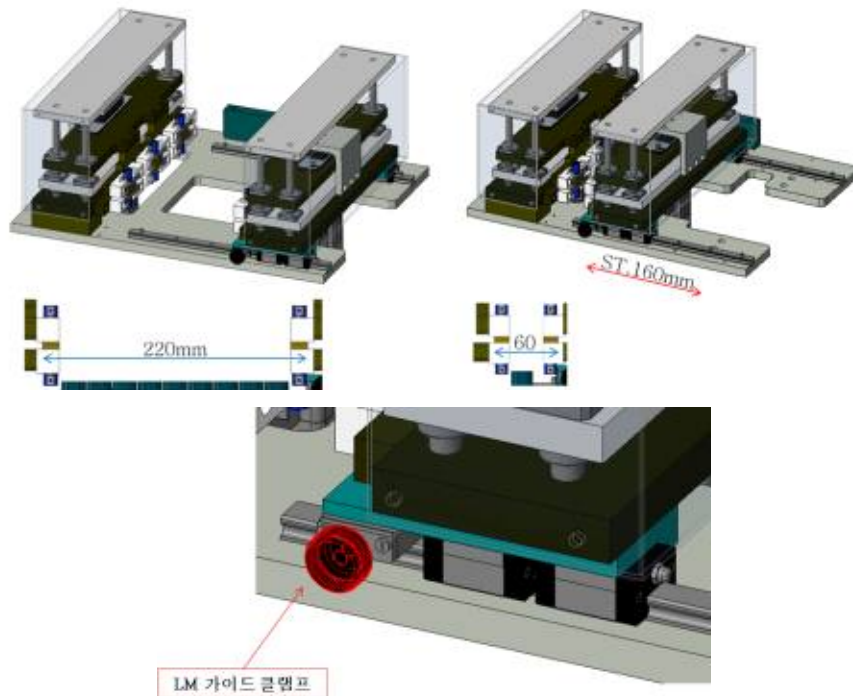
① 방전/Motion부 설계

- LM (Linear Motion) 가이드 Motion 추가 되면서 평탄도를 맞추기 위해 Base Plate는 알루미늄(아노다이징) 으로 진행



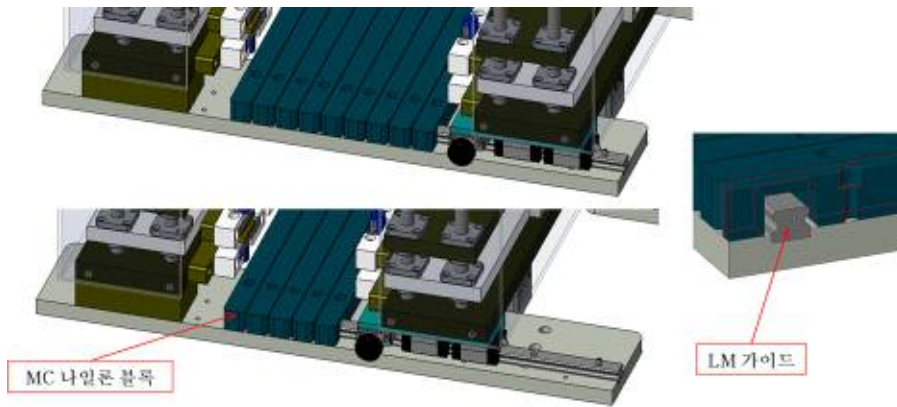
방전/Motion부 설계 (3D)

- LM 가이드는 협동기관에서의 실험, 평가가 용이하도록 다음과 같이 구성됨
- LM 가이드를 이용하여 한쪽 방전부를 좌우로 이동할 수 있음 (이동 가능 Stroke 160mm)
- 전극 바깥쪽 길이는 220mm에서 60mm까지 조절 가능
- 전극 Up/Down Motion을 위한 실린더가 같이 이동하기 때문에 Base Plate는 가운데 부분이 파여진 형태로 가공
- 방전부를 원하는 위치로 이동 후 LM 가이드 클램프에 달려있는 노브를 돌려 위치 고정 가능



LM Guide Motion 설계

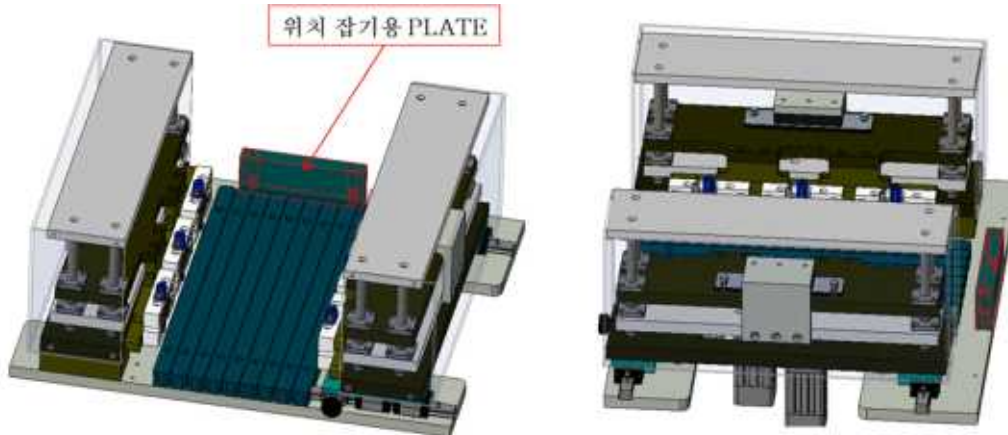
- Base Plate에 파인 부분을 가리고 LM 가이드와 포장 비닐이 닿지 않도록 별도의 블록이 조립 (블록은 Mono Cast Nylon (MC 나일론)으로 가공되고 1개당 폭은 20mm)
- Bolt 조립 없이 Pin을 사용하여 블록을 꽂아두는 방식으로 변경



LM Guide Block 설계

② 포장지 위치 잡기용 Plate 설계

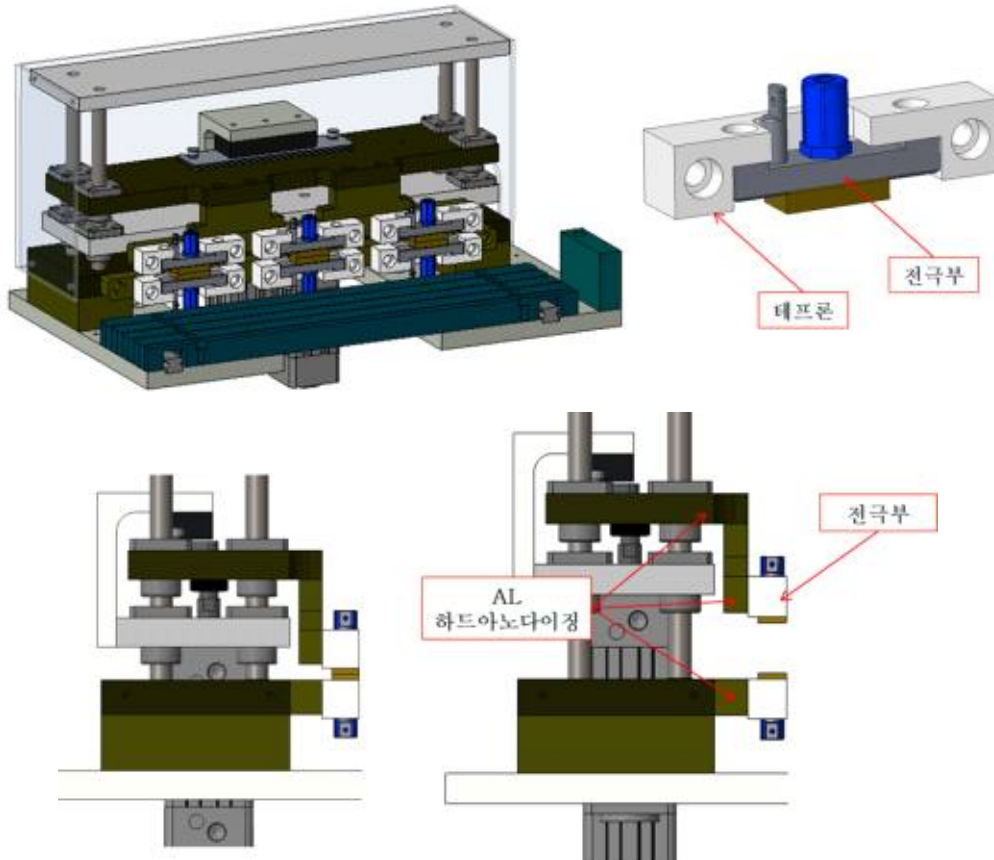
- 기존 포장방전은 포장지의 크기가 정해져 있어 위치 잡기용 Plate가 조립되었음
- 개발된 포장방전(연포장)은 포장지 크기에 맞추어 사용할 수 있도록 변경



위치 잡기용 Plate 설계

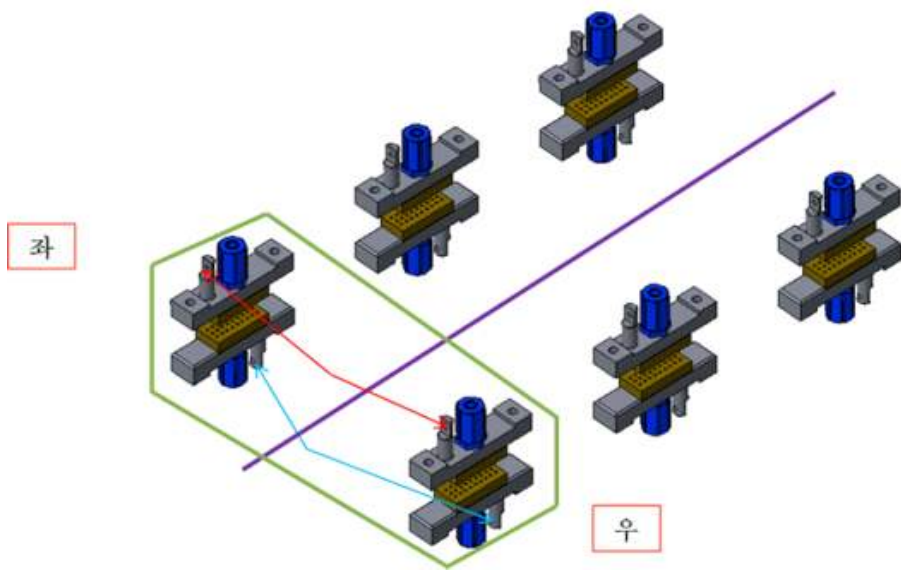
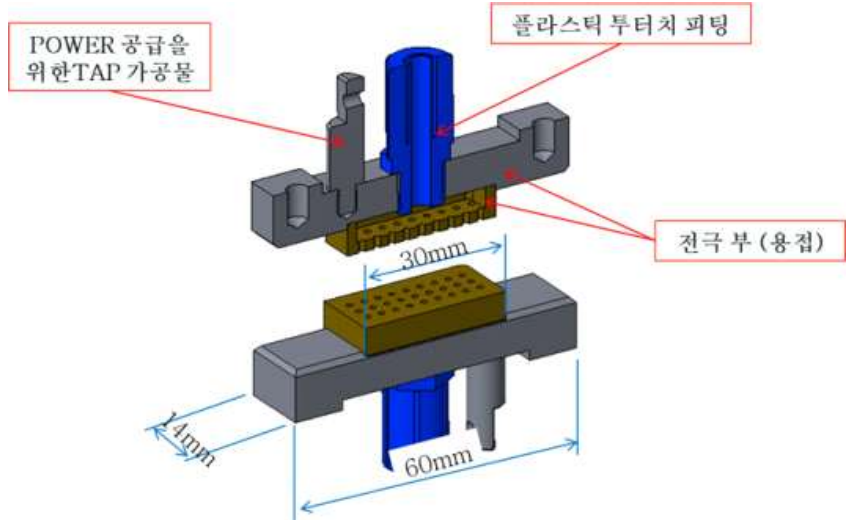
③ 전극부 설계 진행

- 전극부는 상하좌우 포함 총 12개가 조립
- 전극부는 절연을 위한 별도의 테프론 가공품에 조립된 후 Motion 부에 조립
- 하드아노다이징 처리된 알루미늄 가공품에 전극부가 조립



전극부 설계 (1)

- 방전이 일어나는 전극부의 크기는 30 mm × 14 mm
- 전극의 평탄도를 맞추기 위해 Power 공급부는 조립타입으로 변경
- 전극의 재질 및 후 처리는 SUS 용접 후 실리카 코팅액으로 코팅 Test 실시
- Power와 전극은 고전압 릴레이에 의해 연결
- 좌우 전극을 하나로 묶어 릴레이가 총 6EA가 조립되고 Plasma 발생을 위한 ON/OFF 버튼은 3개가 적용
- 포장지 흡착을 위해 Pumping 시 상단, 하단은 동시에 Pumping 되어야 하며, 각 부분을 따로 사용할 수 있도록 Valve는 3EA 가 적용 (Vent Valve 별도 1EA)



전극부 설계 (2)

(나) 포장내 방전 플라즈마 장치 주요 부품 선정

① 고전압 리드 릴레이 선정 (6EA)

고전압 리드 릴레이(Model : HM24-1A69-BV88028 B20/8)의 특성

Breakdown Voltage	15 kV
On Delay Time	3 ms 이하
Off Delay Time	1.5 ms 이하
구동 Coil 전압	DC 24 V
Turn On Voltage	15 V 부근
Turn Off Voltage	3.5 V 부근
접점 저항	10 mΩ이내
사용횟수 (접점개폐횟수)	결부하 사용 10 ⁶ 회, 중부하 사용 10 ⁵ 회
1 초당 최대 On / Off 가능 횟수	30 회까지 보강
접점최대전류	3 A 이하
Coil 권선저항	약 680 Ω
접점감도	120 ~ 200 A/T

고전압 릴레이 사양

② 진공 Pump 선정



제품명 : 다이어프램 진공펌프 DPV-100D
 제조사 : 오공콤프
 원산지 : 한국

모터 : 220V / 60Hz / 1.8A
 최대진공도 : 650 ~ 750 mmHg
 용량 : 80~90 l/min Nomal
 호스니플 규격 : 1/4"pt x 6mm
 무게 : 9Kg
 크기 : 340mm x 155mm x 180mm

진공 Pump 사양

③ Sol Valve 선정 (1)

- Vacuum 관련 Sol Valve 사양으로 Pumping 3EA, Vent 1EA로 구성

사양서(SPECIFICATIONS)					
구분 (CLASSIFICATION)	표준 사양 (STANDARD)	옵션 사양 (OPTION)	구분 (CLASSIFICATION)	표준 사양 (STANDARD)	옵션 사양 (OPTION)
사용유체 (FLUID)	AIR, WATER, OIL, INERTNESS GAS (공기, 물, 워터오일, 불활성가스)				
유체온도범위 (FLUID TEMP.)	0 ~ 67°C	• EPDM • FPM	사용전압 (RATED VOLTAGE)	AC-100V 50/60Hz 110V 60Hz AC-200V 50/60Hz 220V 60Hz DC-12V, 24V	• AC-220V 50Hz • AC-240V 50Hz • AC-24V 50Hz
주위환경온도 (AMBIENT TEMP.)		50°C(MAX)			
사용압력범위 (PRESSURE RANGE)	0 ~ 10kgf/cm ²	• VACUUM(진공) • DC-0~7kgf/cm ²	전압보상률 (VOLTAGE ALLOW)		±10%(AC), ±5%(DC)
고밀절연 등급 (INSULATION GRADE)		CLASS B	소재전계 (MATERIAL)		AC, DC : 14W
고밀전압접속방식 (ELECTRICAL CONN.)	LEAD WIRE(PFL02) (리드선)	• BRONOMET TYPE • DIN TYPE • TERMINAL BOX	몸체재질 (BODY MAT'L)		• BODY : SCS 14 • TRIM : SUS 304
오리피스 치수 (ORIFICE SIZE)	1035 • 1545= ø10mm 2065 • 25105= ø20mm		시트재질 (SEAT MAT'L)	NBR(니트릴 고무) DIAPHRAGM	• EPDM • FPM(불소고무)

Sol Valve 사양 (1)

④ Compressor 선정

- Cylinder 구동을 위한 Compressor 사양 선정

제품 사양표 및 명칭

제품명	비틀비 맥기 탱크 콤프레서
모델명	3BT-001
전력	220V
전력 소모량	125Watt
에어탱크 용량	3Liter
에어생산량	23L / min
오토 스탭	4BAR
오토 스타트	3BAR
작동 소음도	46-51db
공기 압축방식	피스톤 방식 / 오일리스
호스 연결사이즈	1/8" (인치)
무게	5.2kg



[Compressor 사양]

⑤ Cylinder 선정

- Cylinder는 튜브 내경 32- ST. 25mm 사용 (4EA)



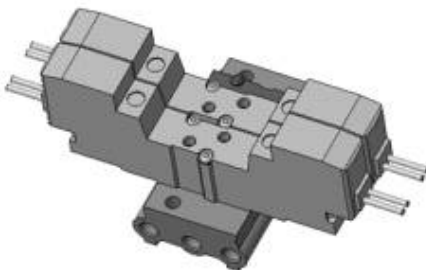
사양

튜브내경(mm)	32	40	50	63	80	100	125
작동방식	복동 편로드						
사용유체	공기						
보종내압력	1.5MPa						
최고사용압력	1.0MPa						
최저사용압력	0.05 MP a						
주위온도 및 사용유체온도	오토스위치 없음 : -10~70°C 오토스위치 부착 : -10~60°C (단, 동결없어야 함)						
급유	불필요(무급유)						
사용 피스톤 속도	50~1000mm/s						
스트로크 길이의 허용차	~250 : ⁺¹⁴ / ₀ , 251~1000 : ⁺¹⁴ / ₀ , 1001~1500 : ⁺¹⁸ / ₀ , 1501~2000 : ⁺²² / ₀ , 2001~2500 : ⁺²⁸ / ₀						
쿠션	에어 쿠션 또는 러버 쿠션						
접속구경(Rc, NPT, G)	1/8	1/4		3/8		1/2	
설치지시형식	기본형, 푸트형, 로드속 플랜지형, 헤드속 플랜지형 1산 클레비스형, 2산 클레비스형						

[Cylinder 사양]

⑥ Sol Valve 선정 (2)

- Cylinder 작동을 위한 Sol Valve 사양으로 2위치 더블 타입 적용 (2EA)



사양

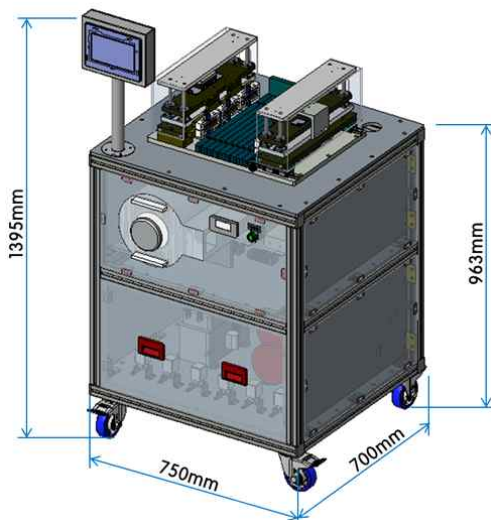
사용유체	공기	
사용압력범위 MPa	2위치 상급 2위치 하급	0.15 ~ 0.7
	3위치	0.1 ~ 0.7
주위온도 및 사용유체온도 °C	-10 ~ 50 (단, 동결없어야 함)	
주1) 응답시간 ms (0.5 MPa일 때)	2위치 상급, 하급	15 (0.1)
	3위치	30 (0.1)
최대작동빈도 1/분	2위치 상급, 하급	10
	3위치	3
수동조작	Non-lock push-in, push-in lock, 2위치 상급, push-in lock, 3산 2위치	
작동전 배기 방법	회동 및 밸브 개방 시, 밸브 개방 후, 회동 및 밸브 닫힘 시	
급유	불필요	
설치지시	자유	
주2) 내출력사양 m³/min	150/30	
보호구조	방진 (JCMB P-4형) IP65	

[Sol Valve 사양 (2)]

(다) 전극부 제작, 조립 및 포장내 방전 플라즈마 장치 최종 제작



[전극부 제작/조립]



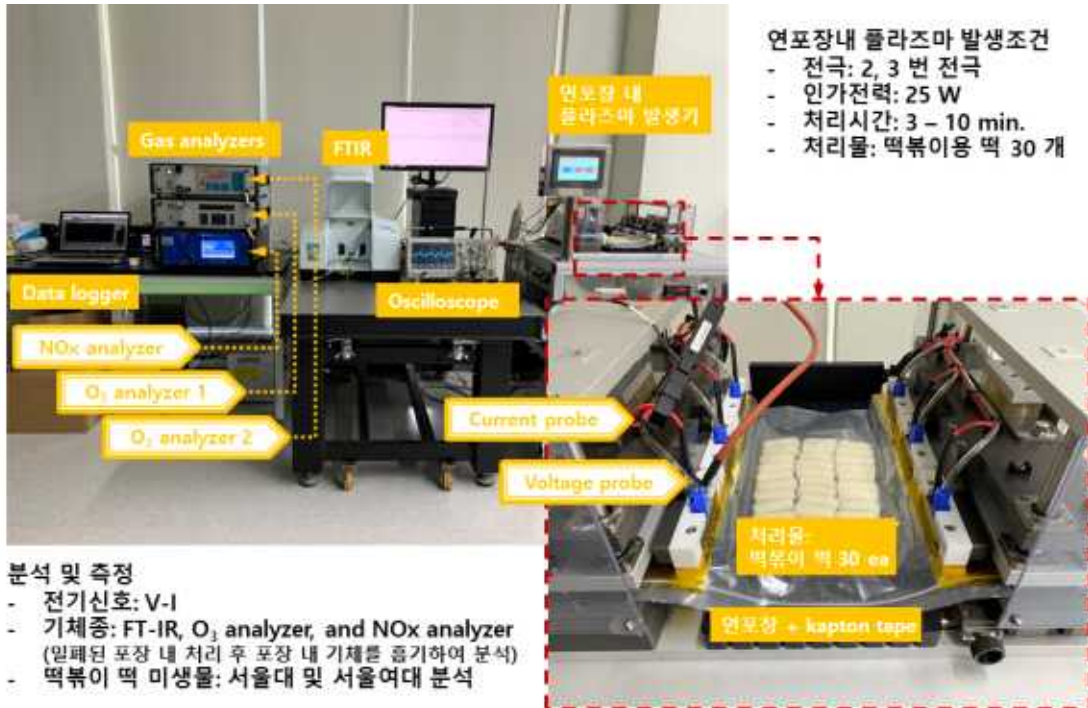
[포장내 플라즈마 장치 초기 Concept 및 최종 제작품]

(4) 포장 내 방전 플라즈마장치 특성평가

(가) 방전특성 및 활성종 거동 진단 (연포장)

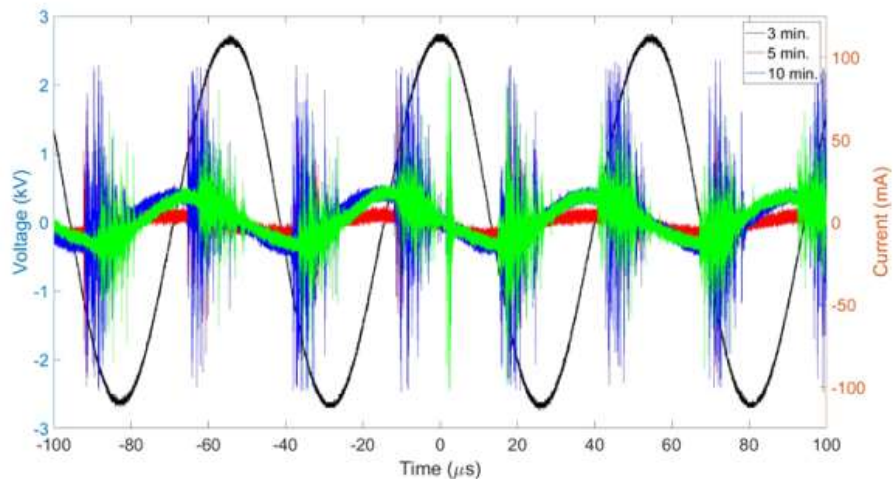
① 프로토타입 장치 개선품 특성 평가

- 특성 분석 시스템 구축



특성평가용 시스템

- 전압, 전류 분석 : 방전이 규칙적이고 안정적인 스트리머 방전 형태를 보임



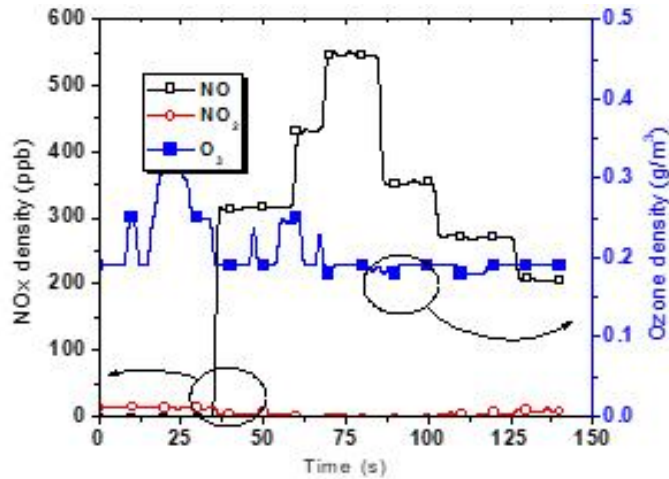
전압, 전류 파형

- Air 방전 시 기체종 분석 : O₃, NO, NO₂

- 방전시간이 증가함에 따라 오존 농도 감소 : 약 93 ppm (0.2 g/cm³)

(MW of O₃ = 48 g, 1 mol = 22.4 L → 0.2 g/cm³ = 93 ppm (v/v))

- 살균력 증가를 위해 기체를 산소종으로 바꿀 필요 있음.



포장 내 활성종 농도(O₃, NO_x)

- 기체종 분석 (air, 산소 방전 시) : O₃
- 공정가스 : Air, 산소
- 방전시간 : 3분
- 포장지 내 air 부피 : 2L/4L
- 오존 측정방법 : 오존 검지관 (측정범위가 2~400 ppm)
- 처리 결과 : 산소 방전 시 오존 400 ppm 이상으로 살균력 증대 가능성을 확인

부피	Air	O ₂
2L	150 ppm	400 ppm 이상
4L	80ppm	400 ppm 이상

(5) 파일럿스케일 포장 내 방전 플라즈마 장치 진단 및 성능평가

(가) 파일럿스케일 포장 내 방전 플라즈마 장치 특성 평가

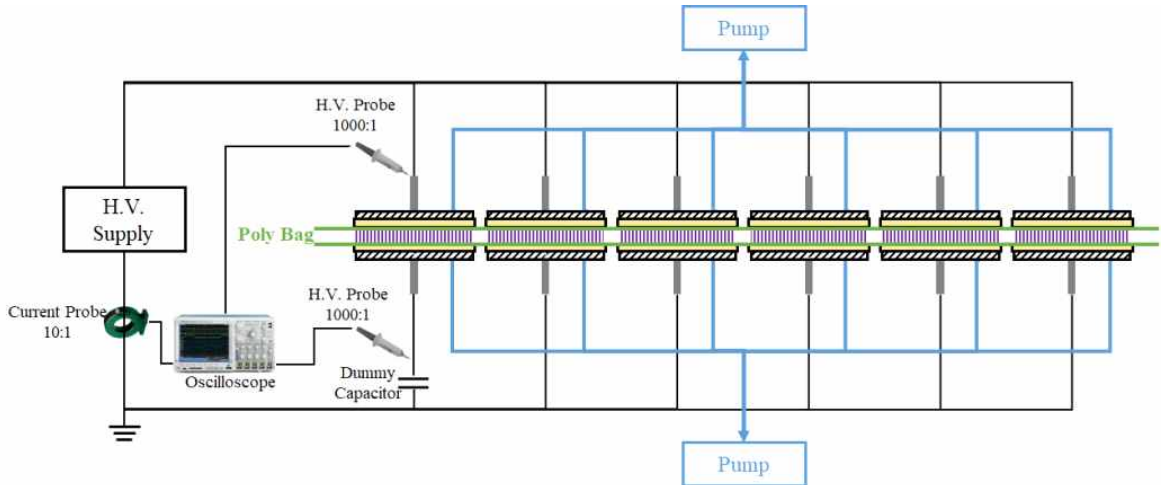
① 전기적 특성 평가

- Oscilloscope, HV Probe, Current Probe, Power Meter를 활용한 전기적 특성평가 실시
- 18 kHz, 5.5 kV 전압이 인가됨을 확인하였고 이때 전극부와 구동부 등을 포함한 장치 전체에서 소모된 총전력은 시험 조건에 따라 약 360 ~ 390 W 임을 확인

방전 여부	설정 전력치 (W) @3 min			처리 시간 (분) @30W		
	10	30	50	3	4	5
플라즈마 Off	360	360	360	360	330	330
플라즈마 On	370	380	390	380	360	365

② 화학적 특성 평가

- 검지관 (O₃, NO_x)을 활용한 화학적 특성평가 실시



IPP 처리 장치 전기적 특성 평가 개념도

- 측정 결과는 아래 표와 같았으며, O₃의 경우 30W 설정 전력하여 5분 처리 시 약 200 ppm의 농도가 측정되었으며, NO나 NO₂의 경우 조건에 따라 검지관의 측정 범위에 미달되거나 초과하여 측정이 안되는 경우가 있음을 확인

활성종 종류 (ppm)	설정 전력치 (W) @3 min			처리 시간 (분) @30W		
	10	30	50	3	4	5
O ₃	80	40	30	40	100	200
NO	ND	60	150	60	ND	ND
NO ₂	150	20	200	20	200	OR

ND: Not Detected
OR: Over Range

(나) 파일릿스케일 포장 내 방전 플라즈마 장치 성능 개선안 도출

① IPP 처리장치 셰이킹 구조 설계

- 플라즈마 방전 후 포장재를 흔들면 살균력이 증가함을 발견 (서울여대 실험)
- 플라즈마 방전 전극을 전체적으로 움직일 수 있는 구조로 설계
- 리니어 가이드를 활용하여 포장재가 좌우로 흔들릴 수 있도록 설계
- 모터 회전운동을 직선운동으로 바꿀 수 있도록 기어 추가

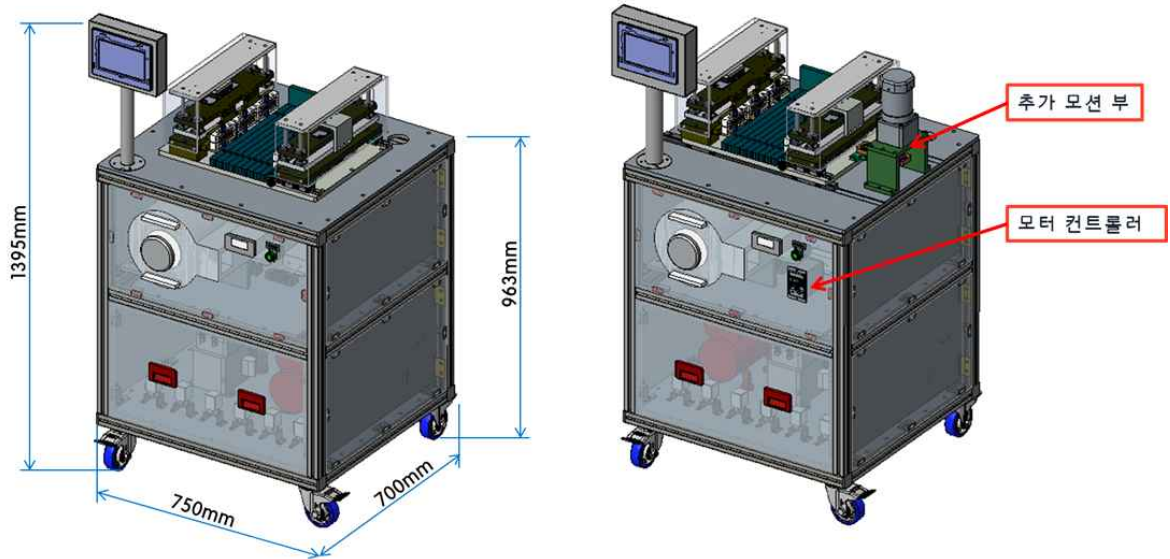
② IPP 처리장치 방전 불균일성 개선

- 플라즈마 방전 시 좌, 우 방전 불균일성을 확인하고 그 원인 파악을 함
- 포장재 대신 PET 시트를 전극 위, 아래에 붙이고 실험하면 방전 이상 현상 없음
- 포장재 내부에 시료를 넣고 실험할 때 포장재가 전극에 밀착되지 않는 경우가 생겨 이상 방전이 발생하는 것으로 판단
- 실험 시 시료를 평평하게 넣거나 시료량을 줄이는 것으로 시험법을 개선

(6) 포장내 방전 플라즈마 장치 개선 및 최종 제작

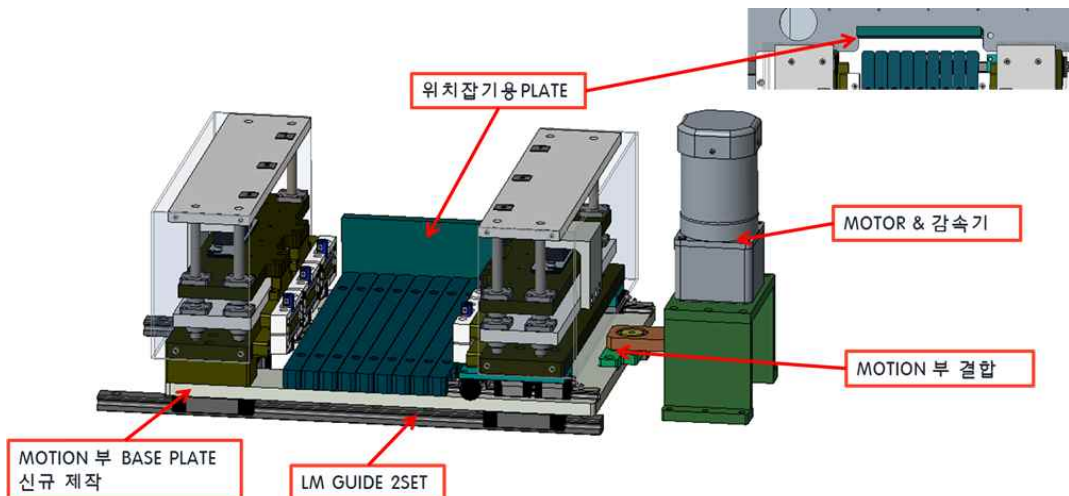
(가) 신규 Concept 추가 도출

- 협동연구기관 (서울여대)의 실험결과를 참고하여 플라즈마에 의한 활성종들이 연포장 내에서 잘 분산될 수 있도록 모션 기능을 추가함
- 좌측은 기존 장비, 우측은 변경로 pouch를 흔들기 위해 가공품 및 구매품이 추가 조립되며, 개선 전후의 frame 크기는 동일함



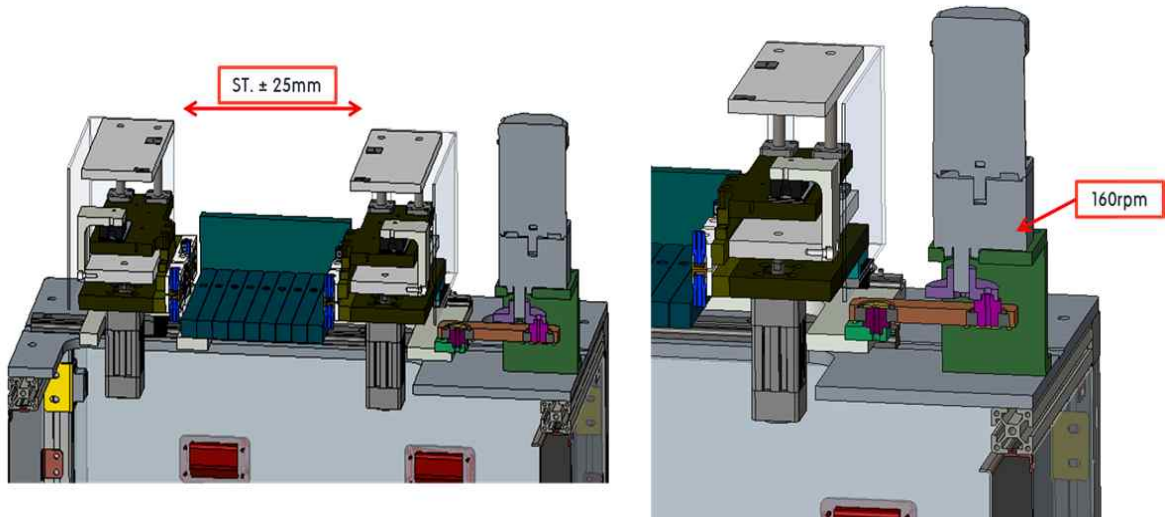
① 방전 · Motion 부

- 개선 motion 부는 하단 LM guide를 따라 좌우로 움직이게 되며, 신규 가공되는 base plate 하단에 LM guide가 조립
- 또한 기존 frame 위에 조립되던 위치잡기용 plate가 motion 부에 조립
- 추가된 motion 부와 방전 · motion부는 별도의 block으로 결합



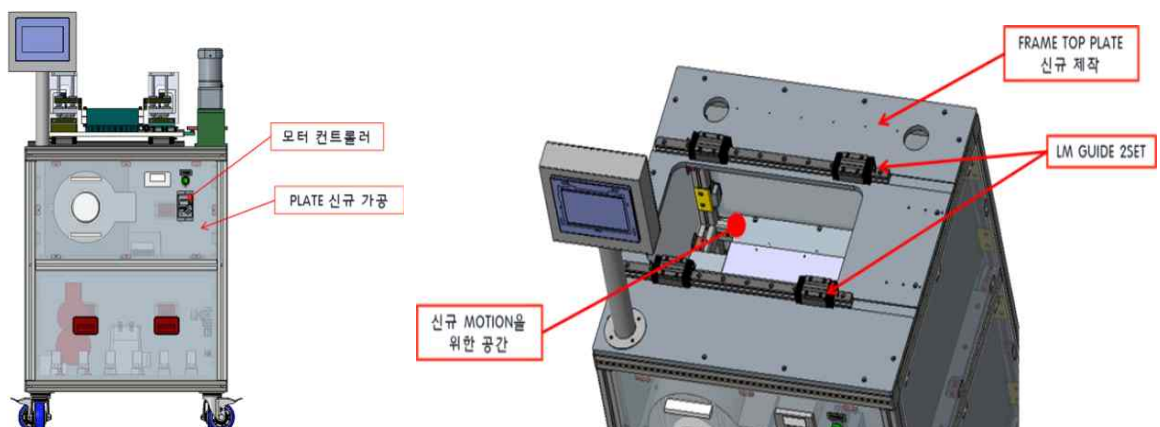
② 추가 Motion 부

- Motor의 회전을 왕복운동으로 사용하기 위한 가공품 및 부속이 조립되며, motion stroke은 $\pm 25\text{mm}$, 조립되는 motor 속도는 1600rpm로 구성
- 감속기 결합 후 160rpm으로 회전하며, 초당 약 2.5회 왕복 가능

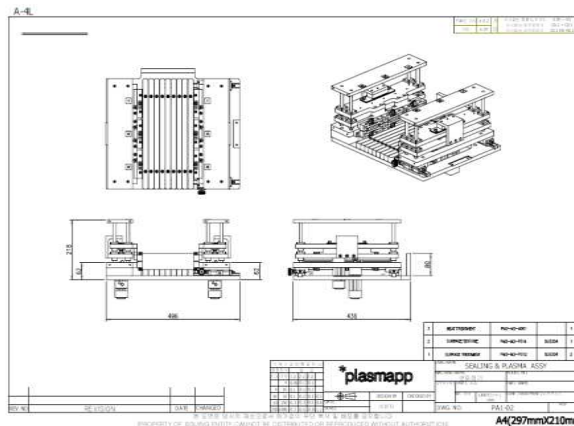


③ Frame 구성

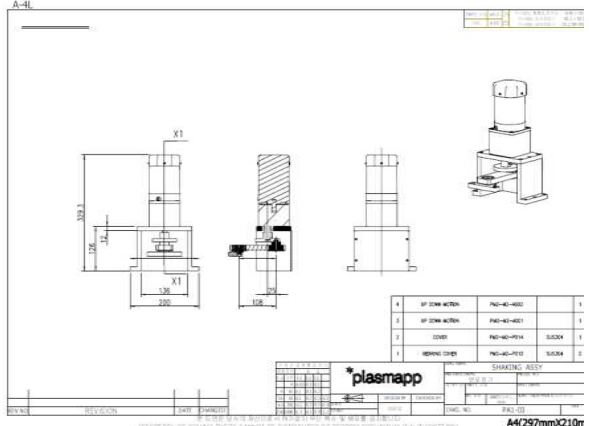
- 조립 완료된 motor는 별도의 컨트롤러로 ON/OFF 및 속도 조절이 가능
- Motor 컨트롤러는 신규 가공되는 plate에 결합
- Frame의 top plate는 좌우로 흔들리는 motion을 위한 공간확보와 LM guide 부착을 위해 신규 제작함



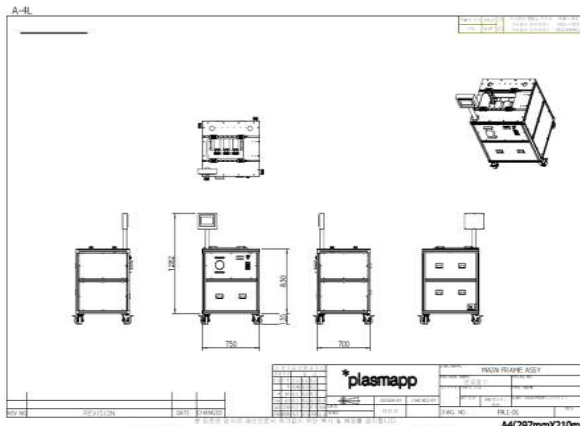
④ 포장내 방전 플라즈마 장치 주요도면



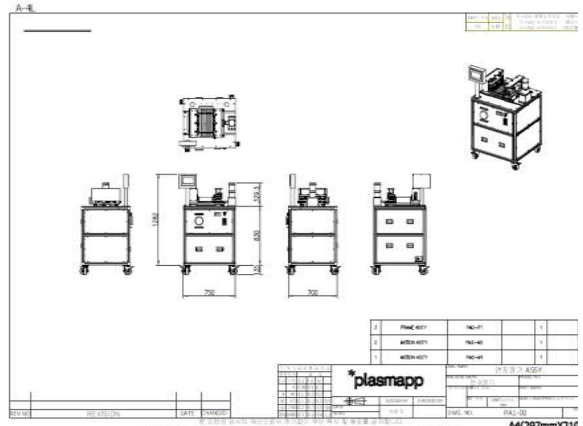
[Sealing & Plasma Ass' y]



[Shaking Ass' y]



[Main Frame Ass' y]



[연포장기 Ass' y]

(나) 개선 장치의 제작 완료 및 협동연구기관 설치

- 개선 장치의 제작을 완료하여 협동연구기관(서울여대)에서의 공정연구에 활용할 수 있도록 설치 완료함



[개선 전]



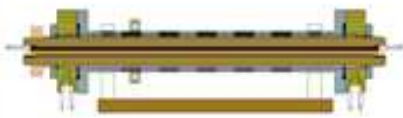
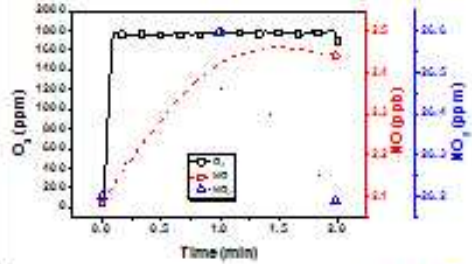

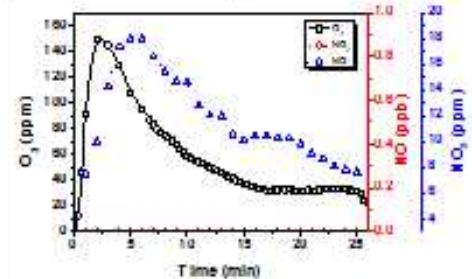
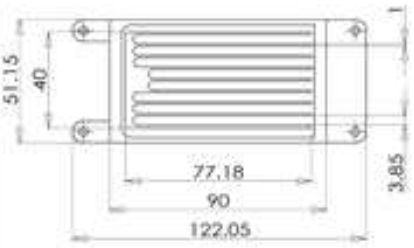
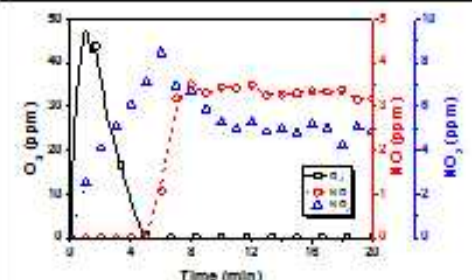
[개선 후]

나. 나노버블 플라즈마 장치 설계 및 성능 평가

(1) 플라즈마 장치 요구사항 도출

(가) 플라즈마 발생원 3종에 대한 설계 및 제작

- ① 본 연구에 적용될 플라즈마 발생 장치 선정을 위해 3종(cylindrical DBD, array typed DBD, surface DBD)의 플라즈마 발생 장치를 후보로 고려하여 특성 평가를 진행
- ② Cylindrical DBD는 방전 개시 10초 후 약 1700 ppm의 오존 농도가 측정되었고, array typed DBD는 방전 개시 2분 후 약 150 ppm의 오존 농도가 측정되었으며 surface DBD의 경우 방전 1분 30초 후 약 48 ppm의 오존 농도가 측정되었음
- ③ 각 장치 형상에 따라 측정 조건이 다르고 화학적 활성종 생성 특성이 달라 절대적 비교가 어려우므로 본 연구의 실험을 통해 최적 발생원을 선정하고자 함

종류	형상	화학적 활성종 특성
Cylindrical DBD		
Array Typed DBD		
Surface DBD		

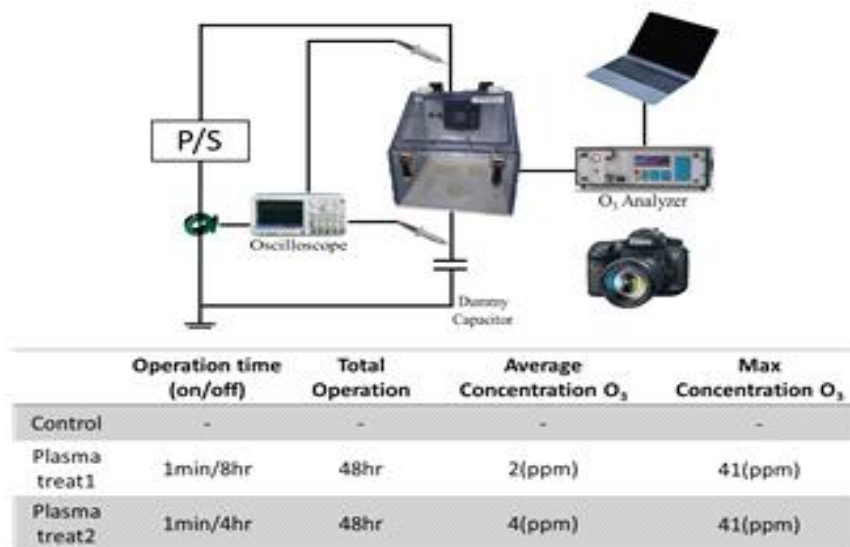
발생원 종류에 따른 형상 및 활성종 특성

(나) 유효기한 연장 핵심 활성종 인자 도출

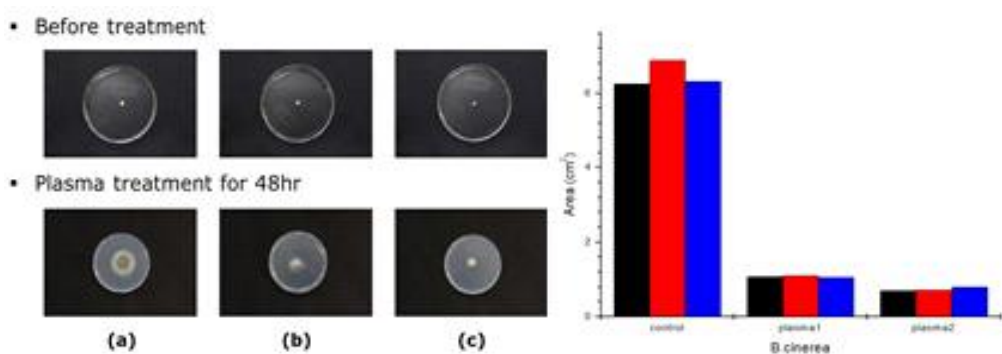
- ① 플라즈마 활성종은 ROS(산소활성종)과 RNS(질소활성종)으로 구분할 수 있는데 이 중 살균에 관여하는 것은 ROS이며 ROS를 저전력으로 많이 만들 수 있는 발생원 설계 및 제작이 필요함
 - 플라즈마에 의해 생성된 활성종의 살균력을 확인하고자 대표적인 산소활성종인 오존

을 발생시킬 수 있는 플라즈마 발생원을 활용하여 곰팡이 억제 실험을 진행. 살균력 평가는 surface DBD 장치를 이용하여 30 L 챔버 내에 배지 위의 곰팡이 성장을 비교함. 실험에 사용된 곰팡이는 *Botrytis cinerea* (gray mold), 배지는 PDA (Potato Dextrose Agar)를 사용하였으며, 처리조건은 8시간 중 1분, 4시간 중 1분간 방전하여 총 2일간 상온에서 배양하여 콜로니 환을 측정함.

- 실험 결과를 보면 곰팡이 퍼짐 정도가 대조군과 비교했을 때, 오존 평균 농도 2 ppm의 플라즈마 처리군1(Plasma treat 1)의 경우 약 8.5%, 평균농도 4 ppm의 플라즈마 처리군2(Plasma treat 2)의 경우 6.2% 수준으로 측정되었고 이를 통해 플라즈마에 의해 발생한 산소활성종이 곰팡이 억제력을 갖고 있음을 확인할 수 있었음



플라즈마 처리를 통한 곰팡이 억제력 비교 (상) 실험 셋업 및 (하) 처리 조건



플라즈마 처리를 통한 곰팡이 억제력 비교 실험 결과
(a) 대조군 (b) 처리군 1 (2 ppm) (c) 처리군 2 (4 ppm)

② 본 연구소에서는 개발된 3종의 발생원을 대상으로 활성종을 측정하여 그 결과를 제시

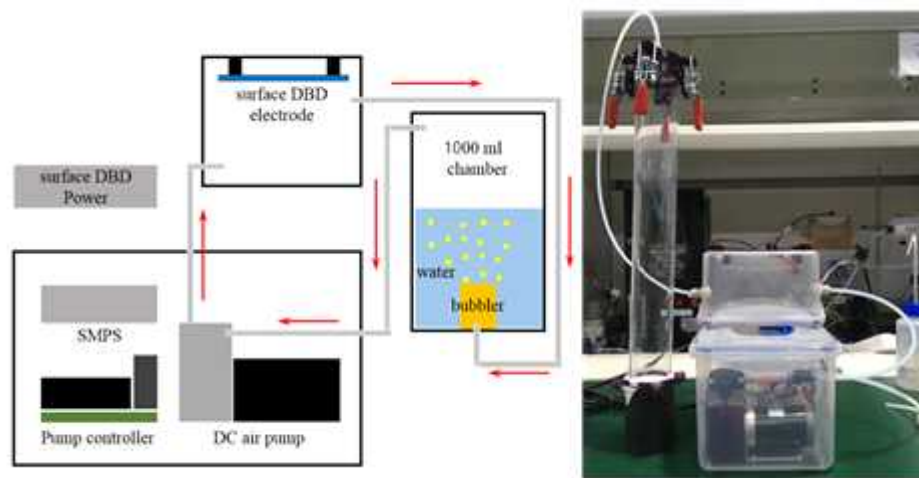
하고 이를 나노버블 플라즈마 장치에 적용하고자 함

(2) 나노버블 플라즈마 장치 설계 및 평가

(가) 나노버블 플라즈마 장치 개념, 상세 설계, 시뮬레이션

① 설계 요구사항 파악을 위한 버블 플라즈마 장치 구성 및 실험

- SDBD (80W급 *2) 2세트 방전에서 발생하는 활성종을 버블 형태로 DI water에 녹여 활성산소(오존 등) 및 활성질소(아질산 등)를 생성할 수 있도록 구성
- lab-scale test로 제작한 원통형 플라즈마 버블 반응기를 이용하여 살균 가능성 평가를 진행. 60분 플라즈마 방전 후 pH, H₂O₂, NO₃⁻를 측정
- pH는 2.4, H₂O₂는 0.29 mg/L, NO₃⁻는 910 mg/L로 측정되고 낮은 pH는 HNO₂에 의한 살균에 효과가 있을 것으로 판단



버블플라즈마 장치 개념도 및 실물사진

	pH(Aver.)	pH(Std.)	H ₂ O ₂ (Aver.) (mg/L)	H ₂ O ₂ (Std.) (mg/L)	NO ₃ ⁻ (Aver.) (mg/L)	NO ₃ ⁻ (Std.) (mg/L)
Plasma +bubble	2.425	0.025	0.2875	0.02586	910	10

60분 방전 후 PTW 특성 측정 결과

② 설계 요구사항 파악을 위한 방전수 제조 장치 구성 및 실험

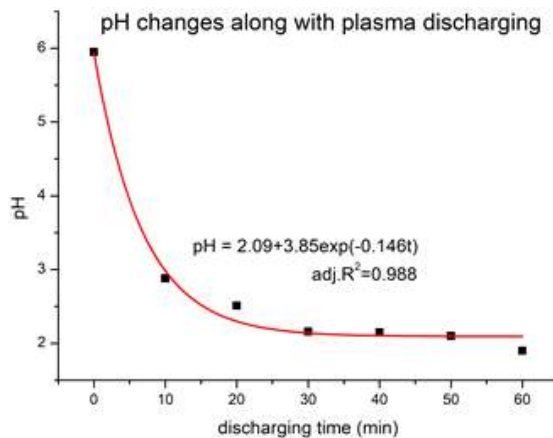
- 살균에 영향을 주는 요인 파악을 위한 방전수 제조장치 설계 및 제작. 방전을 위한 발생원은 SDBD 2세트를 활용하였고, 실시간 pH 모니터링을 통해 살균인자 유효조절 변수 파악할 수 있도록 제조 장치를 구성하였음.
- 제작된 방전수 제조 장치의 특성평가를 위해 DI water 1L를 챔버에 넣고 유량 1 lpm 조건에서 플라즈마 방전 60분 후 pH, O₃, H₂O₂, NO₂⁻, NO₃⁻를 측정.

- pH 변화추이는 약 10분 방전 후 pH가 3 이하에 도달. 이는 약 10분 방전으로도 1L 방전수를 제조할 수 있을 것으로 생각됨.



방전수 제조장치 제작도 및 실물사진

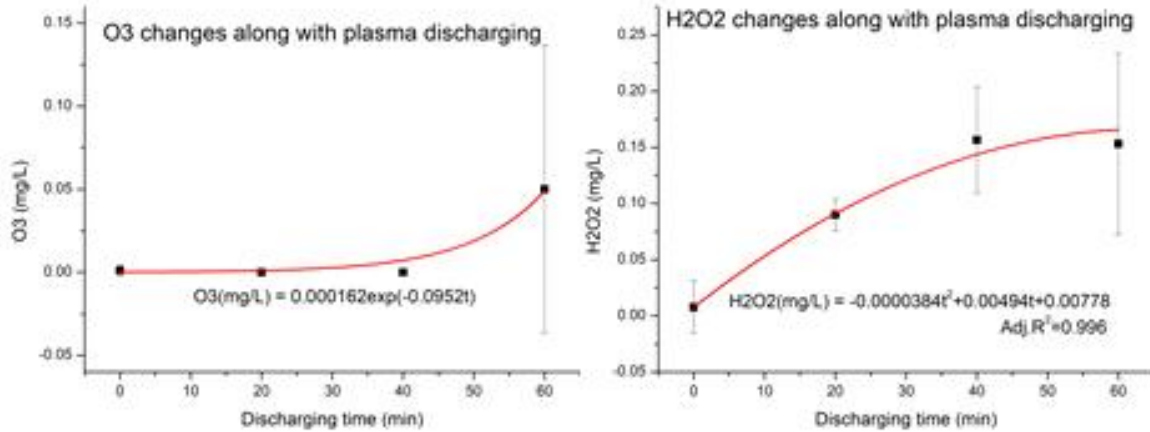
- 마이크로 나노버블 플라즈마 장치 개발(100L급)에서 SDBD를 두 세트 사용하는 경우 1000분 정도의 처리시간이 필요할 것으로 생각되어 처리시간 단축을 위해서는 버블의 크기가 작도록 구성할 필요가 있음.



방전시간에 따른 pH 변화

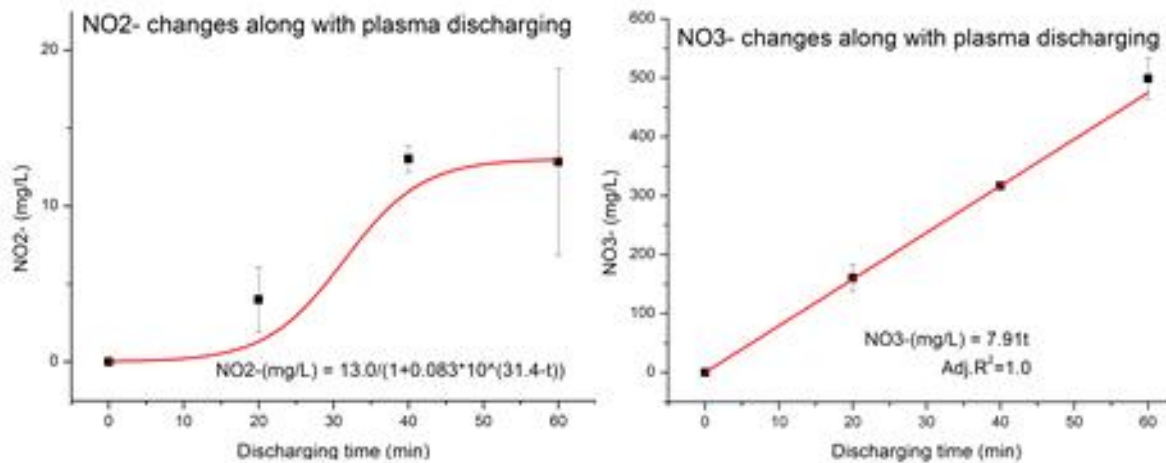
- 물속의 ROS (H_2O_2 및 O_3)의 농도를 측정한 결과, 오존은 방전 시간과 관계없이 생성이 거의 안되어 살균에 영향을 미치지 못할 것으로 판단되며 과산화수소의 경우 약 40분 방전 이후 서서히 감소하는데 이는 온도 증가로 산소활성종 보다 질소활성종이 더 많이 생기기 때문으로 예상됨. 따라서 과산화수소에 의한 살균은 특정 시간까지만 영향을 미칠 것으로 운전시간의 조절이 중요한 변수가 될 수 있음.
- 이는 오존의 형성불능에 기인한 것이 아니라 오존의 용존속도가 문제인 것으로 판단

되며, 이는 플라즈마로 오존이 만들어진 후 습도에 의해 자기분해되어 물속까지 녹아 들어가기 어렵기 때문임. 이를 해결하기 위해 나노버블노즐이 필요함.



O₃(좌)와 H₂O₂(우)의 방전시간에 따른 농도변화

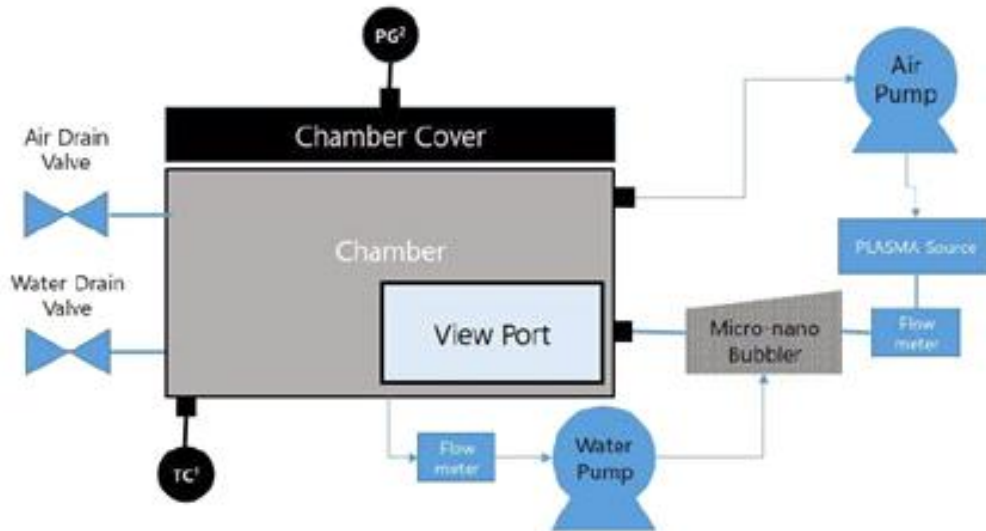
- RNS (NO₂⁻ 및 NO₃⁻)의 농도를 측정한 결과, 아질산성 질소의 경우 일정 시간 후 농도가 더는 증가하지 않고 질산성 질소는 꾸준히 증가하는데 이는 아질산성 질소가 질산성 질소로 전환되기 때문임
- 낮은 pH에서는 아질산성 질소의 농도가 높은 것이 유리한데 약 13 ppm 이상은 증가하지 않는 것으로 보아 살균에 관여할 수 있는 농도에는 제한점이 있을 것으로 판단되며, 따라서 버블 형태의 플라즈마를 물속에 잘 용존 시키는 시스템이 필수적임



NO₂⁻(좌)와 NO₃⁻(우)의 방전시간에 따른 농도변화

③ 마이크로 나노버블 플라즈마 장치 개념도 설계

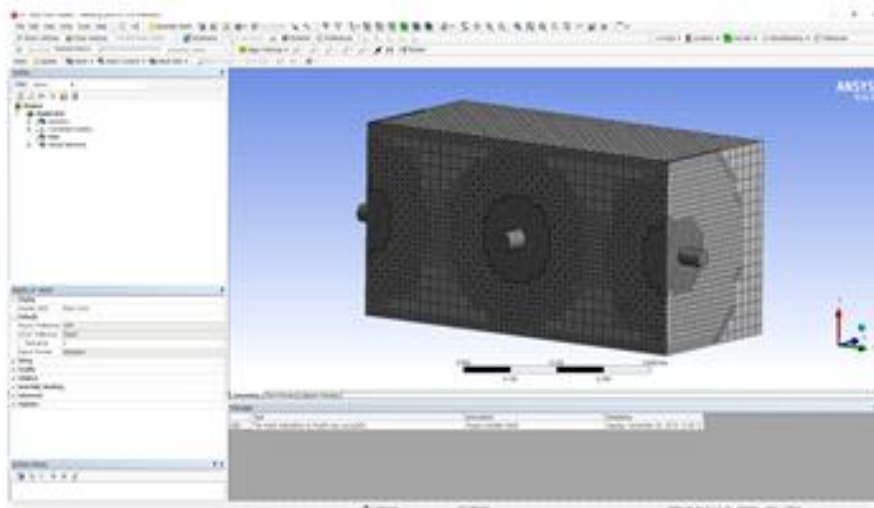
- 마이크로 나노버블 장치 설치를 위한 시스템 구성도 제안
- 플라즈마 소스는 3종(cylindrical DBD, array typed DBD, surface DBD)을 모두 사용하는 시스템으로 구성
- 구성에 관한 개념설계는 KFE와 플라즈맵 공동으로 진행
- 상세 제작 설계 및 제작은 플라즈맵에서 진행



마이크로 나노버블 플라즈마 장치 구성 개념도

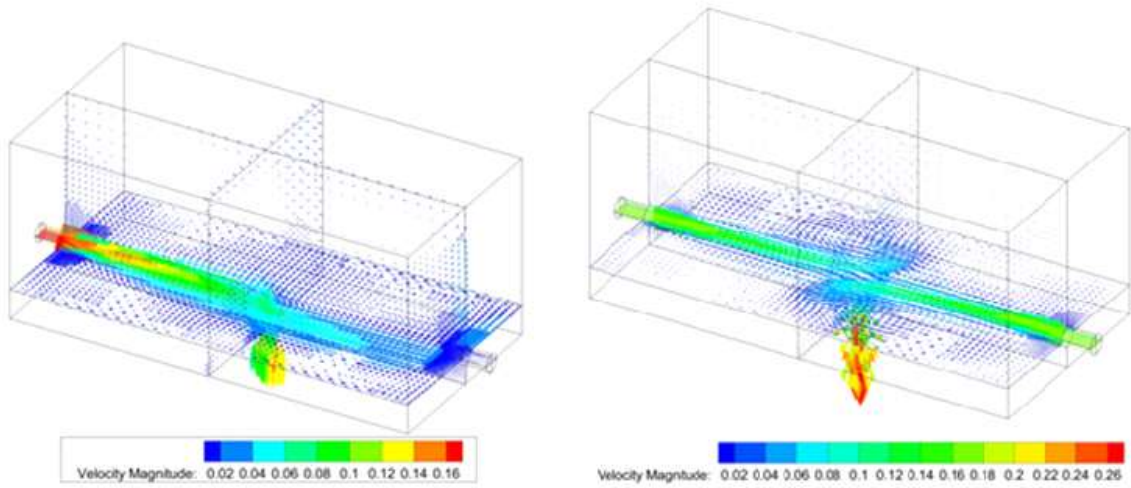
④ 유동해석을 통한 플라즈마의 화학종 전달 해석

- 마이크로 나노버블 장치 내 3차원 유동 해석을 위한 ANSYS fluent를 이용함
- SDBD에서 발생한 기체가 주입되는 부분은 좌우 2곳으로 상정한 상태에서 기체와 혼합된 물의 배기구는 하단 중앙 한곳으로 정함. 수조 내 부피는 약 100 L이고 주입 유량은 10 lpm으로 상정



마이크로 나노버블 장치 중 Chamber 부분에 대한 3차원 mesh 설정

- 유동장 해석 결과, 좌우 중 한쪽으로 활성종 포함한 기체를 주입하는 경우 주요 유동은 반대편 벽면에 약간 닿는 것을 제외하고는 배기구로 향하고, 좌우 모두에서 주입하는 경우 중앙부 맴돌이 형성으로 과산화수소 처리시간이 상승할 것으로 예상

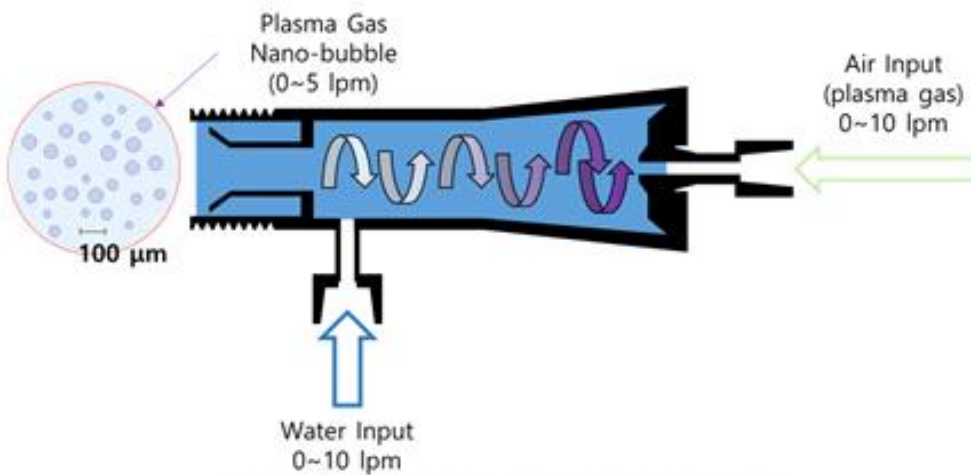


좌측 (좌) 및 좌·우측 (우) 주입구에서 주입될 경우 유동장 모사 결과

(3) 플라즈마 나노 버블 장치 제작

(가) 플라즈마 나노 버블 발생 장치 개념

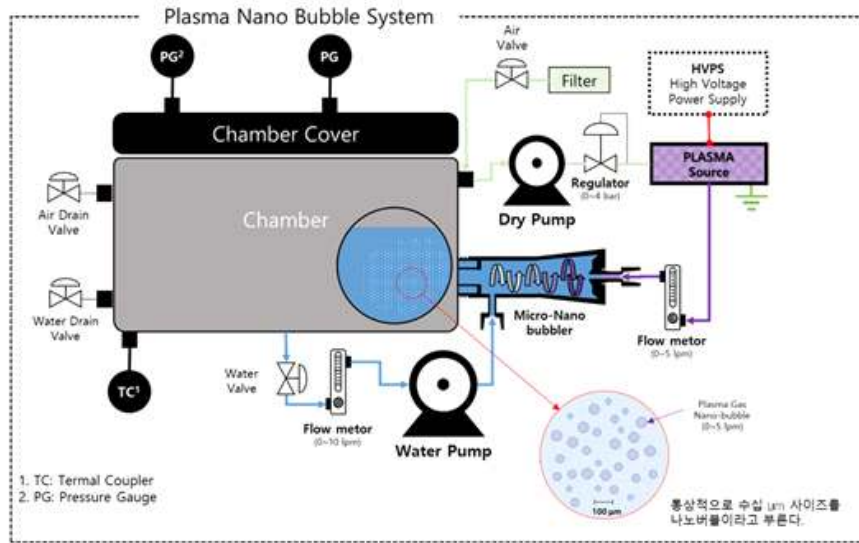
- 공기를 주입하면 큰 버블이(수 cm) 생성 되고 동시에 공기 진행 방향과 수직하게 물을 주입해서 공기방울을 수 마이크 사이즈로 쪼개 버블이 쉽게 부유하지 못하게 하여 챔버에 안에 가스를 오랜 시간동안 표류하게 만들 수 있음
- 버블이 작게 쪼개지면 단위 부피당 표면적을 넓혀 단시간 살균 효과와 장시간 살균효과를 동시에 기대할 수 있음



[그림] 플라즈마 나노 버블 발생장치 개념도

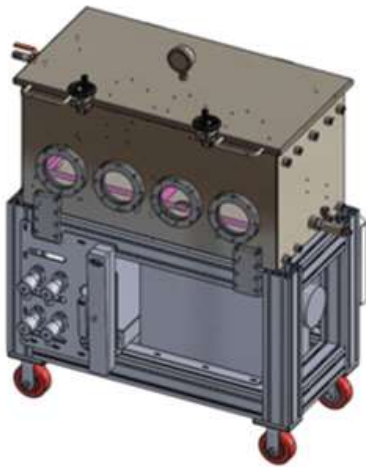
(나) 플라즈마 나노 버블 발생 장치 P&ID

- KFE와 플라즈맵이 함께 나노 버블 발생 장치에 대한 concept을 도출하고, 시제품 제작을 위한 P&ID(Piping and Instrumentation Diagram)를 다음 그림과 같이 구성



(다) 플라즈마 나노 버블 발생 장치 모델링

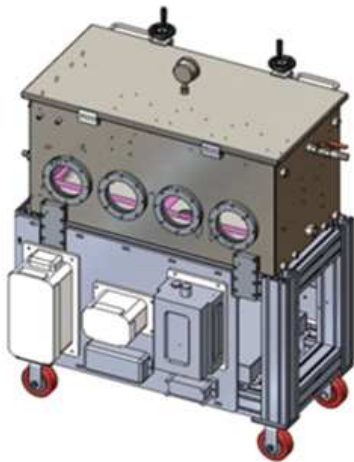
- 나노 버블 발생 장치에 대한 concept을 바탕으로 시제품 제작을 위한 장치 모델링을 진행



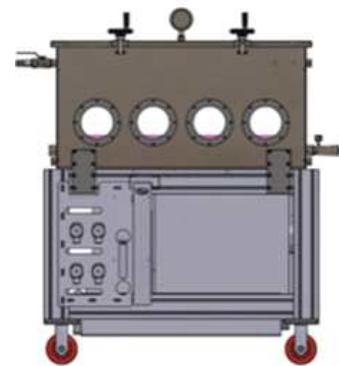
등각도 (#1)



등각도 (#2)



배면 등각도



정면도

(라) 플라즈마 나노 버블 발생 장치 가공 및 제작

- 시제품 제작을 위한 장치 모델링을 바탕으로 수조 chamber 가공, 용접 및 조립 진행 하였으며, 최종 수조 test를 통해 누수 여부 등을 확인함



[플라즈마 나노 버블 장치 가공 및 용접]



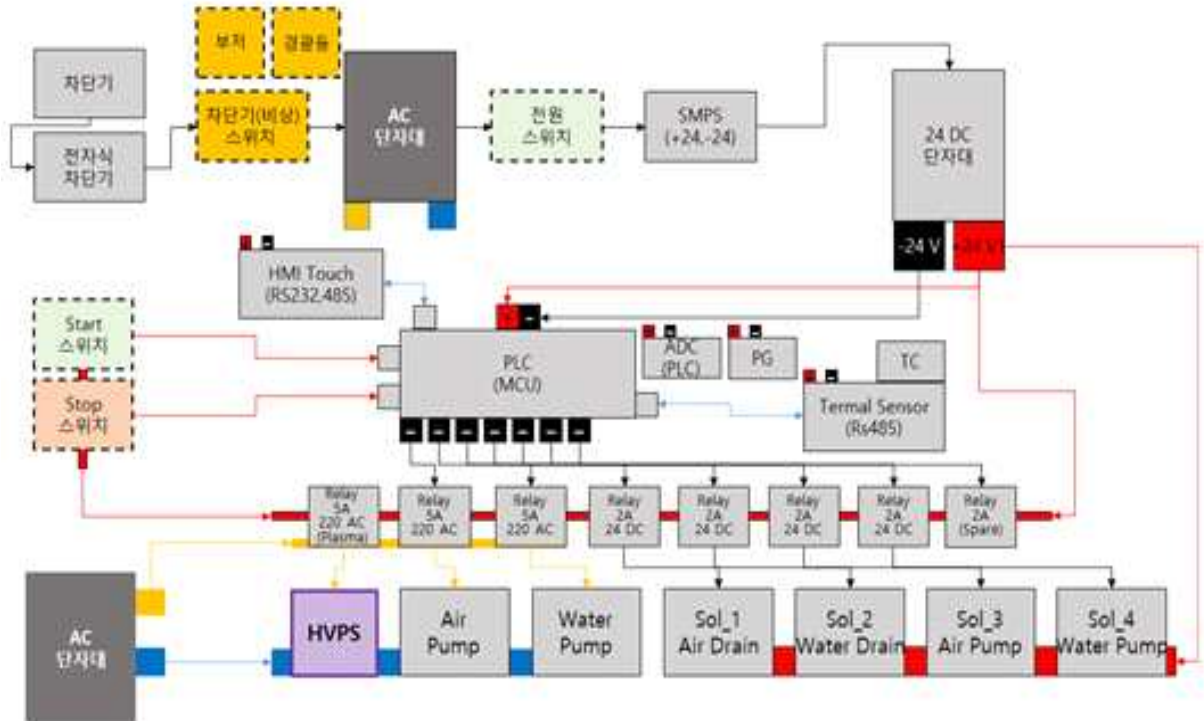
[플라즈마 나노 버블 장치 조립]



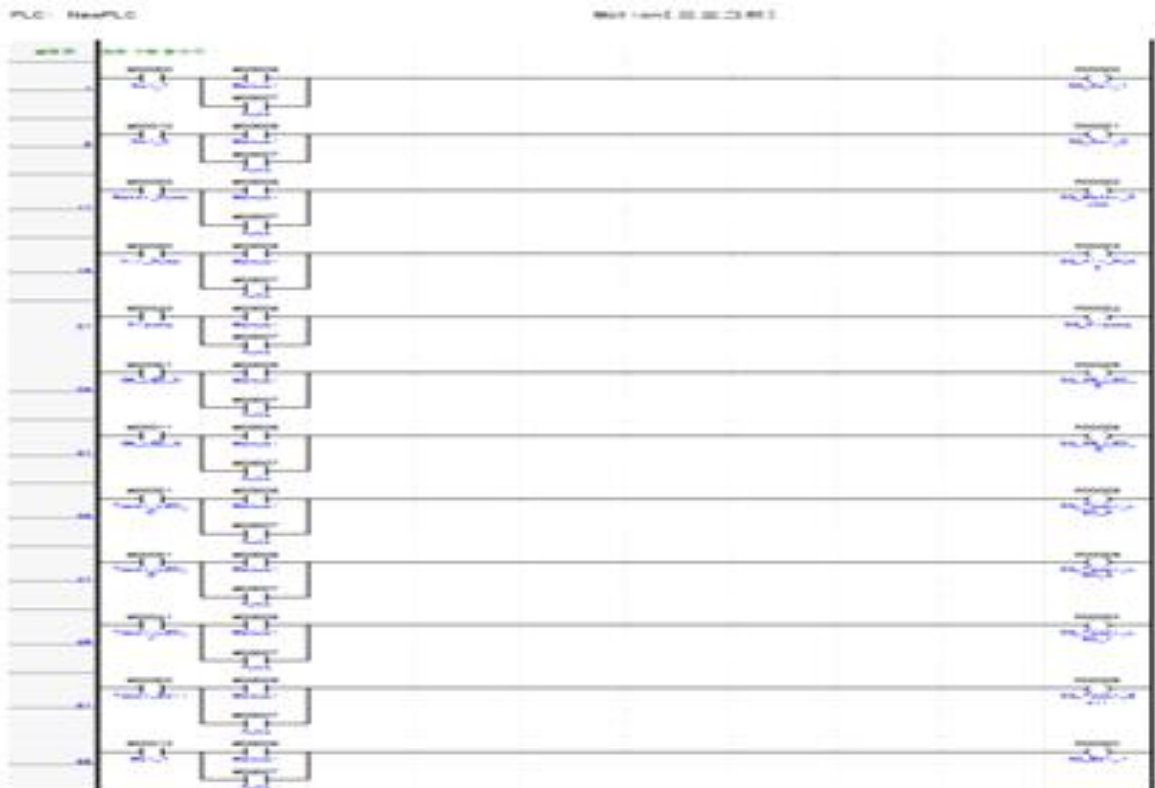
[플라즈마 나노 버블 장치 제작 완료]

(마) 플라즈마 나노 버블 발생 장치 회로도 구성

- 협동연구기관(서울여대, 서울대)에서의 식품 제조 공정 연구를 위한 장치 요구 사항을 반영하여 플라즈마 나노 버블 발생 장치의 회로도를 구성



- 아래 그림은 장치 구동을 위한 PLC 프로그램의 일부를 나타냄



(바) 플라즈마 나노 버블 발생 장치 설치 및 시운전

- 식품 공정 연구를 위해 제작된 시제품을 협동연구기관(서울여대, 서울대)에 설치 완료하였으며 지속적인 장치 특성 평가를 진행
- 플라즈마 발생장치의 전극 및 전원 특성 평가를 위한 장치는 협동연구기관(한국핵융합에너지연구원)에 설치하여 플라즈마 진단과 플라즈마 소스 성능 평가를 진행
- 두 협동연구기관에의 장치 설치 및 운영을 반복하여 최초 제작된 장치의 안전성, 기계적 성능 평가와 함께 장치의 개선 사항 및 요구 사항을 지속적으로 도출함



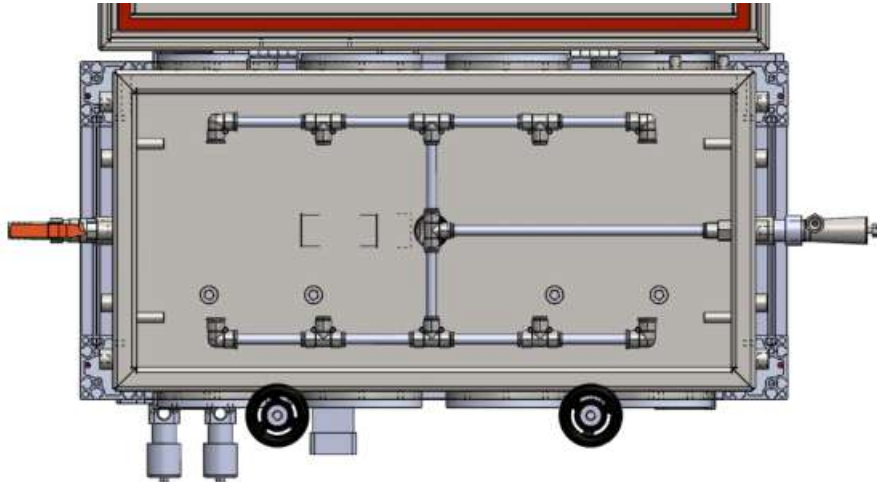
[플라즈마 나노 버블 장치 협동기관 설치]

(4) 파일럿스케일 플라즈마장치 진단 및 성능평가

(가) 기존 마이크로 나노버블 성능 불량 확인

① 80L 나노버블장치의 문제점 발견

- 대용량 대비 플라즈마 모듈 개수가 적어 살균력이 미비
- 버블이 균일하게 분포하지 않음
- 일측에서 생성되는 버블을 균일하게 분포시킬 수 있도록 8방향 노즐로 변경

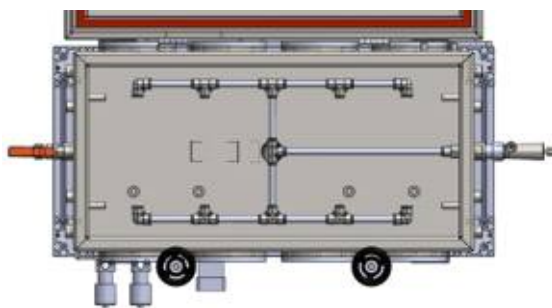


80L급 나노버블장치 수정안 (분배 노즐 추가)

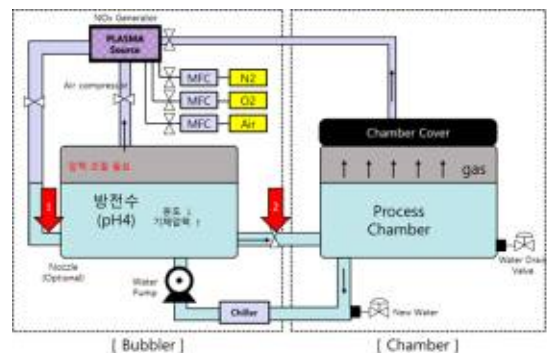
- 한번 실험할 때 외벽 cleaning 및 최소 40L 이상의 물을 교환해야 하므로 수십 차례 시험을 진행하기에 어려움이 있음
- 20L 나노버블장치 개발 필요

② 20L 나노버블장치의 개발

- 용량을 줄여 실험 용이성을 높였으며 나노버블 및 방전수를 생성하는 부분(bubble)과 살균력을 시험하는 부분(process chamber)을 분리함.
- 살균력에 영향을 미치는 변수들을 확인할 수 있도록 수정



기존 대용량 장치



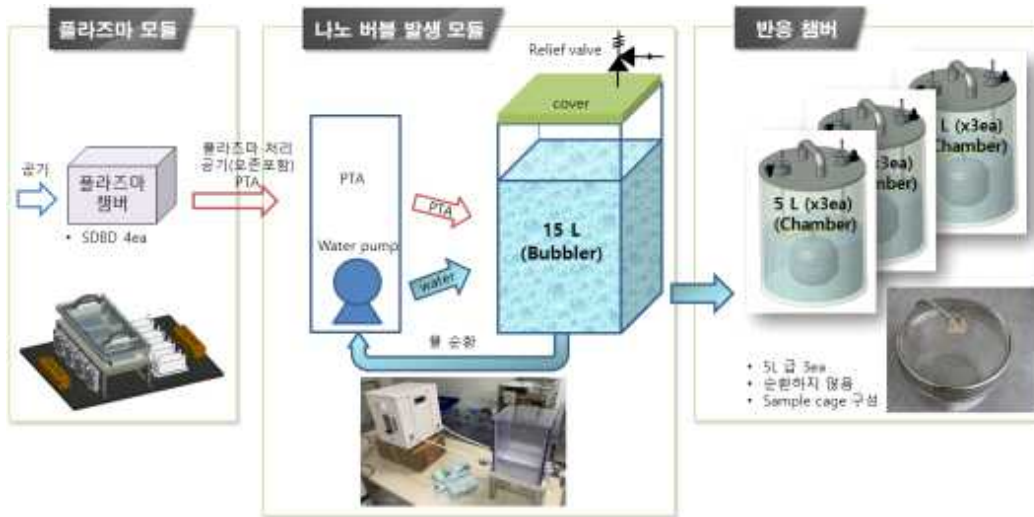
개선 장치 요구사항

(5) 파일럿 스케일 플라즈마장치 성능 개선안 도출

(가) 마이크로 나노버블 장치 재설계

① 개선된 나노 버블 발생장치 제작

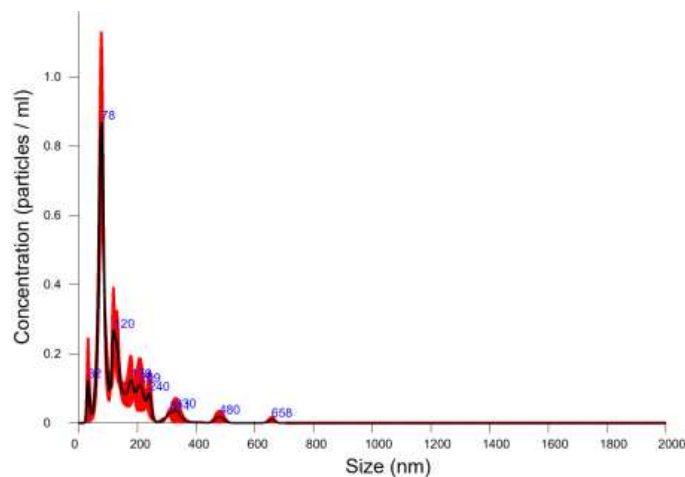
- 플라즈마 모듈 개수가 적다는 점을 보완하고자 SDBD 전극을 4개로 추가한 플라즈마 챔버 구성
- 평균 약 135 nm 나노 버블을 발생하는 장치 구매((주)EnH)를 위한 제조사 검토
- 처리 용량 사이즈는 약 20L, 크기 700(L) × 550(W) × 1315.5(H)의 나노 버블 발생 모듈 제작을 위한 개념 설계



나노 버블 플라즈마 장치 개념 설계

② 마이크로 나노버블 장치 특성 평가

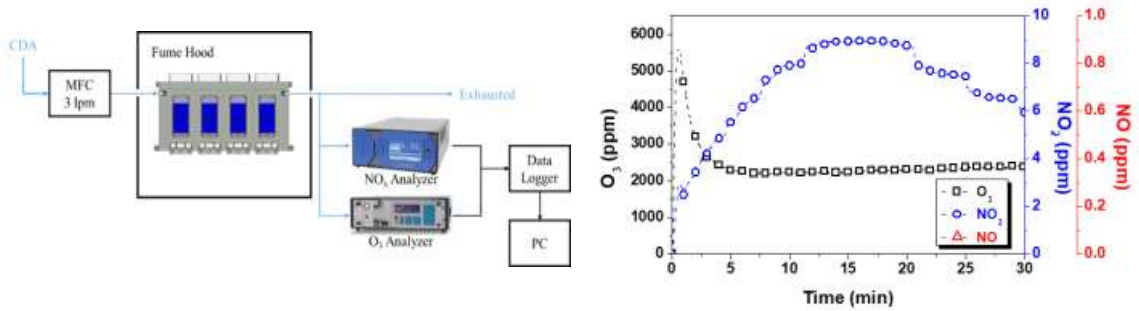
- 나노버블 발생량 평가
- 평균입경 135 nm(표준편차 : 93.1 nm)로 나노버블 생성 확인 : 제조사 제공
- 향후 제어변수(생성시간, 기체유량 등)에 따른 버블 크기 변화와 재현성 실험 예정



마이크로 나노버블 발생 장치의 버블 크기분포

- 플라즈마 처리 공기(PTA) 특성 평가 : 플라즈마 발생원 (SDBD 4ea)

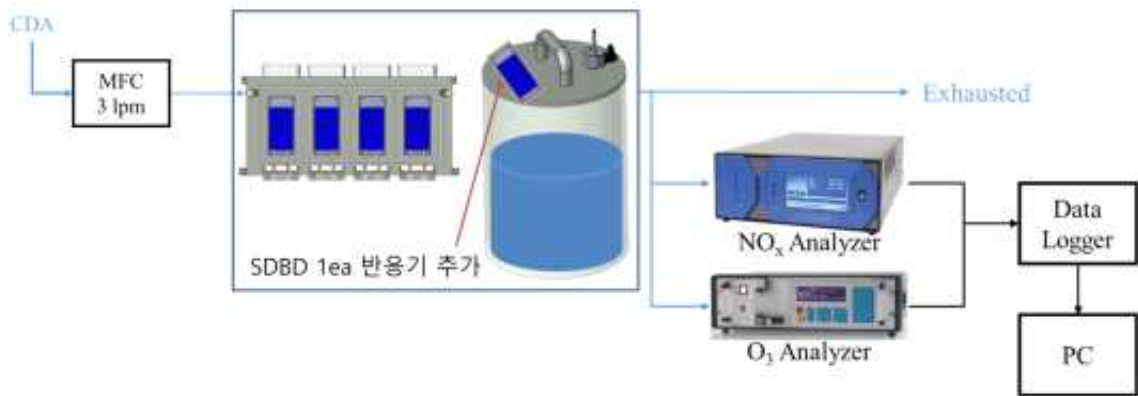
- 건조공기, 습윤공기, 순환조건에서 각각의 O₃, NO, NO₂ 등의 활성종 농도 측정
- 건조공기의 경우 air 3 lpm 주입 조건에서 30분간 활성종 측정
- 건조공기에서 O₃의 경우 초기 2분경 5500 ppm 이상 농도로 측정되었고 약 5분 경과 후 2500 ppm 정도로 유지. NO₂의 경우 15분 경과시 8 ppm으로 측정된 후 약 6 ppm 까지 감소되었고 NO는 측정되지 않음



플라즈마 처리 공기 농도 측정 실험 구성도

건조 공기 주입 조건에서 PTA 농도 변화

- 플라즈마 처리 공기(PTA) 특성 평가 : 기존 플라즈마 발생원에서 상부 SDBD 전극 추가
- RNS 농도를 증가시키고자 반응챔버 상단에 SDBD를 추가하여 각각의 PTA 측정

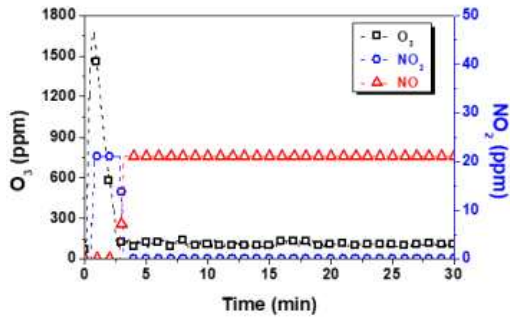


플라즈마 처리 공기(PTA) 농도 측정 실험 구성도 : 챔버 내 SDBD 추가

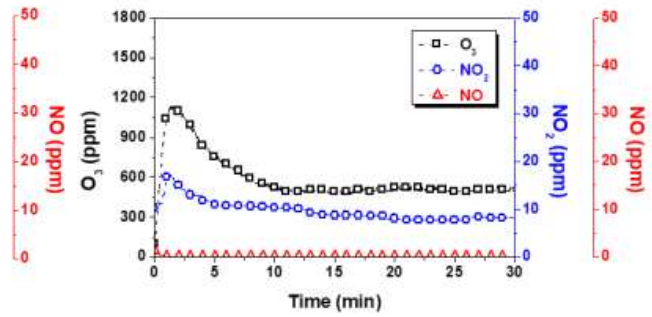
- * CDA (Compressed (Clean) Dry Air)
- * MFC (Mass Flow Controller)

- 습윤공기에서 O₃의 경우 초기 1분경 약 1650 ppm의 최고 농도를 보인 후 3분 이내에 감소하였고, NO₂는 오존 상승 직후 증가(over range)하여 3분 이내에 0으로 감소. NO는 3분 이후 급격히 증가되어 over range(측정기 최대값 초과) 되었음
- 습윤조건에서 H₂O(g)이 NO_x 발생 화학반응에 영향을 미치는 것으로 판단
- 순환조건에서 O₃의 경우 초기 2분경 약 1200 ppm의 최고 농도를 보인 후 서서히 감소하였으나 10분 후 약 600 ppm 농도 유지. NO₂는 오존 상승 직후 15 ppm까지 증가하

여 6분 경과시 약 10 ppm 유지하였고 NO는 측정되지 않음.



습윤 공기 주입 조건에서 PTA 농도 변화

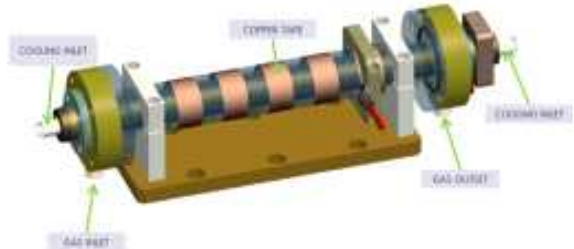


순환 조건에서 PTA 농도 변화

- 플라즈마에 의해 용존된 용존 활성종(aq.) 평가
- 기존 발생원 (SDBD 4ea) + 상단 추가 SDBD 1ea로 구성된 장치를 약 2.5 kW 파워에서 30분간 방전한 뒤 30분간 반응시간을 줌. 이 때 DI water는 12L고 유량은 air 1 lpm, water 15 lpm 조건으로 운전.
- 측정항목은 O_3 , H_2O_2 , NO_2^- , NO_3^-
- 용존된 활성종 측정 결과 O_3 는 out of range(측정 최소값 미만)로 용존 오존이 없음을 확인되었고 H_2O_2 는 방전 15분 기준으로 최대 0.2 mg/L에서 0.05 mg/L로 감소되는 것을 확인. 방전 이후에는 0.075 ~ 0.14 mg/L의 범위 내에서 측정되었음. NO_2^- 와 NO_3^- 는 각 약 2 ppm, 7 ppm 측정. 살균력을 높이기 위해서는 용존 활성종 농도를 현재보다 높일 필요가 있음. 생성된 오존이 용존되지 않는 것은 투입된 오존 함유 공기가 용액속에서 안정적으로 오래 머무르지 못하고 바로 상승하여 용존할 수 있는 시간의 부족한 것으로 판단됨.

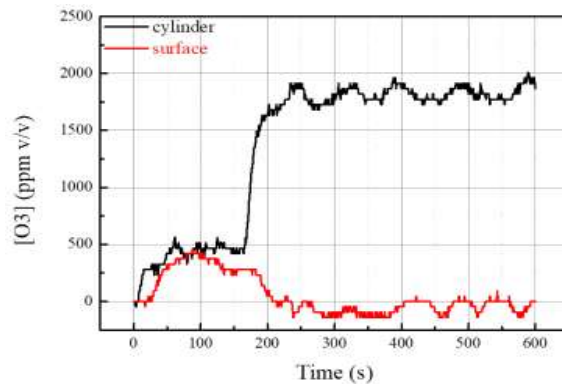
③ 마이크로 나노버블 장치 문제에 대한 개선안

- 용존활성종(O_3 , NO_2^- , NO_3^-)등의 농도가 낮은 이유 중 하나는 기체 활성종 발생량에 있고 이를 개선하기 위해 전극을 개선할 필요가 있음
- 전극 부분에 대한 개선 : Cylindrical DBD로 변경



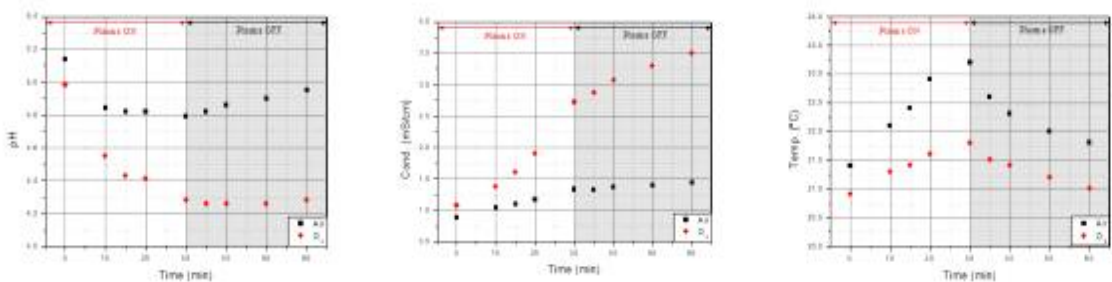
플라즈마 반응기 (좌: 기존 SDBD, 우: Cylindrical type DBD)

- SDBD의 경우 특히 오존생성량이 적는데 그 이유는 방전이 지속되면서 전극의 온도상승으로 생성되는 오존이 즉시 열분해 반응으로 분해되기 때문으로 판단. 이를 극복하고자 cylindrical type DBD 전극으로 교체하고자 함. 또한 주입기체를 산소로 바꿔 오존 생성량이 극대화되도록 함.
- cylindrical type DBD로 구성된 장치를 약 2.0 kW 파워에서 60분간 방전한 뒤 20분간 반응시간을 줌. 이 때 DI water는 15 L이고 유량은 air 0.3 lpm, water 15 lpm 조건으로 운전.
- 측정항목은 pH, conductivity, Temperature, O3, H2O2
- 발생원을 SDBD에서 실린더형 DBD로 바꾸어 생성되는 오존을 측정한 결과 SDBD는 방전 시간 100초를 기준으로 감소하는 반면 실린더형 DBD는 약 160초를 기점으로 확인한 농도 증가와 함께 고정적으로 오존 발생. 발생원별 오존 농도는 600초간 발생한 총 오존량을 적분한 결과 약 27배 차이를 보이는 것을 확인

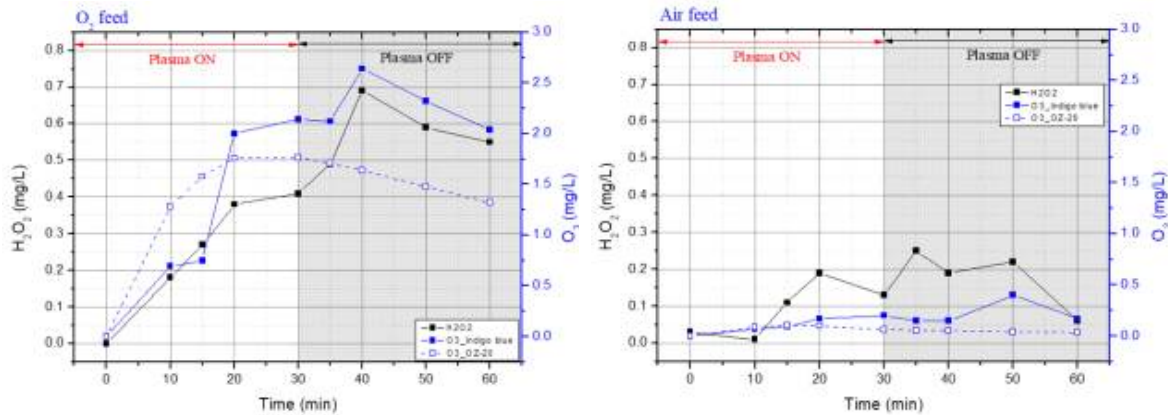


SDBD와 실린더 DBD에서 생성되는 오존량의 비교

- H₂O₂의 경우 공기방전, 산소방전에서 30분 방전 시 각 0.13, 0.414 mg/L 농도가 검출되었고 시간이 경과해도 농도 차이는 크지 않음. O₃의 경우 공기방전, 산소방전 모두 오존이 검출되었고 30분 방전 시 공기의 경우 약 0.2 mg/L, 산소의 경우 약 2.14 mg/L 용존 오존을 갖고 있었으며 시간이 경과하면서 그 농도는 천천히 감소.



전기화학적 변화 (pH, 전기전도도, 온도)



과산화수소와 오존의 농도 변화 (좌: 산소투입, 우: 공기투입)

- 결론적으로 전극을 SDBD에서 cylindrical type DBD로 바꾸고 투입가스를 공기에서 산소로 바꾸면서 물속의 산소활성종인 H₂O₂의 농도와 O₃의 농도를 크게 증가시킬 수 있었음.

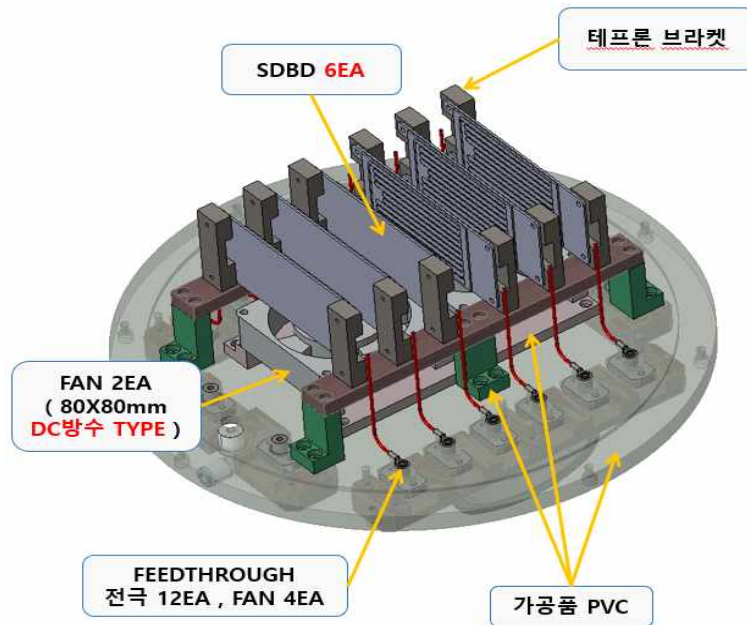
단위(mg/L)	SDBD(Air)	Cylinder(Air)	Cylinder(O ₂)
플라즈마 처리 30분 후 H ₂ O ₂	0.15	0.13	0.41
플라즈마 종료 20분 후 H ₂ O ₂	0.1	0.22	0.59
플라즈마 처리 30분 후 O ₃		0.2	2.14
플라즈마 종료 20분 후 O ₃		0.4	2.32

(6) 마이크로 나노버블 플라즈마 발생장치 성능평가 및 개선

(가) NBP(Nano Bubble Plasma) 1차 수정

① NBP 장치 문제점 확인 및 성능 개선안 ver 1.0

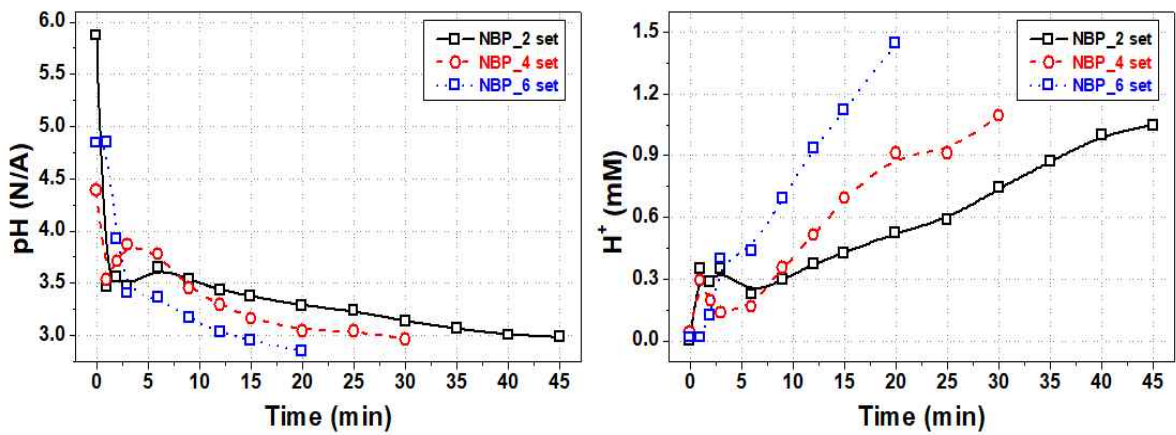
- 미생물 저해 가능 오존 농도에 관한 문헌 연구에서 용존오존(1~16 ppm)으로 미생물 살균 시 대부분 1로그 정도의 살균을 보이고 3로그 이상의 살균이 되지 않음
- 용존 오존 농도를 높이기보다는 질소활성종 용존 농도를 높이는 것이 바람직함.
- 질소활성종(RNS)를 높이기 위한 방법으로 SDBD 전극을 챔버 LID(뚜껑)에 추가 설치하여 기체 질소 활성종 양을 늘리고 플라즈마 처리시간을 길게 줘서 질소 활성종 용존 농도를 높이는 방법을 제안



SDBD 전극 부착형 LID (ver 1.0) 설계도

② NBP 개선 장치 ver 1.0 특성 평가

- 전극 수량(2, 4, 6ea)에 따른 NBP ver 1.0 특성 평가 결과, 전극 수량이 증가할수록 pH 3 이하로 도달하는 시간이 감소함을 확인
- 미생물 대상 살균 실험 결과 목표치 달성이 미흡함에 따라 전극 추가 및 전극부 냉각 구조를 개선한 NBP ver 2.0과 ver 3.0 형태의 LID를 제작하고자 함

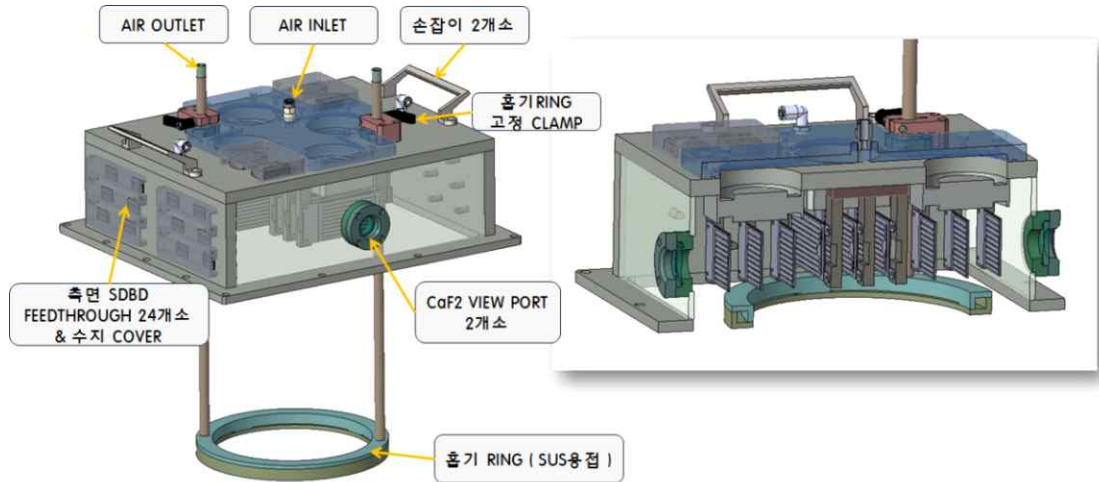


PTW(Plasma treated water) 특성 평가 결과

(나) NBP 2차 수정

① NBP 장치 성능 개선안 ver 2.0

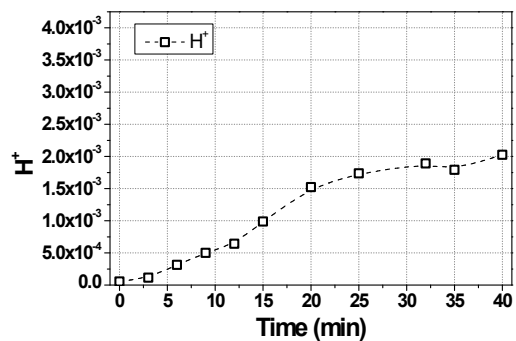
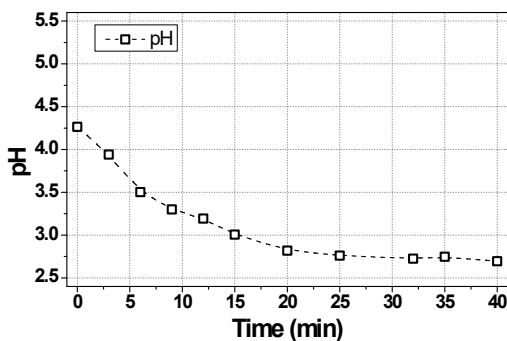
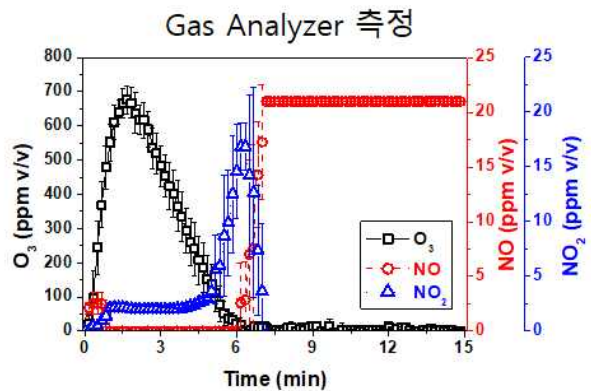
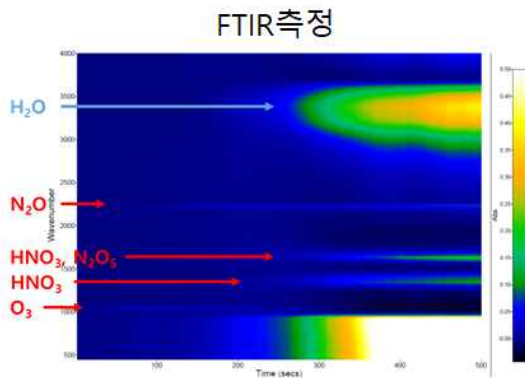
- 활성종 생성능 향상을 위해 전극 수량 12ea로 증가시킨 형태의 LID (NBP ver 2.0)를 제작



SDBD 전극 수량 증가 LID (ver 2.0) 설계도

② NBP 개선 장치 ver 2.0 특성 평가

- 방전 개시 이후 6분 경과시 NO 농도가 급격히 증가함을 FTIR 및 Gas Analyzer를 이용하여 확인
- 미생물 대상 살균실험 결과, 보다 더 많은 활성종 생성능을 향상시킬 필요성이 있고 전극 수량이 증가함에 따라 챔버 내 온도 상승으로 인한 전극 연결부분이 손상되는 현상이 발생하여 이를 개선한 LID를 설계 및 제작함.

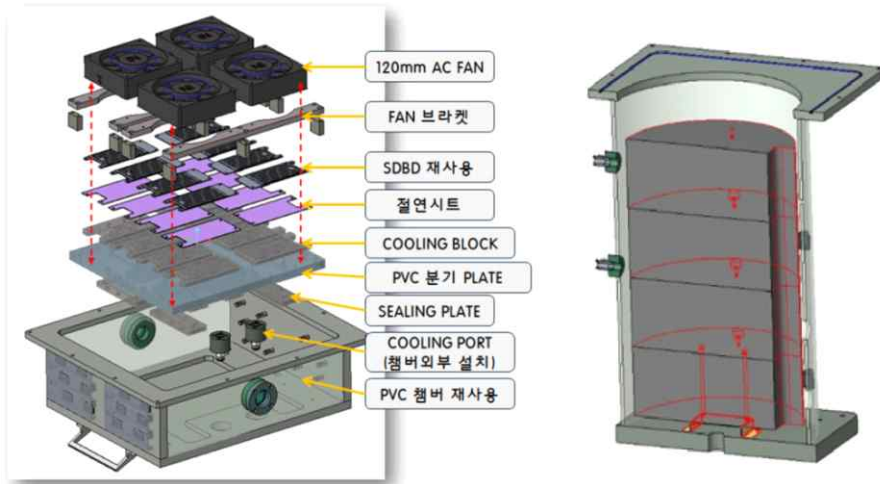


챔버 내 가스 특성 평가 (상), PTW 특성 평가 (하)

(다) NBP 3차 수정

① NBP 장치 성능 개선안 ver 3.0

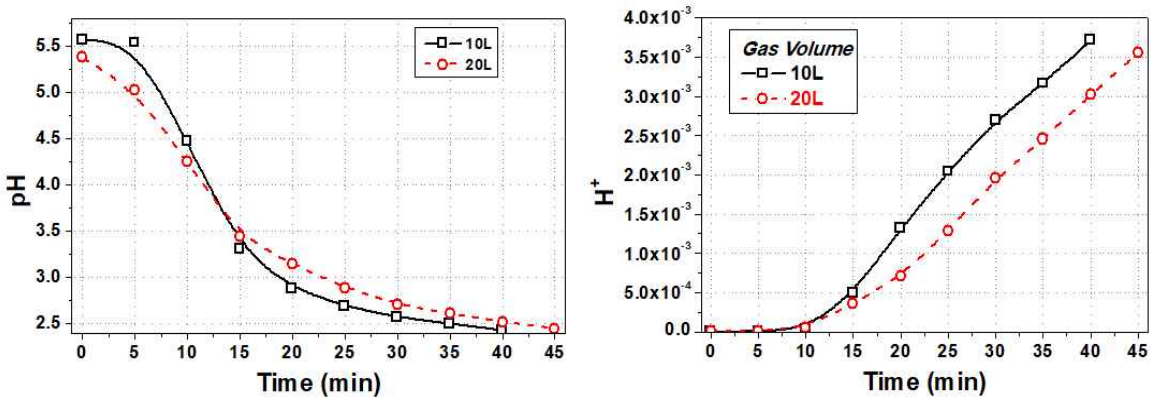
- 챔버 내 활성종 생성능 및 장치 내구성 향상을 위한 냉각 구조(cooling pan 4ea)가 추가되었고 공기 부피를 줄이기 위해 챔버 내부에 구조물을 추가한 형태의 LID (NBP ver 3.0)를 제작 : 기체부피 34 L → 15 L



전극부 냉각 구조 개선 LID (ver 3.0) 설계도

② NBP 개선 장치 ver 3.0 특성 평가

- 챔버 내 gas 부피 변화에 따른 PTW 특성 평가 결과 gas 부피가 적을수록 pH가 더 빨리 저감되는 것을 확인
- 10 L gas 부피 조건에서 약 40분 방전 시 pH 2.5 이하 PTW 생성



PTW 특성 평가

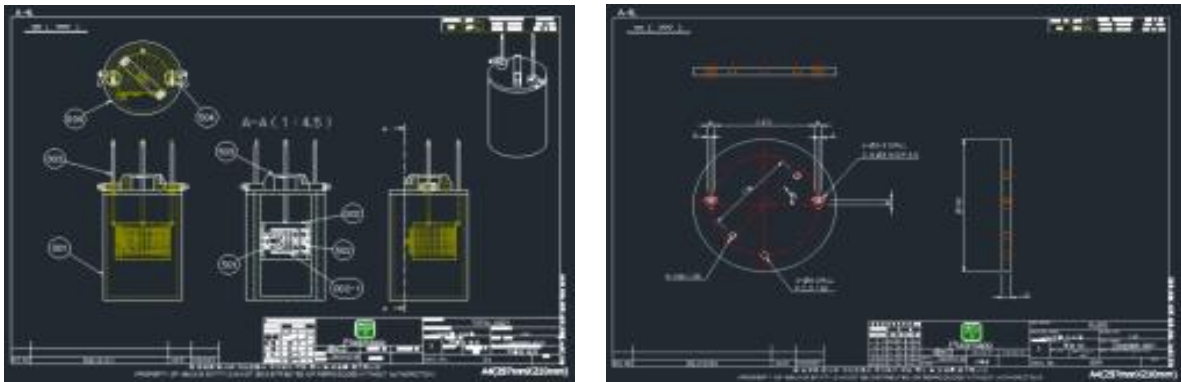
- NBP ver 3.0 장치로 플라즈마 방전 60분 후의 PAW (Plasma Activated Water) 용존 활성종 측정 결과 NO₂⁻는 약 0.6 mg/L, NO₃⁻는 약 146 mg/L 농도를 확인할 수 있었음.

방전 시간 (min)	NO ₂ ⁻ (mg/L)	NO ₃ ⁻ (mg/L)
0	0	0
40	0.175	87.47
60	0.599	146.33

(7) 플라즈마 나노 버블 장치 신규 Concept 제작

(가) 플라즈마 나노 버블 발생 장치 재설계

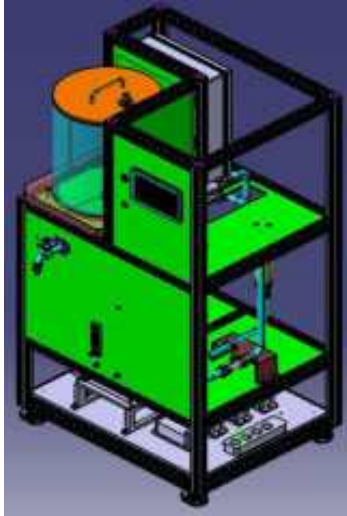
- 협동연구기관(한국핵융합에너지연구원)과 개선 장비 concept 도출을 진행하고, 개선된 나노 버블 발생장치 설계 및 제작을 진행
- 플라즈마 모듈 개수가 적다는 점을 보완하고자 SDBD(80 Watt급) 전극을 4개로 추가한 플라즈마 챔버 구성
- 평균 약 135 nm 나노 버블 발생하는 장치 핵심 부품은 전문 업체 구매 진행
- 실제 처리 용량 12리터, 플라즈마전극 SDBD 4개 적용된 나노 버블 발생 모듈 제작



[나노 버블 플라즈마 장치 구성품 설계 예시]

(나) 장비 주요 spec 정리

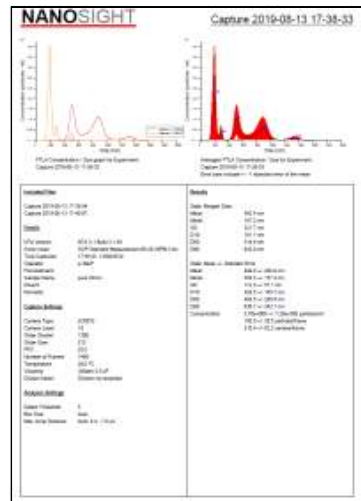
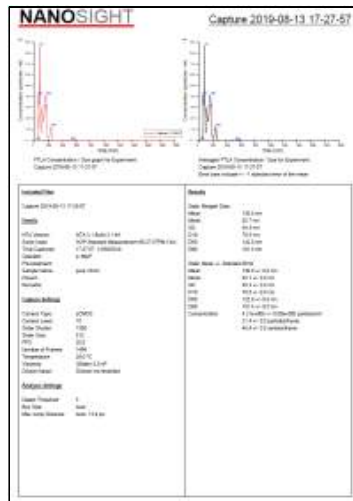
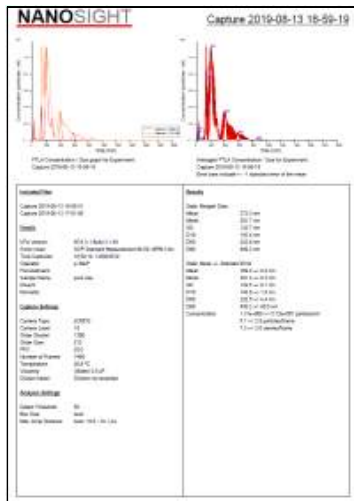
- 처리 용량 : 20리터
- 처리 시간 : 30분
- 반응 시간 : 30분
- 플라즈마 전극 : SDBD 4+1개
- 플라즈마 전력 / 소모 전력 : 2.5 kW
- 순환 유량 : 공기 10 cc/min, 물 15 lpm
- 크기 : 700(L) x 550(w) x 1315.5(H)



[나노 버블 플라즈마 장치 설계/제작]

(다) 신규 Concept 장치의 초기 평가 진행

- 나노버블 핵심 부품 평가 진행
- 가동후 측정한 값과 10분 작동 후 Data, 20분 작동 후 Data로, 10분 대비 20분의 버블 사이즈가 크며 버블 발생량은 많은 것을 우선 확인
- 초기 측정 결과를 바탕으로 협동연구기관(한국핵융합에너지연구원)에서 추가 실험 진행 하여, 평균입경 135 nm (표준편차 : 93.1 nm)로 나노버블 생성을 확인



[나노 버블 부품 초기 평가 진행]

(8) 플라즈마 나노 버블 장치 개선 및 최종 제작

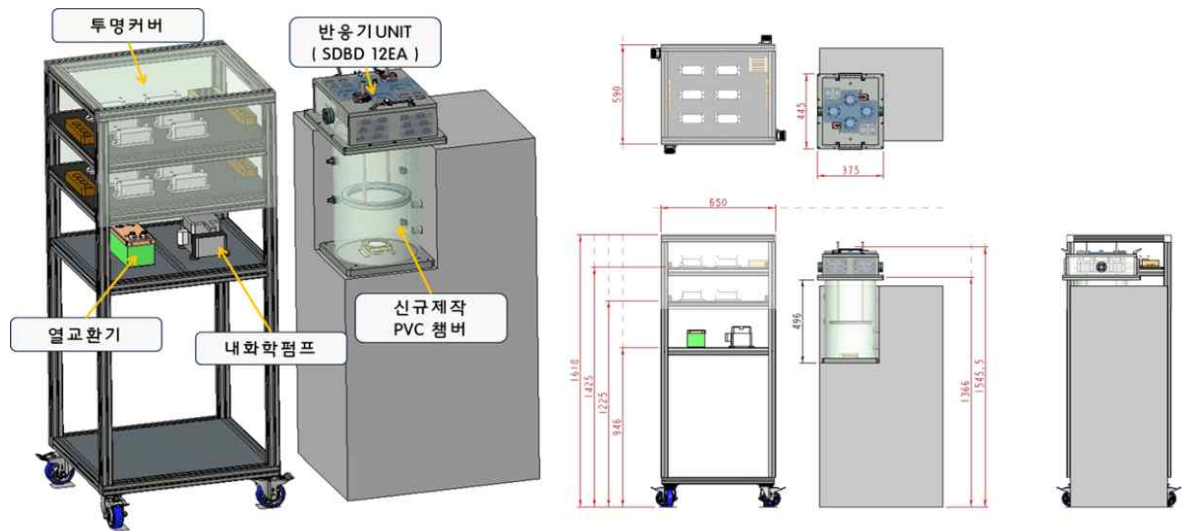
(가) 플라즈마 나노 버블 발생 장치 최종 설계

- 플라즈맵은 협동연구기관 (핵융합연구소)의 나노버블 장치 성능 평가 연구를 참고하여, 플라즈마 발생을 위한 전극개수 증가, 냉각기능 강화 및 용존활성종 증가를 위한 디퓨저를 추가하기로 함

- 전극 갯수를 기존 6개에서 12개로 확장하여 기체 활성화중 증가 효과 기대
- 플라즈마 방전 전극의 경우 수분에 취약하고, 식품 공정 중 불순물이 들어가지 않도록 에어쿨링 방식을 적용함
- 디퓨저를 추가하여 버블을 증가시켜 용존활성종의 증가 효과를 확인

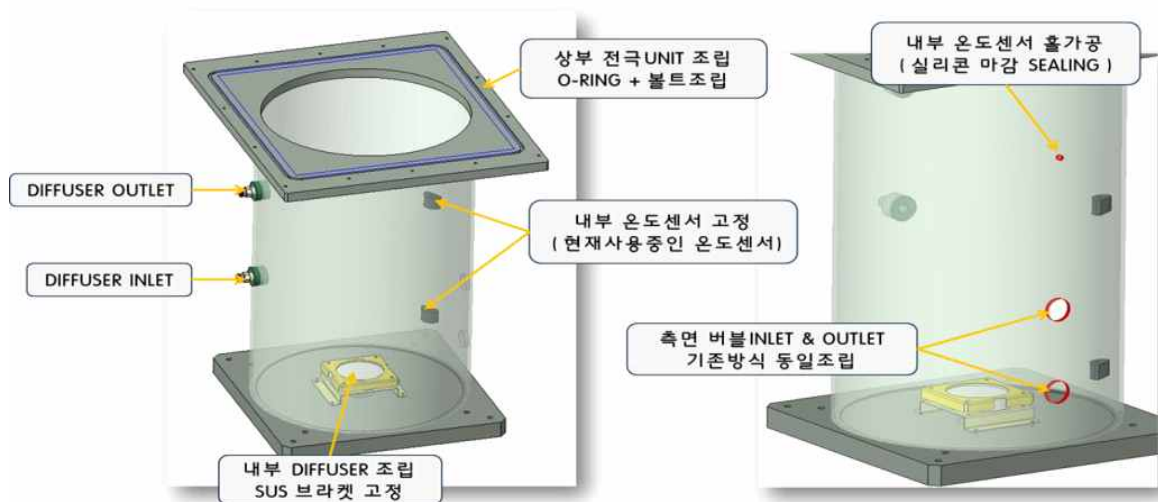
① 플라즈마 나노 버블 발생 장치 최종 Layout

- 플라즈마 반응기 unit에 SDBD 방식의 플라즈마 발생 전극을 12개로 구성하고, 나노 버블 플라즈마 방전수 및 공기의 부피를 조정하기 위한 PVC 챔버도 함께 신규 제작 진행



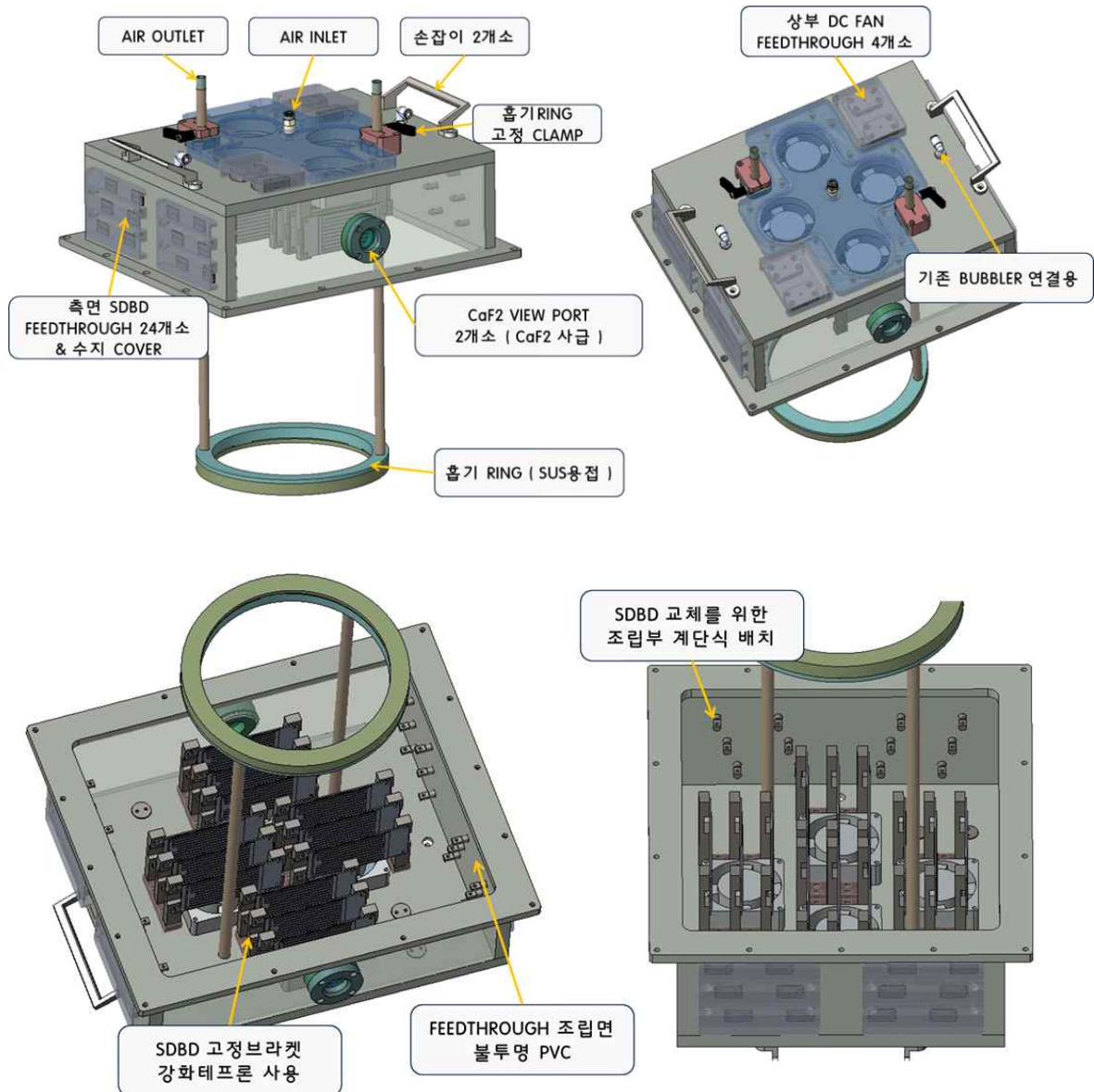
② PVC Chamber

- 공기의 부피를 줄이기 위해 챔버 내부에 구조물을 추가한 형태의 LID 제작
- 기체부피 : 34 L → 15 L 감소

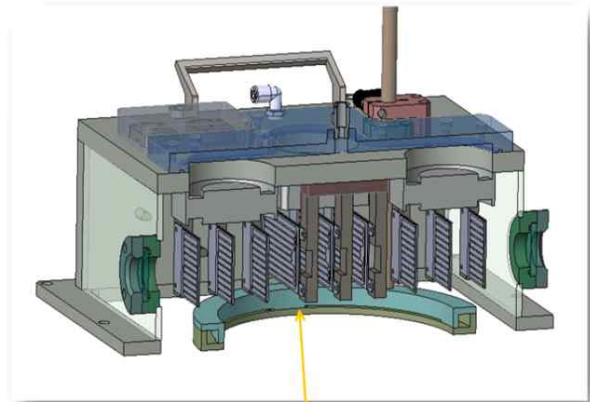
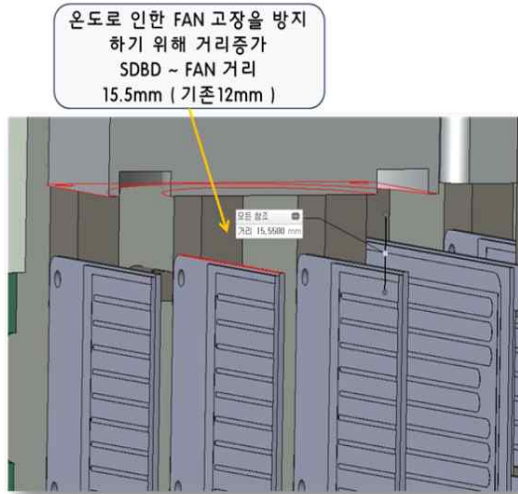


③ SDBD Unit 구현

- 협동연구기관의 연구결과 용존 오존의 농도 보다는 질소활성종 용존 농도의 상승이 필요
- 질소활성종(RNS) 농도를 높이기 위해 SDBD 전극의 추가 설치 요구 사항 발생
- 활성종 생성 능력을 높이고, 미생물 살균에 효과를 얻기 위해 전극의 개수를 최종적으로 12개까지 확장하도록 결정함
- 다만 전극 증가에 따른 발열 문제 해소를 위해 fan을 활용한 냉각 기능도 함께 보완 진행함



- 온도 상승 및 전극의 발열 문제로 인한 fan 고장을 방지하기 위해 SDBD에서 fan까지 거리 증가 (12mm → 15.5mm)
- SDBD 브라켓과 5mm 거리에서 바닥과 동일위치에 놓일수 있도록 흡기 ring 구성



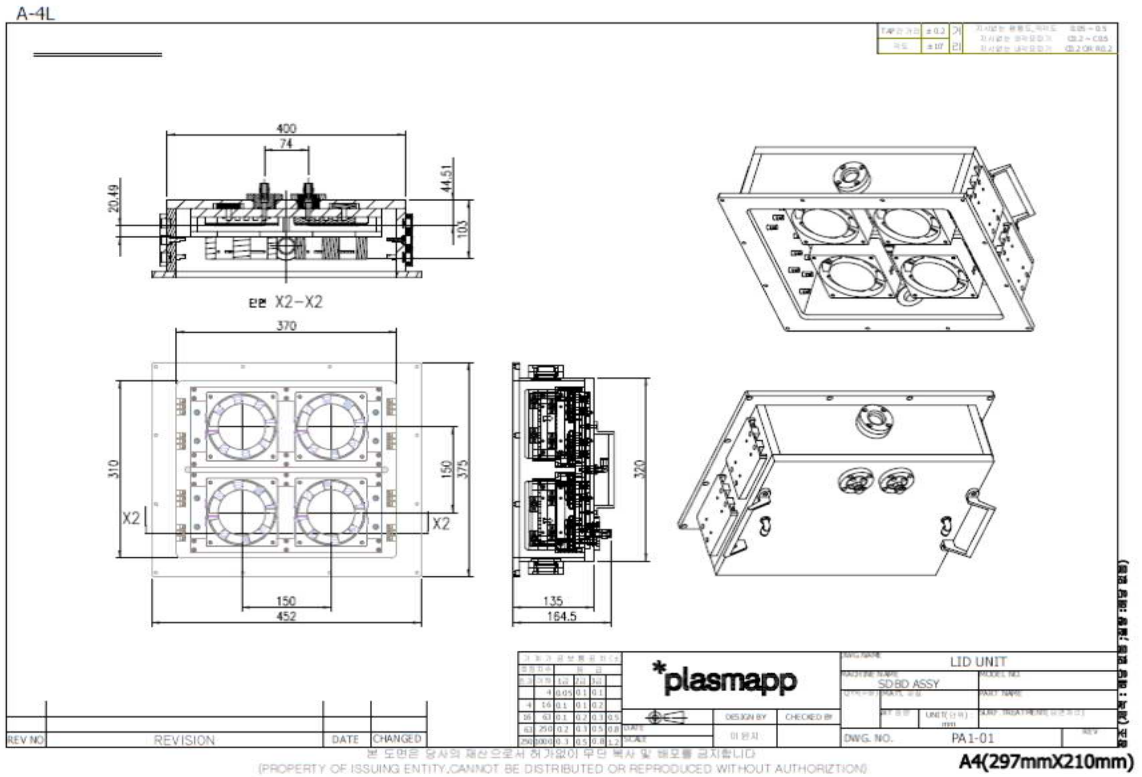
전극부 해체후 테이블 거치시에 흡기RING을
최대한 위로 상승후 거치
(SDBD브라켓과 5mm거리에서 바닥과 동일위치)

④ Frame 추가 제작

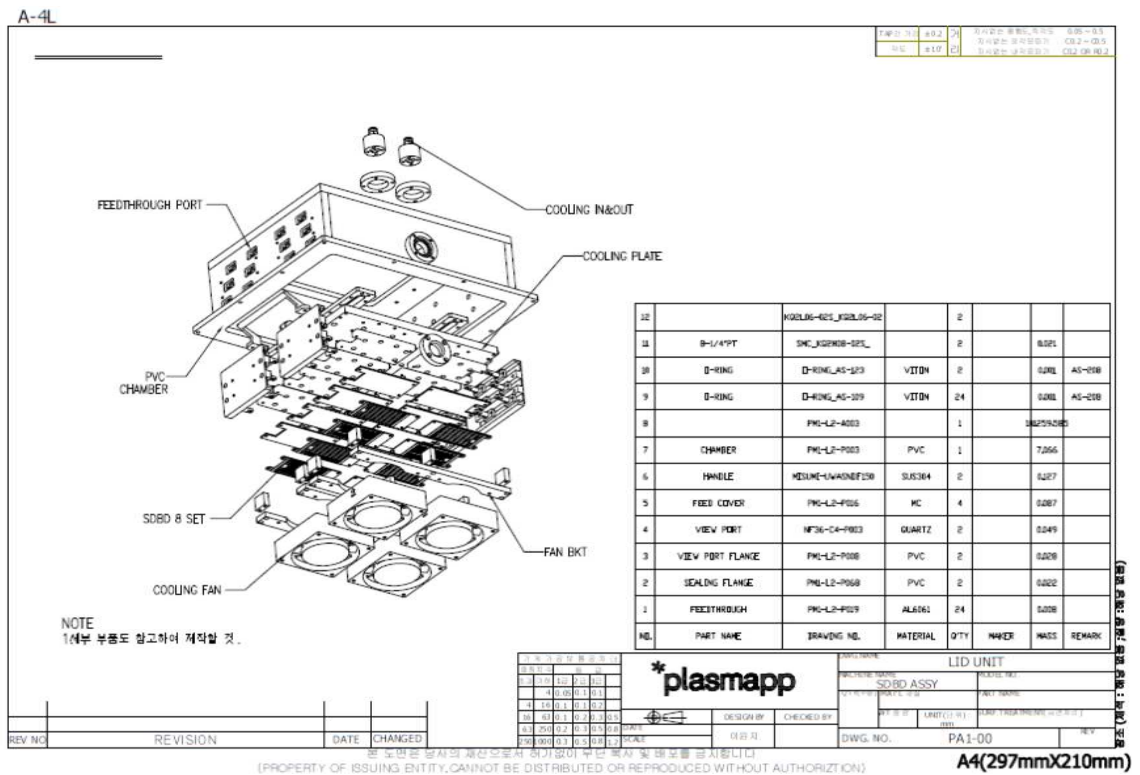
- 플라즈마 전극 추가에 따른 전원장치 추가 배치 필요성 반영
- 내화학성 펌프, 열교환기 등 추가 부품 배치 공간 반영
- 실험의 용이성을 위해 cover 탈부착 및 기기 조작성 감안하여 제작



⑤ 플라즈마 나노버블 장치 주요도면

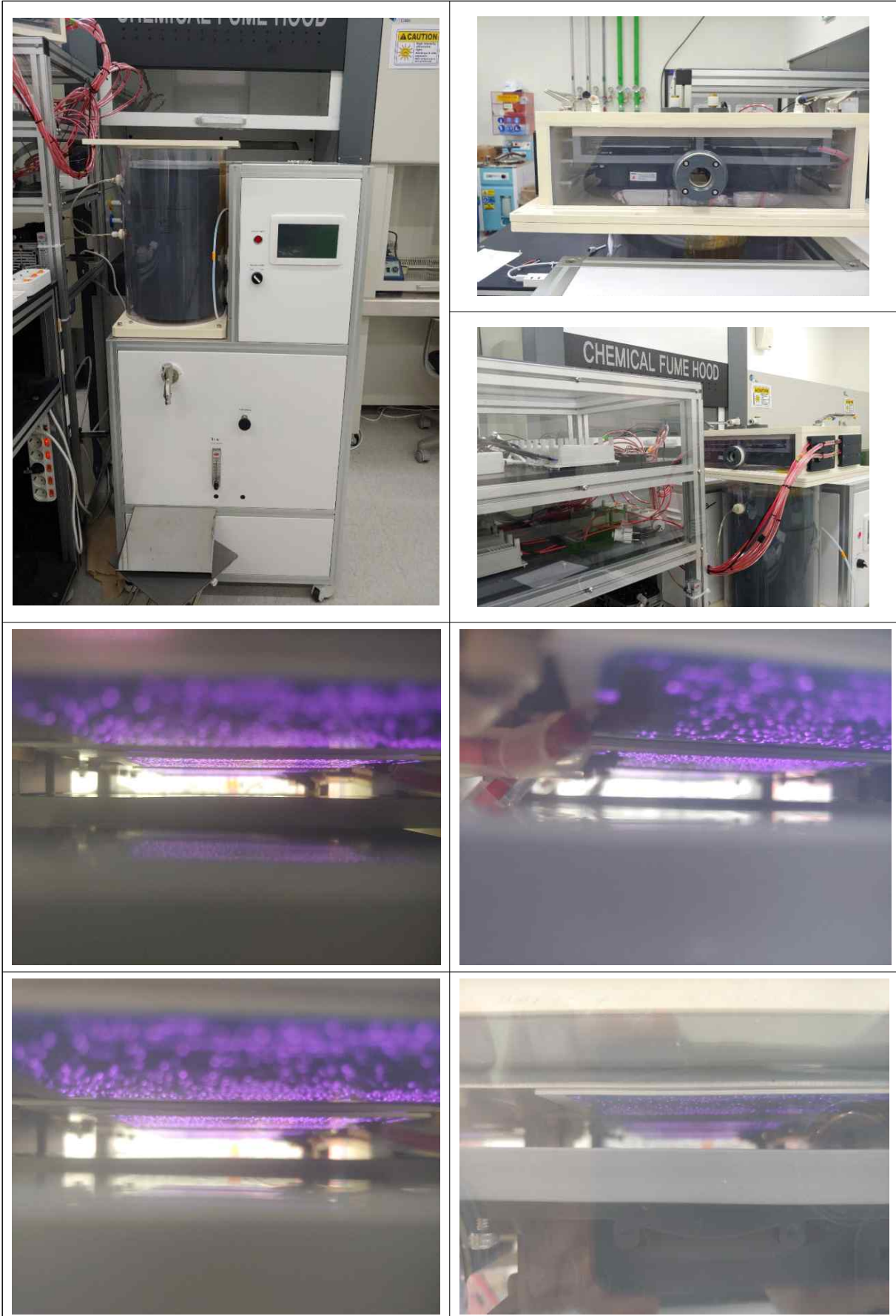


[LID Unit (1)]



[LID Unit (2)]

(나) 플라즈마 나노 버블 발생 장치 최종 제작 및 시운전



2-2. 플라즈마 살균기술의 효과 검증 및 플라즈마 공정 개발

가. 플라즈마 살균기술을 적용한 냉장유통 즉석섭취식품의 미생물 제어 효과 검증 및 최적 처리 조건 확립

(1) Lab scale 플라즈마수(plasma-activated water, PAW) 장치를 이용한 처리^{1, 2, 4, 10)}

(가) Lab scale 플라즈마수(PAW) 장치를 적용한 냉장유통 즉석섭취식품의 미생물 저해 효과 확인

① PAW 처리에 따른 미생물 저해 효과

㉠ PAW 처리를 이용한 떡볶이 떡에서의 미생물 저해 효과 확인

• 처리시간에 따른 플라즈마수 처리 시 토착 및 위해 미생물의 저해 효과 확인

- 떡볶이 떡은 미생물학적 안전성이 필요하며(Jeong et al., 2012) PAW처리를 통해 확보하려함
- PAW 장비로 20분 처리하여 만들어진 PAW로 떡볶이 떡을 10, 20, 30, 그리고 40분 동안 처리하였을 때 토착 미생물이 약 1.8, 2.5, 2.6, 그리고 3.0 log CFU/g만큼 저해되었음 (Fig. 1; $P < 0.05$); .

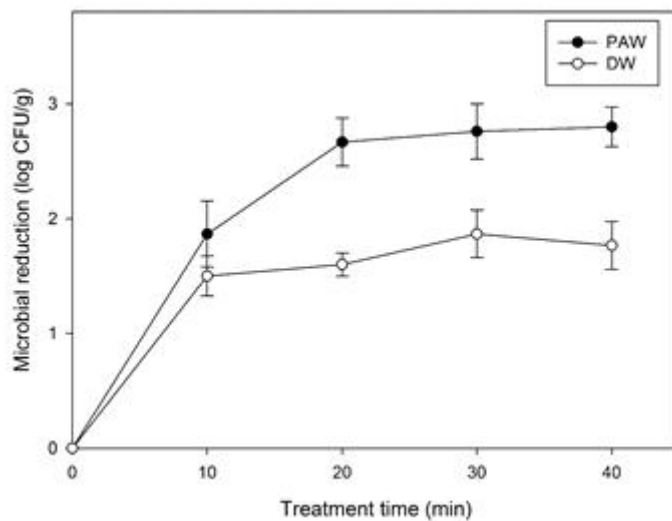


Figure 1. Inactivation of mesophilic aerobic bacteria on Korean rice cake treated with plasma-activated water (PAW) or distilled water (DW)

- PAW 장비로 20분 처리하여 만들어진 PAW로 떡볶이 떡을 10, 20, 30, 그리고 40분 동안 처리하였을 때 위해미생물 (*E. coli* O157:H7, *Salmonella* Typhimurium, *Listeria monocytogenes*, *Penicillium chrysogenum*)은 약 2 log CFU/g 정도 저해되었으며 *Candida albicans*은 약 1 log CFU/g만큼 저해되었음(Fig. 2, 3)

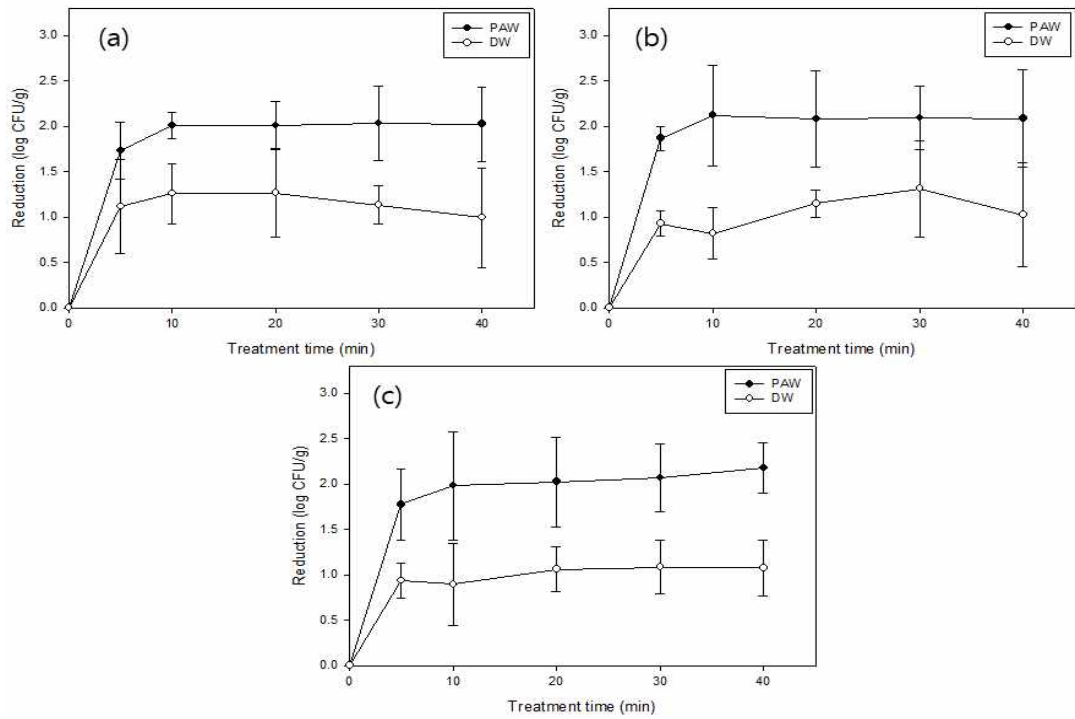


Figure 2. Reduction of foodborne pathogens on Korean rice cake treated with plasma activated water (PAW) or distilled water (DW); (a) *E. coli* O157:H7, (b) *S. Typhimurium*, (c) *L. monocytogenes*.

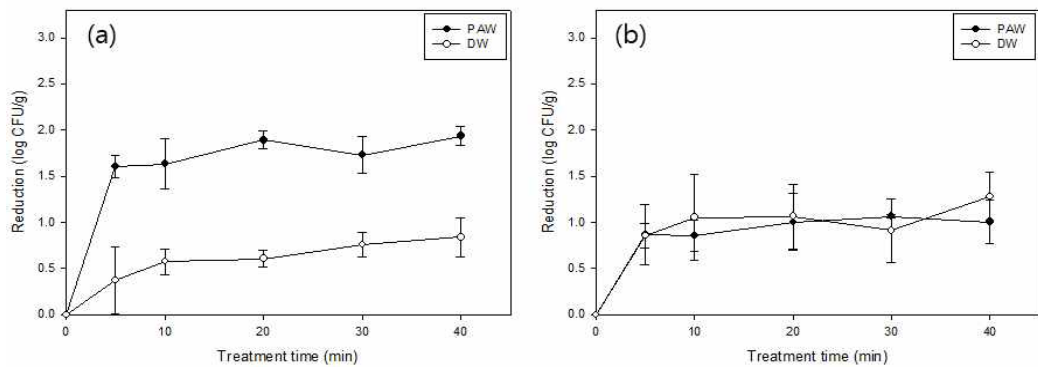


Figure 3. Reduction of *P. chrysogenum* (a) and *C. albicans* (b) on Korean rice cake treated with plasma activated water (PAW) or distilled water (DW)

㉞ PAW의 pH 효과에 대한 떡볶이 떡에서의 미생물의 저해 효과 확인

- PAW와 같은 pH (pH 2.5)로 조절된 HCl 용액으로 떡볶이 떡을 처리하여 토착 미생물 저해 정도를 비교했으며, 10분 처리를 제외한 PAW 처리가 HCl 처리보다 떡볶이 떡의 토착 미생물 저해 효과가 유의적으로 높았음 (Fig. 4; $P < 0.05$).

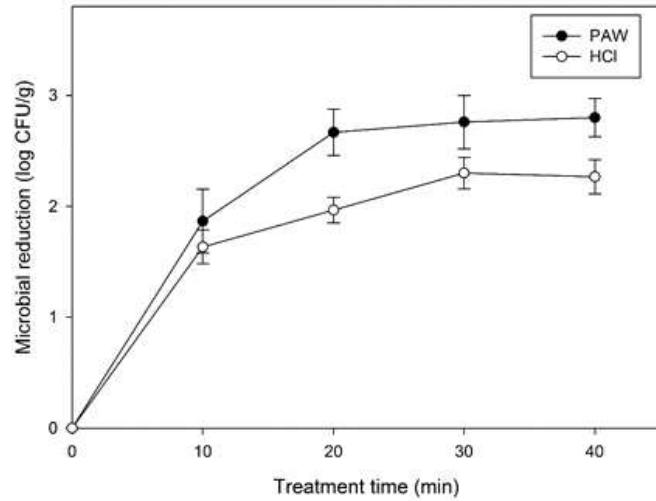


Figure 4. Reduction of mesophilic aerobic bacteria on Korean rice cake treated with plasma activated water (PAW) or HCl solution

- PAW와 같은 pH (pH 2.5)로 조절된 HCl 용액으로 떡볶이 떡을 처리하여 병원성 미생물(*Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* Typhimurium, *Listeria monocytogenes*) 저해 정도를 비교함. 처리시간이 짧을 때, 1 log CFU/g의 차이가 있었음 (Fig. 5).

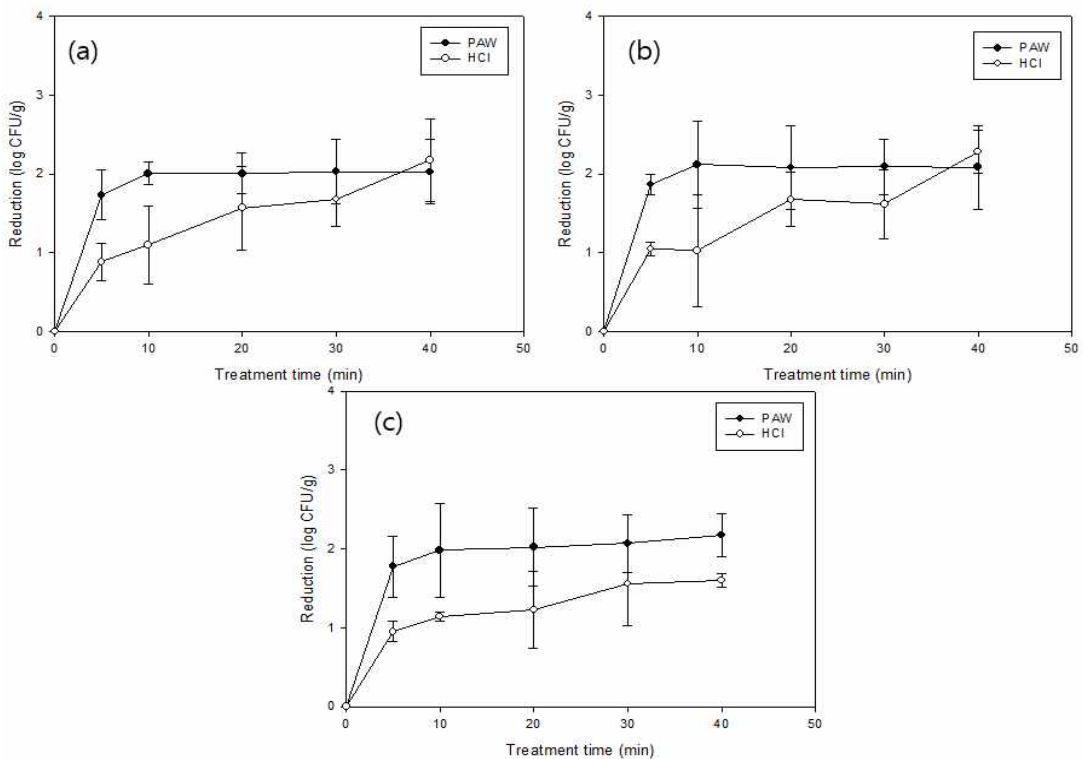


Figure 5. Reduction of foodborne pathogen Korean rice cake treated with plasma activated water (PAW) or hydrochloric acid (HCl, pH 2.5); (a) *E. coli* O157:H7, (b) *S. Typhimurium*, (c) *L. monocytogenes*.

㉔ PAW 처리와 기존 세척공정에서 떡볶이 떡에서의 미생물의 저해 효과 확인

- 차아염소산나트륨 용액(NaClO; 0.2 ppm)으로 떡볶이 떡을 10분 동안 처리하였을 때 토착 미생물이 약 1.4 log CFU/g 저해되었음. 같은 처리 시간에서 PAW 처리의 토착 미생물 저해 효과가 차아염소산나트륨 용액 처리 보다 유의적으로 높았음 (Fig 6; $P < 0.05$).

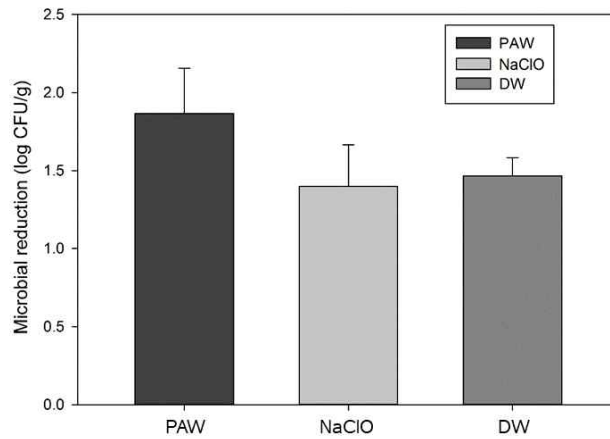


Figure 6. Reduction of mesophilic aerobic bacteria on Korean rice cake treated with plasma activated water (PAW) or sodium hypochlorite (NaOCl, 0.2 ppm) or distilled water (DW) for 10 min

- 차아염소산나트륨 용액(NaClO; 0.2 ppm)으로 떡볶이 떡을 10분 동안 처리하였을 때 병원성 미생물(*E. coli* O157:H7, *S. Typhimurium*, *L. monocytogenes*)이 약 1.5 log CFU/g 저해되었음. 같은 처리 시간에서 PAW 처리의 병원성 미생물 저해 효과가 차아염소산나트륨 용액 처리 보다 유의적으로 높았음(Fig. 7; $P < 0.05$).

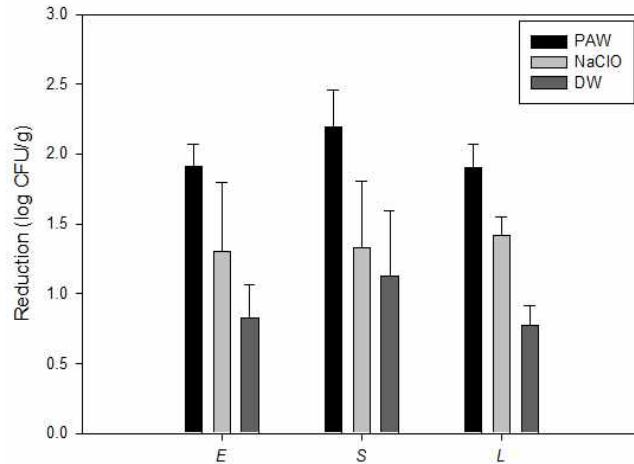


Figure 7. Reduction of foodborne pathogens on Korean rice cake treated with plasma activated water (PAW) or sodium hypochlorite (NaOCl, 0.2 ppm) or distilled water (DW) for 10 min; *E*: *E. coli* O157:H7, *S*: *Salmonella* Typhimurium, *L*: *Listeria monocytogenes*.

② PAW 처리가 떡볶이 떡의 이화학적 특성에 미치는 영향

㉓ 처리시간에 따른 PAW 처리 후 떡볶이 떡의 색도, 경도, pH 측정

- PAW 처리한 떡볶이 떡의 경도, 색도, 그리고 pH는 증류수 처리한 떡볶이 떡(대조군)의 경도, 색도, 그리고 pH와 유의적인 차이를 보이지 않았음(Table 1; $P > 0.05$).

Table 1. Effects of plasma-activated water (PAW) treatment on the color, pH, and firmness of Korean rice cake

	Treatment time (min)			
	PIW-treated		DW-treated	
	10	20	10	20
<i>L</i>*	78.2 ± 0.4a	77.1 ± 0.9a	77.1 ± 0.5a	77.1 ± 0.7a
<i>a</i>*	-1.4 ± 0.1a	-1.6 ± 0.2a	-1.6 ± 0.1a	-1.5 ± 0.1a
<i>b</i>*	6.9 ± 0.2a	6.3 ± 0.4a	6.3 ± 0.6a	6.2 ± 0.5a
pH	7.1 ± 0.0a	6.9 ± 0.3a	6.9 ± 0.2a	7.0 ± 0.1a
Firmness (kg)	2.4 ± 0.2a	2.3 ± 0.2a	2.4 ± 0.2a	2.3 ± 0.2a

㉔ 방전시간에 따른 PAW의 물리·화학적 특성 분석

- PAW의 pH는 플라즈마 방전 시간이 장비를 이용하여 5, 10, 15, 그리고 20분으로 처리한 PAW는 처리시간이 길어질수록 감소하였으며(Fig. 6; $P < 0.05$), 반면 PAW의 ORP와 electrical conductivity는 증가하였음 (Fig. 8)

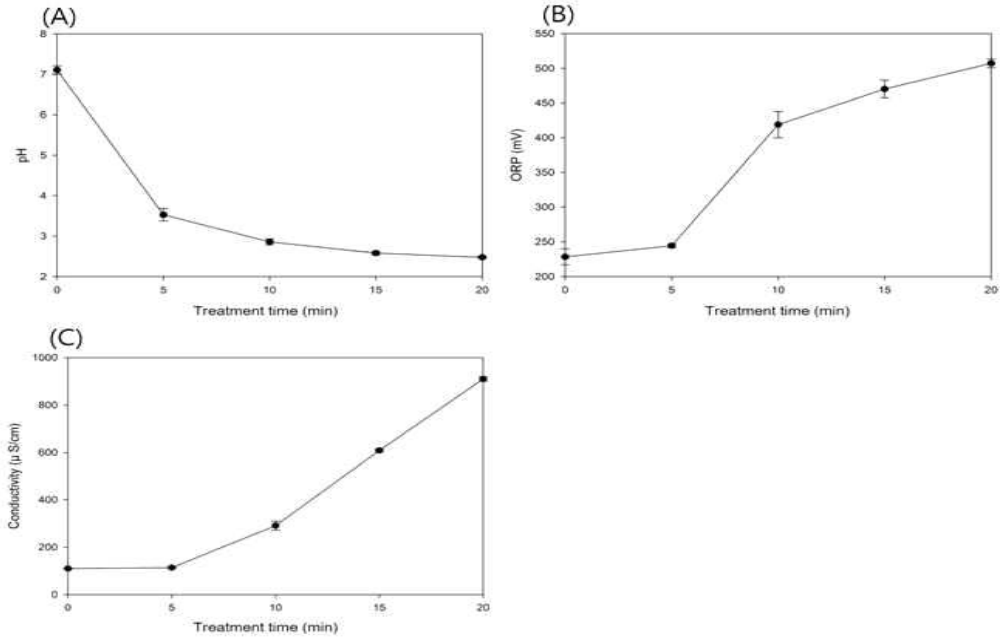


Figure 8. Effects of plasma treatment on the pH (A), oxidation-reduction potential (ORP) (B), and conductivity (C) of plasma-activated water

(나) Lab scale 플라즈마수(PAW) 장치를 적용한 냉장유통 즉석섭취식품의 최적 처리 조건 확립

① Lab scale 플라즈마수 장치의 플라즈마 활성종의 농도 측정 및 최적 조건 확립

- PAW 활성종의 농도와 짧은 처리시간에 대한 미생물 효과를 바탕으로 방전시간과 처리시간을 결정하는 것이 중요함
- 방전시간에 따른 PAW 내 활성종 농도 분석
 - 방전시간이 길어질수록 pH는 지속적으로 감소함 (Table 2)
 - 방전시간이 길어질수록 모든 활성종(O_3 , NO_2^- , NO_3^-)의 농도가 증가하나, 40분과 60분에서는 유의적인 차이를 보이지 않음 (Table 2; $P > 0.05$)

Table 2. Concentration of reactive species of plasma treated water

Treatment time (min)	pH	O ₃ (mg/l)	H ₂ O ₂ (mg/l)	NO ₂ ⁻ (ppm)	NO ₃ ⁻ (ppm)
0	5.53 ±	0.00 ±	0.00 ±	0.00 ±	0.08 ±
	0.27	0.00	0.00	0.00	0.04
20	2.83 ±	0.00 ±	0.09 ±	3.99 ±	160.53 ±
	0.04	0.00	0.01	2.07	23.05
0	5.38 ±	0.00 ±	0.00 ±	0.00 ±	0.08 ±
	0.10	0.00	0.00	0.00	0.04
40	2.55 ±	0.00 ±	0.16 ±	13.03 ±	316.60 ±
	0.01	0.00	0.05	0.87	0.18
0	5.62 ±	0.00 ±	0.02 ±	0.00 ±	0.08 ±
	0.29	0.01	0.04	0.00	0.04
60	2.22 ±	0.05 ±	0.15 ±	12.84 ±	498.79 ±
	0.27	0.09	0.08	6.01	34.83

^a Mean value ± standard deviation

- 활성종 측정 결과를 확인해볼 경우 20 min만 처리해도 pH는 3 이하로 내려가는 것이 확인되었으며, 처리할수록 아질산염과 질산염이 모두 증가하고 그 중에서도 질산염의 증가 속도가 더 빠른 것을 확인해 보았을 때에 질산염의 양이 가장 적으며 처리 시간이 가장 짧다는 장점이 있는 방전시간 20 분으로 처리한 PAW가 가장 효과적이라 할 수 있음

② PAW를 이용한 떡볶이 떡에서의 처리 파라미터 확립

㉞ 방전시간에 따른 PAW 처리 후 떡볶이 떡에서의 미생물 저해 효과 확인

- PAW 제조 시 방전시간이 5분에서 30분으로 길어질수록 PAW로 세척한 떡볶이 떡의 토착 미생물의 저해는 약 1.6 log CFU/g에서 3.5 log CFU/g으로 유의적으로 증가하였음(Fig. 9; $P < 0.05$).
- 방전 시간이 5분 그리고 10분일 때 PAW로 세척한 떡볶이 떡은 증류수로 세척한 떡(대조군)의 토착 미생물 저해율(약 1.7 log CFU/g)과 유의적인 차이를 보이지 않았음(Fig. 9; $P < 0.05$).
- 방전 시간이 20분 그리고 30분일 때에는 다른 방전시간보다 떡볶이 떡의 토착 미생물의 저해율이 유의적으로 높았음(Fig. 9; $P < 0.05$).
- 위 실험을 바탕으로 반응표면분석법을 이용하여 토착 미생물 처리 조건 최적화를 위한 방전 시간의 범위는 15분-30분으로 결정하였음.

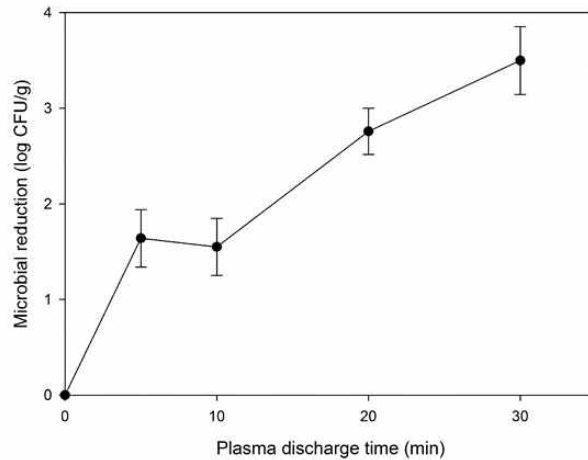


Figure 9. Effects of the plasma discharge time on the inactivation of indigenous mesophilic aerobic bacteria in rice cake by plasma-activated water treatment

- PAW 제조 시 방전 시간이 5분에서 30분으로 길어질수록 PAW로 세척한 떡볶이 떡의 coliform bacteria의 저해는 약 1.3 log CFU/g에서 2.2 log CFU/g으로 유의적으로 증가하였음(Fig. 10; $P < 0.05$).

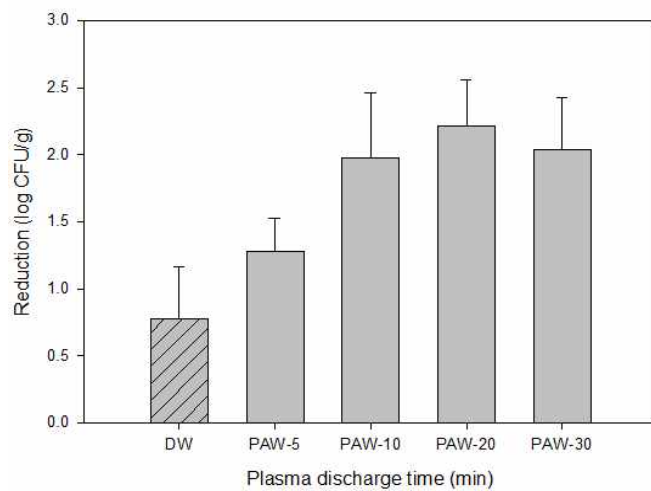


Figure 10. Microbial reduction of coliform bacteria on Korean rice cake subjected to PAW treatment on various plasma discharge time.

- 위 실험을 바탕으로 coliform bacteria 및 위해미생물의 처리 조건 최적화를 위한 방전 시간을 20분으로 결정하였음.

㉠ 시료 양에 따른 PAW 처리 후 떡볶이 떡에서의 미생물 저해 효과 확인

- PAW 세척 시 떡볶이 떡의 용량이 318 g에서 238, 158, 그리고 80 g으로 감소할 때 떡볶이 떡의 토착 미생물의 저해 정도가 약 2.0 log CFU/g에서 약 2.7, 2.9, 그리고 3.1 log CFU/g으로 유의적으로 증가하였음(Table 3; $P < 0.05$).

- 위 실험을 바탕으로 반응표면분석법을 이용하여 토착 미생물 처리 조건 최적화를 위한 떡볶이 떡의 용량의 범위는 120 g ~ 260 g으로 결정하였음.

Table 3. Effects of the weight of the rice cake on the inactivation of indigenous mesophilic aerobic bacteria in rice cake by plasma-activated water treatment

Weight of rice cake (g)	Microbial reduction (log CFU/g)
80	3.1±0.2a
158	2.9±0.3a
238	2.7±0.2a
318	2.0±0.3b

^a Mean value ± standard deviation

- 80-318 g의 떡볶이 떡에 PAW를 처리한 결과, 약 1.3-2 log CFU/g의 coliform bacteria의 저해율을 보였으며, 80, 158, 238 g에서의 저감화 효과 정도가 2 log CFU/g의 비슷한 수준을 보이며, 유의적으로 차이를 보이지 않음 (Fig. 11; $P > 0.05$).

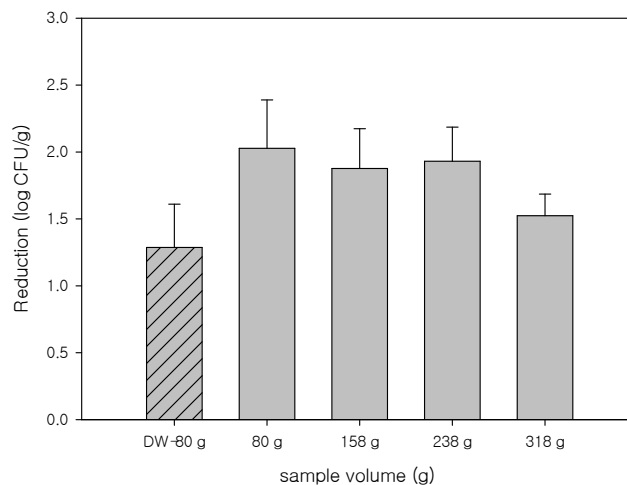


Figure 11. Microbial reduction of coliform on Korean rice cake subjected to PAW treatment on various mass.

- 위 실험을 바탕으로 coliform bacteria 및 위해미생물의 처리 조건 최적화를 위한 시료의 양을 80 g으로 결정하였음.

③ PAW를 이용한 미생물 저해 처리 파라미터 최적화 및 적용

㉓ 반응표면분석법을 이용하여 PAW 토착미생물 저해 최적 처리 조건 결정

- 반응표면분석법을 이용하여 PAW 처리 조건 최적화 실험을 통해 결정된 최적 조건은 방전 시간 28.7 분, 세척 시간 29 분, 떡볶이 떡의 용량 155.5 g이었으며, 예측된 토착 미생물 저해 정도는 3.2 log CFU/g이었음.

- 떡볶이 떡의 토착 미생물 저해에 영향을 주는 변수는 방전 시간과 떡볶이 떡의 용량이었음.
- ㉔ 최적 처리 조건을 이용하여 선별된 시료의 PAW 위해미생물 저해 효과 검증
 - 떡볶이 떡의 주요 위해미생물 *P. chrysogenum* 은 약 2 log CFU/g 의 미생물 저해 효과를 보이며 DW 처리와 유의적으로 차이를 보였으며(Table 4; $P < 0.05$), *C. albicans* 는 1 log reduction 일어났으며, DW 처리와 유의적으로 차이를 보이지 않았음(Table 4; $P > 0.05$).

Table 4. Microbial reduction on Korean rice cake subjected to optimized PAW treatment

Treatment		<i>P. chrysogenum</i>	<i>C. albicans</i>
Microbial reduction (log CFU/g)	DW	0.61 ± 0.14 A	1.06 ± 0.34 A
	PAW	1.97 ± 0.19 B	1.00 ± 0.31 B

^a Mean value ± standard deviation

- 로메인의 주요 위해미생물(병원성 미생물; *E. coli* O157:H7, *S. Typhimurium*, *L. monocytogenes*)은 약 2.2 log CFU/g 의 미생물 저해 효과를 보이며 DW 처리와 유의적으로 차이를 보였음(Table 5; $P < 0.05$).

Table 5. Microbial reduction on romaine lettuce subjected to optimized PAW treatment

Treatment		<i>E. coli</i> O157:H7	<i>S. Typhimurium</i>	<i>L. monocytogenes</i>
Microbial reduction (log CFU/g)	DW	0.91 ± 0.41 A	0.86 ± 0.15 A	0.76 ± 0.06 A
	PAW	2.40 ± 0.33 B	2.24 ± 0.26 B	2.20 ± 0.29 B

^a Mean value ± standard deviation

- ㉔ PAW 토착미생물 저해 최적 처리 조건에서의 주요 미생물 저해 인자 확인^{5, 6, 7)}
 - 결정된 최적 조건에서 증류수 (DW) 처리 시 토착 미생물의 저해율은 1.9 ± 0.1 log CFU/g으로 PAW 처리가 DW 처리보다 약 1.1 log CFU/g 더 높은 저해 효과를 보였으며, HCl 용액, plasma 처리된 PBS 용액, 그리고 PAW 처리 후 떡볶이 떡의 토착 미생물의 저해율은 각각 2.4 ± 0.1 , 2.8 ± 0.3 , 그리고 3.2 ± 0.3 log CFU/g이었음.
 - PAW treatment의 저해 효과가 HCl 용액 처리의 저해 효과보다 유의적으로 높은 ($P < 0.05$) 저해 효과를 보였지만, PAW 처리와 plasma 처리된 PBS 용액을 이용한 treatment가 그 저해 효과 면에서는 유의적인 차이를 확인할 수 없었음 ($P > 0.05$)

- 따라서 미생물 저해에 주요한 인자는 플라즈마 방전 시 발생하는 활성종에 의한 사멸일 수 있음

㉔ 최적 PAW 처리 조건을 이용하여 떡볶이 떡의 저장성 실험

- 0일차에서 D.W 처리 (water-treated), NaClO 용액 처리, 그리고 PAW 처리한 떡볶이 떡의 토착 미생물의 cell population은 각각 4.3 ± 0.7 , 3.7 ± 0.4 , 그리고 3.1 ± 0.5 log CFU/g이었음.
- 4 ° C에서 14일 동안 저장했을 때 아무 처리하지 않거나, D.W 처리, 그리고 NaClO 처리한 떡볶이 떡의 토착 미생물은 저장 중 cell population이 증가하여 저장 마지막 일자인 14일차에는 cell population이 각각 6.5 ± 0.3 , 6.3 ± 0.4 , 그리고 6.1 ± 0.4 log CFU/g으로 서로 유의적인 차이를 보이지 않았음($P > 0.05$, Fig. 12A).
- PAW 처리한 떡볶이 떡의 경우 저장 중 cell population이 유지되어 14일차에도 3.1 ± 0.8 log CFU/g으로 다른 시료들보다 유의적으로 낮았음($P < 0.05$, Fig. 12A).
- 10 ° C에서 14일 동안 저장했을 때에도 PAW처리한 떡볶이 떡을 제외하고 아무 처리하지 않거나, D.W 처리, 그리고 NaClO 처리한 떡볶이 떡의 cell population은 점점 증가하여 저장 마지막 일자인 14일차에는 cell population이 각각 7.1 ± 0.3 , 6.9 ± 0.3 , 그리고 6.9 ± 0.3 log CFU/g으로 서로 유의적인 차이를 보이지 않았으나 ($P > 0.05$, Fig. 12B), PAW 처리한 떡볶이 떡은 4 ° C 저장에서처럼 cell population이 유지하여 3.3 ± 0.5 log CFU/g으로 다른 시료들보다 유의적으로 낮은 값을 보였음 ($P < 0.05$, Fig. 12B).

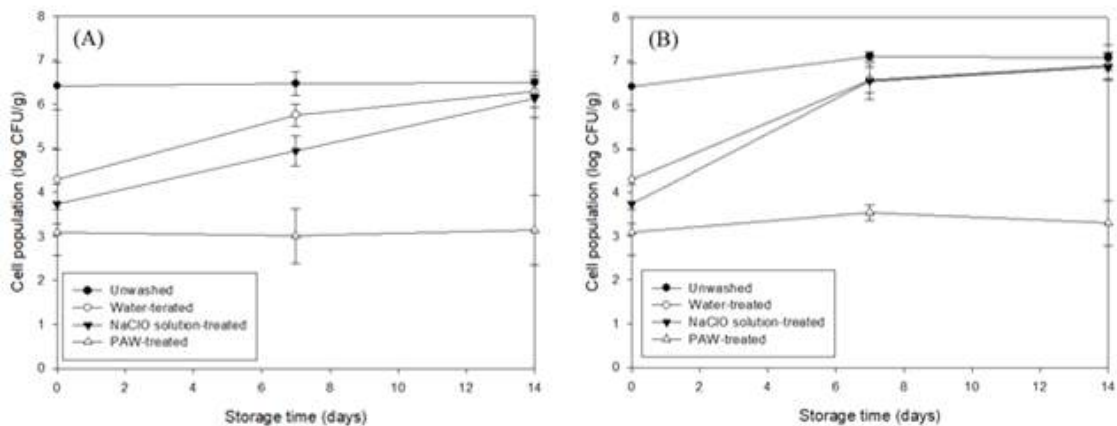


Figure 12. Effects of plasma-activated water (PAW) treatment on the growth of natural bacteria on Korean rice cake (KRC) during storage at 4 ° C (A) and 10 ° C (B); each symbols indicated unwashed (●), sterile distilled water-treated (○), NaClO solution-treated (▼), and PAW treated of KRC (△). Plasma discharge time, PAW treatment time and KRC mass were 28.7 min, 29 min, and 155.5 g, respectively.

(다) Lab scale 플라즈마수(PAW) 장치와 병행처리의 미생물 저해 효과 확인

① PAW 처리와 254 nm UV lamp 병행처리 시 떡볶이 떡의 미생물 저해

- PAW 와 254 nm UV lamp 병행처리 시, 단일처리에 비해 저해율에서 유의적인 차이를 보임 (Fig. 13; $P < 0.05$).
- PAW 와 254 nm UV lamp 병행처리 시, *E. coli* O157:H7의 3 log reduction을 달성하였으나, synergistic effect는 나타나지 않음 (Fig. 13)

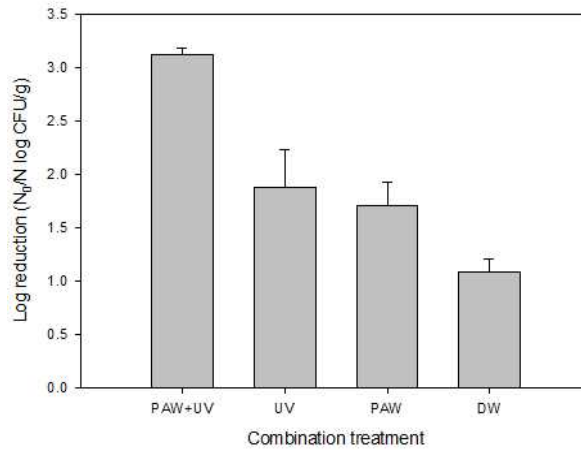


Figure 13. Microbial reductions of *E. coli* O157:H7 on Korean rice cake subjected to plasma activated water (PAW), 254 nm UV lamp and its combination treatments.

② PAW 처리와 organic acid와의 병행처리 시 떡볶이 떡의 미생물 저해

- PAW와 organic acid는 2% lactic acid를 사용하였으며, 떡볶이 떡에 동시처리가 단독 처리에 비해 효과적으로 미생물을 제어하나, 세척시간에 유의미한 영향을 받지 않음 (Fig. 14)
- PAW와 2% lactic acid 병행처리 시, 3 log reduction을 달성하였으나, synergistic effect는 나타나지 않음

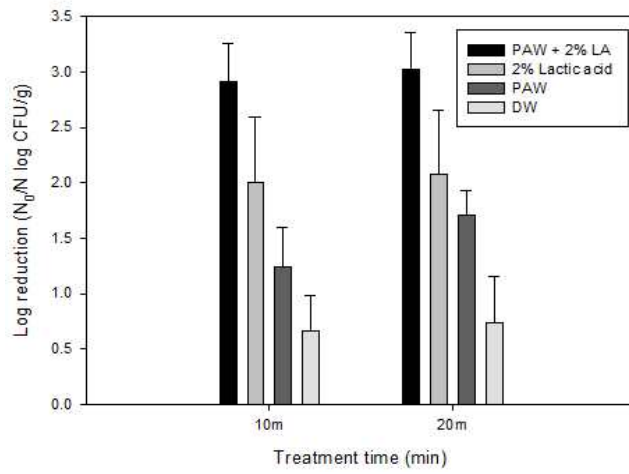


Figure 14. Microbial reductions of *E. coli* O157:H7 on Korean rice cake subjected to plasma activated water (PAW), 2% lactic acid and its combination treatments

(2) 나노버블플라즈마수 (Nano-bubble plasma activated water, NBPW) 장치를 이용한 처리

(가) 나노버블플라즈마수(NBPW) 장치를 적용한 냉장유통 즉석섭취식품의 미생물 저해 효과 확인

① Prototype plasma bubble-activated water를 이용한 처리

㉠ Plasma bubble-treated water를 이용한 처리에 떡볶이 떡에서의 미생물 저해 효과 확인

- 처리시간에 따른 plasma bubble-treated water 처리 시 토착 미생물의 저해 효과 확인

- Prototype plasma bubble-activated water 장치는 다음과 같음 (Fig. 15)

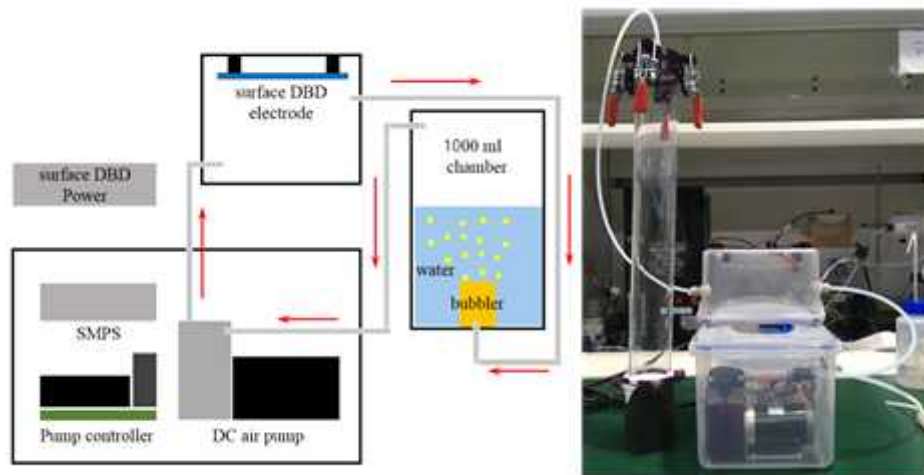


Figure 15. Schematic diagram of prototype plasma bubble-activated water treatment system

- Plasma bubble-treated water로 10분 그리고 20분 처리는 떡볶이 떡의 토착 미생물을 유의적으로 저해시키지 않았음(Fig. 16; $P > 0.05$).

- Plasma bubble-treated water 처리가 bubble-treated water(대조군)보다 40분과 60분 처리에서 떡볶이 떡의 토착 미생물 저해 효과가 높았음(Fig. 16; $P < 0.05$).

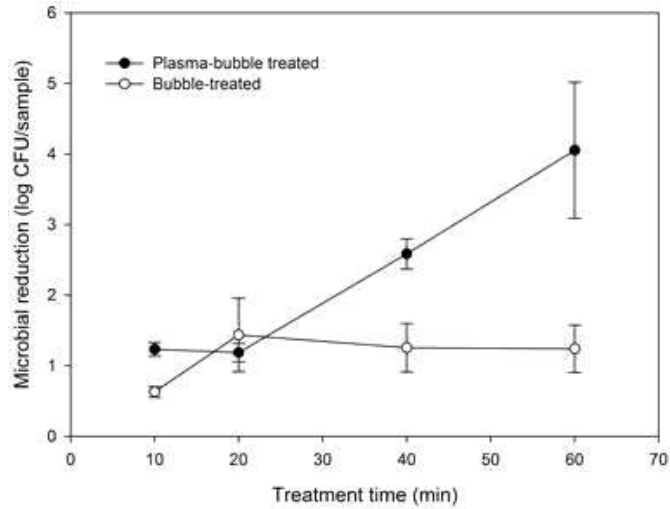


Figure 16. Effect of plasma bubble-treated on the inactivation of mesophilic aerobic bacteria on Korean rice cake

- 처리시간에 따른 plasma bubble-treated water 처리 시 위해미생물(*E. coli* O157:H7)의 저해 효과 확인
 - 떡볶이 떡에 플라즈마 버블 처리 시, 3 log reduction을 달성하는 것을 확인함 (Fig. 17)
 - 플라즈마 버블 처리 시, 에어 버블에 비해 유의적인 차이가 나는 것을 확인할 수 있음 (Fig. 17; $P > 0.05$).

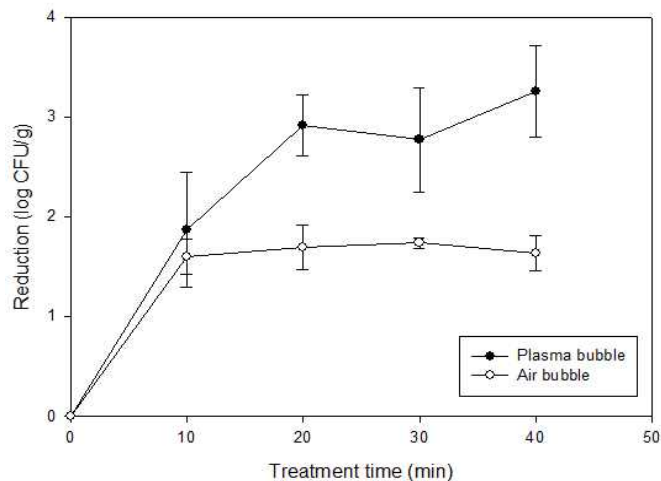


Figure 17. Microbial reductions of *E. coli* O157:H7 on Korean rice cake subjected to plasma bubble treated water and air bubble-only treatment

- 처리시간에 따른 plasma bubble-treated water 처리 시 용수에서의 위해미생물(*E. coli* O157:H7)의 저해 효과 확인
 - 처리용수에서도 에어 버블에 비해 플라즈마 버블이 효과적으로 미생물이 사멸함을

알 수 있음(Table. 6)

Table 6. Comparison of the populations of *E. coli* O157:H7 between plasma bubble or air bubble treated distilled water

Treatment time (min)	Treatment	
	Plasma bubble (log CFU/ml)	Air bubble (log CFU/ml)
10	1.53 ± 0.50 ^a	4.72 ± 0.10
20	1.45 ± 0.64	4.49 ± 0.42
30	1.30 ± 0.52	4.56 ± 0.09
40	1.30 ± 0.43	4.35 ± 0.22

^a Mean value ± standard deviation

- 플라즈마 버블 처리는 세척공정에서 미생물 안전성을 확보하기에 적합한 기술로 사료됨

㉔ Plasma bubble-treated water가 떡볶이 떡의 품질 특성에 미치는 영향

- 처리 시간에 따른 plasma bubble-treated water 처리 후 떡볶이 떡의 색도, pH 측정
- Plasma bubble-treated water는 60분 처리를 제외하고 떡볶이 떡의 색도에 영향을 미치지 않았음(Table 7; $P > 0.05$).

Table 7. Effects of plasma bubble treatment on the color of Korean rice cake

	Untreated	Treatment time (min)							
		Plasma-bubble-treated				Bubble-treated			
		10	20	40	60	10	20	40	60
L*	76.6 ± 1.7a	77.0 ± 0.7a	76.7 ± 1.3a	75.9 ± 2.6ab	75.1 ± 1.0b	77.3 ± 1.9a	75.5 ± 0.9ab	76.9 ± 0.8a	76.9 ± 1.5a
a*	-2.0 ± 0.1a	-2.1 ± 0.0a	-2.2 ± 0.3a	-2.2 ± 0.1a	-2.2 ± 0.2a	-2.0 ± 0.1a	-2.1 ± 0.2a	-2.2 ± 0.1a	-1.9 ± 0.1a
b*	5.8 ± 0.4a	5.8 ± 0.4a	5.6 ± 0.3a	5.7 ± 0.5a	6.3 ± 0.2a	5.7 ± 0.5a	5.7 ± 0.5a	5.6 ± 0.4a	5.6 ± 0.3a

(나) 나노버블플라즈마수(NBPW) 장치를 적용한 냉장유통 즉석섭취식품의 최적 처리 조건 확립

① NBPW (ver.1) 를 이용한 처리 파라미터 미생물 저해 효과 확인

㉔ 처리시간(5, 10, 20, 30분)에 따른 NBPW 처리 후 떡볶이 떡에서의 미생물 저해 효과 확인

- 나노버블플라즈마수(NBPW; ver. 1) 장치는 다음과 같음(Fig. 19)

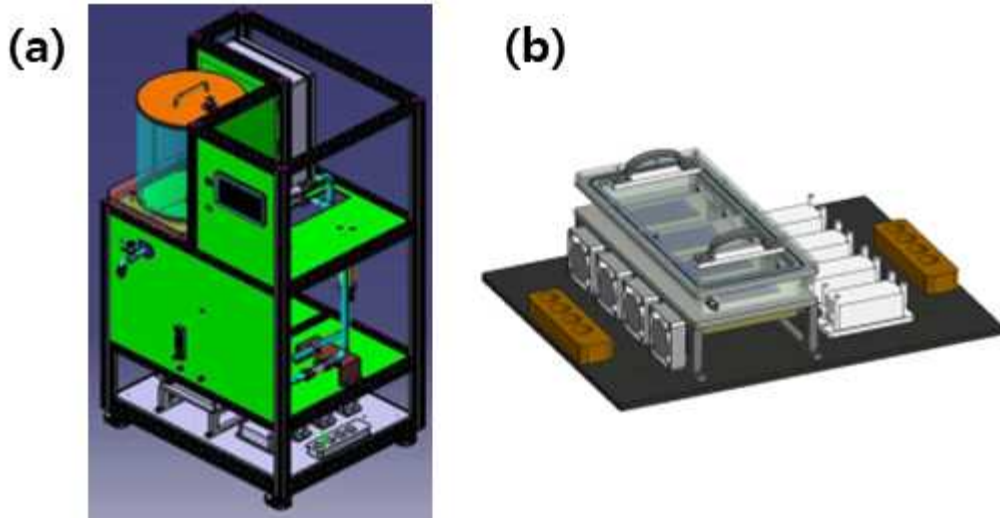


Figure 19. Schematic diagram of (a) nano-bubble plasma activated water treatment system and (b) applied plasma source (ver. 1)

- 30분 동안 처리한 NBPW로 로메인을 세척하였을 때, 30분 동안 세척한 로메인의 토착 미생물 저해 정도가 가장 높았음(Table 8).

Table 8. Effects of the washing time of nano-bubble plasma activated water of the inactivation of indigenous mesophilic aerobic bacteria in romaine

Washing time (min)	5	10	20	30
Microbial reduction (log CFU/g)	0.3	0.2	0.4	1.0

- 30분 동안 처리한 NBPW로 로메인을 세척하였을 때, 처리 시간 따른 위해미생물(*E. coli* O157:H7, *S. Typhimurium*, *L. monocytogenes*) 저해효과는 유의적으로 차이가 없었음(Table 9; $P > 0.05$)

Table 9. Microbial reduction on romaine lettuce using plasma nano-bubble water on various treatment time

Treatment time (min)	<i>E. coli</i> O157:H7	<i>S. Typhimurium</i>	<i>L. monocytogenes</i>
Microbial reduction (log CFU/g)			
5	1.81 ± 0.12 Aa	2.06 ± 0.12 A	0.82 ± 0.42 A
10	1.61 ± 0.17 A	1.72 ± 0.37 A	0.94 ± 0.56 A
20	1.68 ± 0.13 A	1.59 ± 0.46 A	0.90 ± 0.58 A
30	1.68 ± 0.19 A	1.79 ± 0.30 A	0.91 ± 0.52 A

^a Mean value ± standard deviation

- ② 개선된 NBPW (ver.3)를 이용한 처리 파라미터별 미생물 저해 효과 확인 및 최적 처리

조건 확립

㉔ 방전시간에 따른 NBPW 처리의 미생물 저해 효과 확인

- 방전시간에 따른 NBPW 처리 후 떡볶이 떡에서의 미생물 저해 효과 확인
 - 개선된 나노버블플라즈마수(NBPW; ver. 3) 장치는 다음과 같음(Fig. 20)

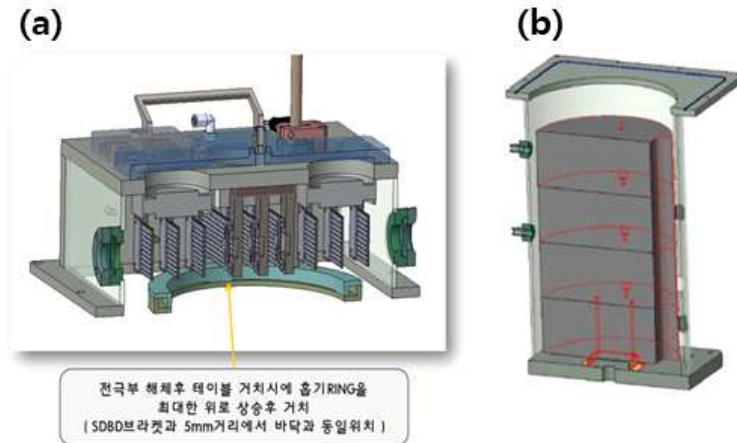


Figure 20. Schematic diagram of improved (a) plasma sources and (b) nano-bubble plasma activated water treatment chamber (ver. 3)

- 방전원의 냉각을 용이하게 하며, NBPW 제조 시 head space 를 감소하는 방향으로 개선함
- Distilled water로 세척했을 때 보다 NBPW로 세척 했을 때 떡볶이 떡의 토착 미생물 저해 정도가 높았음(Fig. 21; $P < 0.05$)
- 나노버블플라즈마 처리 시 방전 시간이 40분일 때보다 60분일 때 떡볶이 떡의 토착 미생물 저해 정도가 가장 높았음(Fig. 21; $P < 0.05$)

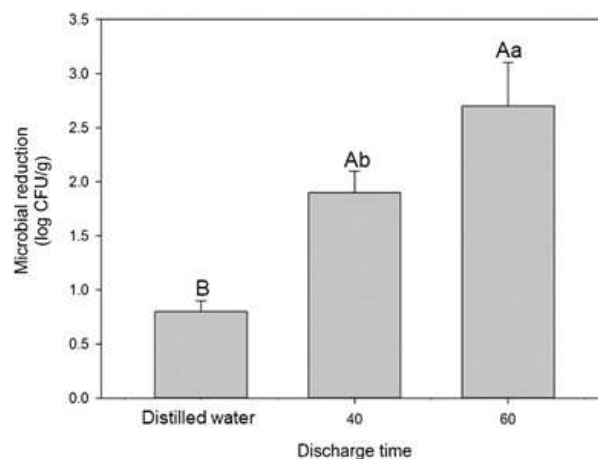


Figure 21. Effects of the discharge time of nano bubble plasma water of the inactivation of indigenous mesophilic aerobic bacteria in rice cake

- 나노버블플라즈마 처리 시 방전 시간이 40분일 때보다 60분일 때 떡볶이 떡에 접종

한 위해미생물 저해 정도가 가장 높았음(Fig. 22; $P < 0.05$)

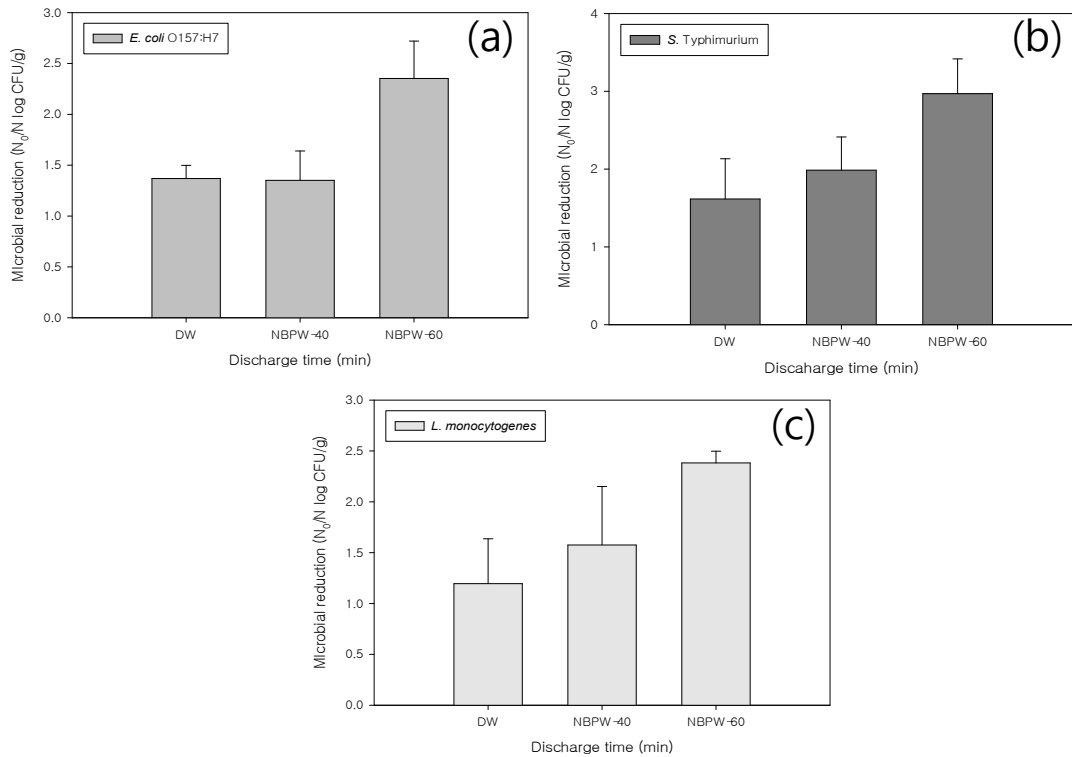


Figure 22. Microbial reductions of foodborne pathogens on Korean rice cake subjected to nano-bubble plasma activated water (NBPW) treatment within different discharge time; (a) *E. coli* O157:H7, (b) *S. Typhimurium*, (c) *L. monocytogenes*.

- 방전시간에 따른 NBPW 처리 후 로메인에서의 미생물 저해 효과 확인
 - Distilled water로 세척했을 때 보다 NBPW로 세척했을 때 로메인의 토착 미생물 저해 정도가 높았으며(Fig. 18; $P < 0.05$), 60분일 때 로메인의 토착 미생물 저해 정도가 가장 높았음(Fig. 23; $P < 0.05$).

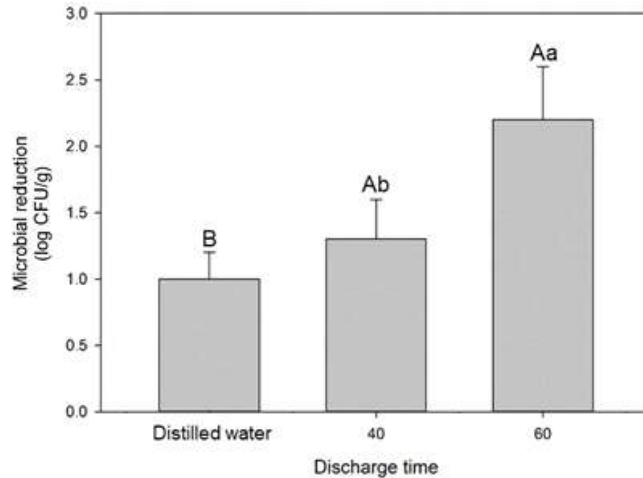


Figure 23. Effects of the discharge time of nano bubble plasma water of the inactivation of indigenous mesophilic aerobic bacteria in romaine

- 방전 시간이 60분일 때 로메인에 접종한 위해미생물 (*E. coli* O157:H7, *S. Typhimurium*, *L. monocytogenes*)이 가장 높은 저해율을 보임 (Fig. 24; $P < 0.05$).

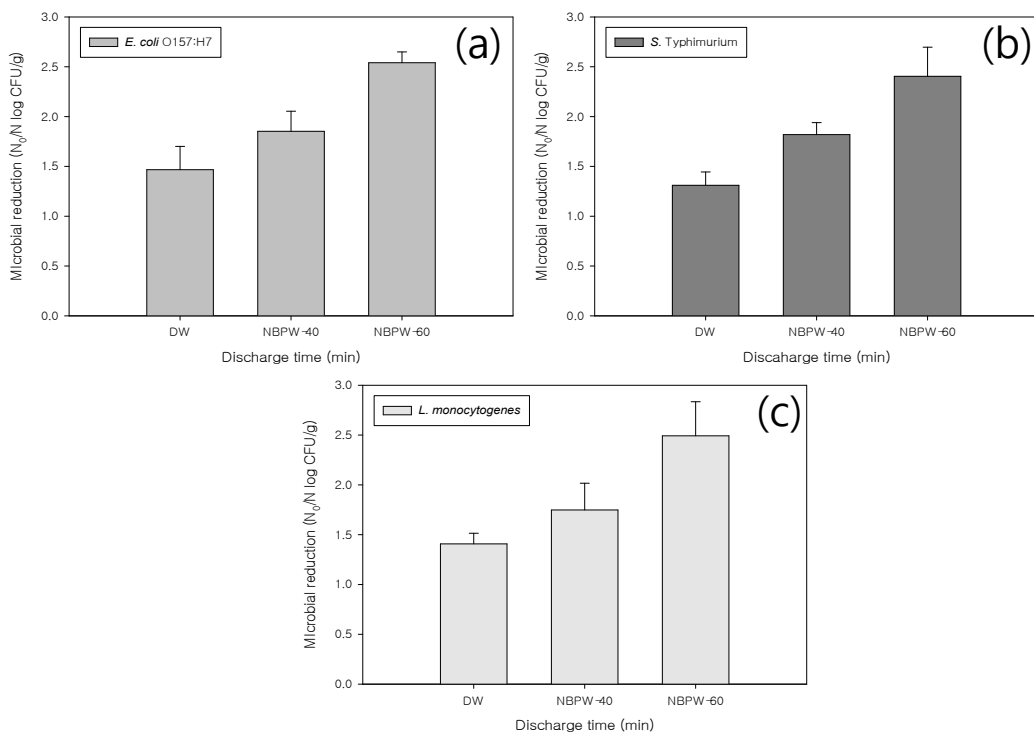


Figure 24. Microbial reductions of foodborne pathogens on romaine lettuce subjected to nano-bubble plasma activated water (NBPW) treatment within different discharge time; (a) *E. coli* O157:H7, (b) *S. Typhimurium*, (c) *L. monocytogenes*.

- 플라즈마 방전시간이 60분 일 경우, 미생물에 관계없이 가장 높은 저해율을 보이므로, NBPW처리 방전시간은 60분으로 결정함

㉔ 처리시간에 따른 NBPW 처리의 미생물 저해 효과 확인

- 처리시간에 따른 NBPW 처리 후 떡볶이 떡에서의 미생물 저해 효과 확인
 - 떡볶이 떡에 NBPW 처리 시, 모든 세척시간에서 DW 처리에 비해 토착 미생물을 유의적으로 저해했으며 (Fig. 25; $P < 0.05$), NBPW 처리 시, 처리시간에 따른 저해율은 유의적으로 증가함 (Fig. 25; $P < 0.05$)

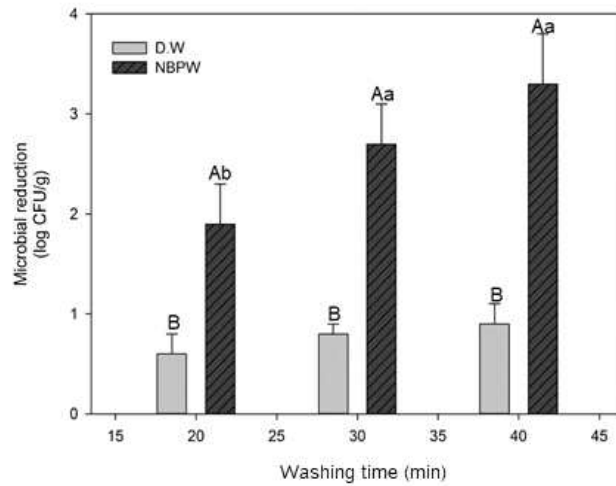


Figure 25. Effects of the washing time nano bubble plasma water of the inactivation of indigenous mesophilic aerobic bacteria in rice cake

- 떡볶이 떡에 NBPW 처리 시, 모든 세척시간에서 DW 처리에 비해 위해미생물을 유의적으로 저해했으나 (Fig. 26; $P < 0.05$), NBPW 처리 시, 처리시간에 따른 저해율은 유의적인 차이가 없었음 (Fig. 26; $P > 0.05$)

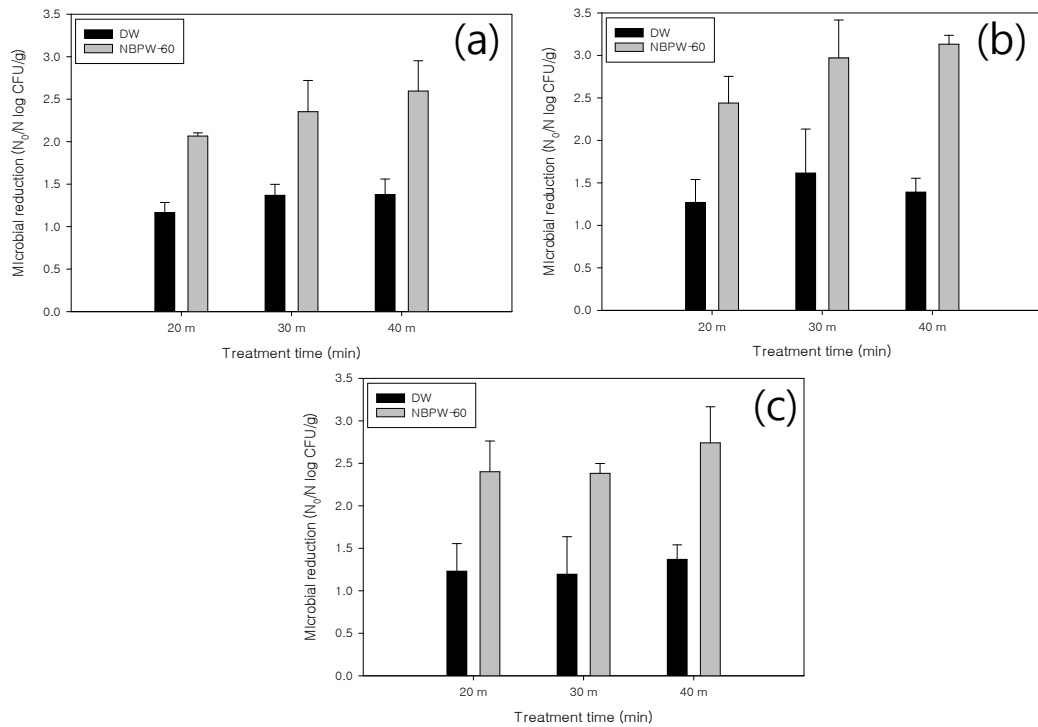


Figure 26. Microbial reductions of foodborne pathogens on Korean rice cake subjected to nano-bubble plasma activated water (NBPW) treatment within different washing time at 60 min discharge; (a) *E. coli* O157:H7, (b) *S. Typhimurium*, (c) *L. monocytogenes*.

- 처리시간에 따른 NBPW 처리 후 로메인에서의 미생물 저해 효과 확인
 - 로메인에 NBPW 처리 시, 모든 세척시간에서 DW 처리에 비해 토착 미생물을 유의적으로 저해했으나 (Fig. 27; $P < 0.05$), NBPW 처리 시, 처리시간에 따른 저해율은 유의적인 차이가 없었음 (Fig. 27; $P > 0.05$)

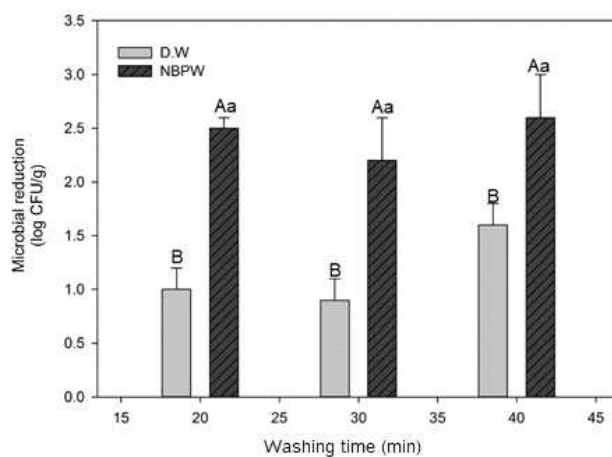


Figure 27. Effects of the washing time of nano bubble plasma water of the inactivation of indigenous mesophilic aerobic bacteria in romaine

- 로메인에 NBPW 처리 시, 모든 세척시간에서 DW 처리에 비해 위해미생물을 유의적으로 저해했으나 (Fig. 28; $P < 0.05$), NBPW 처리 시, 처리시간에 따른 저해율은 유의적인 차이가 없었음 (Fig. 28; $P > 0.05$)

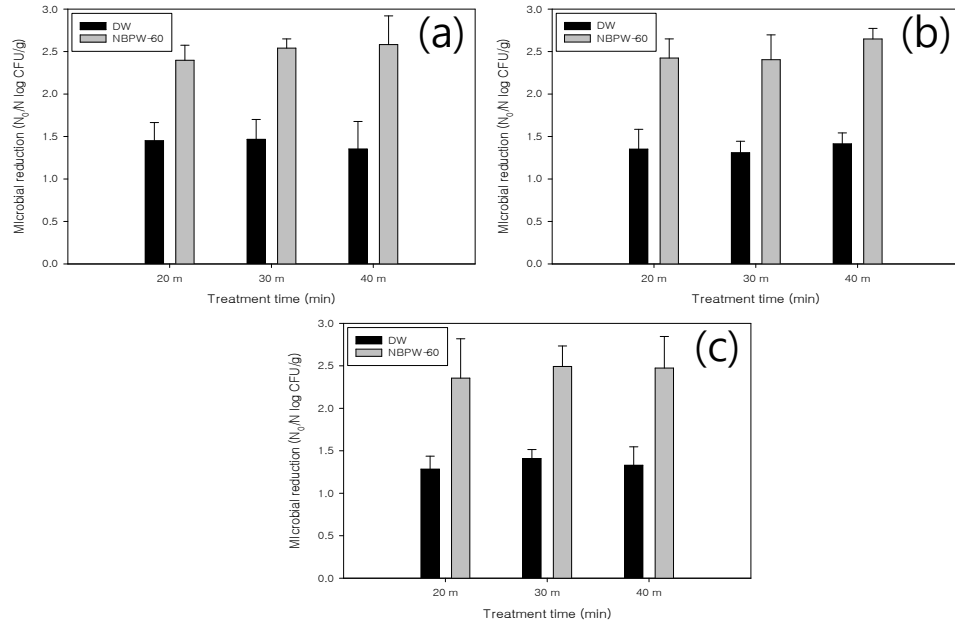


Figure 28. Microbial reductions of foodborne pathogens on romaine lettuce subjected to nano-bubble plasma activated water (NBPW) treatment within different washing time at 60 min discharge; (a) *E. coli* O157:H7, (b) *S. Typhimurium*, (c) *L. monocytogenes*.

(3) 포장 내 방전 플라즈마(In-package cold plasma)장치를 이용한 처리⁹⁾

(가) 전극간의 거리가 긴(35 mm) 포장 내 플라즈마 발생 장치(large gap-in-package cold plasma (CP)) 장비를 이용한 최적 처리 조건 확립

- ① Large gap-in-package CP 처리를 이용한 처리 파라미터 확립 및 최적화
- ② Large gap-in-package CP 처리에 떡볶이 떡에서의 토착 미생물 저해 효과 확인
 - 전극간의 거리가 긴(35 mm) 포장 내 플라즈마 발생 장치(large gap-in-package cold plasma (CP)) 장비는 다음과 같음(Fig. 29)

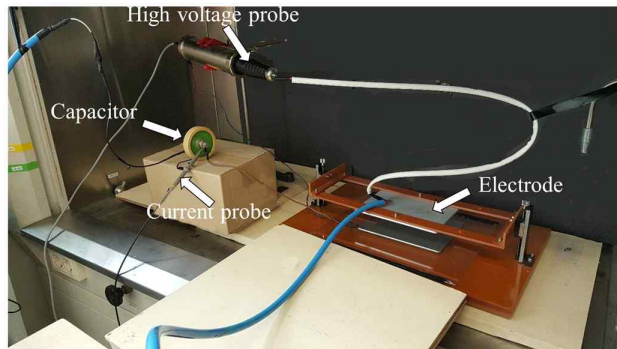


Figure 29. Schematic of the large gap-in-package cold plasma treatment system

- Large gap-in-package CP 처리 중 shaking은 떡볶이 떡의 토착 미생물의 저해율을 약 1.0 log CFU/g 증가시켰음(Fig. 30; $P < 0.05$).
- 포장 내 식품의 위치를 변수로 한 실험을 제외한 이후 실험에서는 Large gap-in-package CP 처리 중에 shaking을 하는 것으로 결정하였으며, 처리 중 shaking이 용이하게 이루어지도록 포장재 윗면과 상부 electrode 간의 거리는 0.5 cm로 고정하였음(Fig. 30).

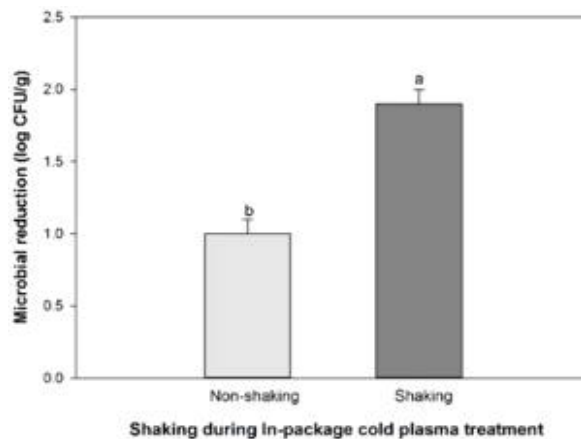


Figure 30. Effects of shaking the rice cake-containing package during the large gap-in-package cold plasma treatment on the inactivation of indigenous aerobic mesophilic bacteria in rice cake by the treatment

- Large gap-in-package CP 처리 시간이 1분에서 3분으로 증가할 때 떡볶이 떡의 토착 미생물의 저해율도 증가하였음(Fig. 25; $P < 0.05$). 하지만 3분, 4분, 그리고 5분에서 토착 미생물의 저해율은 유의적인 차이를 보이지 않았음(Fig. 31; $P > 0.05$).
- 이후 실험에서는 Large gap-in-package CP 처리 시간을 떡볶이 떡의 토착 미생물의 저해율이 유의적으로 높으면서 가장 짧은 시간인 3분으로 결정하여 진행하였음.

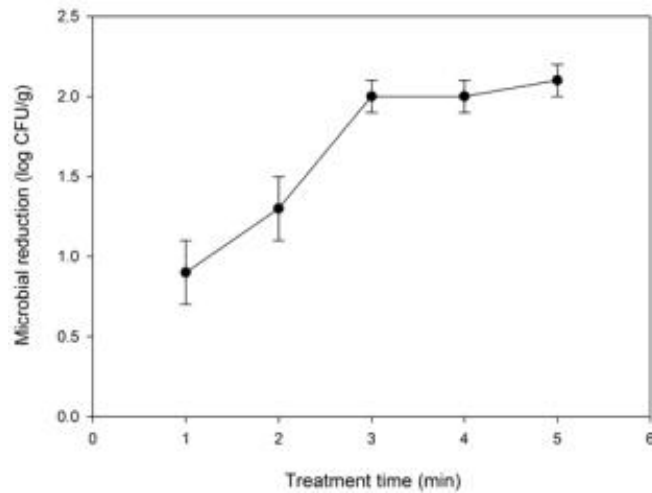


Figure 31. Effects of the large gap-in-package cold plasma treatment time on the inactivation of indigenous mesophilic aerobic bacteria in rice cake

- Large gap-in-package CP 처리는 포장 내 떡볶이 떡의 위치를 다음과 같이 결정하였음 (Fig. 32)

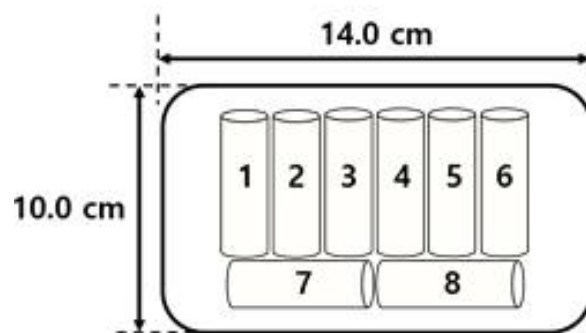


Figure 32. Description of packaged rice cake in a polyethylene terephthalate container subjected to large gap-in-package cold plasma treatment

- Large gap-in-package CP 처리는 포장 내 떡볶이 떡의 위치와 상관없이 토착 미생물을 균일하게 저해시켰음(Table 10; $P > 0.05$).

Table 10. Effects of large gap-in-package cold plasma treatment on the inactivation of indigenous mesophilic aerobic bacteria in rice cake at the designated positions in the container

Sample (Numbers designated in Fig. 3)	Microbial reduction (log CFU/g)
1	1.0±0.3a
2	0.9±0.3a
3	0.9±0.1a
4	1.0±0.3a
5	0.8±0.1a
6	0.9±0.0a
7	0.9±0.1a
8	1.0±0.4a

- Large gap-in-package CP 처리 시 포장 내 떡볶이 떡의 개수가 4개 그리고 8개일 때 토착 미생물의 저해율은 유의적인 차이가 없었으나(Table 11; $P > 0.05$) 떡볶이 떡이 12개일 때에는 토착 미생물의 저해율이 유의적으로 낮았음(Table 11; $P < 0.05$).

Table 11. Effects of the number of pieces of the rice cake in the polyethylene terephthalate container on the inactivation of indigenous mesophilic aerobic bacteria in rice cake by large gap-in-package cold plasma treatment

Number of samples (pieces)	Head space volume to sample volume ratio	Microbial reduction (log CFU/g)
4	7 : 1	1.9±0.1a
8	3 : 1	2.0±0.1a
12	2 : 1	1.4±0.1b

- 위의 실험들을 토대로 large gap-in-package CP 처리의 최적 조건은 처리 전압 25 kV, 처리 시간 3분, 처리 중 shaking 진행, 포장재 윗면과 상부 electrode 간의 거리 0.5 cm, 그리고 떡볶이 떡의 개수 8개로 결정하였음.
- 결정된 large gap-in-package CP 처리 최적 조건에서 CP 처리는 떡볶이 떡에 접종된 *Salmonella*를 1.4±0.1 log CFU/g 저해시켰으며, 최적 처리 조건에서 shaking하지 않았을 때 떡볶이 떡에 접종된 Tulane Virus를 0.5±0.1 log PFU/g 저해시켰음.

㉞ Large gap-in-package CP 처리가 떡볶이 떡의 색도에 미치는 영향

- Large gap-in-package CP 처리 중 shaking은 떡볶이 떡의 색도를 변화시키지 않았음 (Table 12; $P > 0.05$).

Table 12. Effects of the shaking of the rice cake-containing package during large gap-in-package cold plasma treatment on the color of rice cake

Treatments		L^*	a^*	b^*
	Untreated	74.7±0.8a	-1.6±0.3a	7.3±0.4a
CP-treated	Non-shaking	74.5±0.9a	-1.6±0.3a	7.3±0.4a
	Shaking	74.5±0.8a	-1.6±0.2a	7.0±0.5a

- Large gap-in-package CP 처리는 처리 시간에 상관없이 떡볶이 떡의 색도를 변화시키지 않았음(Table 13; $P > 0.05$).

Table 13. Effects of the treatment time of large gap-in-package cold plasma on the color of rice cake

Treatment time (min)	L^*	a^*	b^*
0	74.7±0.8a	-1.6±0.3a	7.2±0.4a
1	74.7±1.2a	-1.3±0.1a	7.1±0.3a
2	74.9±1.4a	-1.5±0.2a	6.7±0.5a
3	74.5±0.8a	-1.6±0.2a	7.0±0.5a
4	74.1±1.4a	-1.5±0.2a	6.8±0.3a
5	74.0±1.0a	-1.6±0.2a	6.8±0.5a

- Large gap-in-package CP 처리는 포장 내 식품의 위치와 상관없이 떡볶이 떡의 색도를 변화시키지 않았음(Table 14; $P > 0.05$).

Table 14. Effects of large gap-in-package cold plasma treatment on the color of rice cake at designated positions in the container

Sample	Untreated			CP-treated		
	L^*	a^*	b^*	L^*	a^*	b^*
1	74.5±1.8a	-1.6 ±0.1a	7.4±1.7a	74.4±0.5a	-1.5±0.1a	6.7±0.3a
2	74.2±1.1a	-1.6 ±0.1a	7.0±2.3a	73.6±1.0a	-1.6±0.1a	6.2±0.6a
3	74.3±1.9a	-1.6 ±0.1a	7.2± 1.4a	73.1±1.8a	-1.6±0.1a	6.1±0.4a
4	74.2±0.8a	-1.7±0.2a	7.0±1.2a	73.0±1.0a	-1.5±0.1a	5.9±0.4a
5	73.9±1.1a	-1.7 ±0.2a	7.0±1.1a	73.2±1.6a	-1.5±0.1a	6.6±0.4a
6	73.9±0.9a	-1.6 ±0.2a	7.2±1.3a	73.1±0.9a	-1.5±0.1a	6.3±0.7a
7	73.8±1.5a	-1.6±0.1a	7.3±2.0a	73.3±1.1a	-1.5±0.2a	6.2±1.2a
8	74.8±1.4a	-1.6±0.1a	6.8±2.0a	74.3±0.9a	-1.5±0.1a	6.8±1.0a

- Large gap-in-package CP 처리는 포장 내 떡볶이 떡의 개수와 상관없이 떡볶이 떡의 색도를 변화시키지 않았음(Table 15; $P > 0.05$).

Table 15. Effects of the number of rice cake on the color of rice cake treated by large gap-in-package cold plasma treatment

Number of samples (pieces)	L^*	a^*	b^*
Untreated	74.7±0.8a	-1.6±0.3a	7.2±0.4a
4	73.9±1.0a	-1.7±0.1a	6.9±0.3a
CP-treated 8	74.5±0.8a	-1.6±0.2a	7.0±0.5a
12	74.0±1.1a	-1.4±0.1a	6.9±0.7a

(나) 포장 내 플라즈마 발생 장치(in-package cold plasma, IPP) 장비를 이용한 떡볶이 떡의 토착 미생물 저해를 위한 최적 처리 조건 확립

- ① IPP 처리를 이용한 처리 파라미터 확립 및 최적화
- ② IPP 처리에 떡볶이 떡에서의 토착 미생물 저해 효과 확인
 - IPP 처리 장치에 대한 모식도는 figure 33과 같음

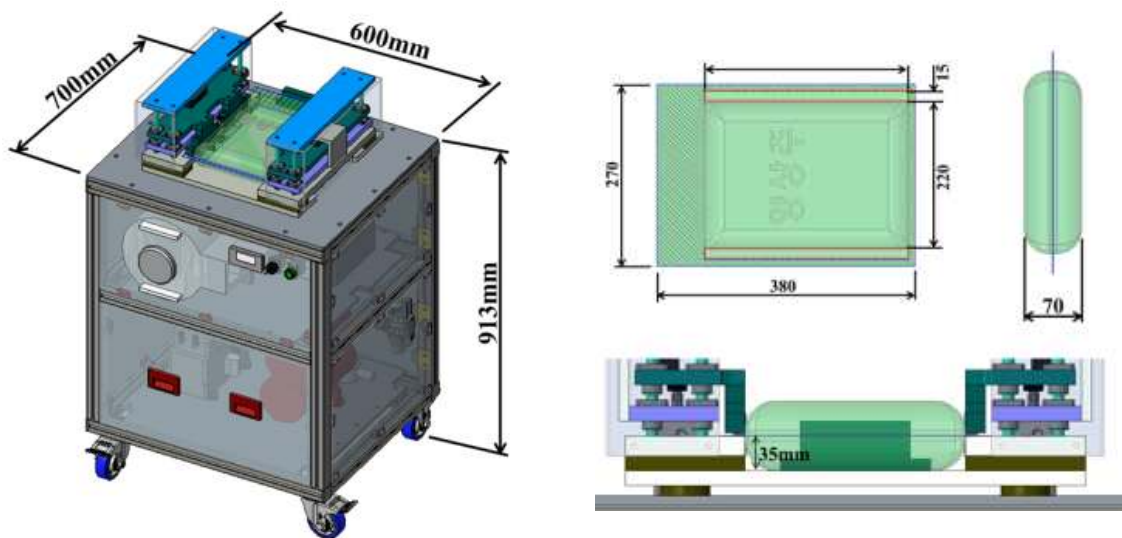


Figure 33. Schematic diagram of in-package cold plasma treatment system

- IPP 처리시 처리 시간은 떡볶이 떡의 토착 미생물 저해에 영향을 주지 않았음(Table 16; $P > 0.05$).

Table 16. Effects of the in-package cold plasma treatment time on the inactivation of indigenous mesophilic aerobic bacteria in rice cake

Treatment time (min)	3	5	10
Microbial reduction (log CFU/g)	0.6±0.1a	0.6±0.2a	0.7±0.1a

- IPP 처리시 처리 시간은 떡볶이 떡의 위해미생물 (coliform bacteria) 저해에 영향을 주지 않았음(Table 17; $P > 0.05$).

Table 17. Effects of the in-package cold plasma treatment time on the inactivation of coliform bacteria in rice cake

Treatment time (min)	3	5	10
Microbial reduction (log CFU/g)	0.50±0.42 A	0.76±0.52A	0.79±0.40A

- 이후 실험에서는 IPP 처리 시간을 가장 짧은 시간인 3분으로 결정하여 진행하였음.
- IPP 처리 시 포장 내 식품의 비율을 일정하게 유지하면서 포장재 크기가 작아졌을 때 떡볶이 토착 미생물의 저해 정도가 유의적으로 증가하였음(Table 18; $P < 0.05$).

Table 18. Effects of dimension of container on the inactivation of indigenous aerobic mesophilic bacteria in rice cake by in-package cold plasma treatment

Dimension of container (width × depth; cm)	21 × 23	14 × 20
Microbial reduction (log CFU/g)	0.6±0.1b	1.2±0.2a

- IPP 처리시 처리 전압은 떡볶이 떡의 토착 미생물 저해에 영향을 주지 않았음(Table 19; $P > 0.05$).

Table 19. Effects of the in-package cold plasma treatment power on the inactivation of indigenous mesophilic aerobic bacteria in rice cake

Treatment power (W)	20	60	80
Microbial reduction (log CFU/g)	1.2±0.2a	1.3±0.2a	1.2±0.2a

(다) In-package cold plasma (IPP) 장치를 이용한 떡볶이 떡의 미생물(토착 세균, 토착 진균류, *Bacillus cereus* spores, *E. coli* O157:H7, *Penicillium chrysogenum*) 저해를 위한 최적 처리 조건 확립

① IPP 처리를 이용한 처리 파라미터 확립 및 최적화

㉠ IPP 처리에 따른 떡볶이 떡에 오염된 *E. coli* O157:H7 저해 효과 확인

- IPP 처리 전력이 10 W에서 30 W로 증가할 때 떡볶이 떡의 *E. coli* O157:H7의 저해율도 증가하였음(Table 21; $P < 0.05$). 하지만 30 W와 50 W에서 *E. coli* O157:H7의 저해율은 유의적인 차이를 보이지 않았음(Table 21; $P > 0.05$).

Table 21. The effects of the in-package cold plasma treatment power on the inactivation of *E. coli* O157:H7 in the Korean rice cake by the cold plasma treatment

Power (W)	Microbial reduction (log CFU/g)
10	1.0 ± 0.1 c
30	1.6 ± 0.2 b
50	1.6 ± 0.4 b

- 이후 실험에서는 IPP 처리 전력을 떡볶이 떡의 *E. coli* O157:H7의 저해율이 유의적으로 높으면서 가장 낮은 전력인 30 W로 결정하여 진행하였음.
- IPP 처리 중 shaking은 떡볶이 떡의 *E. coli* O157:H7 저해 정도에 영향을 주지 않았음 (Table 22; $P > 0.05$).

Table 22. The effects of shaking the rice cake-containing package during the in-package cold plasma treatment on the inactivation of *E. coli* O157:H7 in Koreanrice cake by the treatment

Treatment	Microbial reduction (log CFU/g)
Non-shaking	1.6 ± 0.4 a
shaking	1.4 ± 0.1 a

- IPP 처리 중에 shaking을 하지 않는 것으로 결정하였음.
- IPP 처리 시간이 3분에서 4분으로 증가할 때 떡볶이 떡의 *E. coli* O157:H7의 저해율도 증가하였음(Table 23; $P < 0.05$). 하지만 4분과 5분에서 *E. coli* O157:H7의 저해율은 유의적인 차이를 보이지 않았음(Table 23; $P > 0.05$).

Table 23. The effects of the cold plasma treatment time on the inactivation of *E. coli* O157:H7 in the Korean rice cake by the in-package cold plasma treatment

Time (min)	Microbial reduction (log CFU/g)
3	1.6 ± 0.2 b
4	2.2 ± 0.1 a
5	2.0 ± 0.2 a

- 이후 실험에서는 IPP 처리 시간을 떡볶이 떡의 *E. coli* O157:H7의 저해율이 유의적으로 높으면서 가장 짧은 시간인 4분으로 결정하여 진행하였음.
- IPP 처리 시 포장 재질이 nylon+LDPE 그리고 nylon+PP일 때, *E. coli* O157:H7의 저해 정도가 유의적으로 높았음(Table 24; $P < 0.05$).

Table 24. Effects of packaging materials on inactivation of *E. coli* O157:H7 in the Korean rice cake by the in-package cold plasma treatment

Number of samples (pieces)	LDPE	PP	Nylon+LDPE	Nylon+PP
Microbial reduction (log CFU/g)	2.0 ± 0.1 b	1.9 ± 0.1 b	2.2 ± 0.1 a	2.3 ± 0.2 a

- 이후 실험에서는 포장 재질을 떡볶이 떡의 *E. coli* O157:H7의 저해율이 유의적으로 높으면서 떡볶이 떡 포장에 사용되는 LDPE 재질을 함유한 nylon+LDPE로 결정하였음.
- IPP 처리 시 포장 내 식품의 비율을 일정하게 유지하면서 포장재 크기를 달리하였을 때 떡볶이 떡의 *E. coli* O157:H7의 저해 정도는 유의적인 차이가 없었음(Table 25; $P > 0.05$).

Table 25. Effects of dimension of container on the inactivation of *E. coli* O157:H7 in the Korean rice cake by the in-package cold plasma treatment

Dimension of container (width × depth; cm)	11 × 20	14 × 20	17 × 20
Microbial reduction (log CFU/g)	2.2 ± 0.1 a	2.2 ± 0.1 a	2.0 ± 0.2 a

- 이후 실험에서는 포장 크기를 떡볶이 떡 포장에 사용되는 포장재 내 headspace to volume을 고려하여 14 × 20 로 결정하였음.
- IPP 처리 시 포장 내 떡볶이 떡의 개수가 5개 그리고 8개일 때 *E. coli* O157:H7의 저

해율은 유의적인 차이가 없었으나(Table 26; $P > 0.05$), 떡볶이 떡이 11개와 14개 일 때에는 *E. coli* O157:H7의 저해율이 유의적으로 낮았음(Table 26; $P < 0.05$).

Table 26. Effects of the number of pieces of the rice cake in the nylon/LDPE pouch on the inactivation of *E. coli* O157:H7 in the Korean rice cake by the in-package cold plasma treatment

Number of samples (pieces)	Head space volume to sample volume ratio	Microbial reduction (log CFU/g)
5	11 : 1	2.3 ± 0.1 a
8	7 : 1	2.2 ± 0.1 a
11	5 : 1	2.0 ± 0.1 b
14	4 : 1	1.8 ± 0.1 bc

- 이후 실험에서는 포장 내 떡볶이 떡 개수를 떡볶이 떡의 *E. coli* O157:H7의 저해율이 유의적으로 높으면서 가장 많은 개수인 8개로 결정하였음.
- IPP 처리 후 4° C에서 1 h 그리고 24 h 저장했을 때 연 포장 파우치 내 가스 종류가 N₂(%): CO₂(%) = 50: 50 (Gas 1)인 경우 떡볶이 떡의 *E. coli* O157:H7 저해율은 약 1 log cycle로 다른 가스 종류와 *E. coli* O157:H7 저해 정도를 비교해보았을 때 유의적으로 낮았음(Table 27; $P < 0.05$).
- 연포장 파우치 내 가스 종류가 O₂(%): CO₂(%) = 70: 30 (Gas 2)일 때 IPP 처리 후 4° C에서 1시간 동안 저장은 떡볶이 떡에 오염된 *E. coli* O157:H7을 CP 처리 후 저장하지 않았을 때보다 효과적으로 저해하였으며, air일 때보다 *E. coli* O157:H7 저해 효과가 높았음(Table 27; $P < 0.05$).
- 25° C에서 1시간 동안 저장했을 때 가스 종류에 따른 떡볶이 떡의 *E. coli* O157:H7 저해 정도의 차이가 없었지만, 24시간 저장했을 때 Gas 1과 Gas 2로 포장된 떡볶이 떡에서는 *E. coli* O157:H7가 성장하지 않았음(Table 27; $P < 0.05$).

Table 27. The effects of in-package cold plasma (CP) treatment on the growth of *E. coli* O157:H7 in the Korea rice cake during stored at 4 and 25° C in different gases.

Storage temperature (°C)	Treatments (gas)	Post-treatment storage		
		0 h	1 h	24 h
Cell population (log CFU/g)				
4	Untreated	5.3 ± 0.3 Aa	5.7 ± 0.3 Aa	5.5 ± 0.1 Aa
	CP treated (Air)	3.6 ± 0.3 Abc	3.5 ± 0.3 Ac	3.5 ± 0.4 Ac
	CP treated (Gas 1)	4.2 ± 0.4 Ab	4.2 ± 0.2 Ab	4.6 ± 0.4 Ab
	CP treated (Gas 2)	3.4 ± 0.2 Ac	2.8 ± 0.3 Bd	3.1 ± 0.4 Bc
25	Untreated	5.3 ± 0.3 Ba	5.4 ± 0.3 Ba	7.5 ± 0.2 Aa
	CP treated (Air)	3.6 ± 0.3 Bbc	3.8 ± 0.2 Bb	5.9 ± 0.2 Ab
	CP treated (Gas 1)	4.2 ± 0.4 Ab	4.1 ± 0.3 Ab	4.8 ± 0.2 Ac
	CP treated (Gas 2)	3.4 ± 0.2 Ac	3.7 ± 0.3 Ab	3.7 ± 0.3 Ad

- 위의 실험들을 토대로 IPP 처리의 최적 조건은 처리 전력 30 W, 처리 시간 4분, 포장 재질 nylon/LDPE, 포장 크기 14×20 cm, 그리고 떡볶이 떡의 개수 8개로 결정하였음.

㉞ 결정된 최적 처리 조건에서 떡볶이 떡의 미생물 (토착 세균, 토착 진균류, *B. cereus* spores, *E. coli* O157:H7, *P. chrysogenum*) 저해 확인

- 결정된 IPP 처리 최적 조건에서 CP 처리는 떡볶이 떡에 접종된 *E. coli* O157:H7, 토착 세균 그리고 토착 진균류를 각각 2.2±0.2, 1.1±0.2, 그리고 1.0±0.1 log CFU/g 저해시켰으며, *P. chrysogenum*, *B. cereus* spores는 각각 2.2±0.3, 1.4±0.1 log spores/g (Fig. 34).

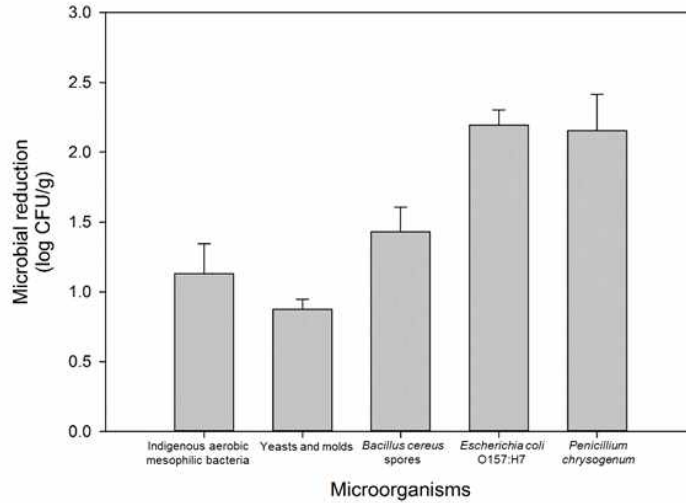


Figure 34. Inactivation of Indigenous aerobic mesophilic bacteria, yeasts and molds, *Bacillus cereus* spores, *Escherichia coli* O157:H7, and *Penicillium chrysogenum* in the Korea rice cake by the in-package cold plasma treatment.

(라) In-package plasma (in-package cold plasma, IPP) 장치와 병행처리의 미생물 저해 효과 확인

① IPP 처리와 254 nm UV lamp 병행처리 시 떡볶이 떡의 미생물 저해

- PAW 와 254 nm UV lamp 병행처리 시, 단일처리에 비해 위해미생물 (*E. coli* O157:H7, *Salmonella* Typhimurium, *Listeria monocytogenes*) 저해율에서 유의적인 차이를 보이지 않음 (Fig. 35; $P > 0.05$)
- 처리시간이 3분에서 5분으로 증가할 경우, 미생물 사멸이 증가하는 경향을 보임. (Fig. 35)

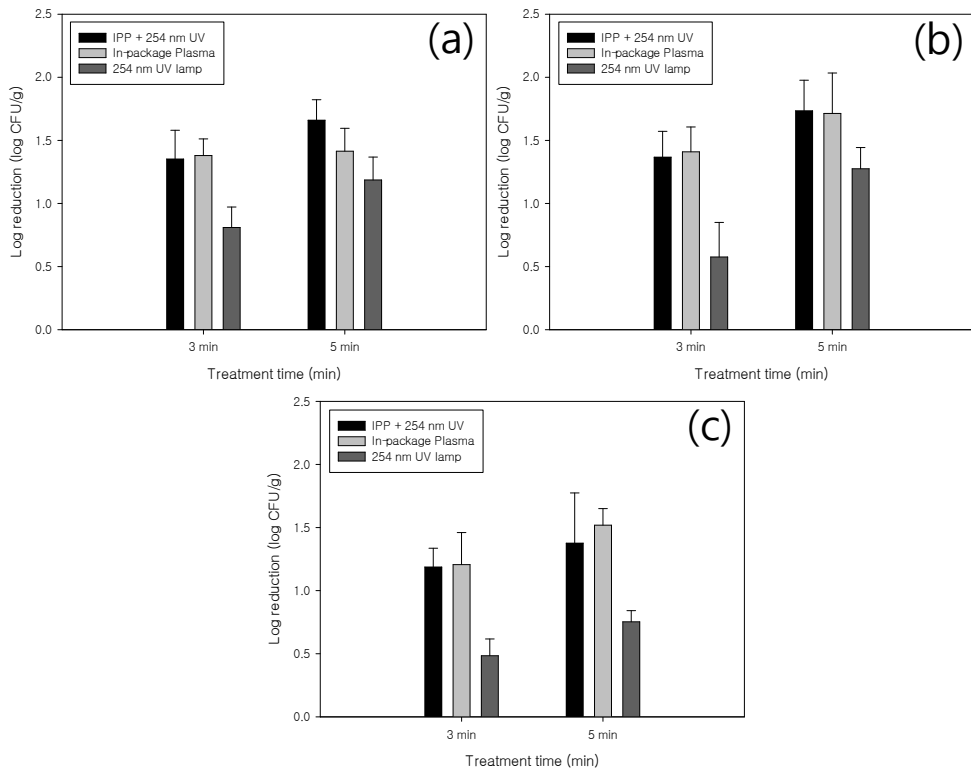


Figure 35. Microbial reductions of foodborne pathogens on Korean rice cake subjected to in-package cold plasma (IPP), 254 nm UV lamp and its combination treatments within different treatment times; (a) *E. coli* O157:H7, (b) *S. Typhimurium*, (c) *L. monocytogenes*.

② IPP 처리와 aerosolized sanitizer 병행처리 시 떡볶이 떡의 미생물 저해

- Aerosolized sanitizer는 2% hydrogen peroxide를 사용함
- IPP 장비와 aerosolized 2% hydrogen peroxide 병행처리 시, 단독처리에 비해 효과적으로 미생물을 저해함(Fig 36)
- Aerosolized 2% hydrogen peroxide 처리 및 병행처리 시, 처리 시간에 유의미한 영향을 받지 않음(Fig 36; $P > 0.05$).

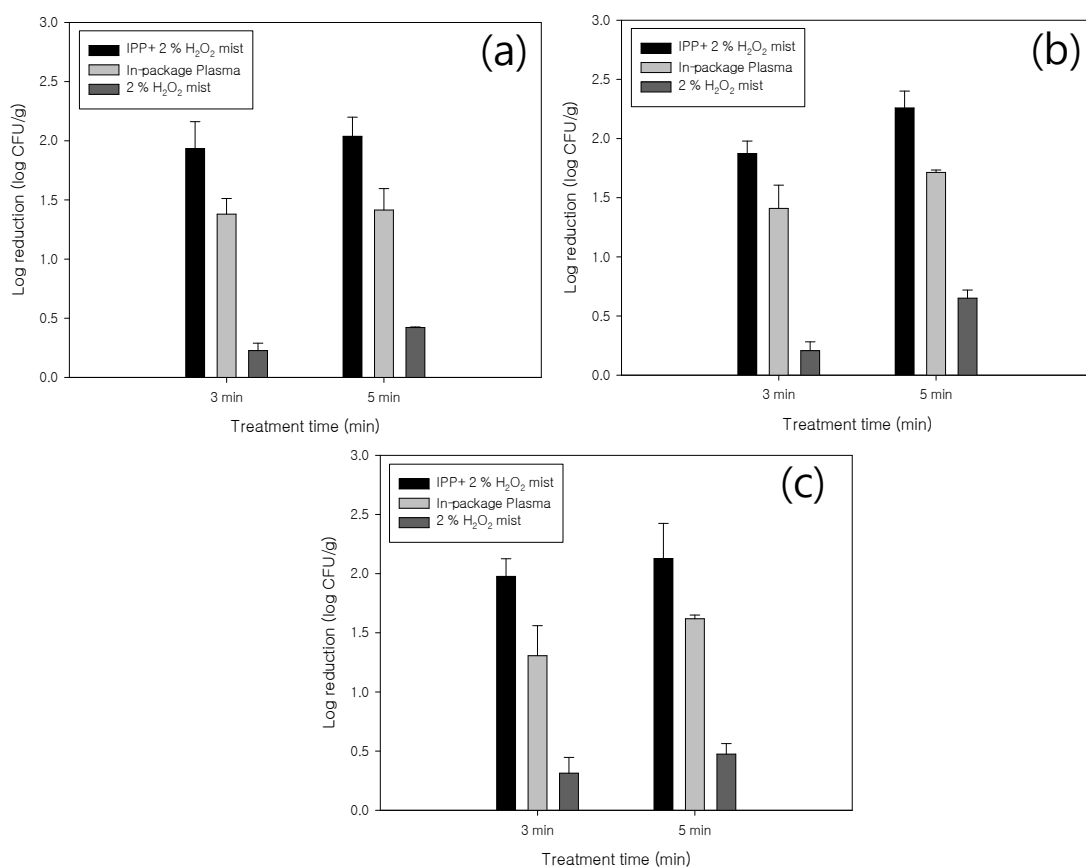


Figure 36. Microbial reductions of foodborne pathogens on Korean rice cake subjected to in-package cold plasma (IPP), 2% H₂O₂ mist or combination treatments within different treatment times; (a) *E. coli* O157:H7, (b) *S. Typhimurium*, (c) *L. monocytogenes*.

나. 유통기한 연장을 위한 플라즈마 공정 변수 도출 및 공정 최적화 조건 확립

(1) 나노버블플라즈마수(NBPW) 장치를 이용한 유통기한 연장을 위한 공정 변수 도출

(가) NBPW 장치의 공정 변수 설정 및 미생물 제어 효과

- NBPW 장치에서 플라즈마 방전시간과 NBPW 처리시간을 공정 변수 확립함
- 플라즈마 방전시간이 증가할수록 미생물 사멸이 증가하며, 60 분이 장치에 무리가 가지 않으며, 사멸효과가 가장 효과가 좋았음
- 따라서 방전시간은 60분으로 결정함
- 처리시간의 경우, 2-40 분에서 증가하는 경향을 보이므로, Kinetic modeling을 통해 최적 처리 시간을 결정함

(2) 나노버블플라즈마수(NBPW) 장치에 대한 미생물 사멸 Kinetic modeling 및 미생물 안전성 확보를 위한 가이드라인 제시

(가) Nano-bubble plasma-activated water (NBPW) 처리의 위해미생물 사멸 패턴에 적합한 model 선정

- GlnaFIT을 이용하여 Weibull 및 Log linear + Tail model을 결정함
 - GlnaFIT을 이용하여 결정된 두 모델에 대한 R²와 RMSE 값은 Table 28과 같음.
 - Weibull model과 Log linear + Tail model 모두 R² 값이 1 에 가까우며 RMSE값이 0에 가까운 것을 확인할 수 있음
 - Weibull model과 Log linear + Tail model의 경우 큰 차이가 없으나, 시료별, 미생물별 높은 유사성을 보인 Weibull model로 결정함

Table 28. Comparison the R² and RMSE of Weibull and Log linear + Tail models subjected to nano-bubble plasma activated water (NBPW) treatment

Food	Pathogen	Weibull		Log linear + Tail	
		R ²	RMSE	R ²	RMSE
Korean rice cake	<i>E. coli</i> O157:H7	0.97 ± 0.04	0.16 ± 0.15	0.97	0.20 ± 0.01
	<i>S. Typhimurium</i>	0.98 ± 0.01	0.15 ± 0.03	0.98 ± 0.01	0.15 ± 0.08
	<i>L. monocytogenes</i>	0.98 ± 0.01	0.15 ± 0.03	0.97 ± 0.03	0.16 ± 0.10
Romaine lettuce	<i>E. coli</i> O157:H7	0.99	0.11 ± 0.02	0.98	0.17 ± 0.02
	<i>S. Typhimurium</i>	0.99	0.09 ± 0.11	0.98	0.17 ± 0.01
	<i>L. monocytogenes</i>	0.99	0.01 ± 0.01	0.99 ± 0.01	0.10 ± 0.09

^a Mean value ± standard deviation

(나) 선정된 모델의 parameter 계산 및 3 log reduction point (T_{3d}) 확립

- 모델링을 통해 T_{3d} 값을 계산하기 위해서는 각 model에 적용되는 식을 알고 그 식에 필요한 변수들을 구하여 3 log reduction point (T_{3d})을 구함
- $\log N/N_0 = -(t/\delta)^P$
 - Weibull model의 parameters 및 T_{3d} 값은 Table 29와 같음
 - Parameter 값을 구했으며, 이를 이용하여 T_{3d} 값도 확인함.
 - 샘플 별로, 미생물 별 비슷한 처리시간을 나타냈음.
 - 따라서, NBPW 최적 처리 조건으로 방전시간 60분과 처리시간 40 분으로 결정함.

Table 29. Evaluation of Weibull model parameters of samples and pathogens subjected to nano-bubble plasma activated water (NBPW)

Food	Pathogen	Weibull				
		R ²	RMSE	δ	P	T _{3d}
Korean rice cake	<i>E. coli</i> O157:H7	0.97 ± 0.04	0.16 ± 0.15	6.92 ± 3.09	0.59 ± 0.58	43.01 ± 5.41
	<i>S. Typhimurium</i>	0.98 ± 0.01	0.15 ± 0.03	7.57 ± 2.84	0.73 ± 0.42	36.73 ± 2.78
	<i>L. monocytogenes</i>	0.98 ± 0.01	0.15 ± 0.03	5.80 ± 0.43	0.58 ± 0.19	38.01 ± 3.52
Romaine lettuce	<i>E. coli</i> O157:H7	0.99	0.11 ± 0.02	0.34 ± 5.90	0.20 ± 0.55	43.02 ± 6.20
	<i>S. Typhimurium</i>	0.99	0.09 ± 0.11	6.91 ± 5.70	0.56 ± 0.54	43.09 ± 7.35
	<i>L. monocytogenes</i>	0.99	0.01 ± 0.01	1.87 ± 1.18	0.36 ± 0.23	40.71 ± 5.26

^a Mean value ± standard deviation

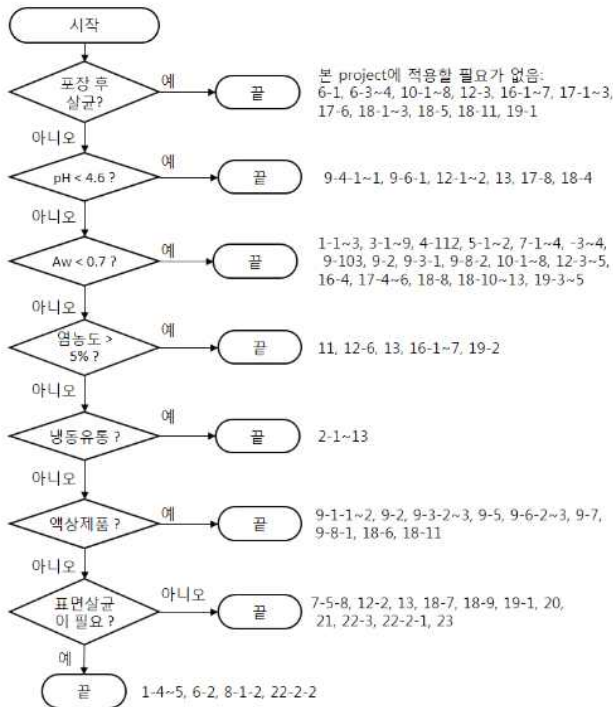
(다) 나노버블 플라즈마 장치에 대한 미생물 안전성 확보를 위한 가이드라인 제시

- NBPW의 물 특성과 미생물 사멸 조건을 바탕으로 미생물 안전성 확보를 위한 처리 가이드라인 제시
 - NFRI 의 NBPW 특성 평가 자료를 바탕으로 플라즈마 60분 방전 시, pH 2 에 도달함을 확인함.
 - 미생물 실험결과를 바탕으로 방전시간 60분, 처리시간 40분에 3 log reduction을 달성함을 확인함.
 - 따라서 이를 바탕으로 공정에 NBPW를 적용할 경우, pH 2를 NBPW의 control point 로 설정하여 이를 지속적으로 모니터링 하며, randomized operation을 통해 3 log reduction의 저해가 일어나는지 기록하여 이를 관리함

2-3. 시제품 유통기한 연장, 품질 및 안전성 검증

가. 플라즈마 살균기술을 적용한 시제품의 이화학적, 미생물학적, 관능적, 독성 안전성 검증

(1) 플라즈마 비열살균기술 적용 의사결정도 수립



* 의사결정도 상의 숫자는 식품공전의 분류에 따른 순서표기임

(2) 플라즈마 비열살균기술 적용 식품군 선정

(가) 식품공전에서 분류된 23가지 식품유형에 대하여 비가열 플라즈마 살균기술을 적용할 수 있는 식품의 분류를 위하여 의사결정도를 수립하여 최종적으로 빵류(1-4), 떡류(1-5), 유바(6-2), 면류(생면, 숙면)(8-1, 8-2), 신선편의식품(샐러드/새싹채소)(22-2-2)로 선정

(나) 액상식품의 경우, 플라즈마 나노버블 장치를 이용할 경우 살균의 개념으로 제품의 안전성을 보증할 수는 없으나, 초기 미생물 수준의 안정화는 기할 수 있을 것으로 판단됨. 이에 속하는 식품군으로는 음료류 대부분과 유가공품 일부가 포함될 수 있음

(3) 국내외 경쟁제품 조사 및 사업화 전략

- 즉석섭취 신선편의 시장규모는 그 범위를 어떻게 정하느냐에 따라 매우 달라지나, 최근 1인가구 증가, 여성 사회진출, 고령화의 영향으로 가정간편식이 증가하고 있으며, 이를 일반적으로 즉석섭취 신선편의식품으로 분류하고 있음
- 가정간편식의 정의는 가정식사를 대체할 수 있고, 완전하게 조리가 끝난 식품 또는 가열이 필요한 식품 형태로 구매 후 간단히 조리할 수 있는 음식으로 예를 들어 3분 카레, 핫반 등이 있음

- Global 식품시장은 2016년 6조 달러에서 2020년 7.7조 달러로 성장 예측되며, 2015년 실적 기준으로 세계식품시장은 세계자동차시장(1.3조달러), 세계 IT시장(1.6조달러 보다 각각 4.9배, 3.8배 큰 것으로 나타남
- 대륙 별 식품시장은 아시아태평양 지역은 연평균(2013~2020년) 5.9% 성장하여, 2015년을 기점으로 세계 최대 식품시장으로 부상함
- 국내 가정간편식 시장은 3조원(2017년)으로 급증하고 있으며, 대표 식품이 즉석 섭취식품이 주도하고 있으며, 여성 경제 활동 증가에 따라 즉석 조리식품도 지속적으로 성장하고 있음. 이들은 주로 편의점 유통을 통하여 전파되고 있음. 국내 편의점 매출은 지속적으로 증가하여 14조원(2016년)으로 백화점 매출을 추월하였고, 편의점에서 판매되는 제품의 매출 순위에도 기존 주류에서 도시락, 안주류가 매출 1순위로 성장함
- '18년 냉장 떡시장 규모는 1,244억원으로 떡볶이 946억 (편의형67%), 떡국298억원으로 구성됨. M/S 풀무원 43.8% ,칠갑 10.4%, 송화6.1%, CJ 5.8% 자사 압도적 No.1의 시장 임. (닐슨 data: '17년8월 ~'18년8월 기준). 대상, 오뚜기, 동원 등 대기업의 떡볶이 시장 본격진입 및 유통업체 PB 제품 다양화와 저가형 제품으로 경쟁이 심화되고 있음. CVS 및 온라인시장 확대에 따른 떡볶이 이외 전통떡류와 같은 편의형 떡 다양화가 요구됨
- 생면시장의 경우, '17년 기준 총 775억원이며, 이 중 칼국수는 300억원을 차지하고 있음. '17년 동절기 시즌 기점으로 MS는 풀무원이 1위. 즉석섭취 신선편의제품의 니즈가 증가하고 있으며, 칼국수 제품은 자사 및 타사에서 주로 소재중심의 사업을 운영하고 있음. 따라서 최근 HMR 트렌드 성장으로 소재면 사업은 역신장하고 있으므로 칼국수도 RM형 요리면을 개발하여 시장성을 강화해 나가야함
- 일본의 샐러드시장은 Salad club과 같이 안심, 편리, 다채, 친환경이라는 4가지 concept로 선도적 시장에 진입하였음. 제품은 볶음용 컷팅채소, 계절채소 샐러드, 컵샐러드 등이 있음. 시장진입 전략은 PB와의 차별화 전략을 통해 제품구성과 고품질 제품, 그리고 비가열살균을 통한 안전안심 샐러드 제품 컨셉으로 설계함
- 건강음료 및 착즙주스 시장의 성장 : '13년 대비 53%성장함. 국내 녹즙 시장은 17년 기준 2,257억으로 전년대비 2.9% 성장했으며, 풀무원이 market share 69.9% 점유함. 건강녹즙 시장은 군소 업체들의 경쟁시장을 수 & 생산성 중심의 전략과 발효녹즙 도입 등 기술적 주도시장으로 변화시킴. 향후 시장은 발효 및 디톡스 클렌즈 컨셉 중심 제품이 시장을 주도할 것이며, 위활력, 면역 증강 등 건강기능성 제품으로 성장할 것으로 기대됨. 소비자의 구매동향은 모바일 구매 증가하여 '15년 9.3%→'16년 18.1%가 되었고, HY의 대형상품 중심의 활동 및 O2O기반 신규 Biz.가 활발해짐

(4) 즉석섭취 편의식품의 특성 조사

- 즉석섭취 편의식품의 정의(식품공전) : 즉석섭취 편의식품류라 함은 소비자가 별도의 조리과정 없이 그대로 또는 단순조리과정을 거쳐 섭취할 수 있도록 제조가공 포장한 즉석섭취식품, 신선편의식품, 즉석조리식품을 말함. 다만, 따로 기준 및 규격이 정하여져 있는 것은 제외함
- 즉석섭취 편의식품의 식품공전 상 유형은 ①즉석섭취식품, ②신선편의식품, ③즉석조리

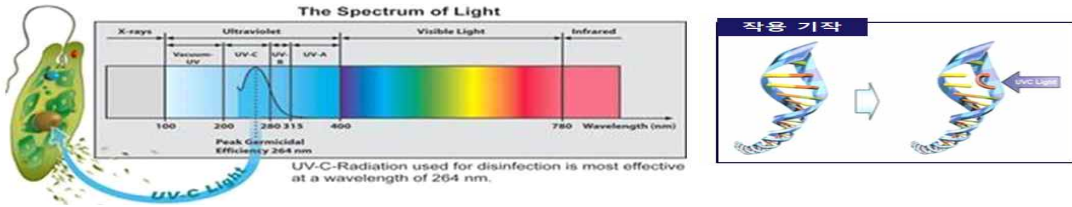
식품으로 구분되며, 이들 중 본 기술의 특성상 표면살균이 주된 효과를 발휘하게 되므로 식품 내부에 까지 미생물의 존재가 예상되는 즉석섭취식품이나 즉석조리식품에는 효과가 없을 것이므로 배제하고, 더 이상의 가열조리가 없어 식중독 위험이 높은 신선편의식품 군과 유통과정 중 쉽게 미생물의 증식으로 품질변화가 예상되는 떡류, 생면, 과채주스를 선정함

(5) 플라즈마 살균과 호환적인 비가열살균 기술의 synergy 효과 검토를 통한 multi huddle strategy 검토

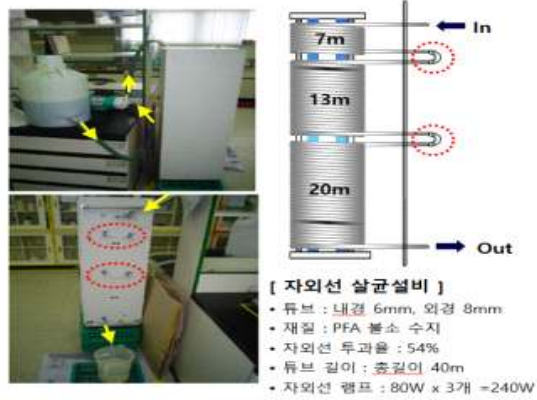
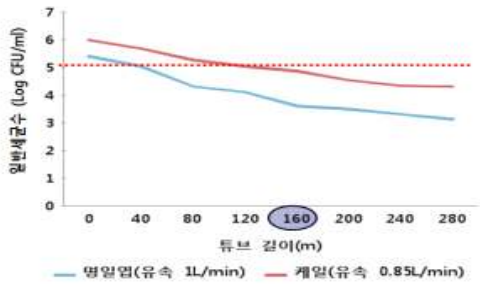
- 플라즈마 살균과 호환적인 비가열살균 기술의 synergy 효과 검토를 통한 multi huddle strategy로 ① 녹즙을 대상으로 ‘자외선살균’ 과 ② 나노버블수 세척을 실시하여 미생물 저감 효과를 확인하였으며, ③ 샐러드 원물에 ‘염소계살균제’ 를 사용하여 세척제별 미생물 수준을 확인함
- 착즙 녹즙을 대상으로 ‘자외선살균’ 을 적용할 시 제품의 물리적 특성 변화 없이 일반 세균수 2 log 저감 효과가 확인됨
- 녹즙 원물을 대상으로 세척과정에 ‘나노버블수’ 를 사용할 시, 대조군 대비 미생물이 0.5 ~ 1 log 저감됨
- 샐러드 원물에 ‘염소계살균제’ 별 미생물 저감 효과를 확인한 결과, 대조군 대비 저감율이 가장 높은 살균제의 경우 일반세균수와 대장균군이 1 log 저감되었으며, 대장균 접종 실험에서도 살균제 종류별로 0.2 ~ 1 log 저감 효과를 확인함

(가) 녹즙 multi huddle strategy: 자외선 살균 미생물 저해 효과

- ① 자외선 중 UV-C 파장을 이용하여 세포 내 DNA 구조 변형: T-T dimmer 형성
- ② 녹즙 착즙 후 자외선(UV) 살균처리 시 일반세균수 약 2 log 감소효과 확인
- ③ 충분리 등 물성 변화 최소화 및 관능 유지
- ④ 케일의 경우 법적규격(일반세균:1.0E+05 이하)이내 관리를 위해서는 160m(체류시간 약 3분)이상 통과 필요



[자외선 살균효과]



(나) 나노버블수 세척 미생물 저해 효과

- ① UV 처리 대조구 대비 채소수 단독변경 구간에서 약 0.56 log 감소
- ② 나노버블수 병행 적용구간에서 0.44 log 추가 감소로 병행처리를 통해 1 log 미생물 저감효과 확인

구분	나노버블화	1차세척 (20분)	2차세척 (20분)	린싱 (20분)
대조군	×	산화칼슘 0.1%	사과산 1%	지하수
검토 UV_A	×	에코바이오채소수 1.2%	사과산 1%	지하수
검토 UV_B	○	에코바이오채소수 1.2 %	사과산 1%	지하수

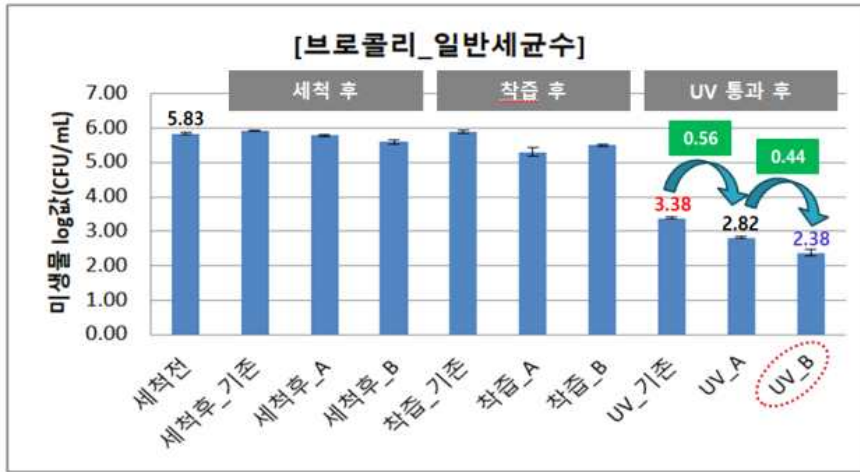
[나노버블 발생설비 설치]



- 나노버블 발생 설비: (주)아그로시스템즈

(다) 샐러드(양상추) multi huddle straregy

- ① 세척제에 따른 미생물 저해 효과(일반세균수, 대장균군)
 - 무처리, 차아염소산나트륨수 50ppm 1분, 차아염소산나트륨수 200ppm 1분, 미산성 차아염소산수 50ppm 1분, 이산화염소수 2~3ppm 1분 처리

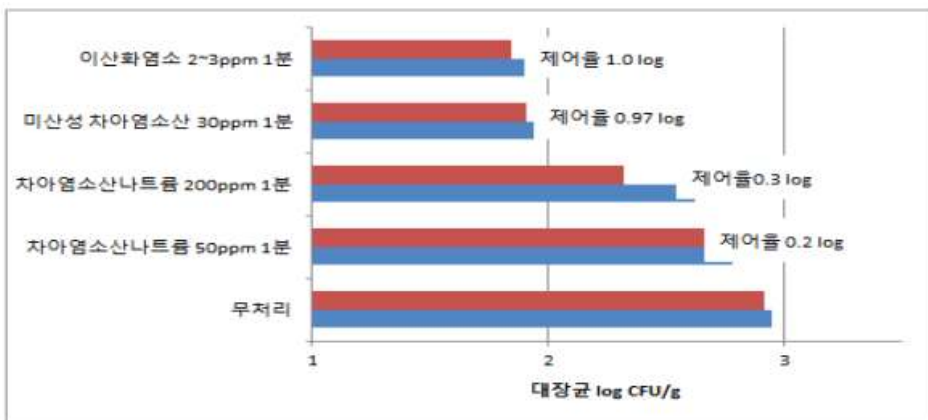
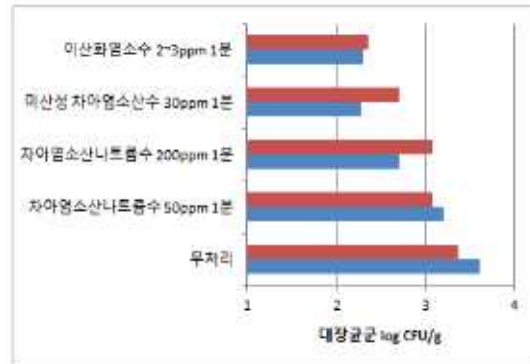
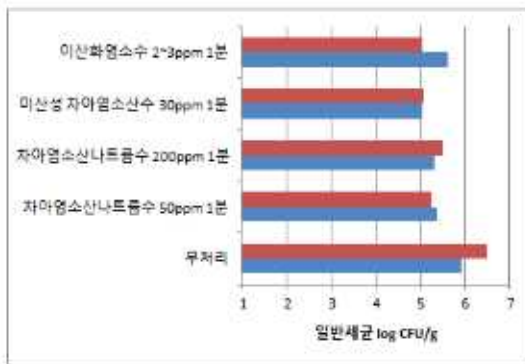


- 무처리 샘플 대비 이산화염소수 2~3 ppm 1분 처리조건에서는 일반세균수와 대장균군이 1 log 가까이 저해

② 세척제에 따른 미생물 저해 효과(대장균)

- 양상추에 대장균 접종실험 결과 0.2~1 log 제어율 확인

(6) 최종 개발 제품의 안전성 검토를 통한 상품화 검증



(가) 이화학적 안전성 검증(신선편의식품(로메인) 잔류농약 저감효과 검증 및 비타민C 함량 분석)

- 신선편의식품(로메인)의 잔류농약 저감효과 여부를 검증하기 위해 유기농 로메인을 대상 시료로 선정하였으며, 잔류농약 시험을 통하여 잔류농약 불검출 확인 후 사용하였음

- 신선편의식품(로메인)의 플라즈마 처리 유무에 따른 비타민C 함량 변화 여부를 측정하기 위해 비타민C 함량 분석을 진행하였음
- 물로 세척한 시료와 플라즈마 살균기술을 적용한 시료와의 잔류농약 저감효과는 큰 차이가 없었고, 비타민C 성분의 경우 원물 자체 함량이 낮기 때문에 플라즈마 처리 시료 및 물세척로 세척한 시료 모두 불검출로 확인됨

① 농약원재 희석 조건 및 살포 조건

- 스트로비 Kresoxim-methyl 44.2 %, 상추 적용 시 20L 물에 6.7 ml로 희석(약 3000배)하여 사용 (이론상 희석액 중 Kresoxim-methyl 농도 148.07 mg/kg)
- 폴리비전 : Azoxystrobin 21.7 %, 상추 적용 시 20L 물에 8ml로 희석(2500배)하여 사용 (이론상 희석액 중 Azoxystrobin 농도 86.8 mg/kg)
- 농약원재 희석용액을 원예용 분무기에 넣고 시료 300 g를 고르게 편 후 20번 분무 후 뒤집고 20번 분무 후 다시 뒤집은 후 10번 더 뿌려 총 50번 분무하여 충분히 희석용액이 시료에 도포될 수 있도록 함



- 대상 농약으로 상추에 사용가능한 농약원재 2종(스트로비 : 크레속심메틸 (Kresoxim-methyl) 44.2 %, 폴리비전 : 아족시스트로빈(Azoxystrobin) 21.7 %)을 농약안전사용기준 근거 로메인 상추에 충분히 도포하여 흐르는 정도까지 살포하여 공시 시료를 제작하였음

② 잔류농약 및 비타민C 함량분석 결과

- 약을 살포한 직후의 로메인 상추에서는 Kresoxim-methyl 8.51 mg/kg, Azoxystrobin 6.13 mg/kg검출됨을 확인하였으며, 3일 후 플라즈마 살균기술을 적용한 시료와 물로만 세척한 시료를 비교하여 저감화 효과를 확인하였음
- 실험결과 플라즈마 살균기술을 적용한 시료에서 Kresoxim-methyl 0.73 mg/kg, Azoxystrobin 0.59 mg/kg로 검출되었고, 흐르는 물에 3회 세척한 시료에서 Kresoxim-methyl 0.54 mg/kg, Azoxystrobin 0.56 mg/kg으로 검출되었음
- 결론적으로 물로 세척한 시료와 플라즈마 살균기술을 적용한 시료와의 잔류농약 저감효과는 큰 차이가 없음을 확인하였음
- 비타민C 함량 분석을 진행하였으나 비타민C 성분의 경우 원물 자체 함량이 낮기 때문에 플라즈마 처리 시료 및 물세척로 세척한 시료 모두 불검출로 확인되었음

시료 정보	Kresoxim-methyl (mg/kg)	Azoxystrobin (mg/kg)	비타민C(mg/100g)
유기농 로메인(시료)	불검출	불검출	5.1
농약살포 0일차	8.51	6.13	불검출

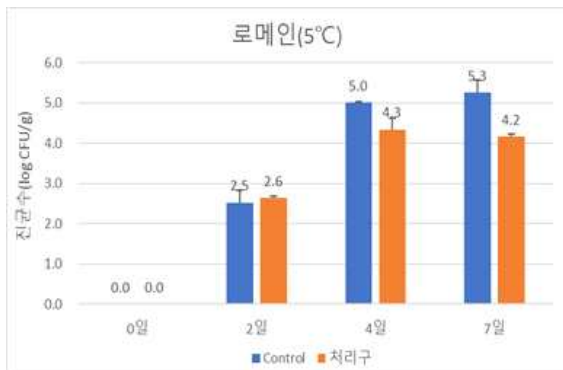
농약살포 물세척	0.54	0.56	불검출
농약살포 플라즈마처리	0.73	0.59	불검출

(나) 미생물학적 안전성 검증

- Plasma nano bubble water (PNBW) 생성장치 upgrade 제작 완료에 따른 유통기한 연장 실험을 진행하였음
- 식품공전에서 분류된 23가지 식품유형 중 의사결정도에 따라 선정된 비가열 플라즈마 살균기술을 적용할 수 있는 식품유형 3종(신선편의식품, 떡류, 면류(숙면))을 선정하여 실증시험을 진행하였음

① 신선편의식품(로메인) 저장성 실험

- 「식품의 기준 및 규격」의 보존 및 유통기준에 따르면, 신선편의식품은 5℃ 이하에서 보존하여야 한다고 규정하고 있으므로, 5℃에서 미생물 수준을 검증하였고, 진균을 유통기한 설정 지표로 선정하였음
- 처리 0일차에는 진균이 검출되지 않았으며, 플라즈마 처리 시 저장 2일차까지는 대조군과 처리군 간에 차이가 없었으나, 저장 4일차 이후부터 대조군의 진균수가 처리군보다 낮은 수준으로 확인되었음
- 대조군의 경우 유통기한이 4일, 플라즈마 처리군의 경우 유통기한 7일 이상으로 유통기한 연장 170% 이상을 달성함



- 저장 중 육안으로 관측되는 로메인의 품질저하 속도(깃무름)도 대조군보다 실험군의 품질 저하 속도가 느린 것으로 나타나 플라즈마 처리 시 신선편의식품(로메인)의 품질 유지에 효과가 있는 것으로 확인되었음

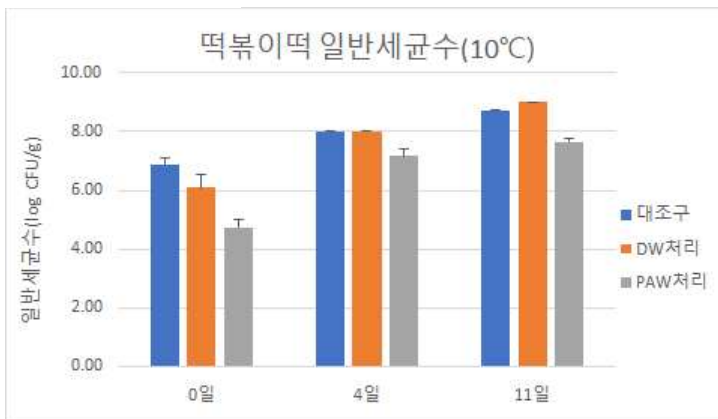
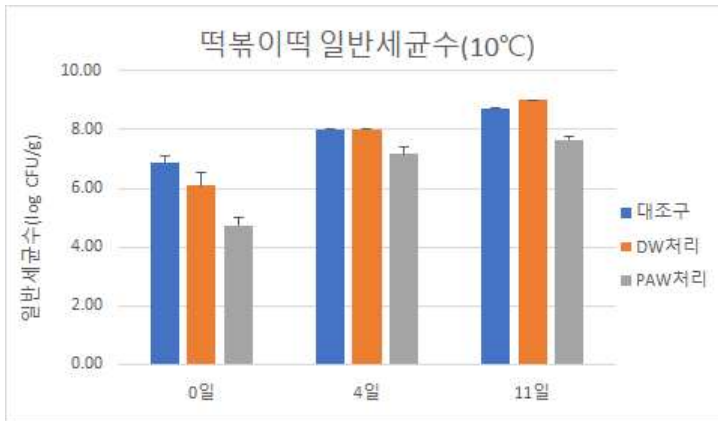


- 신선편의식품(로메인)의 저장성 실험 결과 저장성 연장과 품질 측면에서 효과가 있음

이 확인되었음

② 떡류(떡볶이 떡) 저장성 실험

- 무처리(대조구1), 증류수 처리(대조구2), 플라즈마수 처리 3개 구간에 대한 저장성 실험을 진행하였음
- 떡볶이 떡의 경우, 자사제품을 사용하여 실험함



- 떡볶이 떡에 대한 플라즈마 처리 시, 초기 일반세균 수준은 대조구 대비 약 2 log CFU/g 수준 낮게 검출되어 저장 11일차까지 약 1 log CFU/g 낮은 수준을 유지하여 유통기한 연장에 있어서 효과가 있는 것으로 확인되었음
- 대조군의 경우 유통기한 4일, 플라즈마 처리군의 경우 유통기한 11일 이상으로 유통기한 연장 275%를 달성함
- 서울여대 실험결과(처리하지 않은 떡볶이 떡의 초기 미생물 수)와 풀무원 실험결과를

	서울여대	폴무원
Cell population (log CFU/g)	6.89 ± 0.49 a	6.88 ± 0.20 a

비교해보았을 때 초기 미생물 수에 유의적인 차이가 없었음(P > 0.05)

- 서울여대 실험결과(NBPW 처리 시 떡볶이 떡의 토착 미생물 저해율)와 폴무원 실험결과를 비교해보았을 때 NBPW 처리에 따른 떡볶이 떡의 토착 미생물 저해정도는 유의적인 차이가 없었음(P > 0.05)

	서울여대	폴무원
Microbial reduction (log CFU/g)	2.65 ± 0.41 a	2.14 ± 0.26 a

- 서울여대와 폴무원의 떡볶이 떡의 초기 미생물 수와 NBPW 처리에 따른 토착 미생물 저해정도는 유의적 차이가 없음을 확인하여 재현성 있는 결과가 나온 것을 확인하였음

③ 면류(우동면) 저장성 실험

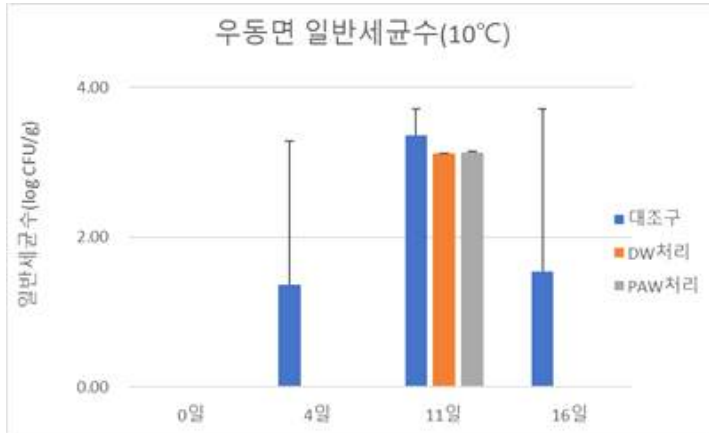
- 우동면의 경우, 자사제품을 사용하여 실험함



- 우동면에 대한 플라즈마 처리 검증 결과, 샘플 간 미생물 편차가 큰 것으로 확인되었으며, 저장일차에 따른 플라즈마 처리 구간과 비처리 구간의 유의적인 차이는 없었음
- 우동면의 경우 구조적으로 떡볶이 떡처럼 개별 구성단위로 존재하는 것이 아닌, 꼬불 꼬불한 형태로 뭉쳐서 존재하고, 이러한 형태학적인 특성으로 인해 제품 샘플링 함에 있어서도 샘플 간에 미생물 편차가 크게 나타나서 유통기한 연장에 있어 명확한 효과를 관측하기에 어려움이 있음

(다) 관능적 안전성 검증

- 신선편의식품(로메인), 떡류(떡볶이떡), 면류(우동면)을 3종 제품으로 선정하여 플라즈마 처리 시 제품의 관능적 특성 변화 유무를 확인하고자 하였음
- 일반적으로 소비자는 로메인, 떡볶이떡, 우동면 섭취 시 조리 혹은 가열 후 섭취하기



때문에 조리 후 패널에게 제공하였음

- 대조군과 실험군(플라즈마 처리) 시료 간의 관능적 차이 유무를 알아보기 위하여, 관능검사 방법 중 차이식별검사 방법을 선정하였으며, 종합적 차이식별검사 방법 중 삼점검사(Triangle test) 방법으로 진행하였음

① 패널

- 47명(25세~49세, 남성 22명, 여성 25명)을 대상으로 실험을 진행하였음

② 제공방법

- 무작위 세 자리 숫자를 부착한 흰색의 종이컵에 대조군(2개)과 실험군(1개)을 패널에게 제시하여 3개의 검사물 중 다른 하나를 패널에게 선택하도록 하였고, 참여자 1인당 제시한 시료의 양은 로메인 10g, 우동 60g, 떡볶이 40g으로 삼점 검사를 위한 세 개의 시료는 동일한 중량으로 제공하였음
- 가열 조리, 소스 첨가에 의한 시료 간의 관능평가 영향을 최소화하기 위해, 삼점 검사의 시료는 로메인, 우동, 떡볶이 순으로 제시하였음
- 개별 식품에 관한 삼점 검사가 완료된 후 5~7분 정도 휴식 후 다음 시료를 제시하여 시료 간 영향을 최소화하였음

③ 조리방법

㉠ 신선편의식품(로메인)

- 로메인은 오리엔탈 드레싱을 중량 기준 10 (로메인): 3 (드레싱)의 비율로 혼합한 후 제공하였음

㉡ 떡류(떡볶이떡)

- 찬물에 30초간 헹군 후 시판 국물 떡볶이 양념 소스를 희석하여 중량 기준으로 4 (떡볶이 떡): 3 (소스)의 비율로 혼합하여 중간 불에서 3분 30초 간 조리하여 제공하였음

㉢ 면류(우동면)

- 시판 가쓰오 장국을 8배 희석한 육수와 우동면을 중량 기준 10 (장국): 6 (우동)의 비율로 육수가 끓은 후 우동면을 넣고 중간 불에서 2분 간 조리하여 제공하였음

④ 관능평가 결과

㉔ 신선편의식품(로메인)

- 패널 47명 중 플라즈마 처리 시료와 대조군 간의 차이를 식별한 응답자는 25명으로 유의수준 1%에서 플라즈마 처리 시료와 미처리하지 시료 간에 유의미한 차이가 있는 것으로 분석되었음

㉕ 떡류(떡볶이떡)

- 패널 46명 중 플라즈마 처리 시료의 차이를 식별한 응답자는 15명으로 유의수준 5%에서 플라즈마 처리 시료와 미처리 시료 간의 차이를 인지하지 못하는 것으로 분석되었음

㉖ 면류(우동면)

- 패널 47명 중 플라즈마 처리 시료와 대조군 간의 차이를 식별한 응답자는 28명으로 유의수준 1%에서 플라즈마 처리 시료와 미처리 시료 간에 유의미한 차이가 있는 것으로 분석되었음

㉗ 결론

- 플라즈마 살균 처리 시료 세 종류 중 소스 또는 육수와 혼합하여 생으로 또는 단시간 조리 후 소비하는 로메인과 우동은 대조군과 플라즈마 처리 시료 간의 차이가 유의수준 1%로 미미한 수준으로 인지되었음
- 반면 일반적으로 소스와 혼합하여 조리하는 떡볶이 떡의 경우 플라즈마 처리에 따른 향미 또는 식감의 차이가 식별되지 않는 수준으로 분석되었음
- 플라즈마 처리에 따른 소비자 수용도에서의 차이 여부는 별도의 소비자 조사를 통한 검증이 필요하며, 조리 방식 또는 조미 소재에 따른 차이가 발생할 수 있을 것이라고 판단되며, 플라즈마 처리로 인한 관능적 특성의 차이가 있다고 보기 어려움

(라) 독성 안전성 검증^{11, 12, 13, 15)}

- 콜드플라즈마 처리된 떡볶이 떡, 양상추 및 생면 시료에 대한 단회 및 반복 투여 독성시험에서 체중, 일반증상, 사료섭취량, 음수량, 혈액학적 검사, 육안적 소견 등에서 특이한 독성 병변은 관찰되지 않음
- 시험물질인 콜드플라즈마 처리된 시료를 흰 쥐에 단회 경구투여한 급성 독성시험에서는 5 g/kg, 2주간 반복 경구 투여한 아급성 독성시험에서는 1 g/kg에서 독성을 나타내지 않아 무해용량인 것으로 사료되며, 콜드플라즈마 처리된 떡볶이 떡, 양상추 및 생면 시료는 투여 가능 최대 용량에서도 독성이 없는 안전한 소재로 사료됨

① 재료 및 방법

㉔ 시험물질

- 콜드플라즈마 처리된 떡볶이 떡(rice cake), 양상추(lettuce), 및 생면(noodle)으로 콜드 플라즈마 처리된 시료는 모두 동결 건조한 후, 분말화 하여 사용함

㉕ 시험동물 및 사육환경

- 시험구역은 고려대학교 보건과학대학의 실험동물자원센터에서 실시하였으며, 본 연

구에 사용된 동물은 SPF(specific pathogen free: 특정병원체 부재) Sprague-Dawley(SD)계 6주령 된 암컷 및 수컷 흰쥐를 오리엔트 바이오(Gyeonggi, Korea)로부터 분양 받아 온도 $23\pm 3^{\circ}\text{C}$, 상대습도 $50\pm 10\%$, 조명시간 12시간(오전 7시~오후 7시) 및 조도 150-600 Lux의 사육환경에서 폴리카보네이트 사육상자(240 W × 390 L × 175 H mm)에 2마리씩 넣어 사육함. 일주일간의 순화사육 기간 동안 증상관찰 등을 시행하여 정상적인 동물만 시험에 사용함. 깔짚은 고압증기 멸균기로 121°C 에서 15분간 멸균하여 사용하였고, 시험동물용 고형사료는 대한바이오링크(Chungbuk, Korea)에서 구입하였으며, 전 사육기간동안 사료와 음수는 자유롭게 섭취시킴. 본 연구의 모든 과정은 고려대학교 동물실험윤리위원회의 규정 및 방침에 따라 진행함(승인번호: KUIACUC-2020-0062)

㉔ 시험물질의 투여량 및 투여경로

- 시험물질의 투여용량은 OECD Guide Line과 Principles and Methods of Toxicology을 참조하였으며, 시험물질의 용해도를 고려하여 단회투여 독성시험의 경우 5 g/kg, 반복투여 독성시험의 경우 1 g/kg으로 설정함. 시험동물의 투여 직전 증류수를 용매로 하여 시험물질을 조제하였으며 대조군(vehicle control)의 동물에는 증류수는 투여함. 시험물질의 투여 경로는 경구 투여를 선택하였으며, 경구 투여용 зонде(zonde)를 장착한 주사기를 이용하여 조제시험물질을 강제 경구투여 함

㉕ 단회투여 독성시험^{16, 18)}

- 실험실 환경에서 1주간 적응시킨 실험동물을 대조군과 콜드플라즈마 처리된 시료(떡볶이 떡, 양상추 및 생면) 투여군으로 총 4군으로 나누었으며 각 군은 암, 수 각각 6마리로 함. 동물의 군 분리는 순화 기간 중 건강하다고 판정된 동물의 체중을 측정 후 평균체중에 가까운 개체를 각 군에 6마리씩 균등히 들어가도록 체중을 이용한 무작위법을 이용하여 분배함. 시험물질(5 g/kg)을 단회 투여하고 14일의 관찰기간을 거친 후 혈액학적 및 병리학적 변화를 관찰하여 시험물질의 독성을 평가함

㉖ 반복투여 독성시험¹⁷⁾

- 실험실 환경에서 1주간 적응시킨 실험동물을 콜드플라즈마 처리된 시료(떡볶이 떡, 양상추 및 생면) 투여군으로 총 4군으로 나누었으며 각 군은 암, 수 각각 6마리로 함. 동물의 군 분리는 단회투여 독성시험과 동일하게 진행함. 시험물질(1 g/kg)을 1일 1회 14일간 연속으로 투여하였으며, 시험물질 투여기간이 종료되고 14일의 관찰기간을 거친 후에 혈액학적 및 병리학적 변화를 관찰하여 시험물질의 독성을 평가함

② 관찰 및 검사항목¹⁴⁾

㉑ 일반 증상 및 사망동물의 관찰

- 모든 실험동물에 대하여 투여 후 매시간마다 6시간 동안, 그리고 매일 1회 이상씩 일정 시간에 관찰하여 일반상태의 변화, 중독증상, 사망유무 및 시험물질의 투여 후 나타날 가능성이 있는 증상에 대하여 정상 대조군과 비교관찰 함. 일반증상은 식욕 부진, 털빠짐, 설사, 다뇨 및 무뇨, 분변의 변화를 중심으로 관찰함

㉒ 체중 및 식이섭취량

- 시험에 사용된 모든 동물에 대하여 투여 당일로부터 매주 1회 체중을 측정하였으며,

실험기간동안 식이 및 음수섭취량은 주 2회 측정함

㉔ 장기의 중량

- 단회 및 반복투여 실험의 관찰기간 후 실험동물을 희생하여 부검을 실시함. 부검을 실시하는 정상 대조군 및 실험군의 모든 동물에 대해 심장(heart), 간(liver), 비장(spleen), 폐(lung), 신장(kidney)을 적출하고 중량을 측정하여 체중으로 나누어 환산함

㉕ 혈액학적 검사

- 시험동물을 희생 전 1일간 절식시킨 후, 10~30% CO₂로 흡입 마취시켜 복부 대동맥에서 채혈함. 채혈한 혈액은 항응고제로 ethylene-diamine tetraacetic acid(EDTA-2K) 처리된 blood collection tube에 균등질이 되도록 잘 흔들어 4° C에 보관해 48시간 이내에 자동혈액검사기를 이용하여 혈액학적 지표인 백혈구수(white blood cell, WBC), 적혈구수(red blood cell, RBC), 혈색소량(hemoglobin, Hb), 적혈구백분율(hematocrit, Hct), 혈소판수(platelet), 평균적혈구용적(mean corpuscular volume, MCV), 평균혈색소량(mean corpuscular hemoglobin, MCH), 평균적혈구혈색소농도(mean corpuscular hemoglobin concentration, MCHC)를 측정함

㉖ 혈액 생화학적 검사

- 복부대동맥에서 채혈한 혈액 중 일부를 혈액학적 검사로 이용하고, 나머지 혈액은 생화학적 측정을 위하여 EDTA free tube에 담아 table top refrigerated centrifuge(1248R, Labogene, Lynge, Denmark)을 이용하여 원심 분리(3,000 rpm, 20 min, 4° C)하였다. 분리된 혈청은 자동 생화학검사기(FUJI DRY CHEM 3500i, Japan)를 이용하여 albumin(ALB), alanine aminotransferase(ALT), aspartate aminotransferase(AST), blood urea nitrogen(BUN), creatinine(CRE), glucose(GLU), high-density lipoprotein(HDL), ammonia(NH₃),totalbilirubin(TBIL),totalcholesterol(TCHO),triglyceride(TG),totalprotein(TP),uric acid (UA)을 측정함

㉗ 통계 처리

- 모든 실험결과는 평균치±SEM(standard error of mean)으로 나타냈고, 통계분석은 SPSS 통계프로그램(Statistical Package for the Social Science, Ver. 12.0, SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 이용하여 각 측정값 간의 유의성을 독립표본 t검정을 실시하여 검증함

③ 콜드플라즈마 처리 시료의 급성 경구 독성 시험 결과

㉘ 사망률 및 독성증상

- 콜드플라즈마 처리된 떡볶이 떡, 양상추 및 생면 시료를 단회 투여하고 2주간 사망 유무를 관찰한 결과, 모든 실험군의 암·수컷 동물에서 콜드플라즈마 처리된 시료의 투여 후 사망은 관찰되지 않음(Table 30). 2주간의 관찰기간 중 독성물질로 발생할 수 있는 털빠짐(loss of fur), 설사(diarrhea), 연변(soft stool), 운동성 감소(decreased motor activity), 부종(edema) 등의 증상발현 유무를 관찰한 결과 암·수컷 동물에서

콜드플라즈마 처리된 시료의 단회 투여로 인한 독성증상은 관찰되지 않음(Table 31-1 & 31-2)

Table 30. Mortality of rats in single dose toxicity of cold plasma-treated samples

Sex	Group	Dose (g/kg)	Number of animals	Mortality (%)	
				(Dead/Total)	(%)
Male	Control	0	6	0/6	0
	Rice cake	5	6	0/6	0
	Lettuce	5	6	0/6	0
	Noodle	5	6	0/6	0
Female	Control	0	6	0/6	0
	Rice cake	5	6	0/6	0
	Lettuce	5	6	0/6	0
	Noodle	5	6	0/6	0

Table 31-1. Toxic signs of rats in single dose toxicity of cold plasma-treated samples

Male	Group for acute toxicity			
	Control	Rice cake	Lettuce	Noodle
Loss of fur	NAD	NAD	NAD	NAD
Diarrhea	NAD	NAD	NAD	NAD
Polyurea	NAD	NAD	NAD	NAD
Soft stool	NAD	NAD	NAD	NAD
Decrease motor activity	NAD	NAD	NAD	NAD
Edema	NAD	NAD	NAD	NAD

NAD: no abnormalities detected.

Table 31-2. Toxic signs of rats in single dose toxicity of cold plasma-treated samples

Female	Group for acute toxicity			
	Control	Rice cake	Lettuce	Noodle
Loss of fur	NAD	NAD	NAD	NAD

Diarrhea	NAD	NAD	NAD	NAD
Polyurea	NAD	NAD	NAD	NAD
Soft stool	NAD	NAD	NAD	NAD
Decrease motor activity	NAD	NAD	NAD	NAD
Edema	NAD	NAD	NAD	NAD

NAD: no abnormalities detected.

㉔ 체중 변화

- 콜드플라즈마 처리된 떡볶이 떡, 양상추 및 생면 시료를 단회 투여하고 2주간의 관찰기간동안 주 1회 체중을 측정한 결과, 모든 실험군의 암·수컷 동물에서 체중은 점진적으로 증가하는 경향을 보였으나 대조군과 비교하여 유의적인 차이($P > 0.05$)는 보이지 않음(Table 32-1 & 32-2)

Table 32-1. Changes in body weight of male rats in single dose toxicity of cold plasma-treated samples

Week	Male (g)			
	Control	Rice cake	Lettuce	Noodle
0	212.53 ± 23.80 ⁿ	211.00 ± 4.77	211.57 ± 5.17	213.18 ± 5.21
1	285.77 ± 10.21 ⁿ	276.65 ± 4.35	274.20 ± 9.39	288.37 ± 7.04
2	315.70 ± 13.40 ⁿ	304.95 ± 5.24	297.10 ± 14.66	320.02 ± 7.77
Weight gains (g)	103.17 ± 6.98 ^{ns}	93.95 ± 7.33	85.53 ± 9.86	106.83 ± 3.27

Values are the means ± Standard error of mean (SEM) for each group. NS, not significant.

Table 32-2. Changes in body weight of female rats in single dose toxicity of cold plasma-treated samples

Week	Female (g)			
	Control	Rice cake	Lettuce	Noodle
0	162.53 ± 9.60 ^{ns}	162.82 ± 5.79	164.50 ± 4.29	165.82 ± 5.52
1	206.70 ± 4.58 ^{ns}	197.63 ± 1.46	203.65 ± 2.93	211.27 ± 4.66
2	228.13 ± 4.78 ^{ns}	219.03 ± 2.73	227.85 ± 2.36	233.37 ± 6.81

Weight gains (g)	65.60 ± 6.11 ^{ns}	56.22 ± 5.29	63.35 ± 2.56	67.55 ± 5.17
------------------	----------------------------	--------------	--------------	--------------

Values are the means ± Standard error of mean (SEM) for each group. NS, not significant.

㉔ 식이 및 음수섭취량 변화

- 콜드플라즈마 처리된 떡볶이 떡, 양상추 및 생면 시료를 단회 투여하고 2주간의 관찰기간동안 주 2회 식이 및 음수 섭취량을 측정된 결과, 대조군과 비교하여 모든 실험군의 암·수컷 동물에서 식이 및 음수섭취량의 유의적인 변화($P > 0.05$)는 보이지 않음(Table 33-1 & 33-2)

Table 33-1. Changes in food and water consumption of male rats in single dose toxicity of cold plasma-treated samples

Consumption	Male			
	Control	Rice cake	Lettuce	Noodle
Food (g/day)	28.25 ± 1.70 ^{ns}	26.55 ± 0.35	25.82 ± 1.62	28.43 ± 0.81
Water (mL/day)	34.60 ± 0.66 ^{ns}	34.67 ± 0.53	34.38 ± 0.74	35.12 ± 0.43

Values are the means ± Standard error of mean (SEM) for each group. NS, not significant.

Table 33-2. Changes in food and water consumption of male rats in single dose toxicity of cold plasma-treated samples

Consumption	Female			
	Control	Rice cake	Lettuce	Noodle
Food (g/day)	20.47 ± 0.21 ^{ns}	19.87 ± 0.64	20.62 ± 0.23	20.30 ± 0.47
Water (mL/day)	26.81 ± 1.24 ^{ns}	25.52 ± 1.06	26.24 ± 0.85	28.10 ± 1.11

Values are the means ± Standard error of mean (SEM) for each group. NS, not significant.

㉕ 주요 장기의 중량 변화

- 콜드플라즈마 처리된 떡볶이 떡, 양상추 및 생면 시료를 단회 투여하고 2주간의 관찰기간 종료 후 각 실험군의 장기를 적출하여 육안적 소견을 관찰하고 중량을 측정된 결과, 모든 실험군의 암·수컷 동물의 장기에서 육안적 소견상 특이할 만한 병적 소견은 발견되지 않음. 실험군의 수컷 동물에서 간, 심장, 비장, 폐, 및 심장의 중량은 유의적인 차이를 보이지 않음(Table 34-1; $P > 0.05$). 실험군의 암컷 동물에서는

대조군과 비교하여 주요 장기의 무게에서는 유의적인 차이를 보이지 않음(Table 34-2; $P > 0.05$)

Table 34-1. Organ weight changes of male rats in single dose toxicity of cold plasma-treated samples

Organs (g/100g of body weight)	Male			
	Control	Rice cake	Lettuce	Noodle
Liver	3.29±0.18 ^{ns}	3.25±0.07	3.29±0.15	3.25±0.07
Kidney	0.93±0.04 ^{ns}	0.87±0.02	0.82±0.03	0.89±0.02
Spleen	0.19±0.01 ^{ns}	0.20±0.01	0.02±0.01	0.18±0.02
Lung	0.42±0.02 ^{ns}	0.42±0.02	0.47±0.05	0.51±0.03
Heart	0.39±0.01 ^{ns}	0.38±0.01	0.37±0.02	0.39±0.01

Values are the means ± Standard error of mean (SEM) for each group.

Table 34-2. Organ weight changes of female rats in single dose toxicity of cold plasma-treated samples

Organs (g/100g of body weight)	Female			
	Control	Rice cake	Lettuce	Noodle
Liver	3.26±0.11 ^{ns}	3.11±0.06	3.63±0.21	3.36±0.07
Kidney	0.86±0.03 ^{ns}	0.83±0.02	0.90±0.06	0.86±0.03
Spleen	0.22±0.01 ^{ns}	0.23±0.01	0.24±0.01	0.24±0.01
Lung	0.55±0.02 ^{ns}	0.52±0.02	0.53±0.03	0.52±0.02
Heart	0.42±0.01 ^{ns}	0.38±0.02	0.39±0.01	0.39±0.01

Values are the means ± Standard error of mean (SEM) for each group.

㉓ 혈액학적 검사

- 콜드플라즈마 처리된 떡볶이 떡, 양상추 및 생면 시료의 단회투여 독성시험에서 WBC, RBC, Hb, Hct, platelet, MCV, MCH 및 MCHC와 같은 혈액학적 지표를 측정된 결과, 모든 실험군의 수컷에서 대조군과 비교하여 혈소판 수치가 다소 증가하는 경향을 보였으나 모두 정상범위(platelet: 735-1418 $10^3/\mu\text{L}$) 내의 변화로 유의적인 차이는 보이지 않았으며 주요 혈액학적 지표 모두 대조군과 비교하여 유의적인 차이를 보이지 않음(Table 35-1; $P > 0.05$). 실험군의 암컷에서도 모든 지표에서 대조군과 비교하여 유의적인 차이는 보이지 않음(Table 35-2; $P >$

0.05)

Table 35-1. Hematological parameters of male rats in single dose toxicity of cold plasma-treated samples

Test	Unit	Male			
		Control	Rice cake	Lettuce	Noodle
WBC	$10^3 / \mu\text{L}$	$11.04 \pm 0.96^{\text{ns}}$	13.32 ± 0.28	13.86 ± 0.80	13.91 ± 2.97
RBC	$10^6 / \mu\text{L}$	$8.52 \pm 0.23^{\text{ns}}$	8.88 ± 0.42	8.78 ± 0.38	8.97 ± 0.27
Hb	g/dL	$17.13 \pm 0.27^{\text{ns}}$	17.90 ± 0.72	17.40 ± 0.81	17.80 ± 0.38
Hct	%	$56.77 \pm 1.66^{\text{ns}}$	58.70 ± 2.17	58.63 ± 2.67	58.67 ± 1.55
Platelet	$10^3 / \mu\text{L}$	$979.00 \pm 27.06^{\text{ns}}$	1068.67 ± 32.69	1035.33 ± 124.92	1116.00 ± 125.78
MCV	fL	$66.60 \pm 0.06^{\text{ns}}$	66.43 ± 0.09	66.77 ± 0.61	65.47 ± 0.42
MCH	Pg	$20.33 \pm 0.17^{\text{ns}}$	20.37 ± 0.09	20.03 ± 0.18	19.87 ± 0.20
MCHC	g/dL	$30.07 \pm 0.32^{\text{ns}}$	30.07 ± 0.18	29.63 ± 0.09	30.40 ± 0.21

Values are the means \pm Standard error of mean (SEM) for each group. NS, not significant. WBC: white blood cell count; RBC: red blood cell count; Hb: hemoglobin concentration; Hct: hematocrit; MCV: mean corpuscular volume; MCH: mean corpuscular hemoglobin; MCHC: mean corpuscular hemoglobin concentration.

Table 35-2. Hematological parameters of female rats in single dose toxicity of cold plasma-treated samples

Test	Unit	Female			
		Control	Rice cake	Lettuce	Noodle
WBC	10^3L	$9.44 \pm 0.56^{\text{ns}}$	10.30 ± 0.20	9.39 ± 0.77	8.21 ± 0.25
RBC	$10^6 / \mu\text{L}$	$8.75 \pm 0.49^{\text{ns}}$	8.74 ± 0.12	9.55 ± 0.28	8.73 ± 0.21
Hb	g/dL	$17.70 \pm 0.76^{\text{ns}}$	18.50 ± 1.23	18.87 ± 0.77	17.53 ± 0.38
Hct	%	$56.43 \pm 2.89^{\text{ns}}$	54.80 ± 1.63	60.33 ± 2.15	55.73 ± 1.30
Platelet	$10^3 / \mu\text{L}$	$1048.67 \pm 22.93^{\text{ns}}$	1036.00 ± 77.49	977.00 ± 59.54	976.67 ± 61.68
MCV	fL	$63.97 \pm 0.27^{\text{ns}}$	64.17 ± 1.17	63.63 ± 0.84	63.70 ± 0.25
MCH	Pg	$20.10 \pm 0.20^{\text{ns}}$	19.57 ± 0.32	19.73 ± 0.07	19.93 ± 0.07

MCHC	g/dL	31.57±0.18 ^{ns}	31.27±0.15	31.30±0.15	31.27±0.20
------	------	--------------------------	------------	------------	------------

Values are the means ± Standard error of mean (SEM) for each group. NS, not significant. WBC: white blood cell count; RBC: red blood cell count; Hb: hemoglobin concentration; Hct: hematocrit; MCV: mean corpuscular volume; MCH: mean corpuscular hemoglobin; MCHC: mean corpuscular hemoglobin concentration.

㉞ 혈액생화학적 검사

- 콜드플라즈마 처리된 떡볶이 떡, 양상추 및 생면 시료의 단회투여 독성시험에서 실험군의 혈액 생화학적 이상여부를 대조군과 비교한 결과 수컷에서는 모든 지표에서 유의적인 차이를 보이지 않음(Table 36-1; $P > 0.05$). 실험동물의 암컷에서도 대조군과 비교하여 모든 지표에서 유의적인 차이는 보이지 않음(Table 36-2; $P > 0.05$)

Table 36-1. Serum biochemical parameters of male rats in single dose toxicity of cold plasma-treated samples

Test	Unit	Male			
		Control	Rice cake	Lettuce	Noodle
ALB	g/dL	4.28±0.09 ^{ns}	4.43±0.05	4.25±0.27	4.65±0.10
ALT	U/L	43.75±1.60 ^{ns}	42.00±3.11	43.00±1.87	41.00±1.68
AST	U/L	67.50±0.87 ^{ns}	64.25±1.44	67.25±4.97	63.75±3.12
BUN	mg/dL	14.40±0.93 ^{ns}	16.88±1.24	14.58±0.67	14.58±1.35
CRE	mg/dL	0.27±0.01 ^{ns}	0.29±0.01	0.25±0.01	0.27±0.01
GLU	mg/dL	239.25±19.31	243.25±18.86	219.75±23.37	225.50±18.36
HDL	mg/dL	56.50±3.80 ^{ns}	56.75±3.45	55.00±2.35	55.25±4.40
NH ₃	g/dL	375.50±28.42 ^{ns}	370.25±26.65	358.00±14.85	387.00±33.39
TBIL	mg/dL	0.30±0.04 ^{ns}	0.33±0.06	0.25±0.03	0.28±0.03
TCHO	mg/dL	80.00±5.12 ^{ns}	84.75±3.07	81.00±1.22	82.50±7.63
TG	mg/dL	52.50±2.63 ^{ns}	61.00±5.92	58.25±12.94	46.50±3.80
TP	g/dL	6.08±0.06 ^{ns}	6.28±0.08	5.98±0.18	6.20±0.16
UA	mg/dL	5.10±0.31 ^{ns}	4.65±0.23	4.73±0.23	4.95±0.45

Values are the means ± Standard error of mean (SEM) for each group. ALB: albumin; ALT: alanine aminotransferase; AST: aspartate aminotransferase; BUN:

blood urea nitrogen; CRE; creatinine; GLU: glucose; HDL: high-density lipoprotein; NH₃: ammonia; TBIL: total bilirubin; TCHO: total cholesterol; TG: triglyceride; TP: total protein; UA: uric acid

Table 36-2. Serum biochemical parameters of female rats in single dose toxicity of cold plasma-treated samples

Test	Unit	Female			
		Control	Rice cake	Lettuce	Noodle
ALB	g/dL	4.80 ± 0.15 ^{ns}	4.53 ± 0.19	4.70 ± 0.09	4.68 ± 0.06
ALT	U/L	32.00 ± 2.52 ^{ns}	36.25 ± 2.78	38.25 ± 3.45	34.00 ± 0.91
AST	U/L	65.25 ± 1.60 ^{ns}	65.00 ± 4.53	64.25 ± 1.18	68.00 ± 2.80
BUN	mg/dL	19.70 ± 0.44 ^{ns}	20.60 ± 0.81	19.08 ± 0.48	18.55 ± 0.56
CRE	mg/dL	0.29 ± 0.02 ^{ns}	0.31 ± 0.03	0.30 ± 0.02	0.30 ± 0.01
GLU	mg/dL	206.50 ± 10.43 ^{ns}	213.50 ± 15.79	210.00 ± 15.58	203.00 ± 20.31
HDL	mg/dL	57.75 ± 0.85 ^{ns}	60.50 ± 3.80	60.75 ± 3.68	58.00 ± 4.36
NH ₃	g/dL	315.00 ± 18.66 ^s	309.25 ± 9.13	314.50 ± 35.42	325.00 ± 7.36
TBIL	mg/dL	0.45 ± 0.03 ^{ns}	0.40 ± 0.04	0.40 ± 0.04	0.48 ± 0.03
TCHO	mg/dL	94.75 ± 2.10 ^{ns}	93.25 ± 4.13	93.00 ± 3.81	91.00 ± 8.41
TG	mg/dL	61.50 ± 3.50 ^{ns}	62.00 ± 11.53	59.50 ± 8.47	61.75 ± 6.12
TP	g/dL	6.70 ± 0.08 ^{ns}	6.48 ± 0.07	6.43 ± 0.05	6.63 ± 0.13
UA	mg/dL	3.88 ± 0.11 ^{ns}	4.18 ± 0.42	4.28 ± 0.35	4.13 ± 0.44

Values are the means ± Standard error of mean (SEM) for each group. ALB: albumin; ALT: alanine aminotransferase; AST: aspartate aminotransferase; BUN: blood urea nitrogen; CRE; creatinine; GLU: glucose; HDL: high-density lipoprotein; NH₃: ammonia; TBIL: total bilirubin; TCHO: total cholesterol; TG: triglyceride; TP: total protein; UA: uric acid

④ 콜드플라즈마 처리 시료의 아급성 경구 독성 시험 결과

㉠ 사망률 및 독성증상

- 2주간 콜드플라즈마 처리된 떡볶이 떡, 양상추 및 생면 시료를 반복 투여하고 2주간의 관찰기간 동안 떡볶이 떡, 양상추, 및 생면 시료를 투여한 모든 실험군의 암·수컷 동물에서 시료의 투여 후 사망은 관찰되지 않았으며(Table 37), 시료의 반복투여

로 인한 독성증상(털빠짐, 설사, 연변, 운동성 감소, 부종 등)은 관찰되지 않음(Table 38-1 & 38-2)

Table 37. Mortality of rats in repeated dose toxicity of cold plasma-treated samples for 2 weeks

Sex	Group	Dose (g/kg)	Number of animals	Mortality (%)	
				(Dead/Total)	(%)
Male	Control	0	6	0/6	0
	Rice cake	1	6	0/6	0
	Lettuce	1	6	0/6	0
	Noodle	1	6	0/6	0
Female	Control	0	6	0/6	0
	Rice cake	1	6	0/6	0
	Lettuce	1	6	0/6	0
	Noodle	1	6	0/6	0

Table 38-1. Toxic signs of rats in repeated dose toxicity of cold plasma-treated samples for 2 weeks

Male	Group for acute toxicity			
	Control	Rice cake	Lettuce	Noodle
Loss of fur	NAD	NAD	NAD	NAD
Diarrhea	NAD	NAD	NAD	NAD
Polyurea	NAD	NAD	NAD	NAD
Soft stool	NAD	NAD	NAD	NAD
Decrease motor activity	NAD	NAD	NAD	NAD
Edema	NAD	NAD	NAD	NAD

NAD: no abnormalities detected.

Table 38-2. Toxic signs of rats in repeated dose toxicity of cold plasma-treated samples for 2 weeks

Male	Group for acute toxicity			
	Control	Rice cake	Lettuce	Noodle
Loss of fur	NAD	NAD	NAD	NAD

Diarrhea	NAD	NAD	NAD	NAD
Polyurea	NAD	NAD	NAD	NAD
Soft stool	NAD	NAD	NAD	NAD
Decrease motor activity	NAD	NAD	NAD	NAD
Edema	NAD	NAD	NAD	NAD

NAD: no abnormalities detected.

㉔ 체중 변화

- 2주간 콜드플라즈마 처리된 떡볶이 떡, 양상추 및 생면 시료를 반복 투여하고 2주간의 관찰기간 동안 주 1회 체중을 측정된 결과, 모든 실험군의 암·수컷 동물에서 체중은 점진적으로 증가하는 경향을 보였으며 대조군과 비교하여 유의적인 차이는 보이지 않았음(Table 39-1 & 39-2; $P > 0.05$)

Table 39-1. Changes in body weight of male rats in repeated dose toxicity of cold plasma-treated samples for 2 weeks

Week	Male (g)			
	Control	Rice cake	Lettuce	Noodle
0	287.07 ± 3.38 ^{ns}	277.33 ± 5.20	284.62 ± 4.79	284.62 ± 2.06
1	317.82 ± 4.09 ^{ns}	294.23 ± 16.90	318.57 ± 6.39	320.52 ± 4.77
2	359.23 ± 4.68 ^{ns}	345.53 ± 6.54	356.05 ± 7.03	358.15 ± 7.03
3	379.30 ± 21.36 ⁿ	373.02 ± 7.87	396.85 ± 11.45	399.68 ± 8.69
4	405.53 ± 13.77 ⁿ	386.87 ± 8.76	408.55 ± 15.37	410.60 ± 9.83
5	450.23 ± 12.62 ⁿ	437.87 ± 7.19	445.77 ± 14.76	436.53 ± 12.82
Weight gains (g)	231.38 ± 12.02 ⁿ	217.88 ± 5.35	226.27 ± 14.22	215.72 ± 13.82

Values are the means ± Standard error of mean (SEM) for each group.

Table 39-2. Changes in body weight of female rats in repeated dose toxicity of cold plasma-treated samples for 2 weeks

Week	Female (g)			
	Control	Rice cake	Lettuce	Noodle
0	173.97 ± 3.40 ^{ns}	172.80 ± 1.66	173.37 ± 2.24	173.70 ± 1.65

1	212.96 ± 6.01 ^{ns}	215.27 ± 2.83	214.65 ± 3.89	211.12 ± 3.44
2	232.07 ± 10.42 ⁿ	245.25 ± 4.32	235.52 ± 6.45	238.72 ± 5.62
3	244.86 ± 11.01 ⁿ	246.68 ± 7.00	246.25 ± 9.05	253.55 ± 6.08
4	262.20 ± 13.05 ⁿ	269.88 ± 4.65	266.08 ± 9.05	269.22 ± 7.04
5	271.37 ± 11.80 ⁿ	276.85 ± 7.88	268.20 ± 8.66	282.30 ± 8.29
Weight gains (g)	97.40 ± 10.05 ^{ns}	102.78 ± 8.36	94.83 ± 7.75	108.60 ± 6.98

Values are the means ± Standard error of mean (SEM) for each group.

㉔ 식이 및 음수섭취량 변화

- 2주간의 콜드플라즈마 처리된 떡볶이 떡, 양상추 및 생면 시료 반복투여군은 대조군과 비교하여 식이 및 음수 섭취량의 유의적인 변화는 나타나지 않았음(Table 40-1 & 40-2; $P > 0.05$)

Table 40-1. Changes in food and water consumption of male rats in repeated dose toxicity of cold plasma-treated samples for 2 weeks

Consumption	Male			
	Control	Rice cake	Lettuce	Noodle
Food (g/day)	28.25 ± 1.70 ^{ns}	26.55 ± 0.35	25.82 ± 1.62	28.43 ± 0.81
Water (mL/day)	34.60 ± 0.66 ^{ns}	34.67 ± 0.53	34.38 ± 0.74	35.12 ± 0.43

Values are the means ± Standard error of mean (SEM) for each group. NS, not significant.

Table 40-2. Changes in food and water consumption of female rats in repeated dose toxicity of cold plasma-treated samples for 2 weeks

Consumption	Female			
	Control	Rice cake	Lettuce	Noodle
Food (g/day)	21.16 ± 0.95 ^{ns}	20.55 ± 1.23	21.80 ± 2.24	21.96 ± 0.66
Water (mL/day)	29.43 ± 3.20 ^{ns}	24.05 ± 2.27	26.43 ± 2.03	28.45 ± 1.40

Values are the means ± Standard error of mean (SEM) for each group. NS, not significant.

㉕ 주요 장기의 중량 변화

- 2주간의 반복투여 독성시험에서 각 실험군의 장기를 적출하여 육안적 소견을 관찰하고 중량을 측정된 결과, 2주간의 콜드플라즈마 처리된 떡볶이 떡, 양상추 및 생면 시료의 반복 투여 독성 시험에서 모든 실험군의 암·수컷 동물의 장기에서 육안적 소견상 특이할 만한 병적소견은 발견되지 않았으며, 대조군과 비교하여 장기 중량의 유의적인 차이는 보이지 않았음(Table 41-1 & 41-2; $P > 0.05$)

Table 41-1. Organ weight changes of male rats in repeated dose toxicity of cold plasma-treated samples for 2 weeks

Organs (g/100g of body weight)	Male			
	Control	Rice cake	Lettuce	Noodle
Liver	2.92±0.09 ^{ns}	3.14±0.09	3.06±0.07	3.16±0.06
Kidney	0.78±0.02 ^{ns}	0.82±0.01	0.86±0.02	0.78±0.01
Spleen	0.21±0.02 ^{ns}	0.20±0.01	0.21±0.01	0.18±0.01
Lung	0.38±0.01 ^{ns}	0.38±0.01	0.38±0.01	0.37±0.02
Heart	0.35±0.01 ^{ns}	0.34±0.01	0.36±0.02	0.35±0.01

Values are the means ± Standard error of mean (SEM) for each group. NS, not significant.

Table 41-2. Organ weight changes of female rats in repeated dose toxicity of cold plasma-treated samples for 2 weeks

Organs (g/100g of body weight)	Female			
	Control	Rice cake	Lettuce	Noodle
Liver	2.95±0.06 ^{ns}	3.07±0.10	2.78±0.07	2.98±0.05
Kidney	0.73±0.01 ^{ns}	0.75±0.02	0.73±0.02	0.77±0.01
Spleen	0.22±0.01 ^{ns}	0.20±0.01	0.21±0.01	0.19±.01
Lung	0.44±0.02 ^{ns}	0.50±0.03	0.43±0.01	0.45±0.01
Heart	0.36±0.02 ^{ns}	0.37±0.03	0.37±0.01	0.36±0.01

Values are the means ± Standard error of mean (SEM) for each group. NS, not significant

㉓ 혈액학적 검사

- 2주간의 반복투여 독성시험에서 콜드플라즈마 처리된 시료를 투여 받은 모든 실험군의 수컷에서는 혈액학적 지표를 대조군과 비교한 결과 유의적인 차이는 보이지 않았음(Table 42-1; $P > 0.05$). 콜드플라즈마 처리된 떡볶이 떡과 생면을 투여 받은 실험군의 암컷에서 대조군과 비교하여 WBC 및 RBC 수치가 다소 감소하는 경향을 보였으나 유의적인 차이는 보이지 않았고 모두 정상범위 (WBC: $3.0\text{--}14.3 \times 10^3/\mu\text{L}$, RBC: $6.69\text{--}8.92 \times 10^6/\mu\text{L}$) 내의 변화로 비실험물질 유래 변화로 판단하였음(Table 42-2; $P > 0.05$)

Table 42-1. Hematological parameters of male rats in repeated dose toxicity of cold plasma-treated samples for 2 weeks

Test	Unit	Male			
		Control	Rice cake	Lettuce	Noodle
WBC	$10^3/\mu\text{L}$	$10.67 \pm 1.85^{\text{ns}}$	10.31 ± 0.74	11.94 ± 1.84	11.94 ± 1.84
RBC	$10^6/\mu\text{L}$	$8.69 \pm 0.28^{\text{ns}}$	8.40 ± 0.07	8.53 ± 0.19	9.08 ± 0.21
Hb	g/dL	$16.57 \pm 0.45^{\text{ns}}$	16.53 ± 0.12	16.27 ± 0.30	17.23 ± 0.43
Hct	%	$54.53 \pm 1.44^{\text{ns}}$	54.40 ± 0.85	53.83 ± 0.58	57.30 ± 1.60
Platelet	$10^3/\mu\text{L}$	$1074.33 \pm 18.34^{\text{ns}}$	967.00 ± 41.51	1069.67 ± 60.67	1101.33 ± 74.48
MCV	fL	$63.97 \pm 1.11^{\text{ns}}$	64.13 ± 0.43	64.00 ± 0.57	63.07 ± 1.03
MCH	Pg	$18.97 \pm 0.37^{\text{ns}}$	19.60 ± 0.15	19.33 ± 0.15	19.00 ± 0.25
MCHC	g/dL	$30.30 \pm 0.20^{\text{ns}}$	30.37 ± 0.26	30.23 ± 0.22	30.10 ± 0.12

Values are the means \pm Standard error of mean (SEM) for each group. NS, not significant. WBC: white blood cell count; RBC: red blood cell count; Hb: hemoglobin concentration; Hct: hematocrit; MCV: mean corpuscular volume; MCH: mean corpuscular hemoglobin; MCHC: mean corpuscular hemoglobin concentration.

Table 42-2. Hematological parameters of female rats in repeated dose toxicity of cold plasma-treated samples for 2 weeks

Test	Unit	Female			
		Control	Rice cake	Lettuce	Noodle
WBC	$10^3/\mu\text{L}$	$9.03 \pm 0.62^{\text{ns}}$	7.54 ± 0.06	8.10 ± 0.47	7.25 ± 0.92
RBC	$10^6/\mu\text{L}$	$8.27 \pm 0.27^{\text{ns}}$	7.68 ± 0.12	8.17 ± 0.11	7.79 ± 0.19
Hb	g/dL	$16.07 \pm 0.41^{\text{ns}}$	15.37 ± 0.18	16.30 ± 0.06	15.80 ± 0.53
Hct	%	$52.53 \pm 1.23^{\text{ns}}$	52.03 ± 1.89	52.53 ± 0.35	50.77 ± 1.41

Platelet	10 ³ / μ L	979.00 \pm 147.7 ^{ns} ₁	1116.67 \pm 51.9 ₀	1089.67 \pm 80.6 ₃	1092.00 \pm 103.96
MCV	fL	64.70 \pm 0.60 ^{ns}	64.23 \pm 0.26	63.33 \pm 0.57	63.60 \pm 0.96
MCH	Pg	19.43 \pm 0.18 ^{ns}	19.60 \pm 0.32	19.63 \pm 0.34	19.37 \pm 0.20
MCHC	g/dL	30.87 \pm 0.12 ^{ns}	30.87 \pm 0.18	30.67 \pm 0.30	30.87 \pm 0.12

Values are the means \pm Standard error of mean (SEM) for each group. WBC: white blood cell count; RBC: red blood cell count; Hb: hemoglobin concentration; Hct: hematocrit; MCV: mean corpuscular volume; MCH: mean corpuscular hemoglobin; MCHC: mean corpuscular hemoglobin concentration.

㉞ 혈액생화학적 검사

- 콜드플라즈마 처리된 떡볶이 떡, 양상추 및 생면 시료의 반복투여 독성시험에서 실험군의 암·수컷 동물의 혈액 생화학적 검사 결과, 대조군과 비교하여 모든 지표들에서 유의적인 차이($P > 0.05$)를 보이지 않았음(Table 43-1 & Table 43-2)

Table 43-1. Serum biochemical parameters of male rats in repeated dose of cold plasma-treated samples for 2 weeks

Test	Unit	Male			
		Control	Rice cake	Lettuce	Noodle
ALB	g/dL	4.33 \pm 0.29 ^{ns}	4.48 \pm 0.05	4.43 \pm 0.05	4.33 \pm 0.09
ALT	U/L	41.50 \pm 2.72 ^{ns}	42.50 \pm 3.01	38.50 \pm 1.50	39.50 \pm 4.35
AST	U/L	64.50 \pm 8.35 ^{ns}	64.50 \pm 4.21	62.00 \pm 1.78	63.75 \pm 3.94
BUN	mg/dL	14.55 \pm 0.77 ^{ns}	13.23 \pm 1.15	13.93 \pm 0.85	14.23 \pm 0.82
CRE	mg/dL	0.29 \pm 0.02 ^{ns}	0.31 \pm 0.01	0.29 \pm 0.02	0.26 \pm 0.01
GLU	mg/dL	246.00 \pm 13.85	242.75 \pm 36.38	236.25 \pm 14.62	236.00 \pm 6.57
HDL	mg/dL	64.75 \pm 2.10 ^{ns}	67.50 \pm 1.89	59.50 \pm 3.57	58.25 \pm 2.81
NH3	g/dL	366.75 \pm 34.55	363.25 \pm 11.05	367.50 \pm 12.43	358.00 \pm 15.76
TBIL	mg/dL	0.40 \pm 0.04 ^{ns}	0.45 \pm 0.03	0.38 \pm 0.05	0.40 \pm 0.04
TCHO	mg/dL	99.25 \pm 2.32 ^{ns}	115.75 \pm 4.05	95.75 \pm 5.31	95.00 \pm 2.61
TG	mg/dL	42.00 \pm 4.22 ^{ns}	45.75 \pm 5.72	44.50 \pm 6.64	49.50 \pm 5.33
TP	g/dL	6.45 \pm 0.22 ^{ns}	6.60 \pm 0.15	6.25 \pm 0.06	6.40 \pm 0.13

UA mg/dL 5.08±0.34^{ns} 5.38±0.44 5.13±0.19 4.85±0.24

Values are the means ± Standard error of mean (SEM) for each group. NS, not significant. ALB: albumin; ALT: alanine aminotransferase; AST: aspartate aminotransferase; BUN: blood urea nitrogen; CRE; creatinine; GLU: glucose; HDL: high-density lipoprotein; NH₃: ammonia; TBIL:totalbilirubin; TCHO:totalcholesterol; TG:triglyceride; TP:totalprotein; UA:uricacid

Table 43-2. Serum biochemical parameters of female rats in repeated dose of cold plasma-treated samples for 2 weeks

Test	Unit	Female			
		Control	Rice cake	Lettuce	Noodle
ALB	g/dL	5.10±0.21 ^{ns}	5.25±0.27	5.05±0.06	5.05±0.09
ALT	U/L	34.00±1.00 ^{ns}	0.43±0.02	0.45±0.05	0.43±0.05
AST	U/L	61.25±2.21 ^{ns}	57.50±2.40	64.25±10.50	62.25±3.75
BUN	mg/dL	18.23±2.03 ^{ns}	17.35±0.64	18.90±1.05	17.80±0.36
CRE	mg/dL	0.32±0.01 ^{ns}	0.32±0.02	0.32±0.02	0.31±0.02
GLU	mg/dL	244.25 _{ns} ±34.87	242.25±28.75	198.75±13.71	252.50±20.47
HDL	mg/dL	67.25±5.44 ^{ns}	73.25±4.80	68.25±7.95	71.75±2.29
NH ₃	g/dL	390.75 _{ns} ±26.40	406.50±28.43	369.75±23.57	381.00±15.45
TBIL	mg/dL	0.43±0.09 ^{ns}	0.43±0.02	0.45±0.05	0.43±0.05
TCHO	mg/dL	108.75±8.64 ^{ns}	126.25±10.01	112.00±14.38	110.75±6.13
TG	mg/dL	63.25±7.35 ^{ns}	54.50±9.90	59.75±2.72	65.75±8.84
TP	g/dL	6.78±0.10 ^{ns}	7.25±0.25	6.93±0.09	7.00±0.14
UA	mg/dL	4.50±0.58 ^{ns}	4.80±0.41	4.00±0.11	4.65±0.25

Values are the means ± Standard error of mean (SEM) for each group. NS, not significant. ALB: albumin; ALT: alanine aminotransferase; AST: aspartate aminotransferase; BUN: blood urea nitrogen; CRE; creatinine; GLU: glucose; HDL: high-density lipoprotein; NH₃: ammonia; TBIL:totalbilirubin; TCHO:totalcholesterol; TG:triglyceride; TP:totalprotein; UA:uricacid

나. 플라즈마 살균기술 적용에 적합한 포장 방법 설정 및 포장지 변형 등 위해요소 확인^{3, 8)}

(1) 플라즈마 비열 살균을 위한 포장방법 설정

(가) 전극간의 거리가 긴(35 mm) 포장 내 플라즈마 발생 장치(large gap-in-package cold plasma (CP))를 이용한 포장방법 설정

- Large gap-in-package CP 처리 시 포장 재질이 nylon+LDPE 그리고 nylon+PP일 때, 토착 미생물의 저해 정도가 유의적으로 높았음(Table 44; $P < 0.05$). 따라서 이후 포장 형태를 결정하기 위한 실험에서 연포장의 재질은 nylon+LDPE로 결정하였음.

Table 44. Effects of packaging materials on inactivation of total mesophilic aerobic bacteria in rice cake by large gap-in-package cold plasma treatment

Number of samples (pieces)	LDPE	PP	Nylon+LDPE	Nylon+PP
Microbial reduction (log CFU/g)	0.5±0.2b	0.8±0.1b	1.6±0.4a	1.5±0.3a

- Large gap-in-package CP 처리 시 포장 형태를 결정하기 위해 포장 형태의 종류는 연포장, 경포장, 그리고 연포장 내 경포장(2차 포장)을 선택하였음.
- Large gap-in-package CP 처리시 포장 형태가 2차 포장일 때 토착 미생물의 저해 정도가 유의적으로 높았음($P < 0.05$).
- 따라서 떡볶이 떡의 토착 미생물 저해를 위한 large gap-in-package CP처리의 포장 방법은 nylon+LDPE 연포장 파우치 내 PET 용기로 경포장된 2차 포장으로 결정되었음.

(2) 플라즈마 처리 시 발생하 수 있는 포장지 변형 위해 요소 확인

② Large gap-in-package CP 장비를 이용한 처리와 포장재의 특성에 대한 영향 구명

(가) 전극간의 거리가 긴(35 mm) 포장 내 플라즈마 발생 장치(large gap-in-package cold plasma (CP))를 이용한 포장방법 설정

㉠ Large gap-in-package CP 처리의 처리 및 포장재 변수에 따른 떡볶이 떡의 물리적 특성 변화

(2) Large gap-in-package CP 장비를 이용한 처리와 포장재의 특성에 대한 영향 구명

(가) Large gap-in-package CP 처리의 처리 및 포장재 변수에 따른 떡볶이 떡의 물리적 특성 변화

- Large gap-in-package CP 처리는 식품이 포장된 포장재의 수분 투과도, 산소 투과도, 그리고 인장 특성을 변화시키지 않았음(Table 45; $P > 0.05$).

Table 45. Effects of large gap-in-package cold plasma (CP) treatment on water vapor permeability, oxygen transmission rate, tensile strength, % elongation at break, and elastic modulus of low-density polyethylene (LDPE), polypropylene (PP), nylon/LDPE, and nylon/casted PP (CPP).

Packaging materials	Treatments	Water vapor permeability (g · mm/k · Pa · h · m ²)	Oxygen transmission rate (mL/m ² · day · atm)	Tensile strength (MPa)	% elongation at break (%)	Elastic modulus (MPa)
LDPE	Untreated	0.016±0.002a	1201.78±278.83a	18.71±1.07a	425.51±1.49a	211.03±21.08a
	CP-treated	0.016±0.001a	1225.46±265.75a	18.31±0.50a	427.34±3.09a	209.30±32.12a
PP	Untreated	0.014±0.001a	718.27±175.07a	14.79±0.59a	425.08±1.54a	615.82±13.34a
	CP-treated	0.013±0.003a	727.81±44.58a	13.21±1.43a	425.97±2.54a	613.55±3.72a
Nylon/LDPE	Untreated	0.013±0.001a	257.46±28.58a	30.93±8.18a	83.03±8.53a	641.18±5.27a
	CP-treated	0.012±0.001a	239.80±18.88a	30.77±3.34a	83.80±9.08a	645.10±36.71a
Nylon/PP	Untreated	0.016±0.002a	168.58±39.73a	29.35±2.10a	87.99±18.72a	1063.70±12.05a
	CP-treated	0.015±0.006a	163.65±27.32a	29.81±2.33a	87.67±10.71a	1076.75±20.01a

(3) 플라즈마 처리 시 발생할 수 있는 포장지 변형 위해 요소 확인

(가) IPP 장비를 이용하여 처리와 포장재의 특성에 대한 영향 구명

① IPP 처리 후 포장재 물리적 특성 측정

- IPP 처리하지 않은 포장재의 표면은 상대적으로 굴곡이 없이 매끄러운 것을 확인할 수 있었음(Fig. 37). IPP 처리 시 전극이 닿은 포장재 표면의 경우 굴곡이 많이 형성된 것을 관찰할 수 있었고 전극이 닿지 않은 포장재의 표면에서도 상대적으로 정도는 덜하지만 몇 군데의 굴곡이 보였음(Fig. 37).

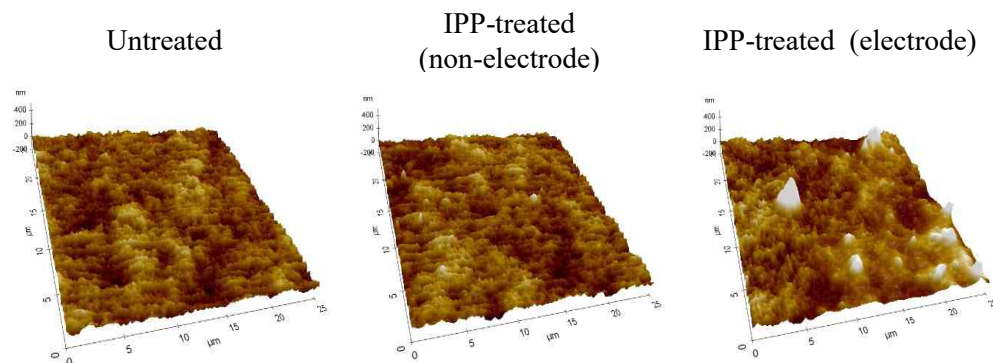


Figure 37. Atomic force microscopy images of nylon/LDPE package surface treated by in-package cold plasma (CP)

- IPP 처리하지 않은 포장재와 비교해 IPP 처리한 포장재의 거칠기 파라미터인 R_{rms} , $R_{average}$, 그리고 R_{peak} 가 증가하였음(Table 46)

Table 46. The roughness parameters of nylon/LDPE package surface treated by in-package cold plasma (CP)

Treatments	R_{rms} (nm)	$R_{average}$ (nm)	R_{peak} (nm)
Untreated	35.7	27.9	132.6
CP-treated	37.2	29.5	161.6

(non-electrode) CP-treated (electrode)	54.1	37.5	481.8
--	------	------	-------

*R_{rms}: root mean square roughness
 *R_{average}: average surface roughness
 *R_{peak}: highest peak height

- IPP 처리하지 않은 포장재와 IPP 처리 중 전극이 닿지 않은 포장재를 ATR-FTIR 측정했을 때 2918 그리고 2849 cm⁻¹에서 -C-H- stretching vibration (각각 C-H asymmetrical stretching vibration 그리고 C-H symmetrical stretching vibration), 1463 cm⁻¹과 719 cm⁻¹에서 CH₂ group이 변형된 구조(각각 CH₂ scissoring vibration 그리고 CH₂ rocking vibration)에 해당하는 피크를 확인할 수 있었음(Fig. 38).
- IPP 처리 시 전극이 닿은 포장재의 경우 앞서 네 군데의 파장에서 피크뿐만 아니라 1749 cm⁻¹ (C=O stretching vibration)에서 새로운 피크를 확인할 수 있었음(Fig. 38).

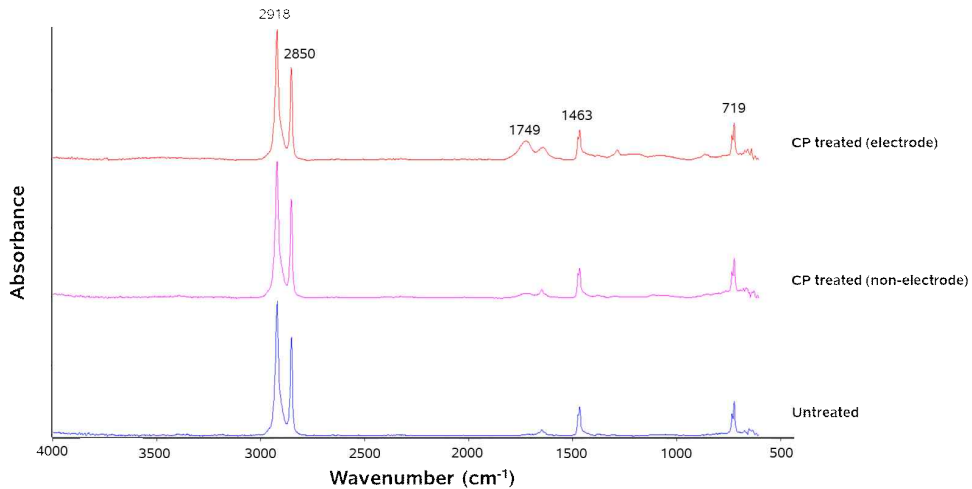


Figure 38. Attenuated total reflection Fourier transform infrared spectroscopy spectra of nylon/LDPE package surface treated by in-package cold plasma (CP)

- IPP 처리했을 때 처리하지 않은 포장재 표면의 원소 함량과 비교해 탄소함량은 감소하고 산소와 질소함량은 증가하였음(Table 47).
- IPP 처리 중 전극이 닿지 않은 포장재의 경우 처리 시 전극이 닿은 포장재와 비교해 N/C 비율이 증가하였고, 처리 중 전극이 닿은 포장재의 경우 처리 시 전극이 닿지 않은 포장재와 비교해 O/C 비율이 증가하였음(Table 47).

Table 47. The elemental composition and ratio of nylon/LDPE package surface treated by in-package cold plasma (CP)

Sample	CIs (%)	OIs (%)	NIs (%)	O/C	N/C
Untreated	87.07	9.36	1.62	0.11	0.02

CP-treated (non-electrode)	80.15	11.45	7.41	0.14	0.09
CP-treated (electrode)	72.82	21.54	4.17	0.30	0.06

- 아무 처리하지 않은 포장재의 경우 각각 C-H/C-C, C-N, 그리고 C=O 결합에 해당하는 284.8, 286.0, 그리고 288.1 eV에서 각각의 피크를 확인할 수 있었음(Fig. 39).
- IPP 처리 중 전극이 닿지 않은 포장재는 처리 후 284.8와 288.1 eV에 해당하는 피크의 세기가 감소하고 286.0 eV에 해당하는 피크의 세기는 증가하였음. 또한 286.9와 287.6 eV에서 새로운 피크가 나타남(Fig. 39).
- 아무 처리하지 않은 필름과 비교해 IPP 처리 중 전극이 닿은 필름의 경우 처리 후 284.8와 286.0 eV에 해당하는 피크의 세기는 감소하였으며, 각각 C-O와 O=C-O에 해당하는 286.9와 289.0 eV에서 새로운 피크가 나타남(Fig. 39).

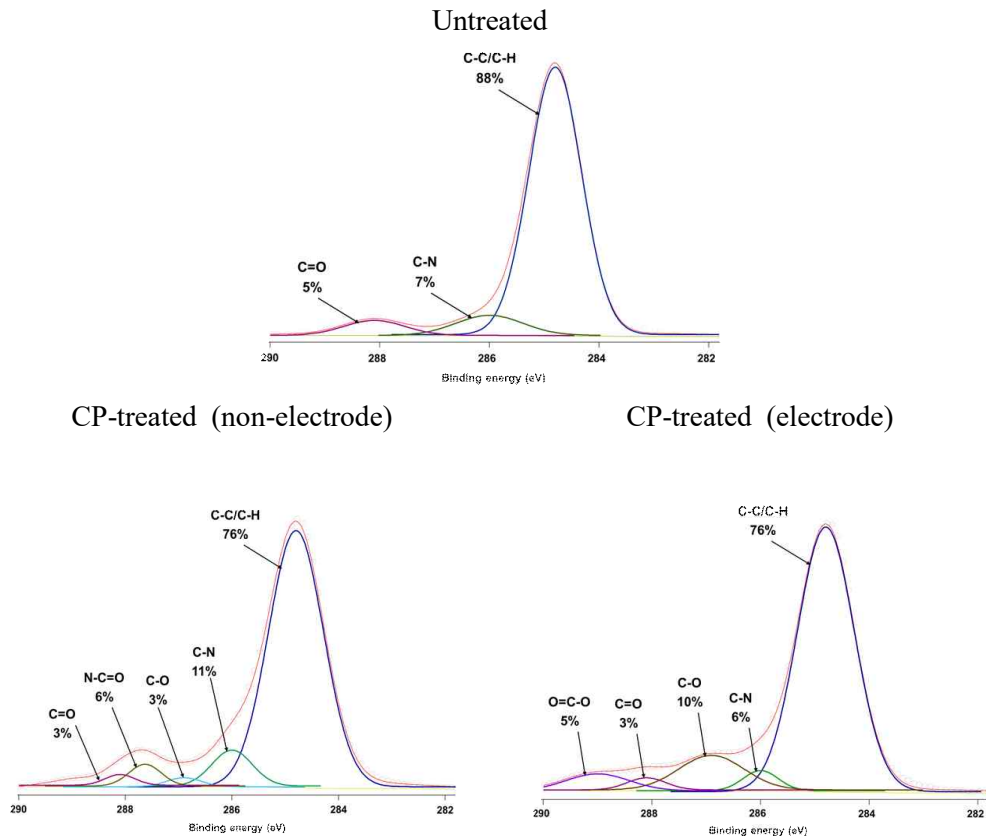


Figure 39. Deconvoluted C1s peaks of nylon/LDPE package surface treated by in-package cold plasma (CP)

- IPP 처리하지 않은 포장재의 접촉각은 IPP 처리한 포장재보다 높았으며, 처리 중 전극이 닿은 포장재가 전극이 닿지 않은 포장재보다 접촉각이 더 높았음(Fig. 40)

Untreated IPP-treated (non-electrode) IPP-treated (electrode)

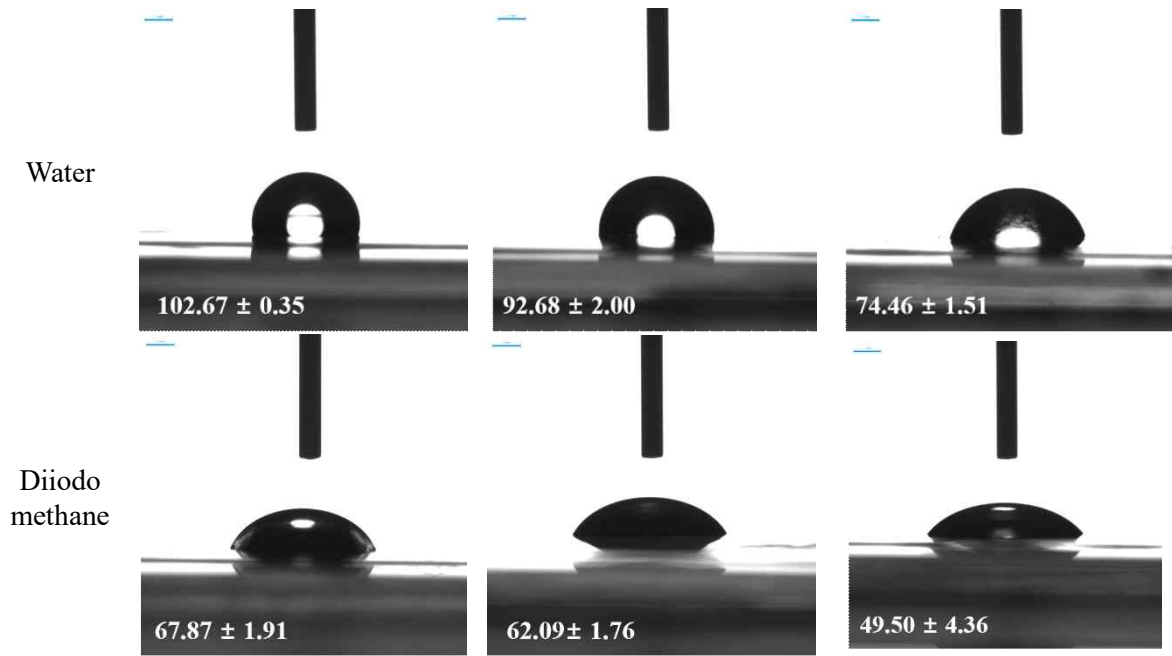


Figure 40. The contact angle of nylon/LDPE package surface treated by in-package cold plasma (CP)

- IPP 처리한 포장재의 표면 자유 에너지는 처리하지 않은 포장재보다 더 높았으며, 분산 성분과 극성성분이 함께 증가하는 경향을 보임(Table 48).
- IPP 처리 시 전극이 닿지 않은 포장재보다 전극이 닿은 포장재의 표면 자유 에너지가 더 높았음(Table 48).

Table 48. The surface free energy parameters of nylon/LDPE package surface treated by in-package cold plasma (CP)

	Polar component (mJ/m ²)	Dispersive component (mJ/m ²)	Total surface free energy (mJ/m ²)
Untreated	24.68 ± 0.93	24.07 ± 1.08	0.61 ± 0.16
CP-treated (non-electrode)	29.47 ± 1.13	27.38 ± 1.01	2.10 ± 0.46
CP-treated (electrode)	41.50 ± 1.40	34.53 ± 2.43	6.96 ± 1.28

- 아무 처리하지 않은 포장재와 IPP 처리 중 전극이 닿은 포장재의 불투명도는 차이가 없었지만(Table 49; $P > 0.05$), IPP 처리 중 전극이 닿은 포장재의 불투명도는 유의적으로 증가하였다(Table 49; $P < 0.05$).

Table 49. Effect of cold plasma (CP) treatment on opacity of nylon/LDPE package

Treatments	Opacity (AU × nm/μm)
------------	----------------------

		0 day
Untreated		1.06 ± 0.06 b
CP-treated (non-electrode)		1.07 ± 0.03 b
CP-treated (electrode)		1.18 ± 0.03 a

- IPP 처리하거나 처리하지 않은 포장재의 산소와 수증기 투과율은 유의적인 차이가 없었음(Table 50; $P > 0.05$).

Table 50. Effect of in-package cold plasma (CP) treatment on oxygen transmission rate (OTR), water vapor permeability (WVP) of nylon/LDPE package

Treatments	OTR (mL/m ² × day × atm)		WVP (g × mm × k ⁻¹ × Pa ⁻¹ × h ⁻¹ × m ⁻²)
			0 day
	0 day	3 day	
Untreated	338.46 ± 7.74 Aa	344.44 ± 26.56 Aa	6.01 ± 0.12 a
CP-treated (non-electrode)	325.00 ± 24.05 Aa	319.61 ± 31.04 Aa	6.24 ± 0.07 a
CP-treated (electrode)	315.81 ± 17.71 Aa	340.70 ± 32.93 Aa	6.46 ± 0.21 a

- IPP 처리하지 않은 포장재와 처리 중 전극이 닿지 않은 포장재, 그리고 처리 중 전극이 닿은 포장재의 tensile strength (TS)와 elongation at break (EAB)는 모든 일자에서 처리에 따른 유의적인 차이가 없었음(Table 51; $P > 0.05$).
- IPP 처리 후 떡볶이 떡을 제거하지 않거나 제거한 포장재를 12시간 저장하거나 이를 72시간 동안 저장한 TS와 EAB는 모두 유의적인 차이가 없었음(Table 51; $P > 0.05$).
- 떡볶이 떡을 제거하고 12시간 저장하거나 72시간 저장한 포장재의 TS와 EAB는 모두 유의적인 차이가 없었음(Table 51; $P > 0.05$).

Table 51. Effect of in-package cold plasma (CP) treatment on tensile strength, and elongation at break of nylon/LDPE package

Treatments	Tensile strength (MPa)				Elongation at break (%)			
	0 day		3 day		0 day		3 day	
	24 h	72 h	24 h	72 h	24 h	72 h	24 h	72 h
Untreated	35.98 ± 1.20 Aa	34.03 ± 1.77 Aa	33.64 ± 1.77 Aa	32.30 ± 0.54 Aa	98.76 ± 5.30 Aa	106.29 ± 14.06 Aa	90.64 ± 4.93 Aa	84.78 ± 8.12 Aa
CP-treated (non-electrode)	35.46 ± 0.87 Aa	37.43 ± 1.26 Aa	33.20 ± 0.76 Aa	35.71 ± 1.65 Aa	88.37 ± 2.27 Aa	96.38 ± 9.17 Aa	86.07 ± 1.20 Aa	91.60 ± 3.49 Aa
CP-treated (electrode)	35.26 ± 1.31 Aa	35.41 ± 1.47 Aa	32.24 ± 1.28 Aa	34.52 ± 1.88 Aa	84.36 ± 10.54 Aa	85.12 ± 4.04 Aa	89.00 ± 0.11 Aa	88.85 ± 6.57 Aa

3. 목표 달성도 및 관련 분야 기여도

3-1. 목표

가. 정량적 목표

- 냉장유통 즉석섭취편이식품의 안전성과 유통기한 확대를 위한 플라즈마 살균기술 개발을 위해 다음과 같은 정량적 목표를 선정하였으며, 과제 종료 시점에서 70% (2개 제품 초과 달성, 1개 제품 평가 진행중) 달성하였음

주요성능지표	단위	최종 개발 목표	결과	비고
유통기한 연장	%	150 이상	275 이하	냉장떡볶이
			100 이하	생면
			175 이하	샐러드 (로메인)

나. 정성적 목표

- 소포장 용기에 적용 가능한 플라즈마 살균기술 개발 완료
 - 식품 제조 공정에 적용 가능한 플라즈마 살균기술 2건 (플라즈마 나노 버블 발생장치, 포장 내 플라즈마 발생 장치) 요구사항 분석 및 플라즈마 장치 설계·제작 완료하였으며, 시제품 출시 진행함
- 플라즈마 살균기술의 효과 검증 및 플라즈마 공정 개발 완료
 - 미생물 제어-유통기한 연장 효과 검증 및 최적 처리 조건 확립하여, 식중독균 및 부패 미생물 2.0log 이상 저감 확인
- 시제품 개발 및 유통기한 연장, 품질 및 안전성 검증 완료
 - 개발된 플라즈마 살균기술을 적용하여 HMR 제품 2종 (냉장떡볶이, 로메인) 유통기한 연장 가능성 확인하였으며, 안정성 평가까지 완료 함
 - 본 기술을 이용하여 유통기한을 연장기로 한 HMR 제품 1종인 생면의 경우, 최종제품의 적용 시, 제품의 형태가 많이 접혀져 있어 내부 표면까지 NBPW의 접근이 어려워 유통기한 연장 효과가 없었으나, 생면의 유통기한을 연장하기 위한 산침지 냉각공정에서 식품첨가물인 유기산을 NBPW로 대체하여 유통기한을 연장할 수 있을 것으로 판단되어 향후 추가적인 연구가 필요함.

다. 단계별 연구성과 목표

○ 본 과제를 통한 단계별 연구성과 목표는 아래표와 같으며, 기술인증, 제품화 부분을 제외하고 100% 달성하였음

성과 목표	사업화지표										연구기반지표									
	지식 재산권			기술 실시 (이전)		사업화					기술 인증	학술성과				교육 지도	인력 양성	정책 활용-홍보		기타 (타 연구 활용 등)
	특 허 출 원	특 허 등 록	품 종 등 록	건 수	기 술 료	제 품 화	매 출 액	수 출 액	고 용 창 출	투 자 유 치		논문		학 술 발 표	정 책 활 용			홍 보 전 시		
												SC I	비 SC I						논 문 평 균 IF	
단위	건	건	건	건	백 만 원	백 만 원	백 만 원	백 만 원	명	백 만 원	건	건	건	건	명	건	건			
가중치	5	5	0	10	0	15	15	15	10	0			0	5	0	10	5	5	0	
최종목표	2	1	-	2	0	3	300	15	3	-	-	3	-	-	4	-	8	1	2	-
연구기간내 달성실적	3	1	-	1	1.8	2	0	0	7	2,500	-	11	-	3.57	14	-	8	0	2	-
달성율(%)	100	100	-	50	100	67	0	0	100	100	-	100	-	100	100	-	100	0	100	-

3-2. 목표 달성여부

가. 지식재산권

No	지식재산권 등 명칭 (건별 각각 기재)	국 명	출원/등록			구분
			출원/등록인	출원/등록일	출원/등록번호	
1	포장 용기 내 국소적 플라즈마 방전을 위한 포장용기 및 이를 이용한 방전 살균 장치	KR	한국기초과학 지원연구원	2018.12.28	10-2018-0172085	출원
2	포장 용기 내 국소적 플라즈마 방전을 위한 포장용기 및 이를 이용한 방전 살균 장치	KR	한국기초과학 지원연구원	2020.03.05	10-2087619	등록
3	플라즈마 방전 살균을 위한 캡슐을 이용한 포장용기 및 이를 포함하는 방전 살균 장치	KR	한국기초과학 지원연구원	2019.08.09	10-2019-0097237	출원
4	플라즈마 처리 장치	KR	주식회사 플라즈맵	2020.12.02	10-2020-0166567	출원

나. 기술실시

No	기술이전 유형	기술실시계약명	기술실시 대상기관	기술실시 발생일자	기술료 (당해연도 발생액)	누적 징수현황
1	자체실시	식품 유통기한 연장을 위한 플라즈마 장치	주식회사 플라즈맵	2020.12.31	1,776,600원	-

다. 사업화

: 해당 없음

라. 고용창출

o 협동연구기관 플라즈맵은 기술개발 관련하여 다음과 같이 신규 인원을 고용함

구 분	상시 종업원 수		
	2018년	2019년	2020년
고용인원	2명	2명	3명

마. 투자유치

No	추가 R&D 투자	설비 투자	기타 투자	합계	투자자금 성격
1	-	-	25억원	25억원	투자유치

o 과제 수행 기간중 (주)플라즈맵은 VC(Venture Capital) 및 엔젤투자자로부터 25억원 외부 투자 실적 확보 (2018년 8월 29일)

바. 논문

No	논문명	학술지명	주저자명	호	국명	발행기관	SCI여부 (SCI/비SCI)	게재일	등록번호
1	Effects of packaging parameters on the inactivation of Salmonella contaminating mixed vegetables in plastic packages using atmospheric dielectric barrier discharge cold plasma treatment	Journal of food engineering	방인희	242	해외	Elsevier	SCI	2018-08-20	0260-8774
2	Effects of the treatment	International	노시현	293	해외	Elsevier	SCI	2019-06-17	0168-1605

	parameters on the efficacy of the inactivation of Salmonella contaminating boiled chicken breast by in-package atmospheric cold plasma treatment	journal of food microbiology							
3	Development of a Microbial Decontamination System Combining Washing with Highly Activated Calcium Oxide Solution and Antimicrobial Coating for Improvement of Mandarin Storability	Journal of food science : an official publication of the Institute of Food Technologists	민세철	84(8)	해외	Wiley	SCI	2019-09-12	1750-384 1.14719
4	Improvement of the Antioxidant Activity, Water Solubility, and Dispersion Stability of Prickly Pear Cactus Fruit Extracts Using Argon Cold Plasma Treatment	Journal of food science : an official publication of the Institute of Food Technologists	Sea C. Min	84(10)	해외	Wiley	SCI	2020-04-01	1750-384 1.14791
5	Microbial decontamination system combining antimicrobial solution washing and atmospheric dielectric barrier discharge cold plasma treatment for preservation of mandarins	Postharvest biology and technology	방인희, 이은송	162	해외	Elsevier	SCI	2020-04-10	0925-521 4
6	Microbial decontamination of red pepper powder using pulsed light	Journal of food engineering	박현화, 이호선	284	해외	Elsevier	SCI	2020-02-01	0260-877 4

	plasma								
7	Effect of cold atmospheric pressure plasma-activated water on the microbial safety of Korean rice cake	LWT- Food science and technology	송원재, 한진영	120	해외	Elsevier	SCI	2020-01-01	0023-6438
8	Application of the 222 nm krypton-chlorine excilamp and 280 nm UVC light-emitting diode for the inactivation of <i>Listeria monocytogenes</i> and <i>Salmonella Typhimurium</i> in water with various turbidities	LWT- Food science and technology	김상순	117	해외	Elsevier	SCI	2021-01-01	0023-6438
9	Inactivation of <i>Salmonella</i> on black peppercorns using an integrated ultraviolet-C and cold plasma intervention	FOOD CONTROL	방인희, 인지원	119	해외	Elsevier	SCI	2020-12-10	0956-7135
10	Evaluation of In-Package Atmospheric Dielectric Barrier Discharge Cold Plasma Treatment as an Intervention Technology for Decontaminating Bulk Ready-To-Eat Chicken Breast Cubes in Plastic Containers	Applied sciences	이은송, 최찬익	10(18)	해외	MDPI	SCI	2020-12-01	2076-3417
11	Pulsed light plasma treatment	Food control	박현화, 이승영	118	해외	Elsevier	SCI	2020	0956-7135

for the inactivation of <i>Aspergillus flavus</i> spores, <i>Bacillus pumilus</i> spores, and <i>Escherichia coli</i> 0157:H7 in red pepper flakes									
--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

o SCI 2건, 비SCI 2건 목표하였으나 SCI급 3건 진행하여 총 논문 실적은 100% 이상 달성함

사. 학술발표

No	회의명칭	발표자	발표일시	장소	국명
1	한국산업식품공학회 2018년도 추계 학술대회 및 심포지엄	강주현, 김예은, 인지원, 민세철	2018-11-30	CJ Blossom Park Conference Hall	대한민국
2	한국산업식품공학회 2018년도 추계 학술대회 및 심포지엄	강주현, 김예은, 민세철	2018-11-30	CJ Blossom Park Conference Hall	대한민국
3	2019 (사)한국산업식품공학회 춘계 정기 총회 및 학술대회	강주현, 김예은, 민세철	2019-04-26	세종대학교, 서울	대한민국
4	Institute of Food Technology (IFT) 19	강주현, 김예은, 민세철	2019-06-04	New Orleans, U.S.A.	미국
5	2019 KosFoST International Sympogium and Annual Meeting	강주현, 김예은, 민세철	2019-06-27	송도 컨벤시아, 인천	대한민국
6	2019 KosFoST International Sympogium and Annual Meeting	한진영, 송원재, 강주현, 민세철, Dong Hyun Kang	2019-06-27	송도 컨벤시아, 인천	대한민국
7	2019 (사)한국산업식품공학회 추계 정기 총회 및 학술대회	강주현, 조상우, 민세철	2019-10-25	양재 aT센터, 서울	대한민국
8	한국식품저장유통학회	윤성영, 엄상흠, 유승민, 김성봉, 강주현, 김예은, 민세철	2019-08-22	평창알펜시아, 평창	대한민국
9	2020 KosFoST International Symposium and Annual Meeting	김의현, 강주현, 조상우, 민세철	2020-07-02	광주김대중컨벤션센터	대한민국
10	2020 KosFoST International Symposium and Annual Meeting	김예은, 민세철	2020-07-03	김대중 컨벤션센터, 광주	대한민국
11	2020 KosFoST International Symposium and Annual	한진영, 송원재, 강동원	2020-07-03	김대중 컨벤션센터, 광주	대한민국

Meeting					
12	한국진공학회	유승민, 엄상흠, 홍은정, 김성봉	2020-08-21	소노캠, 제주	대한민국
13	2020 (사)한국산업식품공학회 춘계 학술대회	이호선, 유승민, 엄상흠, 조상우, 민세철	2020-08-21	온라인	대한민국
14	2020 (사)한국산업식품공학회 추계 학술대회 및 워크숍	이호선, 유승민, 김성봉, 조상우, 민세철	2020-11-27	온라인	대한민국

아. 기술인증

- 현재까지 식약처에서 플라즈마를 식품 제조에 활용하는 규정이 없는 것으로 파악되어, 플라즈마 살균기술 적용에도 불구하고 일반 식품 기업에서 실제 사업화로 연결하기까지는 후속 연구가 필요함
- 또한 기술 관련 적합한 인증 규격이 없는 상태로 향후 식약처에서의 식품 제조 규정 확립과 함께 관련 기술인증을 진행할 예정임

자. 인력양성

No	분류	기준 년도	현 황											
			학위별				성별		지역별					
			박사	석사	학사	기타	남	여	수도권	충청권	영남권	호남권	기타	
1		2018		○			○	○	○					
2		2019	○	○			○	○	○					
3		2020		○				○	○					

- 협동연구기관에서 1차년도 2명, 2차년도 4명, 3차년도 2명, 총 8명을 배출하였음.

3-3. 목표 미달성 시 원인(사유) 및 차후대책(후속연구의 필요성 등)

가. 기술실시(이전) 건수 미비(50%).

- 협동기관에서는 ‘식품 유통기한 연장을 위한 플라즈마 장치’의 자체기술 실시완료함.
- 본 연구를 통하여 개발된 콜드플라즈마 장치를 생산라인에 적용할 수 있도록 기획하였으나 pilot 장비 규모로는 생산 capacity에 적합한 성능을 발휘할 수 없어 생산현장으로의 기술이전이 어려웠음. 본 장비의 scale-up 연구를 통하여 경제적인 수준의 생산현장 장비 개발연구가 필요함.
- 이에 생산라인에 적용할 수 있는 새로운 컨셉을 도출하였고 이의 구현을 위한 후속연구를 기획함.

나. 사업화 목표 미비(제품화 67%, 매출액 0%, 수출액 0%)

- 냉장유통 신선편이식품 3종의 유통기한 150% 이상 달성목표가 있었으나, 2종 제품에서만 효과를 확인함. 플라즈마 비열살균기술을 적용할 3가지 식품군 중, 떡볶이떡과 셀러드류의 유통기한 연장효과는 있었으나, 면류(생면)의 NBPW 처리군과 대조군 간에 유통기한 연장의 유의적인 효과가 관측되지 않음
- 우동 생면의 경우 구조적으로 떡볶이 떡처럼 개별 구성 단위로 존재하는 것이 아닌, 꼬불 꼬불한 형태로 뭉쳐서 존재하고, 이러한 형태학적인 특성으로 인해 제품 샘플링 함에 있어서도 샘플 간에 미생물 편차가 크게 나타나 유통기한 연장에 있어 명확한 효과를 관측하기에 어려움이 있음
- NBPW 기술을 적용하기 위한 추가적인 신선편이식품의 개발이 필요하며, 생면의 경우 최종제품에서의 효과보다는 공정 중, 미생물 증식을 예방할 수 있는 산침지공정에 적용함으로써 식품첨가물의 사용량을 줄여 신선한 식품의 개발에 적용가능성을 확인할 필요가 있음.
- NBPW의 스케일업 관련인자 도출을 통해 상용화의 기반을 마련함.
- 신선편의 식품에 적용할 경우, 유통기한 연장에 따른 기존 매출액의 증가를 기대하여 매출액과 수출액을 산정하였으나, 장비의 규모가 pilot 수준으로 생산현장에 적용치를 못하였음. 향후 본 장비의 scale-up 연구를 통하여 경제적인 수준의 생산현장 장비 개발연구가 필요함.

다. 정책활용 건수 미비(0%).

- 본 연구과제를 통하여 세계적으로 처음 비가열 살균기술을 상용화함으로써 비가열 살균기술을 통한 식품안전정책에 반영코자 하였으나, 생산현장의 적용이 되지않아 정책활용에는 기여하지 못하였음. 연구기간 이후에 연구결과를 정리하여 비가열살균에는 부족하지만 비열처리기술로 유통기한 연장효과에 대한 기술적 성취를 정책적 성과로 추진할 예정임,

4. 연구결과의 활용 계획 등

가. 식품 산업 적용을 위한 장치 scale-up 연구

- 한국은 플라즈마 식품 연구 분야에서 세계적인 기술 수준을 확보한 상태이나 산업용으로서의 본격적인 파급은 진입단계로, 경쟁국과의 플라즈마 기술 격차를 벌리고 산업용으로서의 기술 확대 전개를 위한 후속 연구 추진 필요
- 연구개발 과제를 통해 제작·출시된 플라즈마 장치 시제품을 바탕으로 실제 식품 산업에서 대량 양산 적용 가능하도록 추가 scale-up 후속 연구 추진 예정
- Scale-up 연구와 함께 HMR 제품 3종 (냉장떡볶이, 생명, 로메인) 세척 및 냉각 공정 대체 연구 추진
- 미생물 방지를 위해 사용 중인 산성 첨가제를 나노 버블 플라즈마를 활용한 대체 가능성 연구

나. 플라즈마 시제품 장치와 기존 양산 장비의 Gap 분석 및 후속연구 방향 도출

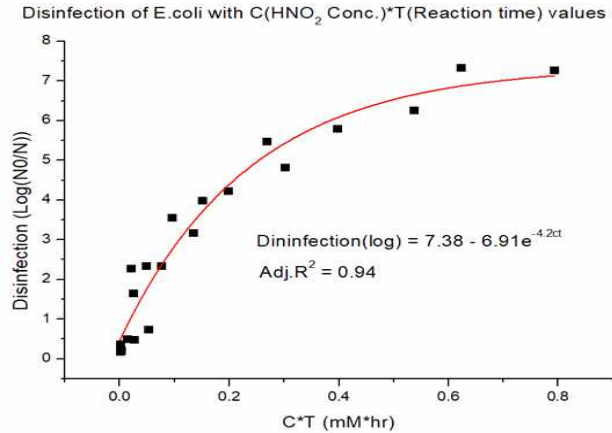
(1) 나노 버블 플라즈마 장치

- 현재 주관기관의 냉장 떡볶이 제조 공정에 활용중인 냉수·냉각 장비와, 연구개발 과제를 통해 제작된 시제품의 단순 비교를 통해 후속연구 방향을 도출함

구분	플라즈마 장치	기존 장치	Gap	후속 연구 방향
장비 Type	Batch	In-line	-	In-line 적용 가능한 플라즈마 전극 구조 개발
수조 용량	20 L	196 L	1/9.8배	대용량 수조에서도 활성종 농도를 유지할 수 있는 조건 연구
플라즈마 방전시간	60분 (3,600초)	-	-	방전장치 1회 구성으로 첨가제 대체 및 첨가제 비용 절감 연구
처리시간 (처리속도)	40분 (2,400초)	25초 (670cm/min)	96배	짧은 처리시간에도 미생물 저감 가능한 활성종 발생 조건 연구
유통기한	150% 이상	100% 기준	1.5배	다양한 식품 확대 적용 연구

(가) 처리 용량 증가를 위한 장치 개선안

- 미생물 살균에 영향을 미치는 인자는 HNO₂의 농도와 접촉시간의 곱의 함수임을 확인하였고 상용화를 위해서는 접촉시간을 최소화해야 하므로 HNO₂의 농도를 높이는 것이 중요함.



HNO2농도와 접촉시간에 따른 미생물(대장균)살균력

- 활성종 중 HNO2 용존율은 기체부피와 전력의 함수임을 확인했고 활성종 농도 증가를 위해 현재의 수직 원기동형의 수조가 아닌 가로형의 수조로 처리 수조 설계 및 전극 개수 추가 필요.
- 이와 더불어 전극의 온도상승을 억제하기 위한 냉각구조 추가 필요.

(나) Scale-up에 따른 후속 연구 방향

- 9.8배 규모의 대용량 수조에서도 활성종의 농도가 유지 또는 증가되며, 25초의 짧은 처리 시간(1/96 수준)에도 불구하고 미생물을 저감할 수 있는 활성종 발생 공정 연구 진행
- 장치 scale-up에 따라 증가가 예상되는 플라즈마 발생 전극 개수 최소화
- 플라즈마 발생 면적에 따른 활성종 발생 조건 연구
- 플라즈마 전력에 따른 활성종 발생 조건 연구
- 활성종과 식품의 반응을 높이기 위한 기체 압력 조건 연구
- 플라즈마 발생원의 온도 조건에 따른 활성종 발생 연구

(다) 다양한 식품 적용 연구

- 플라즈마를 활용한 유통기한 향상의 효과를 HMR 3종 제품 외 다양한 식품에 확대 적용

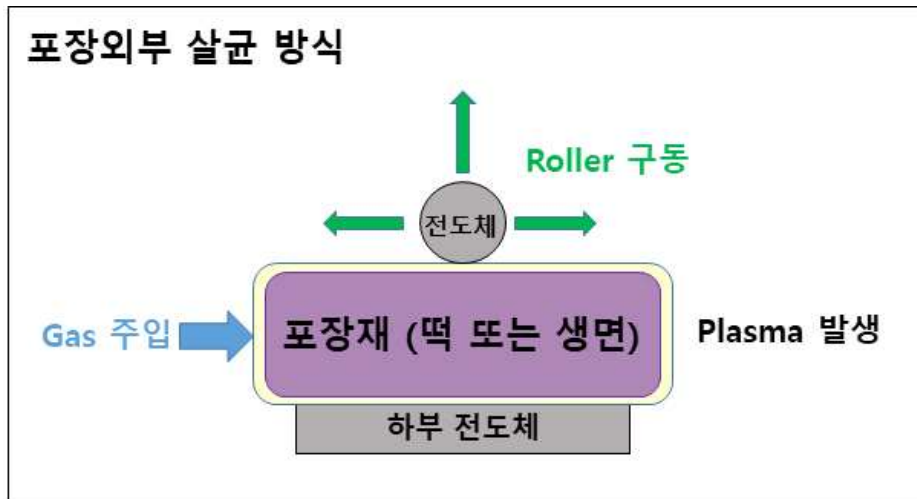
(2) 포장 내 플라즈마 방전 장치

- HMR 제품 포장 공정에 IPP (In-Package Plasma) 처리 기술 적용 연구
- IPP의 경우 다양한 식품의 종류와, 식품별로 다양한 포장 재질 및 포장 방식에 유연하게 대응할 수 있도록 장치 scale-up 추진 필요

구분	플라즈마 장치	기존 장치	Gap	후속 연구 방향
장비 Type	Batch	없음	-	현재 운영중인 식품 포장 공정에 IPP 적용 및 유통기한 연장 연구
적용식품	떡볶이 (30개)	없음	-	포장 방전 적용 가능한 HMR 제품 추가 확보 및 기준 용량 선정
플라즈마 방전시간	3~10분	없음	-	짧은 처리시간에도 미생물 저감 가능한 활성종 발생 조건 연구
포장지	2~4 L	-	-	플라즈마 방전 시간에 따른 포장 재질 물성 변화 및 안전성 연구
유통기한	150% 이상	없음	-	다양한 식품 확대 적용 연구

(가) 살균 효율 증가를 위한 장치 개선안

- 포장 외부 방전 방식과 내부 활성화중 주입의 혼합방식으로 장비 개선
- 포장재 기준 하부 전도체, 상부 Roller 형상 전도체로 플라즈마를 발생하는 형식
- Roller 형상의 전도체가 앞/뒤로 움직이며 적은 Power로 고른 면적 처리 효과 예상
- 전체 살균 공정 : Pouch 진공(Pouch내 공기 제거)→ Ozone + Ar Gas 주입 → 진공 (Pouch 내 Gas 제거) → Ozone + Ar Gas 주입 → 포장외부살균 공정 (Roller 앞/뒤 이동하며 Plasma 발생) → 진공 (Pouch내 Gas 제거) → Sealing



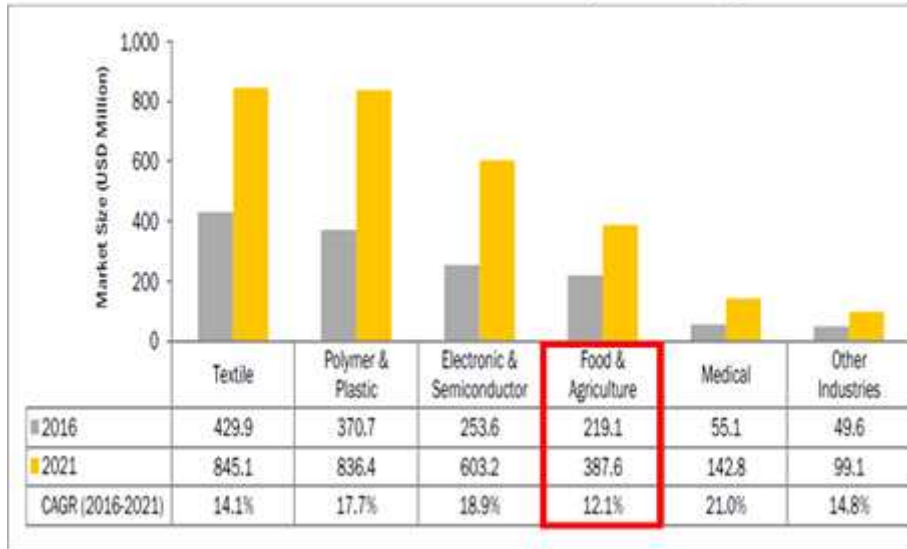
포장 내 방전 장치 개선안의 모식도

(3) 저온플라즈마 장비 시장분석

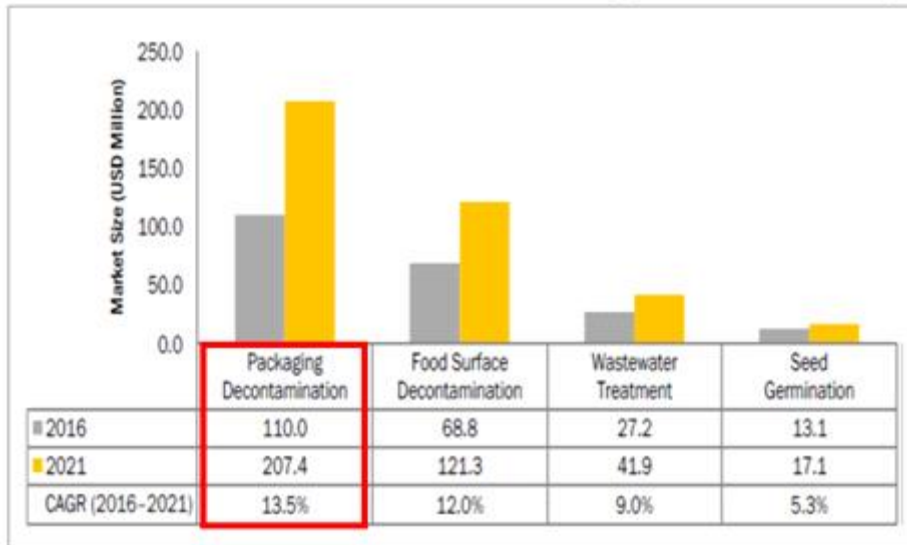
(가) 시장 규모

- 시장분석 전문 보고서인 Markets&Markets 자료 “Cold Plasma Market Global Forecast to 2021” 을 참고하면, 저온 플라즈마의 적용 가능한 산업 중 식품 및 농업 분야에서는 연평균 성장률 12% 이상 성장을 추정하고 있음
- 특히 식품 및 농업 분야에서 가장 큰 비중을 차지하는 packaging 분야의 경우 ‘16년 110.0M\$에서 ’ 21년 207.4M\$로 연평균 13.5% 수준의 성장을 추정하고 있음

Cold Plasma Market Size by Industry



Cold Plasma Market Size for Food & Agriculture Industry



* Markets&Markets 자료 “Cold Plasma Market Global Forecast to 2021”

- 식품 및 농업 분야 중에서 packaging 및 식품 오염 방지를 위한 부분에서는 '16년 대비 '21년 약 2배 규모로 시장 성장을 예상하고 있음
- 다만 '21년에도 식품 및 농업 관련하여 전세계 시장 규모는 764.8MS\$ 수준에 머물고 있고 packaging 분야에서도 207.4MS\$로, 저온 플라즈마의 시장 진입이 일정 수준 이상으로 형성될 것이나, 폭발적인 시장 규모의 증가 보다는 점진적으로 시장이 확대될 것으로 추정하고 있음
- 저온 플라즈마 기술의 친환경 및 다양한 장점에도 불구하고 식품 산업 성장을 위해서는 다음과 같은 도전적인 문제의 극복도 병행되어야 함.
 - * 플라즈마 기술의 높은 투자비에 비해 수익 창출까지 장시간 소요
 - * 플라즈마 적용된 식품의 제조 공정 및 식품의 안전성
 - * 저온 플라즈마 기술 자체에 대한 인식 부족 (낮은 인지도)
 - * 소수의 시장 참여자 (Survival of small players)

(나) 식품용 플라즈마 장치 시장 및 가격 예측 요소

- 일반적으로 모든 산업에서의 장치 시장 규모는 장비 수요처의 생산 기술 및 투자 동향에 따라 결정되어 정확한 산출이 어려움
- 장치 시장의 규모를 결정하는 변수로는 ‘장치 수요처’, ‘장치 종류’, ‘요구사항’, ‘기능’, ‘성능’, ‘단가’, ‘설치 대수’, ‘생산 capa’ 등 매우 다양함
- 다양한 변수들이 일정 수준 결정된 후 「시장 규모 = 판가 × 대수」로 단순화 될 수 있으며, 장치의 판가 및 대수는 다음의 요소에 영향을 받음
 - * 판가 영향 요소 : 수요처의 생산 공정·기술에 따라 장치 업체에 요구되는 장치 concept 및 spec. 등
 - * 대수 영향 요소 : 수요처의 생산 capa 확보 계획에 따른 투자 동향과 수요처의 제한된 투자 규모 등
- 식품산업에서는 플라즈마 장치를 도입하기 위한 R&D 단계로 장치 시장이 일정 수준으로 성장하여, 장치의 시장 가격이 형성되기 전까지는 판가 산정이 어려움
- 다만 영국 ‘Anacail’ 社의 미생물 사멸을 위한 실험용 장비 가격이 F250 모델 기준으로 ‘£50,000’ 로 알려져 있음

(다) 식품용 플라즈마 장치 시장 규모 추정

- 전체 산업 규모에서 장치 산업의 규모를 10% 수준으로 가정
- 2021년 Packaging Decontamination 산업 규모는 207.4M\$로, 약 2,281억4,000만원 수준이며, 장치 산업은 약 228억원 규모로 추정할 수 있음 (1\$=1,100₩ 기준)
- 2021년 Food Surface Decontamination 산업 규모는 121.3M\$로, 약 1,334억3,000만원 수준이며, 장치 산업은 약 133억원 규모로 추정할 수 있음 (1\$=1,100₩ 기준)

(라) 장치 사업화를 위한 시장 규모 추정

- 초기 시장 공급을 위한 플라즈마 장치 공급가격을 해외 장치 대비 90% 수준으로, R&D 장치 대비 2배 수준으로 가정
- 영국 ‘Anacail’ 社의 R&D 장치인 F250 모델 (£50,000) 기준으로 장치 공급가격 추정 (1£ = 1,500₩ 기준)
 - * 공급가격 = £50,000 × 90% × 2배 = 1.35억원
- 수요처의 투자 규모를 매년 5대로 가정할 경우 연간 6.75억원 규모의 매출 예상
- 장치 산업의 경우 수주산업의 형태로, 수요처의 투자 계획에 따라 장치 업계의 투자 계획과 생산 계획을 추정할 수 있으며, 산업의 종류와 기업 규모에 따라 다를 수 있으나 일반적으로 소규모 장치 제조업체의 경우 1인당 매출 2억원 수준의 프로젝트가 확보될 경우 수요처의 투자 계획에 참여할 수 있음
- 다만 실제 수요처에 적용될 장치의 concept, 기능, 성능 등에 따라 장치의 판매가는 변경될 수 있으며, 수요처의 투자 규모에 따라서 시장 규모도 변경될 수 있음

다. HMR 제품 3종 제조 공정에서의 플라즈마 기술 적용 실증 연구 및 확대

- 나노 버블 플라즈마 기술을 활용한 냉각·살균·세척 공정 연구
- 포장내 방전 플라즈마 기술을 활용한 식품 포장 공정 연구
- 코로나 사태로 인한 언택트 문화의 발생에 따라, 소비자들의 주거거주 시간이 증가하고 내식 시장이 활성화됨. 이에 따라 현재의 HMR 제품에서 나아가 프리미엄 제품에 대한 소구가 증



가하여 RMR 시장이 태동하고 있음. RMR 제품의 경우, 관능의 유지를 위해서는 무엇보다도 비가열 살균기술을 통한 안전성확보가 중요하며, 본 연구의 결과를 활용한 시장창출 연구.

라. 플라즈마 처리의 장점을 부각시킬 수 있는 방안 개발

- 플라즈마 처리는 열이 유입되었을 때 조직감 손실, 향과 색의 변화, 영양소 파괴 등 품질 변화에 민감한 다양한 식품을 대상으로 발전될 수 있을 것임. 이때 한 종류의 플라즈마 처리 장비로 다양한 식품들을 처리할 수 있다는 개념보다는 식품마다 구조와 조성이 다르고 실제 식품 생산라인에서 그들의 사용 형태와 방식이 다르기 때문에 특정 식품을 대상으로 장비가 수정되고 보완되어 특정 식품 처리를 위한 플라즈마 처리 시스템이 개발되어야 한다는 개념을 갖는 것이 필요함
- 본 연구에서 개발된 IPP 처리 장비의 경우에는 기존의 포장 후 처리(in-package treatment) 장비와 달리 낮은 전력을 소비하면서도 연속식 식품 생산라인 적용을 구현하는데 가장 적합한 형태의 in-package treatment 장비라고 할 수 있음. 이러한 IPP와 같은 장비 개발 및 적용을 통해 ‘공정 후 오염’을 방지하면서 식품을 살균 할 수 있을 것임
- 플라즈마 처리는 최근 소비자 수요와 관심이 높아지고 있는 HMR 식품과 RMR 식품에 사용할 수 있는 in-package 살균 기술로서 많은 관심을 받고 있으며 본 과제에서 개발된 IPP 기술이 이런 제품에 대한 살균 기술로서 적용될 수 있을 것으로 판단됨
- 본 연구에서 개발된 나노 버블 플라즈마 기술을 적용하여 염소계 세척을 대체하면 생산되는 제품에 대한 소비자 만족을 높일 수 있을 것임.

마. 산업적 성과 활용 계획

- IPP 장치의 살균특성연구 심화를 통하여 연속식 컨베이어 살균장비를 개발하고 이를 식품산업현장에 적용할 수 있는 high throughput facility 개발
- NBPW 장비의 scale-up을 통하여 연속식품생산공정 중, 생물학적 위해가 존재하는 공정의 위생안전성 확보로 화학적 식품첨가물 사용 대체산업 창출
- 안전한 플라즈마 활성종의 발생장치로 식물종자 발아율 향상 및 새싹채소류 성장촉진을 통한 친환경 육종·재배 산업에 활용
- 신선편의식품을 비롯한 HMR, RMR, Medi-food의 비가열처리를 통한 관능향상 및 품질보전으로 미래식품 산업 창출
- 세균 및 진균의 살균활성의 확대를 통한 병원, 식당, 학교 등 대규모 집단시설의 병원균 관리를 통한 위생산업의 진출
- 항바이러스 또는 바이러스 살균능 연구를 통한 COVID-19 대책산업에 활용에 이용이 가능함.

바. 과학기술적 성과 활용 계획

- 콜드플라즈마 발생기작 연구결과를 발생원리 구명 및 응용분야 창출
- 콜드플라즈마 발생장비의 설계기술 개발에 따른 안전하고 안정된 식품기계장치 개발기술 구축
- 플라즈마 기술과 미생물 관리기술의 융합을 통한 돌연변이기술 연구와 이를 통한 생명창조 원리 구명기술연구
- 비가열살균기술 원리연구를 통한 표면살균을 극복하는 식품 전체 살균기술 확대가 예상됨.

사. 사업적 측면 활용 계획

- 제작·출시된 플라즈마 장치 시제품의 경우, 플라즈마를 활용하여 식품 공정을 연구하는 산·학·연 연구기관을 대상으로 임대 또는 연구용 장비 사업화를 진행
- 레토르트 식품보다 더욱 신선한 HMR 제품의 개발에 적용하여 신선편이 식품의 안전성 확보를 통한 새로운 시장의 창출

붙임. 참고문헌

1. Han, J. Y., Song, W. J., Kang, J. H., Min, S. C., Eom, S., Hong, E. J., ... & Kang, D. H. (2020). Effect of cold atmospheric pressure plasma-activated water on the microbial safety of Korean rice cake. *LWT*, *120*, 108918.
2. Jeong, S.-H., Choi, S.-Y., Cho, J.-I., Lee, S.-H., Hwang, I.-G., Na, H.-J., Oh, D.-H., Bahk, G.-J., Ha, S.-D., 2012. Microbiological contamination levels in the processing of Korea rice cakes. *Journal of Food Hygiene and Safety* *27*, 161-168.
3. Kim, S. Y., Bang, I. H., & Min, S. C. (2019). Effects of packaging parameters on the inactivation of Salmonella contaminating mixed vegetables in plastic packages using atmospheric dielectric barrier discharge cold plasma treatment. *Journal of Food Engineering*, *242*, 55-67.
4. Joshi, I., Salvi, D., Schaffner, D. W., & Karwe, M. V. (2018). Characterization of microbial inactivation using plasma-activated water and plasma-activated acidified buffer. *Journal of food protection*, *81*(9), 1472-1480.
5. Liu, C., Chen, C., Jiang, A., Sun, X., Guan, Q., Hu, W., 2020. Effects of plasma-activated water on microbial growth and storage quality of fresh-cut apple. *Innovative Food Science & Emerging Technologies* *59*, 102256.
6. Ma, R., Wang, G., Tian, Y., Wang, K., Zhang, J., Fang, J., 2015. Non-thermal plasma-activated water inactivation of food-borne pathogen on fresh produce. *Journal of hazardous materials* *300*, 643-651.
7. Mahnot, N. K., Mahanta, C. L., Keener, K. M., & Misra, N. N. (2019). Strategy to achieve a 5-log Salmonella inactivation in tender coconut water using high voltage atmospheric cold plasma (HVACP). *Food chemistry*, *284*, 303-311.
8. Pankaj, S. K., Bueno-Ferrer, C., Misra, N. N., Milosavljević, V., O'donnell, C. P., Bourke, P., ... & Cullen, P. J. (2014). Applications of cold plasma technology in food packaging. *Trends in Food Science & Technology*, *35*(1), 5-17.
9. Roh, S. H., Lee, S. Y., Park, H. H., Lee, E. S., & Min, S. C. (2019). Effects of the treatment parameters on the efficacy of the inactivation of Salmonella contaminating boiled chicken breast by in-package atmospheric cold plasma treatment. *International journal of food microbiology*, *293*, 24-33.
10. Xu, Y., Tian, Y., Ma, R., Liu, Q., & Zhang, J. (2016). Effect of plasma activated water on the postharvest quality of button mushrooms, *Agaricus bisporus*. *Food chemistry*, *197*, 436-444.
11. Choi, D. G., Shim, K. J., Choi, B. J., Park, S. Y., Chang, M. S., & Park, S. K. (2008). Subacute Oral Toxicity of Ephedrae Herba Extract in SD Rats. *The Korea Journal of Herbology*, *23*(4), 1-7.
12. Deyno, S., Abebe, A., Tola, M. A., Hymete, A., Bazira, J., Makonnen, E., & Alele, P. E.

- (2020). Acute and sub-acute toxicity of Echinops kebericho decoction in rats. *BMC Complementary Medicine and Therapies*, 20(1), 2.
13. Giknis, M. L., & Clifford, C. B. (2006). Clinical laboratory parameters for Crl: CD (SD) rats. *Charles River Laboratories*, 1-14.
 14. Han, Z. Z., Xu, H. D., Kim, K. H., Ahn, T. H., Bae, J. S., Lee, J. Y., ... & Lee, H. K. (2010). Reference data of the main physiological parameters in control Sprague-Dawley rats from pre-clinical toxicity studies. *Laboratory Animal Research*, 26(2), 153-164.
 15. Hayes, A. W. (2007). *Principles and methods of toxicology*. Crc Press.
 16. Organization for Economic Co-operation and Development (OECD). (2001). 423, Acute oral toxicity-acute toxic class method. *OECD guidelines for the testing of chemicals (section 4: health effects)*
 17. Organization for Economic Co-operation and Development (OECD). (2008). Repeated dose 28-day oral toxicity study in rodents. *OECD Guideline for the Testing of Chemicals. Section 4: Health Effects*.
 18. Vaghasiya, Y. K., Shukla, V. J., & Chanda, S. V. (2011). Acute oral toxicity study of Pluchea arguta boiss extract in mice. *Journal of Pharmacology and Toxicology*, 6(2), 113-23.

<별첨작성 양식>

[별첨 1]

연구개발보고서 초록

과 제 명	(국문) 플라즈마 살균기술을 적용한 냉장유통 즉석섭취 편이식품의 유통기한 향상				
	(영문) Shelf-life extension of refrigerated ready-to-eat foods using plasma intervention technology				
주관연구기관	(주)폴무원		주 관 연 구 책 임 자	(소속) (주)폴무원	
참여기업	(주)플라즈맵			(성명) 조상우	
총연구개발비 (1,340,700천원)	계	1,340,700천원	총 연구 기간	2018.04. ~ 2020.12.(2년 9월)	
	정부출연 연구개발비	762,000천원	총 참 여 연구 원 수	총 인원	111명
	기업부담금	578,700천원		내부인원	111명
	연구기관부담금	0천원		외부인원	0명
<p>○ 연구개발 목표 및 성과</p> <ul style="list-style-type: none"> ● 연구개발 목표: 냉장 유통 즉석섭취편이식품의 안전성과 유통기한 확대를 위한 플라즈마 살균기술 개발: <ul style="list-style-type: none"> - 소포장 용기에 적용 가능한 플라즈마 살균기술 개발 - 플라즈마 살균기술의 효과 검증 및 플라즈마 공정 개발 - 시제품 개발 및 유통기한 연장, 품질 및 안전성 검증 <p>○ 연구내용 및 결과</p> <ul style="list-style-type: none"> ● 소포장 용기에 적용 가능한 플라즈마 살균기술 개발 <ul style="list-style-type: none"> - 식품 제조 공정에 적용 가능한 플라즈마 살균기술 2건 (플라즈마 나노 버블 발생장치, 포장내 플라즈마 발생 장치) 요구사항 분석 및 플라즈마 장치 설계·제작 완료하였으며, 시제품 출시 진행함 ● 플라즈마 살균기술의 효과 검증 및 플라즈마 공정 개발 <ul style="list-style-type: none"> - 미생물 제어-유통기한 연장 효과 검증 및 최적 처리 조건 확립하여, 식중독균 및 부패 미생물 2.5log 이상 저감 확인 					

- 시제품 개발 및 유통기한 연장, 품질 및 안전성 검증

- 개발된 플라즈마 살균기술을 적용하여 냉장 즉석섭취편이식품 2종(떡볶이, 로메인)의 유통기한 150% 이상 연장가능 하였으며, 3종(떡볶이, 로메인, 생면)의 안정성 평가까지 완료 함

- 연구성과 활용실적 및 계획

- 연구성과 정량적 실적:

- 기술실시: 자체실시 1건(기술료 1,776,600원), 콜드플라즈마 시제품 2종 출시

- 고용창출: 정규직 7명

- 산업재산권: 특허출원 3건, 특허등록 1건

- 논문 게재: 국외 SCI 논문 11건

- 국내외 학술회의 발표: 14건

- 홍보: 국외 심포지엄 1건

- 기타: 투자유치 1건, 협동기관 25억 투자유치

- 인력양성: 농학박사학위 1명, 이학석사학위 7명

- 연구성과 활용실적 및 계획:

- 연구성과를 활용한 콜드플라즈마 생성장치 개발기술 이전 1건 및 시제품 2종 출시

- 플라즈마 살균기술을 이용한 식품의 유통기한 연장 관련된 산학연 기관들의 지속적인 연구개발에 활용할 수 있는 장비 공급기반 마련.

- 개발된 콜드플라즈마 장비 2종의 국가연구소 임대를 통한 기초연구개발에 활용 예정

- 유통기한 연장된 냉장유통 즉석섭취 편이식품 2종에 대한 산업화 기초자료에 활용 예정

- 비가열 살균기술의 법적인허가를 위한 안전성 자료로 활용하여 글로벌 선도적 기술확보

- 연속 비가열처리 장비개발의 scale-up 기초자료로 활용

자체평가의견서

1. 과제현황

		과제번호	318026-3		
사업구분	농식품기술개발사업				
연구분야				과제구분	단위
사업명	고부가가치식품기술개발사업			주관	
총괄과제	기재하지 않음			총괄책임자	기재하지 않음
과제명	플라즈마 살균기술을 적용한 냉장유통 즉석섭취 편이식품의 유통기한 향상			과제유형	(기초,응용,개발)
연구기관				연구책임자	
연구기간 연구비 (천원)	연차	기간	정부	민간	계
	1차년도	2018.04. - 2018.12.	212,000	212,000	424,000
	2차년도	2019.01.-2019.12.	275,000	183,350	458,350
	3차년도	2020.01.-2020.12.	275,000	183,350	458,350
	4차년도	-	-	-	-
	5차년도	-	-	-	-
	계	2018.04.-2020.12.	762,000	578,700	1,340,700
참여기업	(주)플라즈맵				
상대국	-	상대국연구기관	-		

※ 총 연구기간이 5차년도 이상인 경우 셀을 추가하여 작성 요망

2. 평가일 : 2021. 01. 29.

3. 평가자(연구책임자) :

소속	직위	성명
(주)폴무원	상무	조상우

4. 평가자(연구책임자) 확인 :

본인은 평가대상 과제에 대한 연구결과에 대하여 객관적으로 기술하였으며, 공정하게 평가하였음을 확약하며, 본 자료가 전문가 및 전문기관 평가 시에 기초자료로 활용되기를 바랍니다.

확약	조상우
----	-----

I. 연구개발실적

※ 다음 각 평가항목에 따라 자체평가한 등급 및 실적을 간략하게 기술(200자 이내)

1. 연구개발결과의 우수성/창의성

■ 등급 : (우수)

- 즉석섭취편이식품 유통기한 연장을 위한 2종의 신규 플라즈마 장치개발을 완료(특허 출원 및 등록, 기술이전완료)
- 개발된 플라즈마 장치는 신선편이 즉석섭취식품 2종의 미생물 저감효과를 보였으며, 유통기한을 각각 275%, 175% 연장시켰음.

2. 연구개발결과의 파급효과

■ 등급 : (우수)

- 플라즈마 기술을 활용한 식품 미생물 제어 연구를 통한 기술력 확보
- 냉장 편이 식품의 유통기한 연장
- 플라즈마를 활용한 미생물 제어 연구를 통한 SCI급 논문게재 11건을 통해 국제적 경쟁력 확보

3. 연구개발결과에 대한 활용가능성

■ 등급 : (우수)

- 플라즈마 장비 2종의 기술이전을 통해 상용화 준비 중
- 연구개발에 적용된 식품뿐만 아니라 다양한 종류의 식품으로 확대 적용 가능

4. 연구개발 수행노력의 성실도

■ 등급 : (우수)

- 특허출원 150%, 기술실시 이전을 통한 기술료 1.8백만원 조기달성, 고용창출 233%, 논문 367%, 학술발표 350%로 초과달성함.
- 플라즈마 발생장치 개발을 위해 약 10회의 수정 보완을 거쳐 독자적인 식품가공공정 적용 장치를 개발함.

5. 공개발표된 연구개발성과(논문, 지적소유권, 발표회 개최 등)

■ 등급 : (아주우수)

‘플라즈마 살균기술을 적용한 냉장유통 즉석섭취 편이식품의 유통기한 향상’ 과제를 통하여 특허출원 3건, 특허등록 1건, 기술이전 1건, 제품화 2건, 고용창출 7명, 논문 11편(SCI), 학술발표 14건, 인력양성 8명, 홍보전시 2건의 성과를 이루었음

II. 연구목표

세부연구목표 (연구계획서상의 목표)	비중 (%)	달성도 (%)	자체평가
포장 내 방전 플라즈마 장치 설계	5	100	2회의 장비설계 및 1회 개선설계 진행으로 목표 달성
포장 내 방전 플라즈마 장치 성능평가	5	100	방전 특성 및 살균 활성종 농도측정으로 목표 달성
나노버블 플라즈마 장치 설계	5	100	8회의 장비 수정설계로 목표 달성
나노버블 플라즈마 장치 성능평가	5	100	대표 살균 활성종으로 HNO ₂ 를 선정하고 평가하여 목표 달성
나노버블 플라즈마 장치 상세설계 및 시제품 제작	10	100	협동기관 연구결과 지속 반영하여 장치 상세설계 및 시제품 제작하여 최종 유통기한 연장 확인 완료 (시제품 출시 확인으로 목표 달성)
포장 내 방전 플라즈마 장치 상세설계 및 시제품 제작	10	100	협동기관 연구결과 지속 반영하여 장치 상세설계 및 시제품 제작하여 최종 유통기한 연장 확인 완료 (시제품 출시 확인으로 목표 달성)
파일럿 스케일 장비 개발 참여 및 lab scale 장치를 사용한 목표 식품 처리 조건 결정	6	100	플라즈마 장비 설계에 참여 및 lab scale 플라즈마 장치를 이용해 식품 처리연구를 진행하여 목표 달성
개발된 장비를 사용한 목표 식품 처리 조건과 포장 방법 결정	7	100	개발된 플라즈마 장비 보완 및 완성에 참여하고, 장비를 이용해 즉석섭취식품 처리를 위한 식품, 처리, 그리고 포장 파라미터 연구를 수행하여 목표 달성
대상 식품에 대한 플라즈마 처리 공정 및 포장 최적화	7	100	플라즈마 장비를 이용해 대상 식품에 대한 처리, 포장, 그리고 식품 파라미터 연구를 수행하여 최적 조건을 결정하였고, 처리 후 포장지 변형 위해 요소 확인 연구를 수행하여 목표 달성
배지 테스트를 통한 플라즈마 살균 장치의 타겟 위해미생물 제어 효과 확인	4	100	Prototype 플라즈마버블 장비를 활용하여 플라즈마버블수 장비에 대한 활용 가능성을 제시함
목표 저감화 효과 달성을 위한 플라즈마 살균 장치의 최적처리 조건 도출	4	100	개발된 플라즈마수 장치를 이용하여 효과적인 플라즈마수 처리 조건을 제시하였으며, 기존 공정 대체 가능성을 시사함
적용 대상 식품 별 타겟 미생물 접종테스트를 통한 플라즈마 장치의 살균력 확인	4	100	시료 별 플라즈마수 장치를 이용한 살균력 확인하였으며, DW처리와 비교하여 플라즈마수 처리에 대한 유효성 입증함
위해미생물의 플라즈마 살균에 대한 감수성 정량적 분석	4	100	시료 별 주요 위해 미생물을 실제 공정과 문헌 조사등을 통해 선정하였으며, 선행연구에서 결정된 최적 처리조건에서 위해미생물 사멸 효과를

			확인함
플라즈마 처리 후 식품품질변화 검증	3	100	개발된 플라즈마 장치를 처리한 떡볶이 떡의 색도 분석 결과 유의적인 차이를 보이지 않음 ($P > 0.05$).
플라즈마 및 타 살균기술과의 병행처리 연구	3	100	개발된 플라즈마 장치들과 타 기술과의 병행처리를 통해 플라즈마 기술의 병행처리 가능성에 대해 제시하였으며, 충분한 (3 Log reduction) 저해가 일어남
Kinetic 모델링을 통한 각 대상 식품별 타겟 미생물 제어를 위한 최적처리조건 확립	3	100	모델링을 통해 나노버블플라즈마수 장치의 처리조건을 최적화 하였으며, T3d point 및 제시하여 산업 적용 가능성을 개방함
냉장유통 즉석섭취 편이식품 screening을 통한 대상제품 계열화	5	100	플라즈마 비열살균기술 적용 의사결정도 수립 및 기술적용 식품군을 선정하여 목표 달성
즉석섭취 편이식품 특성 조사 및 유통기한 연장 parameter 분석 및 표준화	5	100	식품공전에 규정된 식품유형별 법적기준 및 이화학적, 미생물학적, 관능적 특성 등을 추가하여 parameter 분석 및 표준화하여 목표 달성
최종 개발 제품의 안전성 검토를 통한 상품화 검증	5	70	신선편이식품, 떡류, 면류의 이화학적, 미생물학적, 관능적, 독성 안전성 검증을 완료하여 목표 달성
합계	100%	98.5점	

III. 종합의견

1. 연구개발결과에 대한 종합의견

‘플라즈마 살균기술을 적용한 냉장유통 즉석섭취 편이식품의 유통기한 향상’ 과제의 ‘냉장 유통 즉석섭취편이식품의 안전성과 유통기한 확대를 위한 플라즈마 살균기술 개발’이라는 최종목표를 달성하기 위하여 모든 참여 기관이 상호 협조하여 세부연구목표를 성실히 달성하였음

2. 평가 시 고려할 사항 또는 요구사항

- ◆ 정량적 연구성과 결과:
 - 사업화에 가중치를 많이 두고 시작한 과제였으나, 장비 개발에 많은 연구와 시간을 투자하는 바람에 특허, 기술이전, 학술성과 및 인력양성에 대한 성과는 초과달성하였음에도 불구하고, 장비의 생산단위 적용이 어려워 매출액과 수출액 성과는 달성치 못한 결과를 보임. 정량성과의 가중치를 사업화 지표에 55%로 의욕적으로 부여한 연유로 성실한 과제수행에도 불구하고 정량평가가 60점 수준임을 감안해 주시기를 요청드립니다.
 - 지재권, 기술이전, 연구기반지표는 특허출원 150%, 기술실시 이전을 통한 기술료 1.8백만원 조기달성, 고용창출 233%, 논문 367%, 학술발표 350%로 초과달성하였음에도 불구하고, 가중치 배정이 45%로 정량평가에 큰기여를 하지 못하였음.
- ◆ 본 과제책임자는 과제종료 2, 3차년도에 계획된 특허등록, SCI 논문 발표, 그리고 정책활용은 미루지 않고 종료 1차년도에도 성과를 낼 수 있도록 최선을 다하겠습니다.

3. 연구결과의 활용방안 및 향후조치에 대한 의견

- ◆ 개발된 플라즈마 살균 시스템에 대해 현재까지 성취한 시료 처리속도 및 살균도를 향상시키기 위하여 본 과제의 연구기간이 완료된 이후에도 지속적인 장비개선의 노력을 기울일 것임
- ◆ 나노버블시스템을 이용한 살균 세척은 현장 적용 가능성이 높으므로 이와 관련하여 주관기관에서 상용화 검토를 지속적으로 추진하고 이로써 제품 생산을 통해 매출과 수출이 이루어질 수 있도록 노력할 것임.

IV. 보안성 검토

○ 해당사항 없음.

※ 보안성이 필요하다고 판단되는 경우 작성함.

1. 연구책임자의 의견

○ 해당사항 없음.

2. 연구기관 자체의 검토결과

○ 해당사항 없음.

[별첨 3]

연구성과 활용계획서

1. 연구과제 개요

사업추진형태	<input type="checkbox"/> 자유응모과제 <input checked="" type="checkbox"/> 지정공모과제	분 야	
연구과제명	플라즈마 살균기술을 적용한 냉장유통 즉석섭취 편이식품의 유통기한 향상		
주관연구기관	(주)폴무원	주관연구책임자	조 상우
연구개발비	정부출연 연구개발비	기업부담금	연구기관부담금
	762,000천원	578,700천원	0천원
연구개발기간	2018.04.-2020.12.		
주요활용유형	<input checked="" type="checkbox"/> 산업체이전 <input checked="" type="checkbox"/> 교육 및 지도 <input type="checkbox"/> 정책자료 <input type="checkbox"/> 기타() <input type="checkbox"/> 미활용 (사유:)		

2. 연구목표 대비 결과

당초목표	당초연구목표 대비 연구결과
① 포장 내 플라즈마 발생 장치 설계 및 성능 평가	·포장 내 플라즈마 발생 장치 설계 완료 ·포장 내 플라즈마 발생 장치 성능평가 완료
② 나노버블 플라즈마 장치 설계 및 성능 평가	·나노버블 플라즈마 장치 설계 완료 ·나노버블 플라즈마 장치 성능평가 완료
③ 나노버블 플라즈마 장치 상세설계 및 시제품 제작	·시제품 제작 완료 후 나노버블 플라즈마 살균수를 활용하여 식품의 유통기한 연장 확인
④ 포장 내 방전 플라즈마 장치 상세설계 및 시제품 제작	·시제품 제작 완료 후 포장 내 방전 플라즈마를 활용하여 식품의 품질 유지기한 연장 확인
⑤ Lab scale 플라즈마 살균 장치의 위해미생물 제어 효과 기초검증	·배지 테스트를 통한 플라즈마 살균 장치의 목표 위해미생물 제어 효과 확인 ·Lab scale 플라즈마 살균 장치의 위해미생물 제어 효과 기초검증 ·목표 제어 효과 달성을 위한 플라즈마 살균 장치의 플라즈마 활성종 조성, 처리시간, 농도 등에 대한 최적조건 도출
⑥ 플라즈마 살균 장치 (개발된 장치)의 식품	·적용 대상 식품 별 (즉석떡볶이, 생면, 셀러드)

<p>내 위해미생물 제어 효과 검증 및 식품품질변화 확인</p>	<p>타겟 미생물 접종테스트를 통한 플라즈마 장치의 살균력 확인</p> <p>·주요 식중독 균, 식품 오염 곰팡이, 일반세균수, 대장균 및 대장균군의 플라즈마 살균에 대한 감수성 정량적 분석</p> <p>·플라즈마 처리 후 식품품질변화 분석</p>
<p>⑦ 플라즈마 살균 및 복합처리 공정 검증 연구</p>	<p>·플라즈마 살균 장치와 복합처리 가능한 가열 및 비열처리 기술 발굴 및 식품별 처리 조건 확립</p> <p>·Kinetic 모델링을 통한 각 대상 식품별 타겟 미생물 제어를 위한 최적처리조건 확립</p> <p>·최종 공정 적용을 위한 pilot scale 플라즈마 살균 장치의 위해미생물 제어 효율성 검증 및 미생물적 안전성 확보를 위한 처리 가이드 라인 제시</p>
<p>⑧ 파일럿 스케일 장비 개발 참여 및 lab scale 장치를 사용한 목표 식품 처리 조건 결정</p>	<p>·플라즈마 장비 설계에 참여 및 lab scale 플라즈마 장치를 이용해 식품 처리연구를 진행하여 목표 달성</p>
<p>⑨ 개발된 장비를 사용한 목표 식품 처리 조건과 포장 방법 결정</p>	<p>·개발된 플라즈마 장비 보완 및 완성에 참여하고, 장비를 이용해 즉석섭취식품 처리를 위한 식품, 처리, 그리고 포장 파라미터 연구를 수행하여 목표 달성</p>
<p>⑩ 대상 식품에 대한 플라즈마 처리 공정 및 포장 최적화</p>	<p>·플라즈마 장비를 이용해 대상 식품에 대한 처리, 포장, 그리고 식품 파라미터 연구를 수행하여 최적 조건을 결정하였고, 처리 후 포장지 변형 위해 요소 확인 연구를 수행하여 목표 달성</p>
<p>⑪ 냉장유통 즉석섭취 편이식품 screening을 통한 대상제품 계열화</p>	<p>·플라즈마 비열살균기술 적용 의사결정도 수립 및 기술적용 식품군을 선정</p>
<p>⑫ 즉석섭취 편이식품 특성 조사 및 유통기한 연장 parameter 분석 및 표준화</p>	<p>·식품공전에 규정된 식품유형별 법적기준 및 이화학적, 미생물학적, 관능적 특성 등을 추가하여 parameter 분석 및 표준화</p>
<p>⑬ 최종 개발 제품의 안전성 검토를 통한 상품화 검증</p>	<p>·신선편이식품, 떡류, 면류의 이화학적, 미생물학적, 관능적, 독성 안전성 검증을 완료</p>

3. 연구목표 대비 성과

성과 목표	사업화지표										연구기반지표									
	지식 재산권			기술 실시 (이전)		사업화					기술 인증	학술성과				교육 지도	인력 양성	정책 활용-홍보		기타 (타 연구 활용 등)
	특 허 출 원	특 허 등 록	품 종 등 록	건 수	기 술 료	제 품 화	매 출 액	수 출 액	고 용 창 출	투 자 유 치		논문		학 술 발 표	정 책 활 용			홍 보 전 시		
												SC I	비 SC I						논 문 평 균 IF	
단위	건	건	건	건	백 만 원	백 만 원	백 만 원	백 만 원	명	백 만 원	건	건	건	건	명	건	건			
가중치	5	5	0	10	0	15	15	15	10	0			0	5	0	10	5	5	0	
최종목표	2	1	-	2	0	3	300	15	3	-	-	3	-	-	4	-	8	1	2	-
연구기간내 달성실적	3	1	-	1	1.8	2	0	0	7	2,500	-	11	-	3.57	14	-	8	0	2	-
달성율(%)	100	100	-	50	100	67	0	0	100	100	-	100	-	100	100	-	100	0	100	-

4. 핵심기술

구분	핵심기술명
①	포장 내 방전 플라즈마 장치
②	나노버블 플라즈마 장치

5. 연구결과별 기술적 수준

구분	핵심기술 수준					기술의 활용유형(복수표기 가능)				
	세계 최초	국내 최초	외국기술 복 제	외국기술 소화·흡수	외국기술 개선·개량	특허 출원	산업체이전 (상품화)	현장애로 해 결	정책 자료	기타
①의 기술	√									
②의 기술		√				√				

* 각 해당란에 v 표시

6. 각 연구결과별 구체적 활용계획

핵심기술명	핵심기술별 연구결과활용계획 및 기대효과
①의 기술	포장 내 방전 플라즈마 장치는 연포장재 또는 경포장재 내부에 살균활성종을 생성하는 장치로 식품 품질 유지기한을 연장시킬 수 있음
②의 기술	나노버블 플라즈마 장치는 살균수를 제조할 수 있는 장치로 염소계 소독제를 대체하는 식품 세척 살균에 사용할 수 있음

7. 연구종료 후 성과창출 계획

성과목표	사업화지표										연구기반지표									
	지식 재산권			기술실시 (이전)		사업화					기술인증	학술성과				교육지도	인력양성	정책 활용·홍보		기타 (타연구활용등)
	특허출원	특허등록	품종등록	건수	기술료	제품화	매출액	수출액	고용창출	투자유치		논문		학술발표	정책활용			홍보전시		
												SCI	비SCI						논문평균IF	
단위	건	건	건	건	백만원	건	백만원	백만원	명	백만원	건	건	건	건	명					
가중치	5	5	0	10	0	15	15	15	10	0	0	0	0	5	0	10	5	5	0	
최종목표	0	1	-	0	330	0	93,000	4,650	0	-	-	2	-	-	0	-	0	0	1	-
연구기간내 달성실적	3	1	-	1	1.8	2	0	0	7	2,500	-	11	-	3.57	14	-	8	0	2	-
연구종료후 성과창출 계획	0	2	-	1	9	0	0	0	0	-	-	2	-	-	0	-	0	0	0	-

8. 연구결과의 기술이전조건(산업체이전 및 상품화연구결과에 한함)

핵심기술명 ¹⁾	플라즈마 처리 장치		
이전형태	<input type="checkbox"/> 무상 <input checked="" type="checkbox"/> 유상	기술료	1,777천원
이전방식 ²⁾	<input type="checkbox"/> 소유권이전 <input type="checkbox"/> 전용실시권 <input type="checkbox"/> 통상실시권 <input type="checkbox"/> 협의결정 <input checked="" type="checkbox"/> 기타(참여기업 자체 기술 실시)		
이전소요기간	기술실시 완료	실용화예상시기 ³⁾	2021년 ~
기술이전시 선행조건 ⁴⁾	참여기업 자체 기술 실시에 따라 별도 제반 협의사항 해당 없음		

주 의

1. 이 보고서는 농림축산식품부에서 시행한 고부가가치식품기술개발사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표하는 때에는 반드시 농림축산식품부에서 시행한 고부가가치식품기술개발사업의 연구 결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니됩니다.