

## 살균제의 처리에 의한 신선엽채류의 미생물 감소

†박헌국·김상범\*

동남보건대학 식품영양과, \*농촌자원개발연구소 농산물가공이용과

### Microbial Reduction of Fresh Vegetables by Treatment of Sanitizing Reagents

†Heon-Kuk Park and Sang-Bum Kim\*

Department of Food and Nutrition, Dongnam Health College

\*Agriproduct Processing Division, Rural Resources Development Institute

#### Abstract

As the production of agricultural products showing high quality and environmental safety is required increasingly these days, it is really necessary to study on technology for producing agricultural products which are safe microbiologically. Among several sanitizing reagents contacted easily, we investigated the most effective and useful method for reducing microorganisms by sanitizer treatment. From this study, it was showed that treatment of 3% hydrogen peroxide solution over 1 minute, which decreased microbiological level less than one tenth of natural state(no sanitizer treatment) in all microorganisms tested, was the most effective sanitizing method to green vegetables, especially raw lettuce used in this study, for reducing microorganisms. By utilizing this sanitizing method in farming step, the improvement of safety and added value of agricultural products, especially raw green vegetables, is expected.

Key words : fresh vegetables, sanitizing reagents, microbial reduction.

#### 서론

WTO 체제가 출범함에 따라서 농산물 시장이 점차적으로 개방되어 수입이 크게 늘어나게 되었고 다양한 수입 농산물이 가격과 품질 메리트를 부각시키며 시장에서 경쟁하고 있다. 더욱이 소비자들의 소득이 증가하고 건강에 대한 관심이 증가하면서 식품에도 wellbeing 열풍이 불고 있다. 이러한 소비자의 수요 변화에 부응한 고품질·친환경·안전 농산물 생산 요구가 증대되고 있는 현실에서 생산자와 소비자가 함께 신뢰할 수 있는 미생물 안전성이 확보된 안전 농산물 생산을 위한 기술 개발 및 연구가 절실하다.

일반적으로 신선 채소류의 내부는 무균상태이지만 표면은 여러 가지 오염원에 의하여 다양한 미생물이 오염, 부착되어 있다<sup>1-7</sup>. 이렇게 표면에 부착된 미생물이 증식하게 되면 식품의 변질을 일으키거나 섭취 시 질병을 야기하기도 한다<sup>8</sup>. 따라서 부패 미생물이나 병원성 미생물의 살균 및 제균이 절대적으로 필요하다.

가공식품의 경우에는 가열살균<sup>9</sup>, 방사선 살균<sup>10,11</sup>, 초고압처리<sup>12</sup>, 고전압처리<sup>13</sup>, 자기장 살균법<sup>14</sup>, 초음파 처리법<sup>15,16</sup> 등의 다양한 살균 방법을 적용할 수 있으나 열처리나 방사선 살균을 할 수 없는 신선식품의 경우에는 오존수 처리<sup>17</sup>, 염소수처리<sup>18</sup>, 이산화염소 처리<sup>19</sup>, 과산화수소수 처리<sup>20</sup>, 유기산 처리<sup>21</sup>, 천연항균제 처리

† Corresponding author : Heon-Kuk Park, Department of Food and Nutrition, Dongnam Health College.

Tel : +82-31-249-6423, E-mail : foodopia@dongnam.ac.kr

<sup>22-26)</sup> 등과 같이 화학물질을 이용하는 표면 살균처리 기술이 적용될 수 있다.

현재 가공식품 중에 존재하는 미생물의 양상과 이를 경감시키기 위한 연구는 어느 정도 행해지고 있으나, 원료 농산물 중에서도 특히 생식을 주로 하는 엽채류 등의 채소류에 존재하는 미생물 양상과 이를 경감하기 위한 연구는 그리 활발히 진행되지 않고 있다<sup>8, 18, 20-34)</sup>. 최근 들어 유기농 채소의 보급과 최소가공기술을 활용한 신선 농산물 가공 연구가 활발히 진행되고 있어 농산물의 안전성 확보 문제는 더욱더 절실히 요구되고 있는 실정이다.

본 연구에서는 우리 농산물의 안전성 증진 및 고품질화에 기여할 목적으로, 살균·세척의 종류 및 방법에 의한 생식용 신선 엽채류의 잔존 미생물 경감 방법에 관한 연구를 수행하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 재료

시험대상 엽채류로는 상추(청치마)를 선정하였고, 실험 수행시기에 맞춰 필요할 때마다 수원 시내의 대형 유통업체에서 수차례에 걸쳐 구입하여 사용하였다.

경감 실험대상 미생물로는 그람 양성균인 *Bacillus subtilis*와 그람 음성균인 *Escherichia coli*, 저온 식중독균인 *Listeria monocytogenes*를 선정하여 사용하였다. 실험에 사용된 균주는 냉동건조된 균을 한국생명공학연구원 생물자원센터(KCTC)로부터 분양받아 tryptic soy broth에서 활성화시킨 후, 냉장상태에서 평판 배지에 보관하면서 사용하였다.

미생물의 경감을 위한 처리액으로는 다양한 살균용액들 중에서 손쉽게 주변에서 구할 수 있는 화학물질을 선정하였는데, 대표적인 산소계 살균제인 과산화수소(hydrogen peroxide) 용액과 염소계 살균제인 차아염소산나트륨 용액 및 유기산 살균제인 초산 용액을 선정하였고 이들을 적정 농도로 희석하여 미생물 경감실험을 수행하였다.

### 2. 방법

경감 실험대상 균주 3종을 3 mL tryptic soy broth(TSB)에 접종하여 하룻밤 배양한 후, 200 mL TSB에 재접종하고 OD가 약 0.5~0.6인 대수기에 도달할 때까지 항온진탕배양기에서 진탕배양하여 균액을 준비하였다. 5 cm×5 cm로 절단한 상추잎을 800 mL의 멸균증류수에 희석시킨 균 희석액에 침지하고 4℃에

서 하룻밤 방치하여 균을 상추잎에 흡착시켰다.

침지액을 제거하고 상추잎을 증류수로 각 1분간 2회 수세한 다음 표면의 수분을 건조시켰다. 건조된 상추잎 20개씩을 취하여 각각 농도가 다른 세 종류의 살균용액 200 mL에 1분과 5분의 두 종류로 처리하였다. 살균액이 처리된 상추잎을 스토마킹 백에 넣고 상추잎 무게의 9배에 해당하는 멸균 생리식염수를 가한 다음, 스토마커에서 2분간 균질화 하고 그 액을 멸균된 생리식염수로 10진 희석하였다. 각각의 희석액 1 mL씩을 멸균 Petri-dish에 무균적으로 가하고 멸균하여 50℃로 식힌 tryptic soy agar 배지를 가하고 잘 혼합하여 균한 다음 35℃ 항온기에서 24시간 배양하여 생성된 집락의 수를 계수하여 비교하였다. 이와는 별도로 살균용액을 처리하지 않은 상추잎의 생균수를 동일한 방법으로 측정하고 이를 대조구로 하여 미생물 경감 정도를 계산하였다.

## 결과 및 고찰

### 1. 과산화수소수 용액의 처리에 의한 미생물 경감

상추와 같은 엽채류는 생식으로 이용되기 때문에 잔류 미생물의 경감이 매우 중요하다. 신선식품인 상추는 가열이나 방사선 조사 등의 살균법을 적용할 수 없기 때문에 잔류미생물을 경감시키기 위한 살균방법으로 표면을 살균제로 처리하는 방법이 사용될 수 있다. 식품용 살균제로 사용되고 있는 여러 살균제들 중에서 생산자인 농민들이 쉽게 구입하여 사용할 수 있는 3종류의 살균제를 선택하여 실험에 사용하였고, 경감 대상 미생물로는 상추가 토양에서 재배되어 수확된다는 재배특성과 저온으로 유통된다는 특성을 고려하여 흙 중의 우점종으로 그람 양성균인 *Bacillus subtilis*와 분변오염의 지표균으로 그람 음성균인 *Escherichia coli*, 저온성 식중독균으로 그람 양성균인 *Listeria monocytogenes*를 선정하여 실험에 사용하였다. 살균 용액을 처리한 후, 90% 이상(1/10 수준으로)의 경감 정도를 보이는 경우를 효과적인 살균 용액 처리 수준으로 결정하였다.

산소계 살균제 중에서 가장 쉽게 접할 수 있으며 쉽게 사용할 수 있는 과산화수소(hydrogen peroxide) 용액을 살균제로 선택하였다. *B. subtilis*, *E. coli*, *L. monocytogenes* 3종류의 대상균이 흡착되어 있는 상추를 1%, 3%, 10%의 과산화수소수 용액에 각각 1분과 5분씩 처리한 후 잔존하는 생균의 수를 계측하였다.

과산화수소수가 첨가되지 않은 0% 용액과 1%의 용액에 1분 또는 5분간 처리한 경우에는 효과적인 미생

물 경감 수준으로 결정한 90% 이상의 경감률을 보이지 못했으며, 3% 이상의 과산화수소수 용액에 1분 이상 처리한 경우에는 대상 미생물인 *B. subtilis*, *E. coli*, *L. monocytogenes* 모두에서 90% 이상의 경감률을 나타내었으므로 3%의 과산화수소수 용액에 1분간 처리하는 것을 효과적인 과산화수소수 용액의 처리 수준으로 결정하였다(Table 1, 2, 3). 이와 같은 결과는 여러 가지 야채나 과일을 대상으로 5~10% 과산화수소 용액에 0.5~5분간 침지하여 세척한 결과 대부분의 야채나 과일에 효과적이었으나 상추의 경우는 심하게 갈변되었다고 하는 이<sup>20)</sup>의 결과와는 상이한 결과였다. 또한 과산화수소는 잔류할 경우 인체에 유해한 영향을 미치므로 침지가 끝난 다음 다량의 물로 충분히 수세하여 완전히 제거해야만 한다. 이<sup>20)</sup>는 과산화수소를 처리하고 수세하면 과산화수소가 잔류하지 않았다고 보고하였다.

## 2. 차아염소산나트륨 용액의 처리에 의한 미생물 경감

염소계 살균제는 여러 종류의 것들이 사용되고 있으나, 일반인이 쉽게 이용할 수 있는 것은 많지 않다. 일반인들이 주변에서 쉽게 구할 수 있으며 다양한 용도의 세척용액으로 사용되고 있는 차아염소산나트륨 용액인 락스를 염소계 살균제로서 선택하여 식품용 권장 사용농도인 0.2%와 그의 1/10 수준인 0.02%에서 각각 1분과 5분씩 처리한 다음 잔존하는 생균의 수를 계측하였다(Table 4, 5, 6).

*B. subtilis*, *E. coli*의 경우 권장사용농도(0.2%)로 5분간 처리하여도 90% 이상의 경감률을 보이지 않았으나, *L. monocytogenes*는 0.2%에서 1분 이상 처리하면 효과적인(90%) 미생물 경감을 보였다. 일반적으로 식중독균은 다른 일반 세균에 비해 외부 stress에 약한 것으로 알려져 있는데, *L. monocytogenes*도 다른 균에 비

Table 1. Reduction yield of *B. subtilis* by the treatment of hydrogen peroxide aqueous solution

Treatment condition	0% solution		1% solution		3% solution		10% solution	
	1 min	5 min	1 min	5 min	1 min	5 min	1 min	5 min
Reduction yield(%)	36.3	33.3	71.3	78.8	93.5	92.1	97.8	98.7

Table 2. Reduction yield of *E. coli* by the treatment of hydrogen peroxide aqueous solution

Treatment condition	0% solution		1% solution		3% solution		10% solution	
	1 min	5 min	1 min	5 min	1 min	5 min	1 min	5 min
Reduction yield(%)	45.4	48.9	79.3	73.0	93.4	92.8	98.5	99.1

Table 3. Reduction yield of *L. monocytogenes* by the treatment of hydrogen peroxide aqueous solution

Treatment condition	0% solution		1% solution		3% solution		10% solution	
	1 min	5 min	1 min	5 min	1 min	5 min	1 min	5 min
Reduction yield(%)	64.6	71.4	88.3	94.5	96.4	98.8	99.7	99.8

Table 4. Reduction yield of *B. subtilis* by the treatment of sodium hypochlorite aqueous solution

Treatment condition	0% solution		0.02% solution		0.2% solution	
	1 min	5 min	1 min	5 min	1 min	5 min
Reduction yield(%)	33.8	34.5	49.4	57.5	86.0	85.2

Table 5. Reduction yield of *E. coli* by the treatment of sodium hypochlorite aqueous solution

Treatment condition	0% solution		0.02% solution		0.2% solution	
	1 min	5 min	1 min	5 min	1 min	5 min
Reduction yield(%)	41.5	49.2	55.4	54.5	73.8	82.3

**Table 6. Reduction yield of *L. monocytogenes* by the treatment of sodium hypochlorite aqueous solution**

Treatment condition	0% solution		0.02% solution		0.2% solution	
	1 min	5 min	1 min	5 min	1 min	5 min
Reduction yield(%)	69.3	66.1	74.6	80.0	95.1	95.2

**Table 7. Reduction yield of *B. subtilis* by the treatment of acetic acid aqueous solution**

Treatment condition	0% solution		0.1% solution		0.5% solution		1.0% solution	
	1 min	5 min	1 min	5 min	1 min	5 min	1 min	5 min
Reduction yield(%)	32.6	33.1	43.2	46.9	58.5	60.2	66.3	75.2

**Table 8. Reduction yield of *E. coli* by the treatment of acetic acid aqueous solution**

Treatment condition	0% solution		0.1% solution		0.5% solution		1.0% solution	
	1 min	5 min	1 min	5 min	1 min	5 min	1 min	5 min
Reduction yield(%)	42.7	43.9	58.3	56.3	66.5	75.8	79.1	87.8

**Table 9. Reduction yield of *L. monocytogenes* by the treatment of acetic acid aqueous solution**

Treatment condition	0% solution		0.1% solution		0.5% solution		1.0% solution	
	1 min	5 min	1 min	5 min	1 min	5 min	1 min	5 min
Reduction yield(%)	61.6	62.4	63.8	68.8	76.4	78.8	81.4	87.9

하여 살균제에 대하여 민감하게 반응하는 것으로 판단된다. 차아염소산나트륨을 이용한 다른 연구자들의 결과에 의하면 처리에 의한 균의 감소가 거의 없었다<sup>35)</sup>는 결과뿐만 아니라 매우 효과적이었다<sup>36)</sup>는 서로 상반되는 결과도 있었다. 이와 같이 차아염소산나트륨 처리에 의한 결과의 차이가 나는 것은 대상 식품의 특성 때문일 것이라고 판단된다. 대상 식품의 표면에 왁스성분이 존재하면 이것이 미생물에 대한 보호작용을 일으킬 수 있을 것으로 판단되며<sup>35)</sup>, 한편으로는 염소가 식물조직에 접촉하면서 불활성화 될지도 모른다는 보고<sup>37)</sup>도 있었다.

### 3. 초산 용액의 처리에 의한 미생물 경감

pH 저하에 의한 미생물 경감효과를 얻기 위해 시판되고 있는 식초를 구입하여 실험에 사용하였다. 0.1%, 0.5%, 1%의 초산 용액에서 각각 1분과 5분간 처리하여 잔존하는 생균의 수를 측정하였다(Table 7, 8, 9). 초산 용액을 1%에서 5분간 처리하였을 때까지도 모든 대상균에 대하여 90% 이상의 경감 정도를 나타내지 못하였으므로 미생물에 대한 경감 효과가 낮으므로 초산은 살균제로 이용하는데 부적합하다는 사실을 알 수 있었다. 이와 같은 결과는 부추를 대상으로 하여

0.5%, 20℃ 식초용액에 10분간 소독한 경우 미생물이 효과적으로 감소하였으며 저장을 오래 할수록 균수가 감소하였다고 하는 김 등<sup>21)</sup>의 결과와는 상이하였다. 반면 신선채소 편의식품의 미생물 오염 방지를 목적으로 초산, 젖산, 구연산, 포도피온산 등 다양한 유기산을 세척수로 적용한 경우 단순히 물로 수세한 것과는 거의 비슷한 정도의 균수 감소를 보였다는 Adams 등<sup>35)</sup>의 결과와는 유사하였다.

이상의 결과들을 종합해 볼 때, 과산화수소수 용액이 가장 살균효과가 우수하였으며, 상추를 비롯한 생식용 엽채류를 3%의 과산화수소수 용액에서 1분 정도의 짧은 시간동안 처리함으로써 90% 이상의 미생물을 경감시키는 효과를 얻을 수 있었다. 단 과산화수소수 용액에 침지한 후에는 잔류하는 과산화수소를 제거하기 위해서 반드시 물로 씻어야 한다. 이와 같은 방법을 생산 단계에서 농민이 활용하게 된다면 농산물의 안전성 증진 및 부가가치 향상에 크게 기여할 수 있을 것이라고 판단된다.

## 요 약

소비자의 수요 변화에 부응한 고품질·안전 농산물

생산 요구가 증대되고 있는 현실에서, 생산자와 소비자가 신뢰할 수 있는 미생물 안전성이 확보된 안전 농산물 생산을 위한 기술 개발 및 연구가 필요한 실정이다. 본 연구에서는 주로 생식으로 섭취되는 엽채류 중에서 상추에 잔류하는 미생물을 경감키시기 위한 살균액 처리방법들 중에서 농민들이 생산 단계에서 쉽게 이용할 수 있고 90% 이상(1/10 수준으로)의 효과적인 미생물 경감 효과를 보이는 3% 과산화수소수 용액에서 1분 이상 침지하는 방법을 최적의 미생물 경감 방법으로 선정하였다. 이를 농산물 생산단계에서 농민들이 이용한다면 농산물의 안전성 증진 및 부가가치 향상에 크게 기여할 뿐만 아니라 최소가공기술을 이용한 신선 농산물의 가공 연구에도 유용하게 쓰일 수 있을 것으로 판단된다.

### 참고문헌

- 이용욱, 박석기. 시판 식물성 식품의 오염지표세균 분포 및 저장온도, 기간별 오염지표세균의 변화. *한국식품위생안전성학회지* 14(1):1-8. 1999
- 조기환, 김기욱, 정진환, 류충호. 농축수산물 및 그 가공식품에 대한 *Listeria* 균주의 오염실태조사와 Listeriosis발생억제방법. *한국식품위생학회지* 9(4):191. 1994
- Ercolami, GL. Bacteriological quality assessment of fresh marketed lettuce and fennel. *Appl. Environ. Microbiol.* 31:847-852. 1976
- Frezza, L, Tredici, E, Cananzi, F and Mauro, A. Incidence of fecal contamination in the samples of gicens and vegetables usually eaten uncooked. *Ann. Sclavo.* 19:466-450. 1977
- King, AD, Magnuson, JA, Torok T and Goodman, N. Microbial flora and storage quality of partially processed lettuce. *J. Food Sci.* 56:459-461. 1991
- Monge, R and Arias, ML. Presence of various pathogenic microorganisms in fresh vegetables in Costa Rica. *Arch. Latinoam. Nutr.* 46:292-294. 1996
- Tamminga, SK, Beumer, RR and Kampelmacher, E H. The hygienic quality of vegetables grown in or imported into the Netherlands: a tentative survey. *J. Hyg(Lond).* 80:143-154. 1978
- 조성환. 천연식물성 항균제처리에 의한 과채류의 선도 유지 및 병해 방지. *한국농산물저장유통학회지* 4:87-99. 1997
- 김석신, 이주희. 두유의 마이크로파 고온단시간 살균시 살균효과 및 이화학적 성분 변화. *한국식품과학회지* 31(5):1196-1202. 1999
- 변명우, 권중호, 조한욱. 방사선에 의한 양파분말의 살균 및 저장. *한국식품과학회지* 16(1):47-50. 1984
- 변명우, 권중호, 이재원, 조한욱. Ethylene Oxide 처리와 방사선 조사 살균 향신료의 관능적 품질평가. *한국식품과학회지* 18(4):283-287. 1986
- Farr, D. High pressure technology in food industry. *Trends Food Sci. Technol.* 1:14-16. 1992
- Knorr, D, Geulen, M, Grahl, T and Sitzmann, W. Food application of high electric field pulses. *Trends in Food Sci. Technol.* 5:71. 1994
- Pothakamury, UR, Barbosa-Canovas, GV and Swanson, BG. Magnetic-field inactivation of microorganisms and generation of biological changes. *Food Technol.* 47(12):85-93. 1993
- Lee, BH, Kermasha, S and Baker, BE. Thermal ultrasonic and ultraviolet inactivation of *Salmonella* in thin films of aqueous media and cholate. *Food Microbiol.* 6:143-152. 1989
- Lillard, HS. Decontamination of poultry skin by sonication. *Food Technol.* 48(12):72-73. 1994
- 박석준, 박지용. 식품산업에서 오존 살균법의 이용. *식품과학과 산업.* 33(2):50-57. 2000
- Takeuchi, K. *et al.* Penetration of *E. coli* O157:H7 into lettuce tissue as affected by inoculum size and temperature and the effect of chlorine treatment on cell viability. *J. Food Prot.* 63:434-440. 2000
- 김정목. Biocide로서 이산화염소의 식품산업에 응용. *식품산업과 영양* 6(2):33-39. 2001
- 이부용. 신선한 상태로 최소 가공 처리되는 과일 과 야채의 과산화수소에 의한 살균. *식품기술* 11(1):91-97. 1998
- 김소희, 정수열. 단체급식에서 채소류 전처리를 위한 식초 소독의 미생물적 효과. *한국식품영양과학회지* 32(3):230-237. 2003
- 박우포, 조성환. 대황 및 황련추출물 처리에 따른 시설채소산물의 품질특성 변화. *한국농산물저장유통학회지* 6(3):276-280. 1999
- 정순경, 이숙지, 정윤정, 박우포, 이동선, 조성환. 시설채소산물의 선도유지를 위한 한국산 약용식품추출물의 항균특성. *한국농산물저장유통학회지* 5(1):13-21. 1998
- 조성환, 김기욱, 이근희. 천연항균제 처리에 의한

- 과채류의 선도유지 및 병해방지에 관한 연구. *한국농산물저장유통학회지* 1(1):1-7. 1994
25. 조성환, 김기옥, 정진환, 류충호. 농축수산물 및 그 가공식품에 대한 *Listeria* 균주의 오염실태조사와 Listeriosis 발생억제방법. *한국식품위생학회지* 9(4): 191. 1994
  26. 조성환, 정진환, 류충호. 천연 항균제처리를 병용한 과채류의 자연 저온저장기술 개발에 관한 연구. *한국식품영양과학회지* 23:315-321. 1994
  27. 박우포, 유재일, 조성환. 포장용 필름에 따른 풋고추의 저장 중 품질 변화. *한국농산물저장유통학회지* 5:207-210. 1998
  28. 안덕순, 황용일, 조성환, 이동선. 항균소재를 함유시킨 저밀도폴리에틸렌 필름에 의한 상처와 오이의 포장. *한국식품영양과학회지* 27:675-681. 1998
  29. 홍석인, 이은실, 김동만. 신선 과채류 편의식품의 미생물 오염방지 및 조절방법. *식품기술* 13(2):3-13. 2000
  30. 홍석인, 이은실, 김미란, 김동만. 신선 과채류 편의식품의 미생물 안정성. *식품기술* 13(1):3-35. 2000
  31. Ahvenainen R. New approaches in improving the shelf life of minimally processed fruit and vegetables. *Trends in Food Sci. Technol.* 7:179-187. 1996
  32. Soriano, JM, Rico, H, Molto, JC and Manes, J. Assessment of the microbiological quality and wash treatment of lettuce served in University restaurant. *Int. J. Food Microbiol.* 58:123-128. 2000
  33. Takeuchi, K. *et al.* Penetration of *E. coli* O157:H7 into lettuce tissue as affected by inoculum size and temperature and the effect of chlorine treatment on cell viability. *J. Food Prot.* 63:434-440. 2000
  34. Takeuchi, K. *et al.* Direct microscopic observation of lettuce leaf decontamination with a prototype fruit and vegetable washing solution and 1% NaCl-NaHCO<sub>3</sub>. *J. Food Prot.* 64(8):1235-1239. 2001
  35. Adams, MR, Hartley, AD and Cox, LJ. Factors affecting the efficacy of washing procedures used in the production of prepared salads. *Food Microbiol.* 6:69. 1989
  36. Garg, N, Churey, JJ and Splittstoesser, DF. Effect of processing conditions on the microflora of fresh-cut vegetables. *J. Food Prot.* 53:701. 1990
  37. Lund, BM. Bacterial spoilage. *in* Post-Harvest Pathology of Fruits and Vegetables. Dennis C.(ed.). Academic Press. London. 219. 1983

---

(2004년 12월 9일 접수)