

Calcium oxide(CaO)를 활용한 갯잎 중 존재하는 자연균총 및 주요 식중독균의 제어

연지혜 · 이동하¹ · 하상도*

중앙대학교 식품공학과 · 생명환경연구원, ¹식품의약품안전청

Bacteriocidal Effect of Calcium oxide (CaO, Scallop-shell Powder) on Natural Microflora and Pathogenic Bacteria in Sesame Leaf

Ji-Hye Yeon, Dong-Ha Lee¹, and Sang-Do Ha*

Department of Food Science and Technology · BET-Research Institute, Chung-Ang University
¹Korea Food and Drug Administration

Bacteriocidal effect of calcium oxide (CaO, scallop shell powder) on reduction of microorganism in sesame leaf was evaluated through comparison with chemical sanitizers such as chlorine, ethanol, and hydrogen peroxide. CaO showed 0.55-1.49, 0.85-2.56, 0.16-1.08, 0.30-1.14, and 0.19-1.07 log₁₀ CFU/g reductions of total aerobic bacteria, total coliforms, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, and *Salmonella typhimurium*, respectively, indicating possible use of CaO as effective natural sanitizer.

Key words: CaO, scallop shell powder, sanitizer, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella typhimurium*

서 론

최근 학교 등 단체급식의 확대와 외식기회 증가 등에 의한 식생활 패턴의 변화, 지구 온난화 현상 및 실내온도 상승 등 환경의 변화로 식중독 발생이 증가하고 있고 규모면에서도 집단화·대형화되어감에 따라 식중독균 제어법 개발이 절실하다. 과거에는 집중적으로 발생하는 시기가 있었으나 최근에는 환경의 변화로 계절에 관계없이 연중 발생하는 것이 특징이기도 하다.

이러한 식중독을 제어하는 방법에는 고전압 펄스(1), 전기장, 진동 자기장, 초고압(2), 초음파, 마이크로웨이브(3,4) 등을 이용한 물리적 방법과 hot water holding, 염소계, 알콜계, 4급암모늄계, 요오드계, 산알칼리계, 계면활성제 등과 같은 살균소독제를 이용하는 화학적 방법, 생물학적 방법이 있다. 이들 중 살균소독제를 사용한 화학적 방법이 편리함에 있어서나 경제적으로 가장 선호되고 있는데, 신선한 상태로 주로 소비되는 갯잎과 같은 채소류들은 열처리 방법으로 살균할 수 없기 때문에 살균소독제를 이용하여 균을 제어하는 방법을 주로 선택하고 있다. 이 중 특히 넓은 항균활성 범위를 갖고 있는 chlorine (5,6), ethanol(6-8), hydrogen peroxide(6,9)의 사용이 선호되고 있

다. 그리고 신선 채소류들은 열처리 방법으로 살균할 수 없기 때문에 살균소독제를 이용하여 균을 제어하는 방법을 주로 선택하고 있다. 현재 많은 가정에서 과채류 세척에 수돗물이나 주방용 세제를 사용하고 있는데 수돗물의 경우 흙, 먼지 등의 불순물 제거 역할은 할 수 있지만 식중독 원인균 등 미생물위해요소 제거효과는 기대하기 어렵다(10,11).

대부분의 살균소독제는 화학적 합성물질이며 우리 역시 미국이나 일본과 비슷한 상황인데 소득수준의 향상으로 소비자의 기호가 고급화되어 화학적 합성물질에 대한 기피현상이 두드러지고 있다(12). 이러한 시점에서 천연 유래 살균소독 제품에 대한 요구가 절실하며, 독성이 적고 안전하면서도 위해 요소를 제거할 수 있는 살균소독·세척제의 필요성이 대두되고 있는데 반해 이에 대한 연구가 매우 부족한 실정이다.

Scallop(*Patinopecten yessoensis*, 참가리비) shell은 식품첨가물, 회반죽, 포장재 등으로 재활용되어 여러 용도로 사용되지만 내장에 있는 중금속의 유출로 인한 불쾌취, 토양오염과 같은 환경오염을 야기시켜 대부분이 쓰레기로 간주되어진다. 이런 scallop shell의 주성분은 탄산칼슘(CaCO₃)인데, 탄산칼슘이 700°C 이상에서 열처리하게 되면 CaO(산화칼슘, calcium oxide)로 전환되는데 이 shell powder가 bacteria에 대하여 강한 살균력을 나타낸다는 연구가 다수 보고되어 있다(13-20). CaO는 석회·생석회라고도 하며 수분 포집제로서의 건조제, 석회 플라스틱, cement, 토양개량제 등 다양한 용도로 사용되어지며 공기 중에서 용이하게 탄산가스를 흡수하여 탄산칼슘이 된다고 식품첨가물공전 상에 규정되어 있는 물질이다(21).

본 연구는 scallop shell powder인 CaO의 미생물에 대한 저

*Corresponding author: Sang-Do Ha, Department of Food Science and Technology, Chung-Ang University, 72-1 Nae-ri, Daeduk-myun, Ansong, Gyunggido 456-756, Korea
Tel: 82-31-670-4831
Fax: 82-31-675-4853
E-mail: sangdoha@post.cau.ac.kr

해효과를 알아보기 위하여 껏잎에 존재하는 자연균총과 주요 식중독균에 대하여 CaO를 비롯한 chlorine, ethanol, hydrogen peroxide 등과 같은 chemical sanitizer를 이용하여 식품에서의 최적의 살균효과를 알아내고자 하는데 목적이 있으며, 향후 천연물질인 scallop shell powder (CaO)를 이용한 살균소독제의 개발에 기여하고자 한다.

재료 및 방법

재료

실험에 사용된 껏잎은 경기도 안성의 소매점에서 구입하였다. 구입한 껏잎은 dry-ice box에 담아 4-7°C로 유지하면서 실험실로 이동한 후, 멸균된 가위로 불가식 부위를 제거한 후에 무작위로 절단하여 멸균된 용기에 담아 4°C 냉장고에 보관하면서 하루 이내에 살균 세척 실험을 수행하였다.

껏잎 중 존재하는 자연균총을 측정하기 위하여 껏잎을 5g씩 채취하여 45 mL 0.1% phosphate buffer로 희석한 후, stomacher (Elmex SH-II M, Tokyo, Japan)를 이용하여 1분간 균질화한 다음 0.1% phosphate buffer를 이용하여 10배씩 연속 희석하였다. 멸균된 인산완충용액을 조제하기 위해 8.0g의 NaCl, 0.2g의 KCl, 1.15g의 $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.2g의 KH_2PO_4 를 1,000 mL의 증류수에 녹여 1N NaOH를 첨가한 뒤 pH를 7.2로 조정하여 autoclaving한 후 사용하였다.

사용균주

본 실험에 사용된 균주는 *Escherichia coli* ATCC 10536, *Listeria monocytogenes* ATCC 19112, 19113, 19115 mixture, *Salmonella typhimurium* NO/NA를 사용하였다. 보존 배양된 시험균을 tryptic soy agar(TSA, Difco Laboratories, Detroit, MI, USA)배지에 도말하여 18-24시간 배양한 후, 같은 방법으로 2차, 3차 배양하여 사용하였다.

껏잎 시료는 흐르는 물로 2번 세척 후 H_2O_2 3.6%에 5분간 침지 후 멸균수로 2번 rinse하여 제공하였으며, 사용균주 200 μL 를 골고루 접종하였다. 초기 접종균수는 각각 *E. coli* 4.28 log, *L. monocytogenes* 4.18 log, *S. typhimurium* 3.28 log였다. 미국 EPA에 의하면 과일에 균을 부착시키는 방법도 침지법(dipping)과 점 접종법(spot inoculation) 등이 제시되어 있고 두 가지 방법을 다 인정하고 있다. 침지법은 점 접종법에 비해 접종 균수의 정확한 추정이 어렵고 표준편차가 크며 재현이 쉽지 않은 단점이 있다. 토마토에 균을 접종한 뒤 2시간 이상 경과되면 부착된 *E. coli* O157:H7이 상당 수 감소하므로 적절하지 않다고 제시되어 있는 연구결과도 있으나(24), Kwon 등(22)에 따르면 접종 후 8시간 경과시키는 방법을 채택하였어도 균 세척효과를 판단하기에 충분한 균수가 존재함을 확인하였다는 결과가 있다. 본 실험에서는 후자의 방법인 점 접종법을 택하여 균을 접종한 후 8-9시간 경과 후 접종한 액이 완전히 마른 후 세척 살균하였다.

Chemical sanitizer의 종류 및 살균소독 방법

Chemical sanitizer는 CaO(Surfecera, Tokyo, Japan), ethanol(95%, Duksan, Korea), sodium hypochlorite(12%, Duksan, Korea), hydrogen peroxide(50%, Ream, Belgium)를 사용하였다.

4가지 sanitizer의 농도별로 16개 처리구인 무처리구(untreated, UT), 증류수 침지(water soaking, WT), CaO 0.05%(W/V), 0.1, 0.2%, ethanol(ET) 5%(V/V), 10, 15, 20%, chlorine(CL) 50

ppm(V/V), 100, 200, 300 ppm, hydrogen peroxide(HP) 0.5%(V/V), 1.0, 2.0%가 평가되었다.

살균제로써 이들의 최적 농도와 처리시간에 대한 명확한 결론은 이루어지지 않고 있으나 chlorine은 특유의 냄새를 고려했을 때 일반적으로 50-100 ppm 사이의 범위로 Kwon 등(22)이 사용하여 효과가 입증된 농도이며, 미국 Centers for Disease Control and Prevention(CDC)나 Environmental Protection Agency(EPA)의 경우는 과채류의 세척에 있어서 50-200 ppm 염소 용액을 사용할 것을 권장하고 있다(23). 염소 용액의 항균 작용은 그 광범위성이나 속효성에서 널리 인정받고 있으나, 독성 때문에 너무 높은 농도나 장시간 사용 시 사용자의 안전성 문제와 과채류의 손상을 초래할 수 있다(10). Ethanol은 0-10%를 이용하고, hydrogen peroxide의 경우는 1-3.5%의 농도로 식품 살균에 사용되어지는 것으로 알려져 있다(6).

껏잎 시료는 5g씩 2분, 10분간 침지식으로 세척 살균하였으며, 균에 따른 세척조건별 살균효과를 비교하기 위하여 control로 무처리구(untreated)를 이용하였고, 동일한 검체에 대하여 실험을 3회 반복하여 세척 조건별 잔존 미생물들의 균수를 측정하여 그들의 평균값을 얻었다.

미생물 분석 방법

총호기성균(aerobic mesophilic bacteria)과 대장균군(total coliforms)은 각각 tryptic soy agar(TSA, Difco Laboratories, Detroit, MI, USA)와 Violet red bile agar (VRBA, Difco Laboratories, Detroit, MI, USA)에 의하여 측정하였는데 phosphate buffer로 희석한 껏잎 시료 2 mL를 petri-dish에 분주한 후, petri-dish 위에 각각의 배지 15-20 mL를 부어 잘 섞은 후 37°C에서 24-48시간 배양하였다. *E. coli*는 petrifilm™ *E. coli* count (PEC, 3M Co, St. Louis, MN, USA)를 이용하여 37°C에서 24-48시간 배양하였다. 배양 후 기포를 가진 blue colony만을 *E. coli* 양성으로 간주하고 standard plates count(SPC)에 의하여 colony-forming unit(CFU)/g로 나타내었다. *L. monocytogenes*는 modified oxford agar(Difco Laboratories, Detroit, MI, USA)를 이용하여 균질하게 spreading한 후 30°C에서 24-48시간 배양 후 전형적인 집락모양인 진한 갈색 또는 검은색 환으로 둘러싸인 집락을 선택하여 SPC에 의해 계수하였고, *S. typhimurium*은 xylose lysine deoxycholate(XLD, Difco Laboratories, Detroit, MI, USA)에 35°C에서 20-24시간 배양 후 살모넬라의 전형적인 집락 모양인 유당 비분해 및 황화수소 산생성으로 생성된 검은색 환을 선택하여 SPC에 의하여 배지 위에 형성된 colony를 계수하여 CFU/g로 나타내었다.

통계적 분석

미생물 균수는 \log_{10} colony forming unit(CFU)/g로 나타내었으며, SAS 통계처리 프로그램, version 8.01(26)에 있는 General Linear Model(GLM) procedure의 Pdiff(*p*-value Differentiation) option에 의해 수행된 least square mean separation 방법에 의해 분석되었으며 모든 통계처리의 유의성은 $p < 0.05$ 범위에서 실시되었다.

결과 및 고찰

Chemical sanitizer를 이용한 세척 후 잔존 미생물들의 살균효과

Aerobic mesophilic bacteria: 껏잎에 존재하는 총호기성균에 대한 CaO, chlorine(CL), ethanol(ET), hydrogen peroxide(HP)의

Table 1. Effects of sanitizers and disinfectants on the reduction of aerobic mesophilic bacteria in sesame leaf by 2 and 10 min of treatment
(unit: \log_{10} CFU/g)

Sanitizers	Concentration	Treatment	
		2 min	10 min
UT	-	5.56 ± 0.01 ^a	5.56 ± 0.01 ^a
WT	-	5.52 ± 0.01 ^a	5.44 ± 0.67 ^a
CaO	0.05%	5.01 ± 0.02 ^{bc}	4.69 ± 0.04 ^c
	0.1%	4.51 ± 0.04 ^f	4.21 ± 0.04 ^f
	0.2%	4.31 ± 0.03 ^{sh}	4.07 ± 0.03 ^{se}
ET	5%	5.08 ± 0.02 ^b	4.93 ± 0.03 ^b
	10%	4.72 ± 0.02 ^d	4.56 ± 0.01 ^d
	15%	4.54 ± 0.05 ^f	4.26 ± 0.04 ^{ef}
	20%	4.35 ± 0.03 ^{se}	4.05 ± 0.01 ^{sh}
CL	50 ppm	4.95 ± 0.06 ^c	4.71 ± 0.01 ^c
	100 ppm	4.58 ± 0.01 ^{ef}	4.34 ± 0.03 ^e
	200 ppm	4.22 ± 0.02 ^h	3.98 ± 0.01 ^h
	300 ppm	3.89 ± 0.03 ⁱ	3.79 ± 0.05 ⁱ
HP	0.5%	4.95 ± 0.25 ^c	4.68 ± 0.03 ^c
	1.0%	4.65 ± 0.01 ^{de}	4.32 ± 0.04 ^e
	2.0%	4.24 ± 0.07 ^h	4.05 ± 0.03 ^{se}

^{a-i}Means with the same letter in each column are not significantly different at $p < 0.05$.

UT: untreated, WT: water soaking, CaO: scallop shell powder, ET: ethanol, CL: chlorine, HP: hydrogen peroxide.

살균효과 결과를 Table 1에 나타내었다. 깻잎은 $5.56 \pm 0.01 \log_{10}$ CFU/g의 초기균수를 가지고 있었고, WT로 2분, 10분 처리한 경우 세척 후 잔존 균수가 각각 5.52 ± 0.01 , $5.44 \pm 0.67 \log_{10}$ CFU/g로 0.04, 0.12 log의 감소효과를 나타내었고 오래 침지한 것이 균 제어에 효과적임을 알 수 있었다. Nascimento 등 (5)이 상추를 water 처리하여 $0.8 \log_{10}$ CFU/g 총균수 감소효과 ($6.94 \rightarrow 6.19 \log_{10}$ CFU/g)를 보인 것에 비해 적었지만 유사한 결과를 보였다.

CaO를 각 농도별로 0.05, 0.1, 0.2%를 2분 처리했을 때, 깻잎 중 균수가 각각 5.01 ± 0.02 , 4.51 ± 0.04 , $4.31 \pm 0.03 \log_{10}$ CFU/g였으며, 10분 처리했을 때에는 각각 4.69 ± 0.04 , 4.21 ± 0.04 , $4.07 \pm 0.03 \log_{10}$ CFU/g로 나타나 오래 처리할수록 균의 감소효과가 더 컸다. Sawai 등(16)의 연구에서 0.1 g dm^{-3} heated scallop shell powder의 shredded cabbage 처리로 총호기성균은 20분 내에 1 log cycle, 0.5와 1.0 g dm^{-3} 에서 10분 내에 2 log cycle 이상 감소시켰고, ascorbic acid를 CL 처리에 비하여 27% 수준까지 감소시켰으며 갈변과 같은 색의 변화와 품질에 영향을 미치지 않은 것으로 나타났다. 침지시간이 길수록 균의 감소효과는 더 컸지만 현실적으로 2분 정도 신속한 세척을 수행할 경우, 15% ethanol, 100 ppm chlorine, 1.0% hydrogen peroxide와 효과가 비슷한 약 90% 균 감소능력을 보인 0.1%가 최적의 농도라 판단된다.

Chlorine 50, 100, 200, 300 ppm을 2분 처리했을 때, 깻잎 중 균수가 각각 4.95 ± 0.06 , 4.58 ± 0.01 , 4.22 ± 0.02 , $3.89 \pm 0.03 \log_{10}$ CFU/g였으며, 10분 처리했을 때에는 각각 4.71 ± 0.01 , 4.34 ± 0.03 , 3.98 ± 0.01 , $3.79 \pm 0.05 \log_{10}$ CFU/g로 나타나 10분 처리했을 때 균의 감소효과가 더 컸다. Chlorine의 경우도 다른 것과 마찬가지로 2분 처리했을 때 보다 10분 처리했을 때 효과

Table 2. Effects of sanitizers and disinfectants on the reduction of total coliforms in sesame leaf by 2 and 10 min of treatment
(unit: \log_{10} CFU/g)

Sanitizers	Concentration	Treatment	
		2 min	10 min
UT	-	4.78 ± 0.02 ^a	4.78 ± 0.02 ^a
WT	-	4.65 ± 0.02 ^b	4.40 ± 0.02 ^a
CaO	0.05%	3.93 ± 0.01 ^d	3.72 ± 0.003 ^c
	0.1%	3.29 ± 0.03 ^c	3.15 ± 0.05 ^d
	0.2%	2.49 ± 0.03 ^c	2.22 ± 0.05 ^f
ET	5%	4.19 ± 0.05 ^c	3.98 ± 0.02 ^a
	10%	3.99 ± 0.01 ^d	3.84 ± 0.01 ^b
	15%	3.74 ± 0.01 ^e	3.54 ± 0.01 ^c
	20%	3.49 ± 0.03 ^e	3.12 ± 0.03 ^d
CL	50 ppm	4.34 ± 0.02 ^b	3.83 ± 0.03 ^b
	100 ppm	3.94 ± 0.03 ^d	2.59 ± 0.01 ^c
	200 ppm	3.38 ± 0.01 ^e	2.55 ± 0.01 ^c
	300 ppm	2.68 ± 0.02 ^e	2.21 ± 0.04 ^f
HP	0.5%	4.45 ± 0.02 ^b	3.89 ± 0.02 ^b
	1.0%	3.98 ± 0.01 ^d	3.42 ± 0.02 ^c
	2.0%	3.62 ± 0.04 ^c	3.07 ± 0.02 ^d

^{a-f}Means with the same letter in each column are not significantly different at $p < 0.05$.

UT: untreated, WT: water soaking, CaO: scallop shell powder, ET: ethanol, CL: chlorine, HP: hydrogen peroxide.

가 더 컸으며 높은 농도일수록 균의 감소가 컸으나, 200 ppm 이상의 농도 사용 시 chlorine 특유의 냄새가 나 실제 100 ppm 이하가 사용 가능한 농도라 판단되었다. Chlorine은 신선 채소류를 세척하였을 경우 가장 큰 문제점인 세척 후 발생하는 이 미·이취와 갈변현상으로 적당한 농도의 사용이 권장되어져야 한다.

Ethanol을 5, 10, 15, 20% 2분 처리했을 때, 깻잎 중 균수가 각각 5.08 ± 0.02 , 4.72 ± 0.02 , 4.54 ± 0.05 , $4.35 \pm 0.03 \log_{10}$ CFU/g였으며, 10분 처리했을 때, 4.93 ± 0.03 , 4.56 ± 0.01 , 4.26 ± 0.04 , $4.05 \pm 0.01 \log_{10}$ CFU/g로 나타나 높은 농도일수록, 오래 처리했을 경우 살균 효과가 더 좋았다. 농도가 높을수록 효과는 좋았으나 ethanol은 10% 이내를 사용하는 것이 식품에서 권장된 농도이기 때문에 살균효과가 더 좋아도 그 이상 사용하는 것은 잔존할 우려가 있기 때문에 식품의 맛, 색 등의 품질에 영향을 미칠 수 있기 때문에 그 이상의 농도를 사용하는 것은 적절하지 않다고 판단되어 진다.

Hydrogen peroxide를 0.5, 1.0, 2.0% 2분 처리했을 때, 깻잎 중 균수가 각각 4.95 ± 0.25 , 4.65 ± 0.01 , $4.24 \pm 0.07 \log_{10}$ CFU/g였으며, 10분 처리했을 때에는 각각 4.68 ± 0.03 , 4.32 ± 0.04 , $4.05 \pm 0.03 \log_{10}$ CFU/g로 나타났다.

CaO를 2분 처리 했을 경우 CaO 0.05%는 CL 50 ppm, HP 0.05%와 유사한 살균효과를 보였으며, CaO 0.1%는 CL 100 ppm과, CaO 0.2%는 ET 20%, CL 200 ppm, HP 2.0%와 각각 유사한 살균효과를 보이는 것으로 나타났다.

Total coliforms: 깻잎에 존재하는 대장균에 대한 CaO, CL, ET, HP의 살균효과 결과를 Table 2에 나타내었다. 깻잎은 $4.78 \pm 0.02 \log_{10}$ CFU/g의 초기 균수를 가지고 있었고, WT로 2분,

10분 처리한 경우 세척 후 잔존 균수가 각각 4.65 ± 0.02 , $4.40 \pm 0.02 \log_{10}\text{CFU/g}$ 로 크게 감소효과를 나타내지는 않았으나 오래 침지할수록 더 큰 균 감소효과를 나타냈다.

CaO를 각 농도별로 0.05%, 0.1%, 0.2%를 2분 처리했을 때, 각각 3.93 ± 0.01 , 3.29 ± 0.03 , $2.49 \pm 0.03 \log_{10}\text{CFU/g}$ 였으며, 10분 처리했을 때에는 각각 3.72 ± 0.003 , 3.15 ± 0.05 , $2.22 \pm 0.05 \log_{10}\text{CFU/g}$ 로 나타나 오래 처리할수록 균의 감소효과가 더 컸다. 현실적으로 2분 정도 신속한 세척을 수행할 경우, CaO는 0.05%에서 ET 10%, CL 100 ppm, HP 0.1% 정도의 coliform 감소효과를 보였다. Sawai 등(16)의 0.5 g dm^{-3} heated scallop shell powder의 shredded cabbage 처리에서 대장균군은 5분 내에 나타나지 않았으나, CL $200 \mu\text{g dm}^{-3}$ 에서는 $0-2 \log_{10}\text{CFU/g}$ 를 나타냈다. 호기성균에 대해 0.1 g dm^{-3} shell powder와 CL $200 \mu\text{g dm}^{-3}$ 에서 비교해 봤을 때 거의 동일하였으나 CL 처리의 경우 대장균군이 검출된 것으로 나타나 균 제거효과에 있어 CaO는 대장균군의 감소에 보다 더 효과적인 것으로 판단된다. Ethanol을 5%, 10%, 15%, 20%를 2분 처리했을 때, 깻잎 중 균수는 각각 4.19 ± 0.05 , 3.99 ± 0.01 , 3.74 ± 0.01 , $3.49 \pm 0.03 \log_{10}\text{CFU/g}$ 였으며, 10분 처리했을 때에는 3.98 ± 0.02 , 3.84 ± 0.01 , 3.54 ± 0.01 , $3.12 \pm 0.03 \log_{10}\text{CFU/g}$ 로 나타났다. Chlorine을 50, 100, 200, 300 ppm 2분 처리했을 때, 깻잎 중 균수는 각각 4.34 ± 0.02 , 3.94 ± 0.03 , 3.38 ± 0.01 , $2.68 \pm 0.02 \log_{10}\text{CFU/g}$ 였으며, 10분 처리했을 때에는 각각 3.83 ± 0.03 , 2.59 ± 0.01 , 2.55 ± 0.01 , $2.21 \pm 0.04 \log_{10}\text{CFU/g}$ 로 나타났다. Hydrogen peroxide를 0.5%, 1.0%, 2.0%를 2분 처리했을 때, 깻잎 중 균수는 각각 4.45 ± 0.02 , 3.98 ± 0.01 , $3.62 \pm 0.04 \log_{10}\text{CFU/g}$ 였으며, 10분 처리했을 때에는 각각 3.89 ± 0.02 , 3.42 ± 0.02 , $3.07 \pm 0.02 \log_{10}\text{CFU/g}$ 로 나타나 다른 살균제와 유사한 경향의 결과를 나타내었다.

E. coli: 깻잎에 존재하는 *E. coli*에 대한 CaO, CL, ET, HP의 살균효과 결과를 Table 3에 나타내었다. 깻잎은 $4.29 \pm 0.01 \log_{10}\text{CFU/g}$ 의 초기 균수를 가지고 있었고 WT로 2분, 10분 처리한 경우 세척 후 잔존 균수가 각각 4.25 ± 0.003 , $4.22 \pm 0.003 \log_{10}\text{CFU/g}$ 로 크게 감소효과를 나타내지는 않았으나, 오래 침지할수록 더 큰 균 감소효과를 나타내었다.

CaO를 각 농도별로 0.05%, 0.1%, 0.2%를 2분 처리했을 때, 깻잎 중 균수가 각각 4.13 ± 0.01 , 4.02 ± 0.01 , $3.98 \pm 0.01 \log_{10}\text{CFU/g}$ 였으며, 10분 처리했을 때에는 각각 3.77 ± 0.02 , 3.58 ± 0.03 , $3.21 \pm 0.06 \log_{10}\text{CFU/g}$ 로 나타나 높은 농도일수록, 오래 처리할수록 균의 감소 효과가 더 컸다. Ethanol을 5, 10, 15, 20%를 2분 처리했을 때, 깻잎 중 균수가 각각 4.21 ± 0.003 , 4.18 ± 0.01 , 4.11 ± 0.01 , $4.01 \pm 0.01 \log_{10}\text{CFU/g}$ 였으며, 10분 처리했을 때에는 4.01 ± 0.02 , 3.91 ± 0.01 , 3.76 ± 0.01 , $3.52 \pm 0.03 \log_{10}\text{CFU/g}$ 로 나타났다. Chlorine을 50, 100, 200, 300 ppm 2분 처리했을 때, 깻잎 중 균수가 각각 4.09 ± 0.01 , 3.97 ± 0.01 , 3.90 ± 0.01 , $3.70 \pm 0.01 \log_{10}\text{CFU/g}$ 였으며, 10분 처리했을 때에는 각각 3.69 ± 0.02 , 3.45 ± 0.04 , 3.12 ± 0.06 , $2.91 \pm 0.02 \log_{10}\text{CFU/g}$ 로 나타났다. Hydrogen peroxide를 0.5%, 1.0%, 2.0%를 2분 처리했을 때, 깻잎 중 균수가 각각 4.17 ± 0.01 , 4.03 ± 0.04 , $3.93 \pm 0.01 \log_{10}\text{CFU/g}$ 였으며, 10분 처리했을 때에는 각각 3.82 ± 0.03 , 3.57 ± 0.01 , $3.40 \pm 0.02 \log_{10}\text{CFU/g}$ 로 나타났다.

이와 같은 결과, CaO 0.2%는 CL 200 ppm에 견줄만한 균 감소효과를 보였으며, CaO의 농도도 영향을 미치지만 2분에 비해 10분 처리했을 때 큰 효과를 보여 *E. coli* 감소에 있어 시간에 따른 효과가 큰 것으로 판단된다.

Table 3. Effects of sanitizers and disinfectants on the reduction of *E. coli* in sesame leaf by 2 and 10 min of treatment
(unit: $\log_{10}\text{CFU/g}$)

Sanitizers	Concentration	Treatment	
		2 min	10 min
UT	-	4.29 ± 0.01^a	4.29 ± 0.01^a
WT	-	4.25 ± 0.003^a	4.22 ± 0.003^a
CaO	0.05%	4.13 ± 0.01^{de}	3.77 ± 0.02^c
	0.1%	4.02 ± 0.01^{ef}	3.58 ± 0.03^c
	0.2%	3.98 ± 0.01^h	3.21 ± 0.06^h
ET	5%	4.21 ± 0.003^b	4.01 ± 0.02^b
	10%	4.18 ± 0.01^{bc}	3.91 ± 0.01^b
	15%	4.11 ± 0.01^{ef}	3.76 ± 0.01^{cd}
	20%	4.01 ± 0.01^{gh}	3.52 ± 0.03^{ef}
CL	50 ppm	4.09 ± 0.01^f	3.69 ± 0.02^d
	100 ppm	3.97 ± 0.01^h	3.45 ± 0.04^{fg}
	200 ppm	3.90 ± 0.01^i	3.12 ± 0.06^h
	300 ppm	3.70 ± 0.01^j	2.91 ± 0.02^h
HP	0.5%	4.17 ± 0.01^{cd}	3.82 ± 0.03^c
	1.0%	4.03 ± 0.04^{ef}	3.57 ± 0.01^c
	2.0%	3.93 ± 0.01^i	3.40 ± 0.02^{ef}

^{ab}Means with the same letter in each column are not significantly different at $p < 0.05$.

UT: untreated, WT: water soaking, CaO: scallop shell powder, ET: ethanol, CL: chlorine, HP: hydrogen peroxide.

L. monocytogenes: 깻잎에 존재하는 *L. monocytogenes*에 대한 CaO, CL, ET, HP의 살균효과 결과를 Table 4에 나타내었다. 깻잎은 $4.18 \pm 0.003 \log_{10}\text{CFU/g}$ 의 초기 균수를 가지고 있었고 WT로 2분, 10분 처리한 경우 세척 후 잔존 균수가 각각 4.13 ± 0.02 , $4.13 \pm 0.01 \log_{10}\text{CFU/g}$ 로 2분이나 10분 침지한 처리구가 같은 결과를 보였다. 이는 *L. monocytogenes*는 시간에 관계없이 WT처리에 대해 강한 내성을 보인다고 판단된다.

CaO 0.05, 0.1% 0.2%를 2분 처리했을 때, 깻잎 중 균수가 각각 3.88 ± 0.03 , 3.81 ± 0.02 , $3.58 \pm 0.04 \log_{10}\text{CFU/g}$ 였으며, 10분 처리했을 때에는 각각 3.79 ± 0.01 , 3.56 ± 0.03 , $3.04 \pm 0.04 \log_{10}\text{CFU/g}$ 로 나타나 높은 농도일수록, 오래 처리했을 때 균의 감소효과가 더 컸다. Ethanol을 5, 10, 15, 20%를 2분 처리했을 때, 깻잎 중 균수가 각각 4.09 ± 0.01 , 4.01 ± 0.003 , 3.82 ± 0.01 , $3.68 \pm 0.03 \log_{10}\text{CFU/g}$ 였으며, 10분 처리했을 때에는 3.98 ± 0.01 , 3.88 ± 0.02 , 3.64 ± 0.03 , $3.36 \pm 0.02 \log_{10}\text{CFU/g}$ 로 나타났다. Chlorine을 50, 100, 200, 300 ppm 2분 처리했을 때, 깻잎 중 균수가 각각 3.85 ± 0.03 , 3.68 ± 0.02 , 3.48 ± 0.01 , $3.08 \pm 0.04 \log_{10}\text{CFU/g}$ 였으며, 10분 처리했을 때에는 각각 3.61 ± 0.02 , 3.40 ± 0.05 , 2.99 ± 0.01 , $2.84 \pm 0.02 \log_{10}\text{CFU/g}$ 로 나타났다. 이는 Takeuchi 등(26)의 CL 200 ppm이 자른 양상추와 양배추에서 10분 침지 처리에서 각각 1.3-1.7, 0.9-1.2 $\log_{10}\text{CFU/g}$ 의 균 감소효과를 보인 것과 유사하게 나타났다. Hydrogen peroxide를 0.5%, 1.0%, 2.0% 2분 처리했을 때, 깻잎 중 균수가 각각 3.92 ± 0.02 , 3.82 ± 0.03 , $3.60 \pm 0.05 \log_{10}\text{CFU/g}$ 였으며, 10분 처리했을 때에는 각각 3.81 ± 0.02 , 3.52 ± 0.04 , $3.13 \pm 0.04 \log_{10}\text{CFU/g}$ 로 나타났다.

이와 같은 결과, *L. monocytogenes*는 CL처리에서 가장 큰 균 감소효과를 보여 CL에 가장 약한 것으로 나타났고, CaO와 HP

Table 4. Effects of sanitizers and disinfectants on the reduction of *L. monocytogenes* in sesame leaf by 2 and 10 min of treatment (unit: log₁₀CFU/g)

Sanitizers	Concentration	Treatment	
		2 min	10 min
UT	-	4.18 ± 0.003 ^a	4.18 ± 0.003 ^a
WT	-	4.13 ± 0.02 ^{ab}	4.13 ± 0.01 ^a
CaO	0.05%	3.88 ± 0.03 ^d	3.79 ± 0.01 ^d
	0.1%	3.81 ± 0.02 ^e	3.56 ± 0.03 ^{fg}
	0.2%	3.58 ± 0.04 ^g	3.04 ± 0.04 ^j
ET	5%	4.09 ± 0.01 ^b	3.98 ± 0.01 ^b
	10%	4.01 ± 0.003 ^c	3.88 ± 0.02 ^c
	15%	3.82 ± 0.01 ^e	3.64 ± 0.03 ^e
	20%	3.68 ± 0.03 ^f	3.36 ± 0.02 ^h
CL	50 ppm	3.85 ± 0.03 ^{de}	3.61 ± 0.02 ^{ef}
	100 ppm	3.68 ± 0.02 ^f	3.40 ± 0.05 ^h
	200 ppm	3.48 ± 0.01 ^h	2.99 ± 0.01 ^j
	300 ppm	3.08 ± 0.04 ^h	2.84 ± 0.02 ^k
HP	0.5%	3.92 ± 0.02 ^d	3.81 ± 0.02 ^{cd}
	1.0%	3.82 ± 0.03 ^e	3.52 ± 0.04 ^g
	2.0%	3.60 ± 0.05 ^{fg}	3.13 ± 0.04 ⁱ

^{a-k}Means with the same letter in each column are not significantly different at $p < 0.05$.

UT: untreated, WT: water soaking, CaO: scallop shell powder, ET: ethanol, CL: chlorine, HP: hydrogen peroxide.

Table 5. Effects of sanitizers and disinfectants on the reduction of *S. typhimurium* in sesame leaf by 2 and 10 min of treatment (unit: log₁₀CFU/g)

Sanitizers	Concentration	Treatment	
		2 min	10 min
UT	-	3.28 ± 0.02 ^a	3.28 ± 0.02 ^a
WT	-	3.24 ± 0.02 ^a	3.09 ± 0.01 ^b
CaO	0.05%	3.09 ± 0.01 ^b	2.99 ± 0.01 ^{cd}
	0.1%	2.98 ± 0.02 ^c	2.49 ± 0.02 ^g
	0.2%	2.69 ± 0.01 ^e	2.21 ± 0.06 ⁱ
ET	5%	3.12 ± 0.01 ^b	3.05 ± 0.02 ^b
	10%	3.08 ± 0.01 ^b	3.03 ± 0.01 ^{bc}
	15%	2.89 ± 0.03 ^{de}	2.91 ± 0.01 ^d
	20%	2.76 ± 0.02 ^f	2.66 ± 0.02 ^f
CL	50 ppm	2.91 ± 0.03 ^d	2.80 ± 0.03 ^c
	100 ppm	2.74 ± 0.01 ^{fg}	2.44 ± 0.02 ^{gh}
	200 ppm	2.43 ± 0.04 ^h	2.25 ± 0.03 ⁱ
	300 ppm	2.17 ± 0.05 ⁱ	1.95 ± 0.05 ^j
HP	0.5%	2.95 ± 0.01 ^{cd}	2.81 ± 0.05 ^c
	1.0%	2.84 ± 0.01 ^c	2.61 ± 0.02 ^f
	2.0%	2.49 ± 0.02 ^h	2.35 ± 0.04 ^h

^{a-j}Means with the same letter in each column are not significantly different at $p < 0.05$.

UT: untreated, WT: water soaking, CaO: scallop shell powder, ET: ethanol, CL: chlorine, HP: hydrogen peroxide.

처리에서도 CL에 비해 상대적으로 적지만 효과적인 균 감소를 보였으며, ET은 별 효과가 없는 것으로 나타났다.

S. typhimurium: 깻잎에 존재하는 *S. typhimurium*에 대한 CaO, CL, ET, HP의 살균효과 결과를 Table 5에 나타내었다. 깻잎은 3.28 ± 0.02 log₁₀CFU/g의 초기 균수를 가지고 있었고 WT로 2분, 10분 처리한 경우 세척 후 잔존 균수가 각각 3.24 ± 0.02, 3.09 ± 0.01 log₁₀CFU/g로 2분 처리할 경우 크게 감소 효과를 나타내지는 않았으나 오래 침지할수록 균 감소효과가 크게 나타났다.

CaO를 0.05%, 0.1%, 0.2% 2분 처리했을 때, 깻잎 중 균수가 각각 3.09 ± 0.01, 2.98 ± 0.02, 2.69 ± 0.01 log₁₀CFU/g였으며, 10분 처리했을 때에는 각각 2.99 ± 0.01, 2.49 ± 0.02, 2.21 ± 0.06 log₁₀CFU/g로 나타나 농도가 높을수록, 더 오래 침지할수록 균 감소효과가 더 컸다. CaO 농도도 영향을 미치지만 오래 침지할수록 큰 효과를 보여 *S. typhimurium* 감소에 있어 시간효과가 큰 것으로 판단되며, CL과 HP만큼 균 감소효과가 큰 것으로 나타났다. Ethanol을 5, 10, 15, 20% 2분 처리했을 때, 깻잎 중 균수가 각각 3.12 ± 0.01, 3.08 ± 0.01, 2.89 ± 0.03, 2.76 ± 0.02 log₁₀CFU/g였으며, 10분 처리했을 때에는 3.05 ± 0.02, 3.03 ± 0.01, 2.91 ± 0.01, 2.66 ± 0.02 log₁₀CFU/g로 나타났다. Chlorine을 50, 100, 200, 300 ppm 2분 처리했을 때, 깻잎 중 균수가 각각 2.91 ± 0.03, 2.74 ± 0.01, 2.74 ± 0.01, 2.17 ± 0.05 log₁₀CFU/g였으며, 10분 처리했을 때에는 각각 2.80 ± 0.03, 2.44 ± 0.02, 2.25 ± 0.03, 1.95 ± 0.05 log₁₀CFU/g로 나타났다. Hydrogen peroxide를 0.5%, 1.0%, 2.0% 2분 처리했을 때, 깻잎 중 균수가 각각 2.95 ± 0.01, 2.84 ± 0.01, 2.49 ± 0.02 log₁₀CFU/g였으며, 10분 처리했을 때에는 각각 2.81 ± 0.05, 2.61 ± 0.02, 2.35 ± 0.04 log₁₀CFU/g로 나타났다.

이와 같이 CaO의 살균소독효과를 평가하기 위하여 국내에서 주로 사용되는 chlorine, ethanol, hydrogen peroxide 등과 같은 주요 chemical sanitizer와 비교하여 보았다. 그 결과 CaO도 다른 chemical sanitizer와 같이 식품 중에 존재하는 미생물의 생육 억제효과를 확인하였다. 본 연구 수행으로 향후 천연 살균소독제인 CaO가 화학적 합성물질을 대체할 수 있는 sanitizer가 될 수 있다고 판단된다.

요 약

본 연구에서는 천연물질유래 살균소독제인 CaO가 깻잎 중 존재하는 자연균총, *E. coli*, *L. monocytogenes*, *S. typhimurium*에 미치는 저해효과를 알아보고 chlorine, ethanol, hydrogen peroxide 등과 같은 주요 chemical sanitizer와 비교하였다. CaO를 농도별(0.05-0.2%), 시간별(2-10분) 처리했을 때 총호기성균은 0.55-1.49 log₁₀CFU/g, 대장균군은 0.85-2.56 log₁₀CFU/g, *E. coli*는 0.16-1.08 log₁₀CFU/g, *L. monocytogenes*는 0.30-1.14 log₁₀CFU/g, *S. typhimurium*은 0.19-1.07 log₁₀CFU/g의 감소를 보였으며, 특히 0.2%에서는 일반적으로 사용되는 100 ppm의 chlorine, 20% 이내의 ethanol, 1%의 hydrogen peroxide만큼 우수한 살균효과를 보였다. 본 연구에 따라 CaO는 기존의 화학적 살균제를 대체할 수 있는 좋은 천연물질유래 살균소독제로 활용될 수 있을 것이다.

감사의 글

본 논문은 2005년도 중앙대학교 학술연구비 지원으로 진행되었으며 이에 감사드립니다.

문 헌

1. Kim KT, Kim SS, Hong HD, Ha SD, Lee YC. Quality changes and pasteurization effects of citrus fruit juice by high voltage pulsed electric fields(PEF) treatment. Korean J. Food Sci. Technol. 35: 635-641 (2003)
2. Kalchayanand N, Sikers T, Dunne CP, Ray B. Hydrostatic pressure and electroporation have increased bacteridial efficiency in combination with bacteriocins. Appl. Environ. Microbiol. 60: 4174-4177 (1994)
3. Shin JK, Pyun YR. Inactivation of *Lactobacillus plantrum* by pulsed-microwave irradiation. J. Food Sci. 62: 163-166 (1997)
4. Qin BL, Pothakamurthy UR, Vega H, Martin O. Babosa-Canovas, G.V. and Swanson, B.G. Food pasteurization using high-intensity pulsed electric fields. Food Technol. 49: 55-60 (1995)
5. Nascimento MS, Silva N, Catanozi MPLM, Silva KC. Effect of different disinfection treatments on the natural microbiaota of lettuce. J. Food Prot. 66: 1697-1700 (2003)
6. Cho JI, Kim KS, Park GJ, Ha SD. Microbial assesment of wild cabbage and its control. Korean J. Food Sci. Technol. 36: 162-167 (2004)
7. Jang JH, Jang JS, Lee SY, Kim HS, Kang SM, Park JH. Notes : Growth Inhibition Effects of Ethanol and Sodium Chloride on *Bacillus cereus*. Korean J. Food Sci. Technol. 35: 998-1002 (2003)
8. Park CS, Kim MR. Inhibition of *Listeria monocytogenes* by Low Concentrations of Ethanol. Korean J. Soc. Food Sci. 11: 379-385 (1995)
9. Kim HJ, Hwang YI, Lee SC. Inhibitory Effect of Hydrogen Peroxide on the Growth of *Escherichia coil*. J. Basic Sci. 19: 113-117 (2004)
10. Beuchat, L R, Ryu, JH. Produce handling and processing practices. Emerg. Infect. Dis. 3: 459-465 (1997)
11. Harris, LJ, Beuchat, LR, Kajs, TM, Ward, TE, Taylor, CH. Efficacy and reproducibility of a produce wash in killing *Salmonella* on the surface of tomatoes assessed with a proposed standard method for produce sanitizers. J. Food Prot. 64: 1477-1482 (2001)
12. Jin SK, Song DJ, Lee HG, Kim YG, Park TS, Park GB. Effects of sodium lactate addition and lactic acid dipping on the cooking loss, salt, nitrite content, pH, WHC, water activity of sausage. Korean J. Anim. Sci. 37: 379-386 (1995)
13. Sawai J, Shiga H, Kojima H. Kinetic analysis of the bactericidal action of heated scallop-shell powder. Int. J. Food Microbiol. 71: 211-218 (2001)
14. Sawai J, Miyoshi H, Kojima H. Sporidical Kinetic of *Bacillus subtilis* spore by heated scallop shell powder. J. Food Prot. 66: 1482-1485 (2003)
15. Sawai J, Satoh M, Horikawa M, Shiga H, Kojima H. Heated scallop-shell powder slurry treatment of shredded cabbage. J. Food Prot. 64: 1579-1583 (2001)
16. Sawai J, Igarashi H, Hashimoto A, Kokugan T, Shimizu M. Evaluation of growth inhibitory effect of ceramics powder slurry on bacteria by conductance method. J. Chem. Eng. Jpn. 28: 288-293 (1995)
17. Sawai J, Kawada E, Kanou F, Igarashi H, Hashimoto A, Kokugan T, Shimizu M. Detection of active oxygen generated from ceramic powders having antibacterial activity. J. Chem. Eng. Jpn. 29: 627-633 (1996)
18. Sawai J, Kojima H, Igarashi H, Hashimoto A, Shoji S, Takehara A, Sawaki T, Kokugan T, Shimizu M. *Escherichia coli* damage by ceramic powder slurries. J. Chem. Eng. Jpn. 30: 1034-1039 (1997)
19. Sawai J, Igarashi H, Hashimoto A, Kokugan T, Shimizu M. Effect of particle size and heating temperature of ceramic powders on antibacterial activity of their slurries. J. Chem. Eng. Jpn. 29: 251-256 (1996)
20. Sawai J, Kojima H, Igarashi H, Hashimoto A, Shoji S, Shimizu M. Bactericidal action of calcium oxide powder. Trans. Mater. Soc. Jpn 24: 667-670 (1999)
21. KFPA. Food Code. Korea Food and Drug Administration, Seoul, Korea (2004)
22. Kwon NH, Kim SH, Jim JY, Lim JY, Kim JM, Jung WK, Park KT, Bae WK, Noh KM, Choi JW, Hur J, Park YH. Antimicrobial activity of GC-100X against major foodborne pathogens and detaching effects of it against *Escherichia coli* O157:H7 on the surface of tomatoes. J. Food Hyg. Safety 17: 36-44 (2002)
23. Holiday, SL, Scouten, AJ, Beuchat, LR. Efficacy of chemical treatments in elimination *salmonella* and *Escherichea coli* O157:H7 on scarified and polished alfalfa seeds. J. Food Prot. 64: 1489-1495 (2001)
24. Beuchat, LR, Harris, LR, Linda, J, Ward, TE, Kajs, TM. Development of a proposed standard method for assessing the efficacy of fresh produce sanitizers. J. Food Prot. 64: 1103-1109 (2001)
25. SAS. SAS User's Guide, SAS Institute Inc., Cary NC 27513, USA (2002)
26. Takeuchi K, Frank, JF. Direct microscopic observation of lettuce leaf decontamination with a prototype fruit and vegetable washing solution and 1% NaCl-NaHCO₃. J. Food Prot. 63: 434-440 (2000)

(2005년 7월 12일 접수; 2005년 9월 5일 채택)