

화학적 살균소독제를 활용한 생선중 존재하는 자연균총 및 주요 식중독균 제어

김일진 · 김용수* · 하상도†

중앙대학교 식품공학과, *한국보건산업진흥원

Bacteriocidal Effect of Chamical Sanitizers on Natural Microflora and Pathogenic Bacteria in Fish

Il-Jin Kim, Yong-Soo Kim*, and Sang-Do Ha†

Department of Food Science and Technology, Chung-Ang University, Ansan 456-756, Korea

*Korea Health Industry Development Institute

(Received May 0, 2006/Accepted June 2, 2006)

ABSTRACT – In this study, we evaluated bacteriocidal effect of CaO (scallop shell powder) for the reduction of microorganism in *Scomber japonicus* and *Pseudosciaena cian manchurica*, and compared with main chemical sanitizers such as chlorine, ethanol, hydrogen peroxide. As a result, the effectiveness of CaO showed dramatic reduction rate for total aerobic bacteria, *Escherichia coli* and *Vibrio parahaemolyticus*. The reduction rates of total aerobic bacteria for *Scomber japonicus* and *Pseudosciaena cian manchurica* showed 2.6×10^3 and 3.2×10^4 respectively; Those of *Escherichia Coli* were 6.3×10^3 and 1.2×10^4 , those of *Vibrio parahaemolyticus* were 5.4×10^4 and 5.6×10^4 , respectively. According to this result, bacteriocidal effect of CaO was about 10^4 and was similar to bacteriocidal effects of other three chemical sanitizers. According to these results, CaO can alternate the currently used chemical sanitizers due to its natural origin as well as the effectiveness for sterilization.

Key words: Bacteriocidal effect, CaO (scallop-shell powder), fish, food-borne pathogenic bacteria

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 고전압필스 전기장¹⁾, 진동 자기장, 초고압²⁾, 초음파, 마이크로웨이브^{3,4)} 등을 이용한 물리적 방법과 hot water holding, 염소계, 알콜계, 4급 암모늄계, 요오드계, 산알칼리제, 계면활성제 등과 같은 살균 소독제를 이용하는 화학적 방법, 생물학적 방법이 있다. 식중독 제어를 위하여 사용되는 가장 보편적인 물질로 살균, 보존력을 가진 세척제 및 살균제, 항균제 등이 있다. 그러나 이를 살균제들은 대부분이 편리함이나 경제적인 이유 때문에 가장 선호되고 있는데 생선의 경우 보존에 있어서 열처리 방법으로 균을 제어할 수 없기 때문에 살균소독제를 이용하여 균을 제어하는 방법을 주로 선택하고 있다. 이러한

살균소독제 들은 식품 또는 기구, 용기를 통하여 인체에 유입될 수 있기 때문에 식품첨가물에 준하는 안전성이 필요하다. 살균제는 식품에 접촉되는 기구에 첨가하여 부패균이나 병원균을 살균시켜 식품의 보존성을 높이는 식품첨가물로 과산화수소, 표백분, 하이포아염소산 나트륨, 계면활성제 등이 있다. 화학적 살균소독제는 식품에 접촉되는 기구에 사용시 인체의 유해함, 이미, 이취가 있어 소비자의 고급화되어가는 기호도에 부적합하여 기피현상이 두드러지고 있다.⁵⁾ 이러한 시점에서 천연 유래 살균소독 제품에 대한 요구가 절실하며, 독성이 적고 안전하면서도 위해 요소를 제거할 수 있는 살균소독, 세척제의 필요성이 대두되고 있는데 이에 대한 연구가 매우 부족한 실정이다.

천연살균소독제 중에 하나인 CaO는 일본후생성 고시 120호 기준 첨가물(천연첨가물)218에 수재되어 있는 패각소성 칼슘으로 북해도에서 생산된 함박조개의 껍질을 분말로 만든 것이다. CaO의 용도에 따라 연성온도 및 pH의 조성, 입자를 바꾸는 것이 가능하고 함박조개껍질 분말의 입자 조정을 함으로서, 야채의 살균/제균제, 식품첨가물, 건축단열재료, 수질정화제 등의 용도로 널리 사용되고 있다.

본 연구는 CaO의 미생물에 대한 저해효과를 알아보기 위

*Author to whom correspondence should be addressed.

하여 고등어와 참조기에 존재하는 일반세균과 주요 식중독균에 대하여 CaO의 살균력을 염소, 알코올, 과산화수소계 살균소독제와 농도별로 비교하여 첨가물, 약품, 화학처리를 전혀 하지 않은 조개껍질 소성칼슘인 천연살균제 CaO의 살균력을 평가하고자 하였다.

재료 및 방법

시료 전처리

실험에 사용된 고등어(*Scomber japonicus* Houttuyn)와 참조기(*Pseudosciaena cian manchurica* Bleeker)는 서울 시내에 위치한 대형마트에서 구입하여 사용하였다. 참조기는 지느러미, 머리, 내장, 꼬리, 등뼈를 제거하고 가식부위만을 취하여 수돗물에 2분간 세척하였다. 가식부위만 진공 포장되어 있는 고등어를 포장만 제거 한 후 수돗물에 2분간 세척하였다. 이렇게 세척이 완료된 고등어와 참조기를 각각 20g씩 소분하여 무균적으로 멸균백에 옮긴 후 한국미생물보존센터(Korea Culture Center of Microorganism, KCCM)에서 분양받은 시험균주를 $10^5\sim10^7$ 정도 각각의 고등어와 조기에 접종하여 살균소독제 농도 및 시간에 따라 처리하였다. 다만 고등어와 참조기의 일반세균수에 대한 살균력 시험을 위해서는 상기의 전처리 과정을 거치지 않고, 고등어와 참조기의 조직을 각각 20 g씩 멸균백에 담아 살균력을 직접 시험하였다.

이렇게 전 처리된 시료에 CaO 0.05%(W/V), ethanol (ET) 5, 10, 15, 20%(V/V), chlorine (CL) 50, 100, 200, 300 ppm (V/V), hydrogen peroxide (HP) 0.05, 0.1%(V/V)의 살균소독제를 농도별로 분주하고 살균소독제 처리가 끝난 시료를 멸균수로 5배 희석하였다.

시험균주

본 실험에 사용된 균주는 *Escherichia coli* ATCC 10536, *Vibrio parahaemolyticus* ATCC 11965

생균수 및 살균소독력 계산

전처리 완료 또는 전처리를 하지 않은 고등어와 참조기에 살균소독제 처리후의 계산은 ISO (7218 : 1985 General guidance for microbiological examination)방법으로 하였다. 페트리접시 당 30~300개의 접력을 생성한 페트리접시 2개 이상을 선택하여 계산하였다. 2단계의 연속된 희석배수에서 모두 유효범위의 결과를 얻었을 경우 생균수는 식 (1)에서와 같은 공식에 따라 가중산술평균으로 계산하였다(아래식 참조). 한단계의 희석배수에서 유효범위의 결과를 얻었을 경우 생균수는 산술평균으로 계산하였으며, 계산된 결과는 두자리

유효숫자를 얻을 때까지 반올림하였다. 마지막 숫자가 5미만인 경우, 앞자리 숫자는 조정하지 않았고, 마지막 숫자가 5 이상인 경우, 앞자리 숫자에 1을 더하였다. 두자의 유효숫자를 얻을 때까지 이 과정을 반복하였다. 생균수는 1.0과 9.9 사이의 숫자를 10의 배수로 곱한 방식으로 표현하였다.⁷⁾ 살균소독력은 식 (2)에 따라 초기균수에 대한 감소율로 표시하였다.

$$(1) \text{생균수}(\text{cfu/ml}) = c/(n_1+0.1n_2)d$$

C: 페트리접시에서 계수된 접력수의 합

n₁: 첫 번째 희석에서 계수된 페트리접시의 수

n₂: 두 번째 희석에서 계수된 페트리 접시의 수

d: 첫 번째 희석액의 희석배수

$$(2) \text{생균수 감소율} = N/Na$$

N : 혼탁액의 생균수

Na: 검체의 살균소독 작용

Chemical sanitizer의 종류 및 살균소독 방법

Chemical sanitizer는 CaO (surfceria, Tokyo, Japan), ethanol (바이오콜, Korea), sodium hypochlorite (유한락스, 유한양행, Seoul, Korea), hydrogen peroxide (후아산, 로암코리아, Belgium)을 사용하였다.

CaO 0.05%(W/V), ethanol 5, 10, 15, 20%(V/V), chlorine 50, 100, 200, 300ppm (V/V), hydrogen peroxide 0.05, 0.1%(V/V)가 평가되었다.

살균제로써 이들의 최적 농도와 처리시간에 대한 명확한 결론은 이루어지지 않고 있으나 chlorine의 특유한 냄새를 고려했을 때 일반적으로 50~100 ppm 사이의 범위로 Kwon 등⁸⁾ 이 사용하여 효과가 입증된 농도이며, 미국 Center for Disease Control and Prevent (CDC)나 Environmental Protection Agency (EPA)의 경우는 과채류의 세척에 있어서 50~200 ppm 염소 용액을 사용할 것을 권장하고 있다.⁹⁾ 염소 용액의 항균 작용은 그 광범위성이나 속효성에서 널리 인정 받고 있으나, 독성 때문에 너무 높은 농도나 장시간 사용 시 사용자의 안전성 문제와 과채류의 손상을 초래할 수 있다.¹⁰⁾ Ethanaol은 0~10%를 이용하고, hydrogen peroxide의 경우는 1~3.5%의 농도로 식품 살균에 사용되어지는 것으로 알려져 있다.⁶⁾ 동일한 검체에 대하여 실험을 2회 반복하여 살균 조건별 진존 미생물들의 균수를 측정하여 그들의 평균값을 얻었다.

미생물 분석 방법

Aerobic mesophilic bacteria – 전처리하지 않은 고등

어와 참조기에 상존하는 세균수를 식품공전 시험방법에 따라 측정하였다.¹¹⁾ 시험용액 1 ml와 각 단계별 희석액 1 ml씩을 멸균 페트리 접시에 2배 이상씩 무균적으로 취하여 약 43~45°C로 유지한 표준한천배지 (Plate Count Agar, Difco, USA)를 약 15ml를 무균적으로 분주하고 페트리 접시뚜껑에 부착하지 않도록 주의하면서 화전시켜 검체가 균일하게 배지에 혼합되도록 하고 냉각 응고 시켰다. 냉각 응고시킨 페트리 접시는 거꾸로 하여 35±1°C에서 24~48시간 배양하였다. 이때 대조시험으로 검액을 가하지 아니한 동일 희석액 1 ml을 배지에 가한 것을 대조로 하여 페트리 접시, 희석용액, 배지 및 조작이 무균적이 였는지를 확인 하였다. 배양 후 즉시 생균수 및 살균 소독력 계산법에 따라 계수하였다.

Escherichia coli – 세척하고 전처리한 고등어와 참조기의 CaO와 화학적 살균소독제를 가하여 *Escherichia coli*의 계수는 데스옥시콜레이트유당한천배지(Desoxycholate Lactose Agar, Difco, USA)에 의한 정량법에 따라 수행하였다.¹¹⁾ 균저감화와 살균소독제 처리가 완료된 시료 0.1 ml와 각 단계 희석액 0.1 ml씩을 준비된 데스옥시콜레이트유당한천배지에 도말 접종하였다. 도말 후 35±1°C에 20±2시간 배양하여 전형적인 암적색의 집락을 EMB한천배지(Eosin Methylene Blue Agar)에 분리 배양하였다. *E. coli* 동정을 위하여 API 22E에 재배양하여 *E. coli*를 확인하였다. 균수의 산출 및 생균수 감소율은 배양 후 즉시 평가하였다.

Vibrio parahaemolyticus – 전처리가 완료된 시험용액 0.1 ml와 각 단계 희석액 0.1ml 씩을 무균적으로 취하여 준비된 TCBS 한천배지(Triosulfate Citrate Bile Salt Sucrose Agar, Difco, USA)에 도말 접종하였다. 도말 후 35°C에서 24시간 배양하여 전형적인 집락 모양인 청록색의 서당 비분해 집락을 선택하여 균수의 산출 및 생균수 감소율을 즉시 평가하였다.

결과 및 고찰

고등어와 참조기에 존재하는 총호기성 세균, *Escherichia coli*, *Vibrio parahaemolyticus*에 대한 CaO, chlorine (염소계), ethanol (주정), hydrogen peroxide (과산화수소계)의 살균효과 결과를 Table 1~3에 나타내었다.

고등어에 존재하는 aerobic mesophilic bacteria는 CaO 0.05%에서 2.6×10^3 의 감소율을 보였고, 염소계 50ppm과 과산화수소 0.5% 보다 감소율이 10^2 ~ 10^3 정도 낮았다. 참조기에서는 CaO 0.05%에서 2.6×10^4 의 감소율을 보였고, 염소계 200 ppm과 비슷하게 나타났다. 고등어와 참조기의 총호기성 세균에 대한 CaO 0.05%의 살균력을 시험해본 결과 참조기

에서 10^1 정도 감소율이 높은 것으로 나타나 살균력이 고등어 보다는 참조기에 효과적인 것으로 판단된다. Yeon 등¹³⁾의 연구에서 상추에 CaO 0.05%를 2분 처리하였을 때 $5.01 \pm 0.02 \log_{10}$ CFU/g, 10분 처리하였을 때 $4.69 \pm 0.04 \log_{10}$ CFU/g로 나타나 오래 처리할수록 균의 감소효과가 더 커졌다고 보고하였다. 고등어와 참조기의 총호기성 세균에 대한 염소계의 소독력은 참조기보다 고등어에서 효과적인 것으로 판단된다. 염소계의 소독력은 높은 농도일수록 균의 감소가 커졌으나 200 ppm 이상의 농도 사용 시 염소계 특유의 냄새가 나 실제 100 ppm 이하가 사용 가능한 농도라 판단된다. 과산화수소를 0.5, 1.0, 2.0% 5분 처리했을 때, 높은 농도일수록 생균수 감소율이 높았다. 고등어와 참조기에 과산화수소를 처리했을 때 생균수 감소율은 모든 농도에서 10^5 이상으로 좋은 살균력을 보였다. 주정 20% 이하에서는 감소율이 나타나지 않아 총호기성균에 대한 20% 이하 주정의 살균력은 없는 것으로 판단된다.

고등어와 참조기에 존재하는 *E. coli*에 대한 CaO, 염소계, 주정, 과산화수소계의 살균효과 결과를 Table 2에 나타내었다. 고등어는 CaO 0.05% 처리한 경우 *E. coli* 생균수 감소율이 6.3×10^3 으로 나타났고, 참조기에서는 1.2×10^4 으로 나타났다. 고등어와 참조기의 *E. coli*에 대한 CaO의 살균력 시험 결과 참조기에서 10^1 정도의 생균수 감소율이 높게 나타나 고등어 보다는 참조기에 효과적인 것으로 판단된다. 또한 CaO 0.05%의 감소율은 염소계 50 ppm 보다 10^2 정도 낮았고, 과산화수소 0.5% 보다 10^3 정도 낮았다. CaO 0.05%의 살균력은 염소계, 과산화수소 보다 낮은 감소율을

Table 1. Effects of sanitizers and disinfectants on the reduction of aerobic mesophilic bacteria in fish by 5 min of treatment

Sanitizers	Concentration	Reduction rate	
		<i>Scomber japonicus</i>	<i>Pseudosciaena cian</i>
CaO	0.05%	2.6×10^3	3.2×10^4
	50 ppm	2.0×10^5	2.0×10^3
	100 ppm	3.0×10^5	8.0×10^3
	200 ppm	4.3×10^6	6.7×10^4
	300 ppm	6.5×10^6	5.2×10^5
Chlorine	5%	0	0
	10%	0	0
	15%	0	0
	20%	0	0
Ethanol	0.5%	4.1×10^6	4.5×10^5
	1.0%	5.0×10^6	5.2×10^6
	2.0%	8.7×10^6	5.7×10^6
H ₂ O ₂			

Inoculated bacteria number : 10^5 ~ 10^7 CFU.

Table 2. Effects of sanitizers and disinfectants on the reduction of *E. coli* in fish by 5 min of treatment

Sanitizers	Concentration	Reduction rate	
		<i>Scomber japonicus</i>	<i>Pseudosciaena ciean</i>
Chlorine	0.05%	6.3×10^3	1.2×10^4
	50 ppm	5.4×10^5	2.3×10^4
	100 ppm	5.9×10^5	1.0×10^5
	200 ppm	6.7×10^5	7.9×10^5
	300 ppm	4.5×10^6	6.1×10^6
	5%	0	0
Ethanol	10%	0	0
	15%	0	0
	20%	1.0×10^2	1.2×10^2
	0.5%	5.6×10^6	6.2×10^6
H_2O_2	1.0%	6.4×10^7	8.0×10^6
	2.0%	7.2×10^7	6.7×10^7

Inoculated bacteria number : $10^5 \sim 10^7$ CFU.

보였으나 주정으로 처리 하였을 때 보다는 10^1 정도 높았다. 고등어와 참조기에 대한 염소계의 소독력은 농도가 올라감에 따라 생균수 감소율도 높아지는 것으로 나타났으나 200 ppm 이상 사용 시 염소계 특유의 이미, 이취 때문에 불쾌감을 유발할 수 있어 적당한 농도의 사용이 권장되어야 한다. 고등어와 참조기에 존재하는 *E. coli*의 제거 시에는 다른 살균소독제보다 생균수 감소율이 10^3 정도 높은 과산화수소를 사용하는 것이 효과적인 것으로 판단된다. 과산화수소의 살균력은 다른 살균제에 비해 고등어와 참조기에 효과적으로 나타났으나, 잔존 우려가 있어 사용상에 각별한 주의가 필요하다고 판단된다. 과산화수소 및 이를 함유하는 제제는 최종식품의 완성 전에 분해 또는 제거하여야 한다.¹⁴⁾ 주정을 15% 이하로 5분 처리했을 때, 고등어와 참조기의 생균수 감소율이 관찰되지 않아 소독력이 없는 것으로 판단되었으며, 20%를 처리했을 때만 감소율이 고등어, 참조기 각각 2.3×10^2 , 1.0×10^2 로 나타났다. CaO 0.05%를 참조기에 처리하였을 때 살균소독력이 염소계 50 ppm과 유사한 경향으로 나타났다.

고등어와 참조기에 존재하는 *V. parahaemolyticus*에 대한 CaO, 염소계, 주정, 과산화수소계의 살균효과 결과를 Table 3에 나타내었다. 고등어에 CaO 0.05% 처리한 경우 *V. parahaemolyticus*의 감소율이 5.4×10^4 으로 나타났고, 참조기

Table 3. Effects of sanitizers and disinfectants on the reduction of *Vibrio parahaemolyticus* in fish by 5 min of treatment

Sanitizers	Concentration	Reduction rate	
		<i>Scomber japonicus</i>	<i>Pseudosciaena ciean</i>
Chlorine	0.05%	5.4×10^4	5.6×10^4
	50 ppm	4.3×10^4	4.3×10^4
	100 ppm	6.2×10^4	5.1×10^4
	200 ppm	2.3×10^5	6.0×10^4
	300 ppm	5.9×10^5	7.3×10^5
	5%	0	0
Ethanol	10%	0	0
	15%	0	0
	20%	2.4×10^2	2.4×10^2
	0.5%	2.0×10^4	1.0×10^4
H_2O_2	1.0%	4.0×10^5	1.4×10^5
	2.0%	5.4×10^5	5.3×10^5

Inoculated bacteria number : $10^5 \sim 10^7$ CFU.

는 5.6×10^4 으로 나타났다. 고등어와 참조기의 *V. parahaemolyticus*에 대한 CaO의 살균력 시험 결과 고등어, 참조기 각각의 감소율이 10^4 으로 나타났다. 또한 고등어에 대한 CaO 0.05%의 살균력은 염소계 100 ppm, 과산화수소 0.1%와 유사하였고, 참조기의 살균소독력도 염소계 100 ppm과, 과산화수소 0.5%와 유사하였다. CaO 0.05%의 살균력은 고등어와 참조기가 비슷하게 나타났다. 과산화수소의 살균력은 다른 살균제에 비해 고등어와 참조기에 효과적으로 나타났으나, 잔존 우려가 있어 사용상에 각별한 주의가 필요하다고 판단된다. 과산화수소 및 이를 함유하는 제제는 최종식품의 완성 전에 분해 또는 제거하여야 한다.¹⁴⁾ 고등어와 참조기에 주정 15% 이하 처리시 감소율이 나타나지 않았으나 20%에서 고등어와 참조기에서 10^2 정도의 감소율을 보여 살균력이 CaO 0.05%보다 낮은 것으로 판단된다. 이와 같이 CaO의 살균소독효과를 평가하기 위하여 국내에서 주로 사용되는 염소계, 주정, 과산화수소계 등과 같은 주요 화학적 살균소독제와 비교하여 보았다. 그 결과 CaO도 다른 chemical sanitizer와 같이 식품 중에 존재하는 미생물의 생육 억제 효과를 확인하였다. 본 연구 수행으로 향후 천연 살균소독제인 CaO가 화학적 합성물질을 대체할 수 있는 sanitizer가 될 수 있다고 판단된다.

국문요약

본 연구에서는 천연물질유래 살균소독제인 CaO가 고등어와 참조기에 존재하는 자연균총, *Escherichia coli*, *Vibrio parahaemolyticus*에 미치는 살균소독효과를 관찰하였고 염소계, 주정, 과산화수소계 등과 같은 주요 화학적 살균소독제와 비교하였다. CaO 0.05% 처리했을 때 고등어와 참조기의 총호기성균의 생균수 감소율은 2.6×10^3 , 3.2×10^4 , *E. coli*는 6.3×10^3 , 1.2×10^4 , *V. parahaemolyticus*는 각각 5.4×10^4 , 5.6×10^4 의 생균수 감소율을 보였다. CaO (0.05%)의 살균력은 일반적으로 사용되는 살균소독제인 염소계, 과산화수소계 보다 우수하지는 못하였으나 염소계 50 ppm과 유사하였고, *V. parahaemolyticus*의 경우에는 10^4 정도 감소율을 보여 염소 100 ppm과 과산화수소계 0.5%와 대등한 효과였다. 본 연구에 따라 CaO는 기존의 화학적 살균제를 대체할 수 있는 좋은 천연물질 유래 살균소독제로 활용될 수 있을 것이다.

참고문헌

1. Kim, K.T., Kim, S.S., Hong, H.D., Ha, S.D., and Lee, Y.C.: 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., Sikors, T., Dunne, C.P., and Ray, B.: Hydrostatic pressure and electroporation have increased bacteridial efficiency in combination with bacteriocins. *Appl. Environ. Microbiol.* **60**, 4174-4177 (1994).
3. Shin, J.K., Pyun, Y.R.: Inactivation of *Lactobacillus plantrum* by pulsed-microwave irradiation. *J. Food. Sci.* **62**, 163-166 (1997).
4. Qin, B.L., Pothakamurry, U.R.O., Vega, H., Martin, O., abosa-Canovalas., G.V., and Swanson, B.G: Food pasteurization using high-intensity pulsed electric fields. *Food. Technol.* **49**, 55-60 (1995).
5. Jin, S.K., Song, D.J., Lee, H.G., Kim, Y.G., Park, T.S., and Park, G.B.: Effects of sodium lactate addition and lactic acid dipping on the cooking loss, salt, nitrite content, pH, WHC, water activity of sausage. *Korean J. Animal. Sci.* **37**, 379-386 (1995).
6. Cho, J.I., Kim, K.S., Park, G.J., and Ha, S.D.: Microbial assesment of wild cabbage and its control. *Korean J. Food Sci. Technol.* **36**, 162-167 (2004).
7. Acomparative Study on Efficacy Evaluation Methods Adopted in USA and EU concerning Sanitizers and Disinfectants, Korea (2004).
8. Kwon, N.H., Kim, S.H., Jim, J.Y., Lim, J.Y., Kim, J.M., Jung, W.K., Park, K.T., Bae, W.K., Noh, K.M., Choi, J.W., Hur, J., and Park, Y.H.: 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).
9. Holiday, S.L., Scouten, A.J., and Beuchat, L.R.: 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).
10. Beuchat, L.R., Ryu, J.H.: Produce handling and processing practices. *Emerg. Infect. Dis.* **3**, 459-465 (1997).
11. Korea Food and Drug administration : Food Code, Korea Food & Drug Administration, Korea (2005).
12. Sawai, J., Igarashi, H., Hashimoto, A., Kokugan, T., and Shimizu, M.: Evaluation of growth inhibitory effect of ceramics powder slurry on bacteria by conductance method. *J. Chem. Eng. Japan* **28**: 288-293 (1995).
13. Yeon, J.H., Lee, D.H., and Ha, S.D.: Bacteriocidal Effec of Calcium oxide (CaO, Scallop-shell Powder) on Natural Microflora and Pathogenic Bacteria in Sesame Leaf. *Korean J. Food. Sci. Technol.* **37**, 844-849 (2005).
14. KFDA. Food Additives Code. Korea Food and Drug Administration, Seoul, Korea, (2005).