

양배추에 오염된 병원성 미생물의 저해 및 화학적 손상세포 생성에 있어서의 화학적 살균소독제의 효과

최미란¹ · 오세욱² · 이선영^{1*}

¹중앙대학교 식품영양학과

²한국식품연구원 안전성연구단

Efficacy of Chemical Sanitizers in Reducing Levels of Foodborne Pathogens and Formation of Chemically Injured Cells on Cabbage

Mi-Ran Choi¹, Se-Wook Oh², and Sun-Young Lee^{1*}

¹Department of Food and Nutrition, Chung-Ang University, Gyeonggi-do 456-756, Korea

²Food Safety Research Division, Korea Food Research Institute, Gyeonggi-do 463-420, Korea

Abstract

This study was conducted to investigate effects of chemical sanitizers on inhibiting foodborne pathogens, such as *Listeria monocytogenes* (*L. monocytogenes*), *Salmonella* Typhimurium (*S. Typhimurium*), and *Escherichia coli* O157:H7 (*E. coli* O157:H7), on cabbages. Cabbages were inoculated with the culture cocktail of pathogens and treated with water, 100 ppm commercial chlorine, and 50, 100, and 200 ppm chlorine dioxide (ClO₂) for 1, 5, and 10 min at room temperature (22±2°C). Treatments with water did not significantly reduce levels of three pathogens whereas other treatments with chemical sanitizers significantly reduced levels of three pathogens. Treatment with 200 ppm ClO₂ for 10 min was the most effective at inhibiting pathogens and reduction levels were 1.90, 1.92, and 1.98 log CFU/g for *L. monocytogenes*, *S. Typhimurium*, and *E. coli* O157:H7, respectively. Levels of reduction were increased with the increase of ClO₂ concentrations. When chemically injured cells were investigated, there were no significant differences on the levels of injured cells between before and after treatment with commercial chlorine and ClO₂. These results suggest that ClO₂ can be used as an alternative sanitizer for reducing pathogens on fresh produces.

Key words: chemical sanitizer, chlorine dioxide, foodborne pathogens, cabbage, injured cells

서 론

최근 건강과 신선 식품에 대한 소비자의 관심이 지속적으로 증가하면서 과일과 야채와 같은 신선 농산물과 관련된 식중독 사고가 증가되고 있다(1). 실제로 미국에서 발생한 신선 농산물과 관련된 식중독 사고는 1973~1987년에 비해 1988~1992년에 그 수가 두 배로 증가되었으며 국내에서도 다수의 식중독 사고가 채소 및 과일에 오염된 미생물과 관련이 있는 것으로 보고되고 있다(2). 이러한 신선 농산물과 관련된 식중독 사고는 원재료에 오염된 미생물뿐만 아니라 준비과정 중 조리종사자의 손이나 기구의 혼용에 의한 관련 재료의 음식으로의 교차오염을 통해서도 발생할 수 있는 것으로 밝혀졌다(3,4). 신선 농산물과 관련된 식중독 사고의 원인균으로는 *Salmonella* spp., *Escherichia coli* O157:H7 (*E. coli* O157:H7), *Listeria monocytogenes* (*L. monocytogenes*), *Shigella sonnei* 등을 들 수 있다(1). 그 예로

1981년 및 1988년 영국에서 발생한 양배추와 관련된 식중독의 원인균은 각각 *L. monocytogenes*와 *Salmonella* spp.로 밝혀졌다(5). 여러 미생물은 신선 농산물에 여러 가지 원인과 경로를 통하여 오염될 수 있다. 오염 원인으로는 토양, 분변, 관계용수, 곤충, 가축, 사람의 취급, 기구, 이동 컨테이너, 먼지, 세척용수, 얼음, 가공 및 수송 시 이용되는 시설 등을 들 수 있다(1,2). 여러 경로로 신선 농산물에 오염된 병원성 미생물은 재료의 표면 및 상처 등의 틈에서 살아남아 높은 농도로 생육할 수 있으며 특히 비가열조리 신선 농산물은 가열단계가 없이 섭취되기 때문에 여러 병원성 미생물에 의한 식중독의 높은 위험성을 가지고 있다. 따라서 오염된 병원성 미생물을 효과적으로 제어하기 위한 방법의 응용이 매우 중요하다고 할 수 있다.

현재 전 세계적으로 비가열조리 신선농산물의 살균소독제를 이용한 처리를 권장하고 있다. 국내의 경우 학교급식 위생관리 지침서(6)에서 비가열조리 신선 농산물의 살균소

*Corresponding author. E-mail: nina6026@cau.ac.kr

†Phone: 82-31-670-4587, Fax: 82-31-676-8741

독 방법으로 염소소독제의 유효염소농도 100 ppm으로 5분간 침지한 후 물로 세척하는 것을 권장하고 있다. 하지만 Park 등(7)은 무 종자에 100 ppm 염소수로 10분 동안 처리한 후 총균수를 측정된 결과 단지 0.39 log 수준이 감소하였고, Weissinger 등(8)은 *Salmonella baidon*이 접종된 양상추와 토마토에 120 또는 200 ppm 염소 용액으로 40초 동안 처리한 결과 1 log 이하의 감소를 보고하여 염소소독제가 병원성 미생물의 저해에 효과가 크지 않음을 보고하고 있다. 따라서 현재 국내에서 일반적으로 상용되고 있는 염소계 살균소독제는 실제적으로 오염된 병원성 미생물을 효과적으로 저해하지 못할 수 있으므로 염소계 살균소독제보다 높은 효과를 가진 새로운 살균소독제의 개발이 필요할 것으로 사료된다. 국내와는 달리 미국 등 외국의 경우 대부분의 신선 농산물을 무세척(no-rinse) 살균소독제로 처리하도록 허가하였으며, 미국의 식품의약품안전청(Food and Drug Administration, FDA)에서 허가 받아 사용되고 있는 화합물로는 염소(chlorine), 이산화염소·산화염소계 화합물, 요오드 화합물(iodophors), 4급 암모늄 화합물, 산성 음이온 소독제, 카복실산 소독제, 과산화물 살균소독제, 페놀계 등이 있다. 이 중 이산화염소(chlorine dioxide, ClO₂)는 식품산업에서 식품 및 환경의 표면을 소독하기 위한 살균소독제로써 기존에 많이 상용되고 있는 염소계 살균소독제에 비해 높은 살균력을 가지고 있는 것으로 알려져 있다. Benarde 등(9)은 이산화염소가 염소보다 약 3.5배의 소독효과를 가지고 있다고 보고하였고, Lillard(10)는 냉장 처리한 가금류를 사용했을 때 이산화염소가 염소처리보다 7배 높은 살균효과를 나타낸다고 보고하였다. 또한 이산화염소는 1998년 미국의 FDA로부터 신선 농산물의 세척에 사용될 수 있도록 허가되었고 국내에서도 2007년 식품첨가물의 기준 및 규격의 개정안에 의하여 야채·과일 등의 식품의 살균 목적으로 사용할 수 있도록 허가되어 앞으로 비가열 신선농산물의 살균처리의 목적으로 이용이 증가할 것으로 사료된다.

화학적 살균소독제는 처리 후에 화학적 손상세포(injured cell)를 생성할 수 있으며, 이러한 손상세포는 죽지 않고 살아 남아 식품 내에서 생육함으로써 식중독 사고를 일으킬 수 있는 잠재적인 요소로써 작용할 수 있다(11-14). 따라서 화학적 살균소독제의 처리 후에 실제적으로 죽지 않고 손상세포의 수를 측정하는 것은 살균소독제의 실질적인 효과를 평가하기 위하여 매우 중요하다고 할 수 있다. 기존의 몇 개의 연구논문들은 식품으로부터 살균소독제의 처리 후 병원성 미생물의 손상세포를 계수하기 위한 방법을 보고하고 있다(14,15). 하지만 대부분의 화학적 살균소독제의 처리의 효과를 평가한 논문들은 화학적 손상세포를 조사하지 않았으며 주로 손상되지 않은 미생물을 중심으로 효과를 보고하고 있다.

본 연구에서는 양배추에 오염된 세 가지 주요 병원성 미생물인 *E. coli* O157:H7, *L. monocytogenes*, *Salmonella* Typhimurium(*S. Typhimurium*)의 저해에 있어서 현재 국

내에서 유통되고 있는 상업적 염소소독제와 이산화염소의 저해효과에 대하여 조사하였으며 이산화염소의 경우 처리 농도를 달리하여 농도와 처리 시간에 따른 저해효과에 대하여 평가하였다. 또한 살균소독제의 처리에 있어서 잠재적인 위험요소로 알려진 화학적 손상세포의 형성 정도를 기존의 문헌에서 이용된 방법을 통하여 측정하였다.

재료 및 방법

사용균주

실험에는 각각 3종의 *S. Typhimurium*, *L. monocytogenes*, *E. coli* O157:H7을 이용하였다. *E. coli* O157:H7(ATCC 35150, ATCC 43889, ATCC 43890), *S. Typhimurium*(ATCC 19585, ATCC 43174, ATCC 363755), *L. monocytogenes*(ATCC 19114, ATCC 19113, ATCC 7644)는 중앙대학교 식품영양학과 식품미생물 연구실에서 획득하였으며 각각의 균주는 Tryptic soy broth(TSB: Difco, Becton Dickinson, Sparks, MD, USA)를 이용하여 배양 및 계대하여 사용하였다.

실험재료 및 처리를 위한 미생물 접종

본 연구에 사용된 재료는 급식소에서 제공되는 식재료 중 신선 농산물의 주재료인 양배추를 대상으로 하였다. 실험에 사용된 모든 양배추는 신선한 상태의 것을 안성시 소재 대형 마트에서 실험 당일 구매하여 사용하였다. 각각의 병원성 미생물을 양배추에 접종하기 위하여 다음과 같은 방법을 사용하였다. 총 9종의 균주를 각각 5 mL TSB를 이용하여 37°C에서 24시간 동안 배양한 뒤 배양액을 4°C에서 4,000×g의 조건으로 20분간 원심분리하며 균체만을 수거하였다. 분리된 균체를 5 mL buffered peptone water(Difco)에 현탁한 후, 각각 3종의 균주를 혼합하여 혼합배양액으로 만들었으며 각각의 혼합배양액을 2 L 증류수에 잘 섞은 후 적당한 길이(2~5 cm)로 썰어진 양배추 잎을 첨가하여 실온에서 5분간 방치하였다. 접종된 양배추 잎을 무균작업대에서 약 2시간 동안 건조하였으며 건조 후 각각의 처리를 위하여 사용하였다.

화학적 살균소독제 준비 및 처리

염소계 용액은 상업적으로 이용 가능한 염소계 살균소독제 중에 푸드세프-플러스(주)대성케미칼, 한국)를 선택하여 실험에 이용하였다. 본 연구에서 사용된 염소계 살균소독제 소독법의 경우 학교급식에서 사용하고 있는 학교급식 위생관리 지침서(6)에서 제시한 유효염소농도 100 ppm을 기준으로 하였고, 5 L의 증류수에 상업적 염소계소독제 1정을 넣어 제조하였다. 이산화염소 용액은 영천크리스티(한국)에서 생산된 8%의 이산화염소를 이용하여 증류수에 희석하여 각각 50, 100, 200 ppm 농도로 제조한 후 사용하였다. 각각의 살균소독제는 살균력을 최대화하기 위하여 처리 바로 직전

에 제조하여 사용하였으며 사용 용액의 유효염소농도는 유효염소농도를 측정하는 기계(HI 95771 Chlorine Ultra HR ISM, HANNA instruments, Hungary)를 이용하여 확인하였다. 각각 준비된 살균소독제를 접종된 양배추의 처리를 위하여 이용하였으며 증류수의 처리를 대조군으로 이용하였다. 200 mL 증류수와 각각의 살균소독제 용액을 300 mL 비이커에 준비한 뒤 약 25 g의 양배추를 첨가하여 각각 1, 5, 10분 동안 처리하였다. 처리 후 양배추 잎을 무균작업대에서 위와 동일한 방법으로 건조하였으며 각각의 생존한 균수의 측정을 위해 사용하였다.

시료준비 및 균수 측정

살아남은 균수의 측정을 위하여 처리된 양배추의 25 g을 멸균백에 담은 뒤 50 mL의 buffered peptone water를 첨가하였다. 준비된 샘플을 균질기(BagMixer® 400, Interscience, France)로 2분간 균질화 하고 균질화된 시료를 멸균한 buffered peptone water를 사용하여 10배씩 희석하였으며 희석 후 각각의 선택배지에 분주하여 생존한 세균을 계수하였다. 각각의 미생물의 계수를 위한 배지로써 Sorbitol MacConkey agar(SMAC, Difco), antimicrobial supplement(Bacto™ Oxford antimicrobial supplement, Difco)를 첨가한 Oxford agar base(OAB, Difco), xylose lysine desoxycholate agar (XLD, Difco)를 각각 *E. coli* O157:H7, *L. monocytogenes*, *S. Typhimurium*의 계수를 위하여 이용하였다. 3종의 선택 배지를 모두 37°C에서 24~48시간 동안 배양하였으며 배양 후 생성된 집락 중 선택배지에서의 각각의 전형적인 집락의 수를 측정하였다.

화학적 손상세포를 포함한 균수 측정

처리 후에 생성된 각각의 화학적 손상세포를 포함한 생존 균수를 측정하기 위해서 다음의 방법을 사용하였다. 먼저 *E. coli* O157:H7은 Rhee 등(15)의 연구방법을 참고하여 1% sorbitol을 첨가한 Phenol red agar base(SPRAB, Difco)을 이용해 위와 동일한 방법으로 균수를 측정하였다. *L. mono-*

*cytogenes*와 *S. Typhimurium*의 경우 Lee와 Kang(13)의 연구에서 사용된 selective over-lay(OV) agar method가 실험에 이용되었으며 본 방법을 위하여 균질화하고 희석한 샘플을 비선택배지인 tryptic soy agar(TSA, Difco)에 분주하고 도말하였으며 TSA에서 화학적 손상세포의 회복을 위하여 37°C 배양기에서 약 3시간 배양한 뒤 멸균 후 약 45°C로 식힌 각각의 약 10 mL의 선택배지를 첨가하였다. 상온에서 배지를 균한 뒤 37°C에서 위와 동일하게 24~48시간 동안 배양한 뒤 전형적인 검은색 집락을 계수하였다.

통계처리

모든 실험은 3반복으로 수행되었으며 관찰된 실험결과를 SAS 통계 프로그램(version 9.1, SAS Institute, Cary, NC, USA)의 분산분석법(analysis of variance, ANOVA)을 이용하여 분석하였다. 각각의 처리군이 통계적으로 유의적으로 나타나는 경우에(p<0.05) 각각의 3반복 실험에 의한 평균값을 Duncan's multiple range test를 이용하여 분리하였다.

결과 및 고찰

E. coli O157:H7을 접종한 양배추에 물, 상업적 염소소독제 및 이산화염소로 처리한 후의 결과는 Table 1과 같다. 양배추에 살균소독 처리 전 *E. coli* O157:H7 수는 4.83 log CFU/g이었으며 대조군인 물을 1분, 5분 및 10분 동안 처리했을 때에 각각 4.31, 4.35, 4.37 log CFU/g 수준으로 나타나 처리시간이 증가함에도 *E. coli* O157:H7 수는 유의적인 차이를 나타내지 않았다(p>0.05). 그러나 상업적 염소소독제 및 이산화염소로 처리한 경우에는 모두 유의적인 감소가 나타났다(p<0.05). 같은 농도(100 ppm) 및 같은 시간(10분) 동안 상업적 염소소독제와 이산화염소로 처리했을 때 각각 0.94, 1.47 log 수준의 감소를 나타내 *E. coli* O157:H7에 대한 저해 수준은 상업적 염소소독제보다 이산화염소가 높은 것으로 관찰되었다. 특히 200 ppm 이산화염소로 10분 동안 처리 시에 1.98 log 감소를 보여 가장 큰 살균소독 효과를 나타냈

Table 1. Populations (Log₁₀ CFU/g) of *E. coli* O157:H7 and injured *E. coli* O157:H7 inoculated on cabbage before and after treatment with water (control), commercial chlorine sanitizer, or chlorine dioxide (ClO₂) for 1, 5, and 10 min at room temperature (22±2°C) and enumerated using SMAC and SPRAB, respectively

Time (min)	Culture medium ³⁾	Treatments				
		Water	Commercial chlorine	50 ppm ClO ₂	100 ppm ClO ₂	200 ppm ClO ₂
0	SMAC	4.83±0.45 ^{A1)}	4.83±0.45 ^A	4.83±0.45 ^A	4.83±0.45 ^A	4.83±0.45 ^A
1		4.31±0.32 ^{Aa2)}	3.94±0.13 ^{Bab}	3.93±0.29 ^{Bab}	3.69±0.09 ^{Bb}	3.29±0.16 ^{Bc}
5		4.35±0.35 ^{Aa}	3.92±0.21 ^{Bb}	3.84±0.24 ^{Bb}	3.56±0.07 ^{Bb}	3.10±0.14 ^{Bc}
10		4.37±0.38 ^{Aa}	3.89±0.21 ^{Bb}	3.72±0.32 ^{Bbc}	3.37±0.19 ^{Bc}	2.85±0.10 ^{Bd}
0	SPRAB	5.28±0.20 ^A	5.28±0.20 ^A	5.28±0.20 ^A	5.28±0.20 ^A	5.28±0.20 ^A
1		4.78±0.17 ^{Ba}	4.45±0.09 ^{Bb}	4.43±0.08 ^{Bb}	4.27±0.11 ^{Bb}	3.54±0.20 ^{Bc}
5		4.67±0.35 ^{Ba}	4.45±0.22 ^{Bab}	4.34±0.08 ^{Bab}	4.05±0.13 ^{BCb}	3.43±0.20 ^{Bc}
10		4.63±0.32 ^{Ba}	4.31±0.34 ^{Ba}	4.27±0.08 ^{Bab}	3.83±0.30 ^{Cb}	2.98±0.03 ^{Cc}

¹⁾Means with the same letter within a column are not significantly different (p>0.05).

²⁾Means with the same letter within a row are not significantly different (p>0.05).

³⁾SMAC: Sorbitol MacConkey agar for *E. coli* O157:H7, SPRAB: Sorbitol phenol red agar base for injured *E. coli* O157:H7.

다. 그러나 모든 처리 구간에서 같은 처리시간에 대하여 처리농도가 증가할수록 유의적인 차이를 나타냈으나($p \leq 0.05$) 같은 농도에 대하여 처리시간이 증가할수록 유의적인 감소가 나타나지 않아($p > 0.05$) 처리시간의 증가보다 처리농도의 증가가 *E. coli* O157:H7을 저해하는데 더 큰 효과가 있음을 알 수 있었다.

양배추에 접종된 *L. monocytogenes*의 저해효과를 조사하기 위하여 물, 상업적 염소소독제 및 이산화염소로 시간과 농도를 달리하여 처리한 후의 결과는 Table 2와 같다. 양배추에 *L. monocytogenes*를 접종한 후의 균수는 4.85 log CFU/g이었으며, *E. coli* O157:H7의 결과와는 달리 물, 100 ppm 상업적 염소소독제 및 50 ppm 이산화염소로 10분 동안 처리했을 때 각각 4.58, 4.12, 4.12 log 수준을 나타내 유의적인 감소가 나타나지 않았다($p > 0.05$). 반면 100 ppm 이산화염소는 10분, 200 ppm 이산화염소는 1분, 5분 및 10분 처리시에 유의적인 감소를 나타내었으며($p \leq 0.05$), 특히 200 ppm 이산화염소로 10분 동안 처리했을 때 1.90 log 감소수준을 보여 가장 큰 살균소독 효과를 나타내었다. 이는 앞선

E. coli O157:H7의 결과와 같이 *L. monocytogenes*의 저해수준은 상업적 염소소독제에 비해 이산화염소가 효과적인 것을 알 수 있었으며, 처리시간에 비해 처리농도의 증가가 병원성 미생물을 저해하는데 보다 상관성이 높음이 관찰되었다.

양배추에 *S. Typhimurium*을 접종한 후 시간과 농도를 달리한 물, 상업적 염소소독제 및 이산화염소로 처리한 결과는 Table 3과 같으며, 초기 *S. Typhimurium* 수는 4.58 log CFU/g이었다. 앞선 *E. coli* O157:H7의 결과와 같이 물을 10분 동안 처리했을 때 3.90 log 수준을 보여 유의적인 차이를 보이지 않았지만($p > 0.05$), 상업적 염소소독제 및 이산화염소로 처리한 모든 경우 유의적인 감소가 관찰되었다($p \leq 0.05$). 또한 200 ppm 이산화염소로 1분, 5분, 10분 동안 처리했을 때에 각각 1.33, 1.62, 1.92 log 수준의 감소를 보였으며, 10분 처리의 결과가 모든 처리구간 중 가장 높은 저해를 보였다. 또한 앞선 두 병원성 미생물의 결과와 같이 처리시간보다 처리농도의 차이에서 높은 저해효과가 나타났다.

본 연구는 양배추에 오염된 병원성 미생물의 저해효과를 조사하기 위해 세 가지 병원성 미생물이 오염된 양배추를

Table 2. Populations (Log_{10} CFU/g) of *L. monocytogenes* and injured *L. monocytogenes* inoculated on cabbage before and after treatment with water (control), commercial chlorine sanitizer, or chlorine dioxide (ClO_2) for 1, 5, and 10 min at room temperature ($22 \pm 2^\circ\text{C}$) and enumerated using OAB and OV-OAB, respectively

Time (min)	Culture medium ³⁾	Treatments				
		Water	Commercial chlorine	50 ppm ClO_2	100 ppm ClO_2	200 ppm ClO_2
0	OAB	4.85 ± 0.86 ^{A1)}	4.85 ± 0.86 ^A	4.85 ± 0.86 ^A	4.85 ± 0.86 ^A	4.85 ± 0.86 ^A
1		4.48 ± 0.37 ^{Aa2)}	4.38 ± 0.92 ^{Aa}	4.30 ± 0.53 ^{Aa}	3.94 ± 0.42 ^{ABa}	3.48 ± 0.36 ^{Ba}
5		4.59 ± 0.59 ^{Aa}	4.22 ± 0.45 ^{Aab}	4.10 ± 0.56 ^{Aab}	3.74 ± 0.52 ^{ABab}	3.39 ± 0.28 ^{Bb}
10		4.58 ± 0.63 ^{Aa}	4.12 ± 0.52 ^{Aa}	4.12 ± 0.45 ^{Aa}	3.11 ± 0.33 ^{Bb}	2.94 ± 0.10 ^{Bb}
0	OV-OAB	5.22 ± 0.64 ^A	5.22 ± 0.64 ^A	5.22 ± 0.64 ^A	5.22 ± 0.64 ^A	5.22 ± 0.64 ^A
1		4.84 ± 0.53 ^{Aa}	4.38 ± 0.58 ^{Aa}	4.50 ± 0.76 ^{Aa}	4.25 ± 0.43 ^{ABa}	3.79 ± 0.43 ^{Ba}
5		5.03 ± 0.69 ^{Aa}	4.44 ± 0.64 ^{Aab}	4.31 ± 0.68 ^{Aab}	4.13 ± 0.48 ^{ABab}	3.60 ± 0.30 ^{Bb}
10		4.90 ± 0.71 ^{Aa}	4.23 ± 0.54 ^{Aab}	4.09 ± 0.67 ^{Aab}	3.95 ± 0.57 ^{ABab}	3.31 ± 0.50 ^{Bb}

¹⁾Means with the same letter within a column are not significantly different ($p > 0.05$).

²⁾Means with the same letter within a row are not significantly different ($p > 0.05$).

³⁾OAB: Oxford agar base with antimicrobial supplement for *L. monocytogenes*, OV-OAB: selective over-lay agar method using OAB for injured *L. monocytogenes*.

Table 3. Populations (Log_{10} CFU/g) of *S. Typhimurium* and injured *S. Typhimurium* inoculated on cabbage before and after treatment with water (control), commercial chlorine sanitizer, or chlorine dioxide (ClO_2) for 1, 5, and 10 min at room temperature ($22 \pm 2^\circ\text{C}$) and enumerated using XLD and OV-XLD, respectively

Time (min)	Culture medium ³⁾	Treatments				
		Water	Commercial chlorine	50 ppm ClO_2	100 ppm ClO_2	200 ppm ClO_2
0	XLD	4.58 ± 0.41 ^{A1)}	4.58 ± 0.41 ^A	4.58 ± 0.41 ^A	4.58 ± 0.41 ^A	4.58 ± 0.41 ^A
1		3.93 ± 0.33 ^{Aa2)}	3.58 ± 0.15 ^{Bab}	3.61 ± 0.41 ^{Bab}	3.67 ± 0.47 ^{Bab}	3.25 ± 0.31 ^{Bb}
5		4.02 ± 0.39 ^{Aa}	3.59 ± 0.27 ^{Bab}	3.66 ± 0.27 ^{Bab}	3.59 ± 0.45 ^{Bab}	2.96 ± 0.48 ^{Bb}
10		3.90 ± 0.28 ^{Aa}	3.64 ± 0.33 ^{Ba}	3.70 ± 0.19 ^{Ba}	3.43 ± 0.44 ^{Ba}	2.66 ± 0.35 ^{Bb}
0	OV-XLD	5.49 ± 0.46 ^A	5.49 ± 0.46 ^A	5.49 ± 0.46 ^A	5.49 ± 0.46 ^A	5.49 ± 0.46 ^A
1		5.16 ± 0.60 ^{Aa}	4.46 ± 0.13 ^{Bb}	4.68 ± 0.18 ^{Bab}	4.40 ± 0.24 ^{Bb}	3.62 ± 0.13 ^{Bc}
5		5.13 ± 0.51 ^{Aa}	4.62 ± 0.37 ^{Bab}	4.51 ± 0.13 ^{Bb}	4.24 ± 0.22 ^{Bb}	3.50 ± 0.18 ^{Bc}
10		5.21 ± 0.61 ^{Aa}	4.60 ± 0.43 ^{Bab}	4.36 ± 0.18 ^{Bb}	4.10 ± 0.13 ^{Bb}	3.29 ± 0.19 ^{Bc}

¹⁾Means with the same letter within a column are not significantly different ($p > 0.05$).

²⁾Means with the same letter within a row are not significantly different ($p > 0.05$).

³⁾XLD: xylose lysine desoxycholate agar for *S. Typhimurium*, OV-XLD: selective over-lay agar method using XLD for injured *S. Typhimurium*.

물, 상업적 염소소독제 및 이산화염소로 처리한 후에 감소된 수준을 확인하였다. 연구 결과 세 가지 병원성 미생물에 대한 저해효과는 상업적 염소소독제보다 이산화염소에서 높은 것으로 나타났으나 그 수준이 세 종류의 병원성 미생물에 대하여 모두 2 log 이하의 감소를 보여 높은 효과는 나타나지 않았다. 기존의 몇몇 논문은 본 연구보다 이산화염소의 약간 높은 효과를 보여주고 있다. Wu와 Kim(16)은 *S. Typhimurium*와 *L. monocytogenes*를 접종한 블루베리에 15 ppm 이산화염소로 10분 처리한 결과 각각 2.03, 3.16 log 감소하였고, Marcy 등(17)은 사과를 80 ppm 이산화염소로 10분 동안 처리했을 때 표면에 오염된 *E. coli* O157:H7이 3 log 이하 수준으로 감소되었음을 보고하였다. 이것은 처리에 사용된 재료와 조건 차이 때문이라고 여겨지며 따라서 처리 환경과 처리에 응용되는 재료에 따라서 다른 효과가 나타남을 알 수 있다. Rolando 등(18)은 *E. coli* O157:H7을 접종한 당근에 200 ppm 염소로 2분 동안 처리한 결과 0.84 log 감소하였다고 발표하여 본 연구의 결과에서처럼 염소소독제가 낮은 저해 효과를 나타냄을 보여주고 있다. 본 연구 결과에서 이산화염소로 처리했을 때 처리시간의 증가보다 처리농도의 증가가 병원성 미생물에 대한 저해효과를 높이는 데 중요한 역할을 하는 것으로 나타났는데, 이는 유기물이 존재하지 않는 배지상의 조건에서 이산화염소의 농도와 처리시간을 달리하여 살균 소독의 효과를 보고한 Youm 등(19)의 연구에서도 유사한 결과를 찾아볼 수 있다. 또한 Singh 등(20)의 양상추와 당근에 이산화염소 가스를 처리한 결과에서도 5 ppm에서 15분 처리한 것이 0.79 log 감소를, 10 ppm에서 1분 처리한 것이 0.80 log 감소를 보여주어 처리시간보다 처리농도의 차이가 이산화염소의 살균력에 더 중요한 요소인 것으로 나타났다. 따라서 현재 사용되고 있는 100 ppm 상업적 염소소독제로 5분 동안 처리하는 방법보다 이산화염소로 처리농도를 높이고 처리시간을 단축하는 방법이 병원성 미생물을 더욱 감소시킬 뿐만 아니라 다량으로 조리하는 단체급식에서 시간을 효과적으로 활용할 수 있을 것이라고 사료된다.

양배추에 화학적 살균소독제로 처리했을 때에 형성될 수 있는 화학적 손상세포의 형성을 조사하기 위해 상업적 염소소독제와 이산화염소로 처리한 후에 SPRAB배지와 selective OV medium 방법을 이용한 결과는 Table 1, 2, 3에 나타나 있다. 양배추에 세 가지 병원성 미생물을 접종한 직후 손상세포를 포함한 초기 *E. coli* O157:H7, *L. monocytogenes*, *S. Typhimurium* 수는 각각 5.28, 5.22, 5.49 log 수준으로 나타났다. 이 양은 선택배지에서 도출된 결과인 4.83, 4.85, 4.58 log보다 각각 0.45, 0.37, 0.91 log 높게 나타나 미생물 접종 및 건조과정에서도 손상세포가 형성되는 것으로 관찰되었다. 이 양을 고려했을 때 100 ppm 상업적 염소소독제 및 이산화염소로 10분 동안 처리 시 SPRAB배지에서 형성된 손상된 *E. coli* O157:H7은 모두 0 log 수준으로 두

가지 살균소독제 모두 손상된 *E. coli* O157:H7을 형성하지 않는 것으로 나타났다. 마찬가지로 OV-XLD와 OV-OAB배지에서 형성된 손상된 *S. Typhimurium*와 *L. monocytogenes*는 처리 후 상업적 염소소독제와 이산화염소에서 모두 유의적인 차이를 나타내지 않아 화학적 손상세포가 형성되지 않는 것으로 나타났다($p > 0.05$). Lee 등(21)은 200 ppm 차아염소산나트륨(NaOCl)과 268 ppm 아염소산(chlorous acid)으로 콩나물에 10분 동안 처리한 결과 손상된 *L. monocytogenes*는 각각 0.4, 0.0 log 수준으로 형성되어 차아염소산나트륨보다 아염소산에서 화학적 손상세포가 적게 형성됨을 보고하여 본 연구의 결과와 다소 차이가 있었다. 실제로 화학적 살균소독제의 처리 후에 화학적 손상세포가 다수 형성될 것으로 생각되었으나 실험 결과 처리 전의 미생물의 접종 후 건조 과정을 거친 샘플에서만 다수의 손상세포가 형성되었고 처리 후에는 차이가 있기는 하였으나 선택배지에 의한 손상되지 않은 세포의 양과 비교했을 때 유의적인 차이가 발견되지 않았다($p > 0.05$). 이러한 연구 결과의 차이는 실험에 응용된 원재료의 차이에 의하여 나타날 수 있으므로 보다 다양한 종류의 원재료에 대한 연구가 필요할 것으로 사료된다.

실제로 본 연구에서는 화학적 살균소독제의 처리로 양배추에 오염된 병원성 미생물의 많은 양을 저해할 수 없는 것을 알 수 있으며 이러한 처리 후 살아남은 병원성 미생물은 소비자에게 섭취되기 전 저장기간 동안 증식하여 다시 높은 수로 증가할 수 있다. 따라서 살균소독을 통한 미생물의 저해 수준을 높이는 것뿐만 아니라 살균소독 후 신선농산물의 보관하는 방법 및 조리실 내 환경개선 또한 매우 중요하다고 할 수 있다. Kim과 Lee(22)에 의하면 6월, 7월에 1개 광역시 초등학교 조리실 내 온도를 측정한 결과 각각 최고 온도는 30.9°C, 32.0°C임을 보고하였다. 비록 여름이라는 계절적 영향이 있기는 하나 측정된 온도 범위는 모두 미생물이 활발하게 증식할 수 있는 온도 영역이므로 식중독 발생을 예방하기 위해 조리실의 온도를 낮출 수 있는 조치가 시급할 것으로 보인다(23,24). 이에 처리 후 보관 방법에 대한 연구 등도 추가로 이루어져야 할 것으로 사료된다.

요 약

이산화염소는 식품과 식품가공을 위한 시설 및 설비 등을 살균소독 하는데 상업적 염소소독제보다 효과적이므로 새로운 살균소독처리 방법으로 이용 가능성이 높다. 이에 본 연구에서는 양배추에 오염된 병원성 미생물(*E. coli* O157:H7, *L. monocytogenes*, *S. Typhimurium*)을 감소시키기 위해 액체형태의 상업적 염소소독제와 이산화염소를 농도와 시간을 달리하여 처리하였고, 살균소독을 실시했을 때 형성될 수 있는 화학적 손상세포에 대해서도 조사하였다. 그 결과 상업적 염소소독제보다 이산화염소에서 세 가지의 병원성

미생물을 유의적으로 감소시켰으며, 특히 200 ppm 이산화염소로 10분 동안 처리했을 때 *E. coli* O157:H7, *L. monocytogenes*, *S. Typhimurium*에 대해 각각 1.98, 1.91, 1.92 log 감소수준을 나타내 모든 처리 구간 중에서 가장 높은 살균소독력을 나타냈다. 또한 세 가지 병원성 미생물 모두 처리시간보다 처리농도의 차이에서 유의적인 차이가 관찰되었다. 세 가지 병원성 미생물에 대하여 상업적 염소소독제와 이산화염소는 화학적 손상세포를 형성하지 않았다. 이에 현재 사용되고 있는 상업적 염소소독제 처리방법에 비하여 이산화염소를 사용할 것을 권장하며, 이산화염소 응용 시에 처리시간보다 처리농도를 높이는 방법이 병원성 미생물을 저해하는데 더욱 효과적일 것으로 보인다. 그러나 이산화염소가 병원성 미생물에 대한 저해효과는 미생물 및 오염된 원재료의 종류에 따라서 그 결과가 달라질 수 있으므로 보다 다양한 실험이 지속적으로 이루어져야 할 것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구는 한국식품연구원 기본연구사업의 지원에 의해 수행되었으며 이에 감사드립니다.

문 헌

- Beuchat LR, Farbar JM, Garrett EH, Harris LJ, Parish ME, Suslow TV, Busta FF. 2001. Standardization of a method to determine the efficacy of sanitizers in inactivating human pathogenic microorganisms on row fruits and vegetables. *J Food Prot* 64: 1079-1084.
- Beuchat LR. 1998. Surface decontamination of fruits and vegetables eaten raw. Document WHO/FSF/FOS/98.2. World Health Organization, Geneva.
- Ryu G. 2001. Washing and disinfection of fresh vegetable and fruit. *J Korea Dietetic Assoc Korean Nutr* 225: 23-25.
- Park HO, Kim CM, Woo GJ, Park SH, Lee DH, Chang EJ, Park KH. 2001. Monitoring and trends analysis of food poisoning outbreaks occurred in recent years in Korea. *J Food Hyg Safety* 16: 280-294.
- Beuchat LR. 1996. Pathogenic microorganisms associated with fresh produce. *J Food Prot* 59: 104-110.
- Ministry of Education and Human Resources Development. 2004. The guide of sanitary management in school food service.
- Park KJ, Lim JH, Kim JH, Jung JW, Jo JH, Jung SW. 2007. Reduction of microbial load on radish (*Raphanussativus* L.) seeds by aqueous chlorine dioxide and hot water treatments. *Korean J Food Preserv* 14: 487-491.
- Weissinger WR, Beuchat LR, Chantarapanont W. 2000. Survival and growth of *Salmonella baidon* in shredded lettuce and iced tomatoes, and effectiveness of chlorinated water as a sanitizer. *Food Microbiol* 62: 123-131.
- Benarde MA, Israel BM, Oliveri VP, Granstrom ML. 1965. Efficiency of chlorine dioxide as a bactericide. *Appl Microbiol* 13: 776-780.
- Lillard HS. 1979. Levels of chlorine dioxide of equivalent bactericidal effect in poultry processing water. *J Food Sci* 44: 1594-1597.
- Kang DH, Fung DY. 1999. Thin agar layer method for recovery of heat-injured *Listeria monocytogenes*. *J Food Prot* 11: 1346-1349.
- Kang DH, Siragusa GR. 1999. Agar underlay method for recovery of sublethally heat-injured bacteria. *Appl Environ Microbiol* 65: 5334-5337.
- Lee SY, Kang DH. 2001. Suitability of overlay method for recovery of heat-injured *Listeria monocytogenes* and *Salmonella Typhimurium*. *Food Sci Biotechnol* 10: 323-326.
- McCarthy SA, Motes ML, McPhearson RM. 1990. Recovery of heat stressed *Listeria monocytogenes* from experimentally and naturally contaminated shrimp. *J Food Prot* 53: 22-25.
- Rhee MS, Lee SY, Hillers VN, McCurdy SM, Kang DH. 2003. Evaluation of consumer-style cooking method for reduction of *Escherichia coli* O157:H7 in ground beef. *J Food Prot* 66: 1030-1034.
- Wu VCH, Kim BC. 2007. Effect of a simple chlorine dioxide method for controlling five foodborne pathogens, yeasts and molds on blueberries. *Food Microbiol* 24: 794-800.
- Marcy AW, Bonita AG, Mark LG, Cheryl AR. 2000. Reduction of *Escherichia coli* O157:H7 counts on whole fresh apples by treatment with sanitizer. *J Food Prot* 63: 703-708.
- Rolando JG, Yaguang L, Saul RC, James LM. 2004. Efficacy of sanitizers to inactivate *Escherichia coli* O157:H7 on fresh-cut carrot shreds under simulated process water conditions. *J Food Prot* 67: 2375-2380.
- Youm HJ, Ko JK, Kim MR, Cho YS, Chun HK, Song KB. 2005. Effect of aqueous chlorine dioxide and citric acid treatment on microbial safety and quality control of minimally processed and refrigerated (MPR) salad. *Korean J Food Sci Technol* 37: 129-133.
- Singh N, Singh RK, Bhunia AK, Strohshine RL. 2002. Efficacy of chlorine dioxide, ozone and thyme essential oil or as sequential washing in killing *Escherichia coli* O157:H7 on lettuce and baby carrots. *Lebensm Wiss Technol* 35: 720-729.
- Lee SY, Yun KM, Fellman J, Kang DH. 2002. Inhibition of *Salmonella Typhimurium* and *Listeria monocytogenes* in mung bean sprouts by chemical treatment. *J Food Prot* 65: 1088-1092.
- Kim JG, Lee KM. 2003. A Study on the sanitary condition of kitchens and facilities of school food-service programs in elementary schools-Part 2. Temperature, humidity, noise and microbiological examination. *J Korean Public Health Assoc* 29: 259-268.
- Lee YW, Kim JG. 1997. A study on the trend of food poisoning outbreaks, reported cases, in Korea. *Korea J Food Hyg* 2: 33-34.
- Marriott NG, Robertson G. 1997. *Essentials of food sanitation*. Chapman & Hall, New York, USA. p 11-28.

(2008년 8월 21일 접수; 2008년 10월 15일 채택)