

이산화염소수 및 구연산처리에 따른 무(*Raphanus sativus* L.) 새싹과 종자의 미생물 제어 효과

박기재 · 임정호[†] · 김범근 · 김종찬 · 정진웅 · 정승원
한국식품연구원

Effect of Aqueous Chlorine Dioxide and Citric Acid on Reduction of *Salmonella typhimurium* on Sprouting Radish Seeds

Kee-Jai Park, Jeong-Ho Lim[†], Bum-Keum Kim, Jong-Chan Kim,
Jin-Woong Jeong and Seong-Weon Jeong
Korea Food Research Institute, Seongnam 463-746, Korea

Abstract

The effect of citric acid-aqueous chlorine dioxide (ClO₂) treatment of radish seeds artificially contaminated with *Salmonella typhimurium* was studied. Radish seeds were inoculated by immersion, in more than 10⁶ log CFU/g seed, of a suspension of *S. typhimurium*, dried, and stored sealed at 4°C. Radish seeds soaked in 200 ppm aqueous ClO₂ solution for 10 min showed a bacterial reduction of 1.08 log CFU/g seed, and the lowering of microbial burden noted in seeds soaked in 2% (w/v) citric acid solution for 10 min was 2.89 log CFU/g seed. Next, radish seeds were exposed to 0.5% (v/v) glycerol solution for 10 min either before or after treatment with 200 ppm aqueous ClO₂ or 2% (w/v) citric acid for 10 min. Glycerol exposure after citric acid treatment reduced bacteria by 3.46 log CFU/g seed, and glycerol treatment after aqueous ClO₂ treatment reduced the microbial burden by 2.14 log CFU/g seed. Both glycerol treatments yielded better elimination of *S. typhimurium* than did a single treatment with either citric acid or aqueous ClO₂. Radish seeds inoculated with *S. typhimurium* were treated throughout the entire growth period. Although radish seed treatment was effective, treatment by citric acid and aqueous ClO₂ after sprouting was not effective to eliminate *S. typhimurium*.

Key words : salmonella typhimurium, radish seed, sprout, aqueous chlorine dioxide

서 론

새싹채소는 동서양에서 생식 또는 최소가공 형태로 다양하게 소비되고 있으며, 최근 대형마트에서도 그 판매량이 증가되고 있다. 또한, 아미노산, 탄수화물, 미네랄, 비타민 및 폴리페놀 등의 많은 영양성분들을 함유하고 있어 건강식품으로서 높은 관심을 가지고 있다(1). 그러나 새싹채소는 신선편이 식품과 같이 소비되기 때문에 *Salmonella* 와 *Escherichia coli* O157:H7과 같은 병원성 미생물에 의한 식중독의 발생의 위험도가 높고, 최근 일본의 경우 병원성

미생물에 오염된 무 새싹채소에 의해 약 6,000명이 식중독을 일으키는 사고가 발생하였다(2,3).

새싹채소의 성장 조건이 20~40°C의 온도와 높은 수분 활성도를 요구하기 때문에, *E. coli* 및 *Salmonella* 등과 같은 많은 병원성미생물이 증식하기에 적절하여 종자단계에서 병원성미생물을 완전히 제거하지 않는다면 발아 및 성장 중 식중독을 유발시킬 수 있는 수준으로 증식이 이루어진다(4,5). Andrews 등(6)과 Jaquette 등(7)은 *Salmonella*를 인위적으로 오염한 종자가 새싹으로 성장하는 동안 3~5 log가 증가한다고 보고하였다. 새싹채소에 있어서 미생물을 효과적으로 제어하기 위한 방안으로 방사선 조사(8), chlorite 처리(9-11), 휘발성 acetic acid(12), ammonia(13),

[†]Corresponding author. E-mail : jhlim@kfri.re.kr,
Phone : 82-31-780-9331, Fax : 82-31-780-9333

전해산화수(14), 중온수(15), 오존수 및 식물추출물(16,17) 등에 대한 연구가 진행된 바 있다.

이산화염소는 오존(O₃), 염소(Cl₂), 자외선 이용법 등과 함께 용수를 살균·소독하는 방법의 하나로서 널리 사용되고 있다. 그 중 염소소독이 경제적인 측면에서 용수를 소독하는 가장 보편적인 방법으로 사용되어 왔으나, 염소소독은 THM (Trihalomethanes), 염화페놀 등이 생성됨에 따라 (18,19) 염소 대체 처리에 대한 연구가 왔으며 이 중 이산화염소에 관한 연구가 활발히 진행되고 있다(20). 이산화염소는 비염소계 살균제 및 소독제로서 강력한 살균력을 갖고 있으며 pH 2~10 범위에서 고른 살균력을 가진다고 보고되고 있다(17). 또한, 유기산은 항미생물적 활성을 가지고 있으며, 낮은 pH의 영역에서 미생물의 활성을 감소시키는 것으로 알려지고 있다(21-23). 특히, lactic acid 및 citric acid의 경우 가장 널리 알려져 있는 미생물 제어제로서 도체 표면의 *E. coli* O157:H7와 *Salmonella typhimurium*의 제어에 효과적으로 사용되고 있다(24-26).

이에, 새싹채소에 있어서 이산화염소수와 유기산의 적용은 친환경적인 처리방법으로서의 의미뿐만 아니라 병행 처리에 의한 효과를 증대시킬 수 있을 것으로 판단된다. 따라서, 본 연구에서는 *salmonella typhimurium*을 인위적으로 오염시킨 무 종자 및 새싹에 대한 이산화염소수와 구연산처리를 통한 미생물적 안전성을 증대시킬 수 있는 조건을 연구하고자 한다.

재료 및 방법

재 료

무 종자(*Raphanus sativus* L.)는 2007년 10월에 (주)아시아 종묘(Seoul, Korea)에서 구입한 것으로서 이탈리아산이며, 평균발아율이 80% 이상인 것 중에서 외관이 건전한 것만을 선별하여 사용하였다.

이산화염소수의 제조

이산화염소수는 chlorine dioxide generator system((주)부벽엔텍, Seoul, Korea)을 사용하여 제조 하였으며 농도는 iodometry standard method를 이용하여 측정하였다(27).

균주 배양 및 현탁액 제조

무 종자의 인위적인 오염을 위하여 *Salmonella typhimurium* ATCC 14028를 균주로 사용하였다. 균주는 brain heart infusion broth (Difco, Becton, MD, USA)를 사용하여 37°C에서 24시간동안 계대배양하였다. 계대배양한 것을 동일한 액체배지 1 L에 1 백균이를 접종하여 최적온도에서 24시간 배양하였다. 이 영양세포 현탁액을 원심분리기 (Sorvall RC28S, Dupont Co., USA)를 이용하여 4°C에서

3,300 × g로 15분간 원심분리하여 얻은 균체를 0.1% 펩톤수로 세척, 원심 분리하여 최종 영양세포의 농도가 10⁶~10⁷ CFU/mL가 되도록 농도를 조절하였다.

균주의 인위적인 오염

무 종자 1 kg을 균주 현탁액 1 L에 침지하여 10분동안 혼합하였다. 혼합된 균주현탁액을 정치시켜 상층액을 제거하고, 21~23°C에서 24시간 동안 종자를 건조하였으며, 건조된 종자는 Whirl-pak bags(B01416, Nasco Co., USA)에 밀봉하여 4°C에 보관하면서 사용하였다.

균주를 인위적으로 오염시킨 시료 10 g에 9배수의 0.85% 식염수를 첨가하여 분쇄한 후 여액을 식염수로 희석하여 배지에 분주·배양하고 형성된 colony를 계수하여 시료 당 colony forming unit(CFU)의 수치로 나타내었다. 본 실험에 사용된 배지는 *Salmonella typhimurium*의 선택배지로 XLD agar(Difco Co., Detroit, MI, USA)를 사용하여 37°C에서 24시간 후에 조사하였다.

이산화염소수, citric acid 및 glycerin 처리

이산화염소수, 구연산 및 glycerin 처리는 무 종자 10 g에 9배수의 처리수를 첨가하여 stirrer(PC-410, Corning Co., Nagog Park Acton, MA, USA)를 이용하여 3의 속도로 교반하였다. 이산화염소수는 50, 100, 200 ppm의 농도, citric acid는 0.5%, 1.0%, 2.0%, 5.0%의 농도, glycerin는 0.1%, 0.2%, 0.5%의 농도로 조절한 후 10분간 교반·처리하였다.

새싹 성장 중 관수처리

균주를 인위적으로 오염시킨 종자는 새싹채소 재배용 용기에 담아 25°C의 식물생장기(HB-303DH, Hanbaek Sci. Co., Seoul, Korea)에서 1일 2회 10분간 처리수를 분무하여 4일간 성장시켰다. 대조구로서는 증류수를 사용하였으며, 처리수는 이산화염소수 200 ppm, citric acid 2.0% 및 glycerin 0.5%을 사용하였다.

통계처리

본 실험은 독립적으로 3회 이상 반복 실시하여 실험결과를 평균±표준편차로 나타내었다. 실험군간의 유의성을 검정하기 위하여 SAS 6.0 for windows program을 이용하여 ANOVA test를 실시한 후, p<0.05수준에서 Duncan's multiple range test를 실시하였다(28).

결과 및 고찰

무 종자의 *Salmonella typhimurium* 감소에 미치는 영향

이 실험에 사용된 *S. typhimurium*가 인위적으로 오염된 무 종자의 초기 균수는 약 7 log CFU/g으로 설정하였으며,

이산화염소수 처리에 의한 *S. typhimurium*의 균수 변화는 Fig. 1에 나타내었다. *S. typhimurium*의 균수는 증류수로 세척한 경우가 7.32 log CFU/g 으로서 무 처리구의 7.88 log CFU/g보다 0.5 log CFU/g 감소하는 것으로 나타났었다 (Fig. 1).

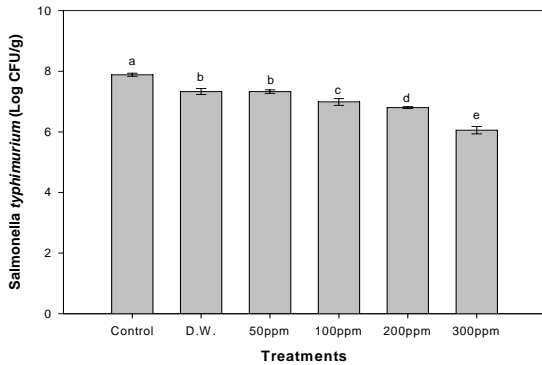


Fig. 1. Reduction of *Salmonella typhimurium* recovered from inoculated radish seeds after treatment with aqueous ClO_2 of various concentrations.

¹⁾Treatments were as follows: aqueous ClO_2 (10min).

²⁾Values not preceded by the same letter are significantly different ($p < 0.05$).

무 종자를 이산화염소수로 처리한 직 후 *S. typhimurium*의 균수를 측정된 결과 이산화염소수 50~200 ppm의 농도 범위에서 무처리구에 비하여 0.55~1.08 log CFU/g의 감소 범위를 나타내었으며, 이산화염소수 100 ppm 이상의 농도에서 유의적인 차이를 나타내었다. 이산화염소수는 세척 처리시 세포막에 상처를 주거나, 세포내부로 침투하여 단백질 합성을 방해하여 미생물을 억제하는 것으로 알려져 있다(29,30). Singh 등(31)은 alfalfa 종자에 50 ppm의 이산화염소수를 처리 하여 약 1 log cycle이 감소효과를 보고하였고 Taormina 등(32)은 alfalfa 종자에 3분 동안 500 ppm의 이산화염소수를 처리하여 *E. coli* O157:H7을 2 log cycle 감소시켰다고 보고한 것과 유사한 결과를 나타내었다. 또한, National Advisory Committee (NACMCF)에서는 새싹 채소에 사용되는 종자에 20,000 ppm의 $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ 을 처리하여 *Salmonella*의 균수를 감소시켰으나 만족할만한 효과를 가지지 못하였다고 보고하였다(11).

Fig. 2는 citric acid의 처리에 의한 *S. typhimurium*의 균수 변화에 대하여 나타내었다. 무 종자를 0.5~5.0% 처리농도에서 citric acid를 처리한 후 *S. typhimurium*의 균수를 측정된 결과, 처리 범위의 농도에서 10분간 침지한 경우 대조구와 모든 처리구에서 유의적인 차이를 나타내었고, 그 감소 범위 또한 1.60~4.17 log CFU/g의 효과를 나타내었다. 처리 농도 5.0%에서 4.17 log CFU/g의 감소로 가장 우수한 효과를 나타내었으나, 5.0%의 농도에서 처리한 무 종자의 발아율이 50%이하로 감소하여 사용농도로서는 부적절한 것으로 판단된다(결과 생략). Citric acid 2.0% 처리농도에서는 *S. typhimurium*가 2.89 log CFU/g가 감소하여 이산화염소수

200 ppm 처리보다 우수한 결과를 나타내었다.

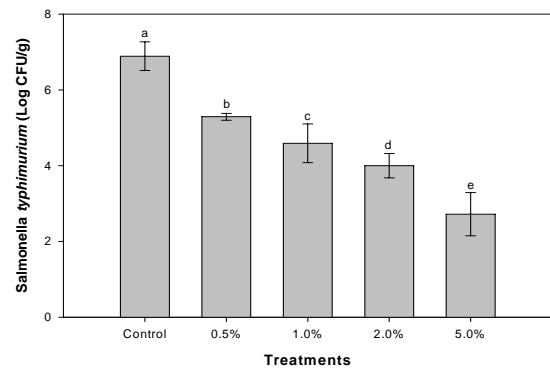


Fig. 2. Reduction of *Salmonella typhimurium* recovered from inoculated radish seeds after treatment with citric acid of various concentrations.

¹⁾Treatments were as follows: citric acid (10min).

²⁾Values not preceded by the same letter are significantly different ($p < 0.05$).

*S. typhimurium*로 인위적으로 오염시킨 무 종자를 0.1~0.5% 처리농도에서 glycerin으로 세척한 후 *S. typhimurium*의 균수를 측정된 결과(Fig. 3), 0.1~0.5%의 처리농도에서 대조구와 glycerin 단독 처리구간의 유의적인 차이를 나타내지 않았으나, 0.5% 농도에서 유의적인 차이를 나타내었다. glycerin 0.5%와 이산화염소수 및 citric acid와의 병행처리에서 glycerin 0.5%로 10분간 처리후 citric acid 2.0%를 10분간 처리한 구가 대조구에 비하여 3.46 log CFU/g가 감소하였으며, glycerin 0.5%/이산화염소수 200 ppm 처리구가 대조구에 비하여 2.13 log CFU/g가 감소하는 것으로 나타나 병행 처리가 단독 처리에 비하여 우수한 효과를 나타내는 것으로 판단되었다.

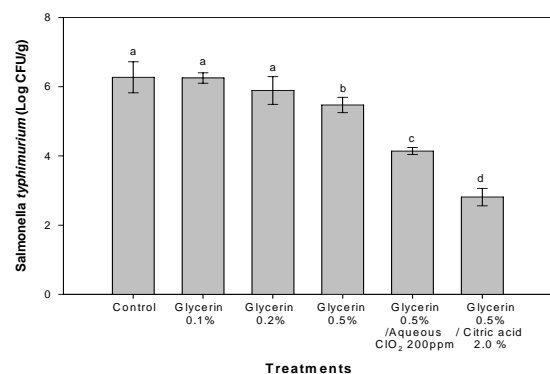


Fig. 3. Reduction of *Salmonella typhimurium* recovered from inoculated radish seeds after treatment with glycerin, citric acid and aqueous ClO_2 .

¹⁾Treatments were as follows: glycerin (10min); citric acid (10min); aqueous ClO_2 (10min).

²⁾Values not preceded by the same letter are significantly different ($p < 0.05$).

또한, 이산화염소수와 citric acid의 병행처리에 의한 *S. typhimurium* 균수의 감소효과를 측정된 결과는 Fig. 4에 나타내었다. 병행처리 조건으로 이산화염소수는 200 ppm

을 사용하였으며, citric acid는 1.0%과 2.0%로 처리하였다. 이산화염소수와 citric acid의 병행처리 조건에서 *S. typhimurium* 균수는 1.35~2.12 log CFU/g의 감소를 나타내었다. 그 중 citric acid 2.0%/이산화염소수 200 ppm 처리시 3.82 log CFU/g으로서 가장 우수한 효과를 나타내어, 이산화염소수 단독처리보다 1 log cycle 이상 감소효과를 보였으나 citric acid 단독처리와 유사하거나 낮은 효과를 나타내었다.

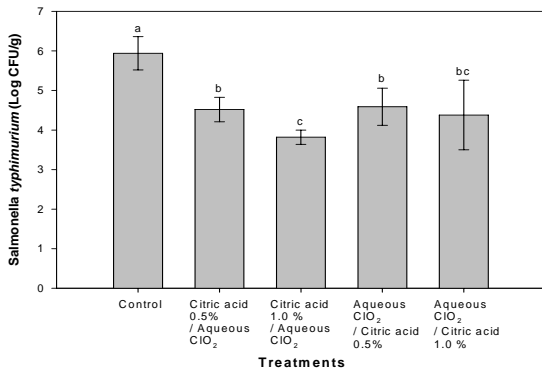


Fig. 4. Reduction of *Salmonella typhimurium* recovered from inoculated radish seeds after treatment with citric acid and aqueous ClO₂.

¹⁾Treatments were as follows: citric acid (10min); aqueous ClO₂ (200ppm for 10min).
²⁾Values not preceded by the same letter are significantly different (p<0.05).

무 새싹채소의 *Salmonella typhimurium* 감소에 미치는 영향

*Salmonella typhimurium*을 인위적으로 오염시킨 무 종자를 종자세척 및 관수로서 이산화염소수, citric acid 및 glycerin을 관수로 재배한 무 새싹채소의 *S. typhimurium* 균수를 처리구에 따라 비교하였다(Table 1).

Table 1. Detection of *Salmonella typhimurium* in association with radish sprouts grown from seeds with different sanitizer

Washing treatment ¹⁾	Irrigation treatment ²⁾	Population on sprouts
Distilled water	Distilled water	8.18 ^a ± 0.08
	Citric acid 2%/Aqueous ClO ₂ 200 ppm	7.34 ^b ± 0.15
Aqueous ClO ₂ 200 ppm	Distilled water	8.33 ^a ± 0.05
	Citric acid 2%/Aqueous ClO ₂ 200 ppm	7.50 ^b ± 0.09
Glycerin 0.5%/ Citric acid 2%	Distilled water	8.67 ^a ± 0.08
	Citric acid 2%/Aqueous ClO ₂ 200 ppm	7.92 ^b ± 0.18

¹⁾Washing treatment: inoculated seeds were treated with different sanitizer and treated with distilled water.

²⁾Irrigation treatment: were treated with different sanitizer and treated with distilled water during sprout growth.

³⁾Treatments were as follows: distilled water (10min); aqueous ClO₂ (200 ppm for 10min); citric acid (2% solution for 10min); Glycerin (0.5% solution for 10min).

⁴⁾Values not preceded by the same letter are significantly different (p<0.05).

⁵⁾Values expressed as Log CFU/g.

무 새싹을 다양한 살균수를 종자소독 및 관수로서 이용하여 재배한 조건에서 *S. typhimurium* 균수가 7.50~8.18 log CFU/g으로 나타났다.

무 새싹을 증류수로 재배한 경우 *S. typhimurium* 균수가 8.18 log CFU/g으로 나타났으며, 가장 효과가 우수한 구인 이산화염소로 종자세척 후 citric acid 2.0%/이산화염소수 200 ppm을 관수로 재배한 경우가 대조구에 비하여 1 log cycle 감소하는 것으로 나타났다. 또한, 무 새싹의 *S. typhimurium* 균수는 종자소독에 사용된 처리수보다 관수로 사용된 처리수에 더 큰 영향을 받는 것으로 나타나, 관수로써 증류수를 사용한 구와 관수로서 citric acid 2.0%/이산화염소수 200 ppm을 처리한 구와의 유의적인 차이를 나타내었다. 이와 유사하게 Lang 등(33)은 새싹이 성장하는 동안 *E. coli* O157:H7 균수가 10⁷~10⁸ CFU/g 증가하는 것으로 보고하였으며, Gandhi 등(5)은 새싹의 병원성 미생물을 완전히 제거하고자 하는 실험에서 균수의 제한적인 감소만을 가져왔다고 보고하였다. 유기산 처리에 의한 미생물의 스트레스는 *Listeria* (34-36), *E. coli* (37,38) 및 *Salmonella* (39)을 포함한 다양한 미생물의 유기산에 대한 적응력 및 저항력을 증가시키는 것으로 보고되고 있다. 이러한 현상에 대한 다양한 연구는 더욱 필요할 것으로 판단된다. 또한, Castro-Rosas 등(40)은 이산화염소수 100 ppm을 관수로 처리하여 성장시킨 무 새싹에 있어서 호기성중온균의 균수를 감소시키지 못한 것으로 보고하였다.

결과적으로, 균을 인위적으로 오염시킨 무 종자에 있어서 균을 완전히 제거하는데는 많은 문제가 있는 것으로 보여진다. 종자 세척 및 관수로서의 살균 처리는 무 종자 및 새싹의 *S. typhimurium* 균을 완전히 제거하지 못하였다. 그러나, 이산화염소수, citric acid 및 glycerin 처리에 의해서 무 종자의 *S. typhimurium* 균의 유의적인 감소를 나타내어 이에 대한 다양한 연구가 필요할 것으로 판단된다.

요 약

새싹 채소 중 무순의 위생적인 재배 조건을 설정하기 위하여 종자세척 및 관수로서 이산화염소수, citric acid 및 glycerin의 적용 효과를 조사하였다. 무 종자에 인위적으로 오염시키기 위하여 *Salmonella typhimurium*은 실험실 조건에서 배양하였으며, 무 종자를 *S. typhimurium* 현탁액에 침지시켜 균수를 약 10⁶ log CFU/g로 조절하였다. 무 종자에 대한 세척 효과는 이산화염소수 및 citric acid의 단독처리보다 병행처리시 더욱 우수한 효과를 나타내어, 이산화염소수 200 ppm과 citric acid 2%의 병행처리시 2.89 log CFU/g의 감소효과를 나타내었다. 또한, glycerol 0.5%/citric acid 2.0% 처리의 경우 3.46 log CFU/g, glycerol 0.5%/이산화염소수 200 ppm 처리는 2.14 log CFU/g의 *S. typhimurium* 균의

감소를 나타내어, glycerol 단독 처리보다 병행처리가 더 우수한 효과를 나타내었다. 무 종자의 발아 및 성장에 따른 균수 감소는 비록 종자에 대한 처리효과가 유의적으로 있었음에도 불구하고 새싹 성장 후 균수의 차이는 미미하였다.

참고문헌

- Feng, P. (1997) A summary of background information and foodborne illness associated with the consumption of sprouts. Center for Food Safety and Applied Nutrition, Washington, DC
- Ponka, A., Anderson, Y., Siitonen, A., deJong, B., Jahkola, M., Haikapa, M., Kuhmoen, A. and Pakkala, Z.P. (1995) *Salmonella* in alfalfa sprouts. *Lancet*, 345, 462-463
- Ministry of Health and Welfare of Japan (1996) National Institute of Infectious Disease Control Division. Verocytotoxin-producing *Escherichia coli* (enterohemorrhagic *E. coli*) infection. *Japan. Infect. Agents Surveill. Rep.*, 18, 153-154
- Fu, T., Stewart, D., Reineke, K., Ulaszek, J., Schlessner, J. and Tortorello, M. (2001) Use of spent irrigation water for microbiological analysis of alfalfa sprouts. *J. Food Prot.*, 64, 802-806
- Gandhi, M., Golding, S., Yaron, S. and Matthews, K.R. (2001) Use of green fluorescent protein expressing *Salmonella stanley* to investigate survival, spatial location, and control on alfalfa sprouts. *J. Food Prot.*, 64, 1891-1898
- Andrews, W.H., Mislivec, P.B., Wilson, C.R., Bruce, V.R., Poelma, P.L., Gibson, R., Trucksess, M.W. and Young, K. (1982) Microbial hazards associated with bean sprouting. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 65, 241-248
- Jaquette, C.B., Beuchat, L.R. and Mahon, B.E. (1996) Efficacy of chlorine and heat treatment in killing *Salmonella stanley* inoculated onto alfalfa seeds and storage. *Appl. Environ. Microbiol.*, 62, 2212-2215
- Bari, M.L., Nazuka, E., Sabina, Y., Todoriki, S. and Isshiki, K. (2003) Chemical and irradiation treatments for killing *Escherichia coli* O157:H7 on alfalfa, Radish, and mung bean seeds. *J. Food Prot.*, 66, 767-774
- Splittstoesser, D.F., Queale, E.T. and Andaloro, B.W. (1983) The microbiology of vegetable sprouts during commercial production. *J. Food Safety.*, 5, 79-86
- Fett, W.F. (2002) Reduction of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* spp. on laboratory inoculated mung bean seed by chlorine treatment. *J. Food Prot.*, 65, 848-852
- National Advisory Committee on Microbiological Criteria for Foods (NACMCF) (1999) Microbiological safety evaluations and recommendations on sprouted seeds. *Int. J. Food Microbiol.*, 52, 123-153
- Delaquis, P.J., Sholberg, P.L. and Stanich, K. (1999) Disinfection of Mung bean seed with gaseous acetic acid. *J. Food Prot.*, 62, 953-957
- Himathongkham, S., Nuanualsuwan, S., Riemann, H. and Cliver, D.O. (2001) Reduction of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella typhimurium* in artificially contaminated alfalfa seeds and mung beans by fumigation with ammonia. *J. Food Prot.*, 64, 1817-1819
- Kim, C., Hung, Y.C., Brackett, R.E. and Lin, C.S. (2003) Efficacy of electrolyzed oxidizing water in inactivating *Salmonella* on alfalfa seeds and sprouts. *J. Food Prot.*, 66, 208-214
- Weiss, A. and Hammes, W.P. (2003) Thermal seed treatment to improve the food safety status of sprouts. *J. Appl. Bot.*, 77, 152-155
- Kim, I.D. and Kim, S.D. (2001) Changes in quality of soybean sprouts grown by ozone water treatment during storage. *Korean J. Food Preserv.*, 8, 279-384
- Kim, I.D., Park, M.J., Cho, J.W., Soe, S.S., Kim, M.K., Lee, J.B., Lee, S.K. and Kim, S.D. (1998) Effect of ozone treatment on the quality of soybean sprouts. *Korean J. Food Preserv.*, 5, 177-185
- Kraybill, H.F. (1978) Origin, classification and distribution of chemicals in drinking water with an assessment of their carcinogenic potential. Vol. 1, pp. 211-228. In: *Water chlorination*. Jolly RL (ed). Ann Arbor Science, Ann Arbor, MI, USA
- Moore, G.S., Calabrese, E.J., DiNardi, S.R. and Tuthill, R.W. (1978) Potential health effect of chlorine dioxide as a disinfectant in potable water supplies. *Med. Hypotheses*, 4, 481-496
- Kim, J.M. (2001) Use of chlorine dioxide as a biocide in the food industry. *Food Ind. Nutr.*, 6, 33-39
- Ingram, M., Ottoway, F.J.H. and Coppock, J.B.M. (1956) The preservative action of acid substances in food. *Chem. Ind.*, 42, 1154-1163
- Luck, E. and Jager, M. (1997) *Antimicrobial food additives* (2nd ed.). Springer, New York, USA, p.116-119
- Macris, B.J. (1975) Mechanisms of benzoic acid uptake by *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Appl. Microbiol.*, 30, 503-506
- Conner, D.E., Kotrola, J.S., Mikel, W.B. and Tamblyn,

- K.C. (1997) Effect of acetic-lactic acid treatment applied to beef trim on populations of *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes* in ground beef. *J. Food Prot.*, 60, 1560-1563
25. Cutter, C.N., Dorsa, W.J. and Siragusa, G.R. (1997) Parameters affection the efficacy of spray washes against *Escherichia coli* O157:H7 and fecal contamination. *J. Food Prot.*, 60, 614-618
26. Prasai, R., Kastner, C., Kenney, P., Kropf, D., Fung, D. and Mease, L. (1997) Microbiological quality of beef subprimals as affected by lactic acid sprays applied at various points during vacuum storage. *J. Food Prot.*, 60, 795-798
27. APHA. (1995) Standard methods for the examination of water and wastewater. 19th ed. DPD Method. American 28. Public Health Association, Washington DC, USA, p. 4-76
28. SAS User's Guide. Ver.6.12. (1995) Statistical Analysis Systems Institute, SAS Institute, Inc. Cary, NC, USA
29. Abdul-Raouf, U.F., Beuchat, L.R., and Ammar, M.S. (1993) Survival and growth of *Escherichia coli* O157:H7 in ground roasted beef as affected by pH, acidulants, and temperature. *Appl. Environ. Microbiol.*, 59, 2364-2368
30. Weissinger, W.R. and Beuchat, L.R. (2000) Comparison of aqueous chemical treatments to eliminate *Salmonella* on alfalfa seeds. *J. Food Protect.*, 63, 1475-1782
31. Singh, N., Singh, R.K. and Bhunia, A.K. (2003) Sequential disinfection of *Escherichia coli* O157:H7 inoculated alfalfa seeds before and during sprouting using aqueous chlorine dioxide, ozonated water, and thyme essential oil. *Lebensm.-Wiss. U.-Technol.*, 36, 235-243
32. Taormina, P.J. and Beuchatn, L.R. (1999) Comparison of chemical treatment to eliminate enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 on alfalfa seeds. *J. Food Prot.*, 62, 318-324
33. Lang, M.M., Ingham, B.H. and Ingham, S.C. (2000) Efficacy of novel organic acid and hypochlorite treatments for eliminating *Escherichia coli* O157:H7 from alfalfa seeds prior to sprouting. *Int. J. Food Microbiol.*, 58, 73-82
34. Kroll, R.G. and Patchett, R.A. (1992) Induced acid tolerance in *Listeria monocytogenes*. *Lett. Appl. Microbiol.*, 14, 224-227
35. Hill, C., O'Driscoll, B. and Booth, I. (1995) Acid adaptation and food poisoning microorganisms. *Int. J. Food Microbiol.*, 28, 245-254
36. O'Driscall, B., Gahan, G.M. and Hill, C. (1996) Adaptive acid tolerance response in *Listeria monocytogenes*: isolation of an acid-tolerant mutant which demonstrates increased virulence. *Appl. Environ. Microbiol.*, 62, 1693-1698
37. Goodson, M. and Rowbury, R.J. (1989) Resistance of acid-habituated *Escherichia coli* to organic acids and its medical and significance. *Lett. Appl. Microbiol.*, 8, 211-214
38. Cheng, H.Y. (1999) Survival of acid-adapted *Escherichia coli* O157:H7 in some acid foods and subsequent environmental stress. MS thesis, National Taiwan University, Taipei, Taiwan.
39. Foster, J.W. and Hall, H.K. (1990) Adaptive acidification tolerance response of *Salmonella typhimurium*. *J. Bacteriol.*, 172, 771-778
40. Castro-Rosas, J. and Escartin, E.F. (1999) Incidence and germicide sensitivity of *Salmonella typhi* and *Vibrio cholerae* O₁ in alfalfa sprouts. *J. Food Safety*, 19, 137-146

(접수 2008년 7월 1일, 채택 2008년 9월 26일)