

연구노트

도마표면의 병원성미생물 제어를 위한 오존수 처리효과

박인숙<sup>1,3</sup> · 김용수<sup>1,3</sup> · 백승범<sup>3</sup> · 김애영<sup>1</sup> · 최성희<sup>1</sup> · 이영자<sup>2</sup> · 전대훈<sup>2</sup> · 김형일<sup>2</sup> · 허상도<sup>3,\*</sup>

<sup>1</sup>한국보건산업진흥원, <sup>2</sup>식품의약품안전청, <sup>3</sup>중앙대학교

Effect of Ozone Water to Reduce Pathogenic Microorganisms on Chopping Board

In-Sook Park<sup>1,3</sup>, Yong-Soo Kim<sup>1,3</sup>, Seung-Bum Baek<sup>3</sup>, Ae-Young Kim<sup>1</sup>, Sung-Hee Choi<sup>1</sup>, Young-Ja Lee<sup>2</sup>,  
Dae-hoon Jeon<sup>2</sup>, Hyoung-Il Kim<sup>2</sup>, and Sang-Do Ha<sup>3,\*</sup>

<sup>1</sup>Korea Health Industry Development Institute

<sup>2</sup>Korea Food & Drug Administration

<sup>3</sup>Chung-Ang University

**Abstract** The efficacy of ozone water in reducing food-borne pathogenic bacteria on High Density Polyethylene (HDPE) and wooden chopping boards in food industry was investigated in this study. 1-5 log reductions of *E. coli* O157:H7, *S. aureus*, *S. Typhimurium*, and *B. cereus* were observed with increasing concentrations of ozone water. The immersion treatment evidenced superior capability to inactivate food-borne pathogens than washing treatment. The Gram-negative bacteria, such as *E. coli* O157:H7 and *S. Typhimurium*, evidenced lower resistance against ozone water than was seen with the gram-positive bacteria, which included *S. aureus* and *B. cereus*. The sterilizing effects of ozone water on HDPE chopping boards was superior to that on wooden boards. This result might be utilized to remove food-borne pathogens from food contact surfaces in the food industry.

**Key words** : chopping board, food-borne pathogens, food industry, ozone water, sanitizer

서 론

생활수준의 향상에 따라 건강지향적인 식품을 선택하는 소비 패턴으로 변하고 있다. 또한 단체급식과 외식의 확대, 보급으로 인한 식생활 형태의 변화와 지구 온난화 및 실내 온도 상승 등 사회 환경의 변화로 인해 집단 식중독 발생이 지속적으로 증가하고 있다(1). 식중독의 규모면에서도 집단화, 대형화되어 감에 따라 식중독을 제어하는 방법이 필요한 실정이다. 그 방법으로 는 고전압펄스, 전기장, 진도 자기장, 초고압, 초음파, 마이크로웨이브 등을 이용한 물리적인 방법과 염소계, 알코올, 4급 암모늄, 요오드, 과산화물계 등과 같은 살균소독제를 이용한 화학적 방법, 또한 probiotics 등을 활용한 생물학적 방법이 있다(2). 식품가공업소, 식품접객업소 및 집단급식소에서 도마, 칼, 조리기구 등의 식품접촉 표면에 사용되는 대부분의 살균소독제는 비용 및 사용상의 편리성 때문에 염소계, 알코올, 4급 암모늄, 요오드, 과산화물계 등과 같은 화학적 살균소독제를 많이 사용한다(3-5). 이 중 사용빈도가 높은 염소계 살균소독제는 이미(off-taste)와 이취(off-flavor)를 야기하고 trihalomethane(THM)과 같은 발암성 물질을 형성한다. 단체급식소나 식품가공업소 등에서는 편리성의 이유로 차아염소산수, 오존수 등의 기계장치를 통해서 제조되는 살균소

독제를 주로 사용하고 있다. 그 중 수처리 분야와 식품 및 의료 분야 등에서 광범위하게 사용되고 있는 오존(O<sub>3</sub>)은 산소원자 3개로 이루어진 산소의 동위체로 특유의 냄새가 나는 높은 산화력을 가진 산화제이며 차아염소산수에 비해 낮은 농도에서 높은 미생물 감소효과를 나타낸다(6). 오존에 의한 살균은 생물의 세포막을 파괴하거나 세포막 내에 침입하여 DNA를 파괴하는 살균 메커니즘을 가지고 있다. 또한 미생물의 세포막을 통과하여 흡수계 효소를 손상시켜 세균과 바이러스를 살균 및 불활성화시킨다(7). 반감기가 30분 정도로 매우 짧아 독성이 오래도록 잔류하지 않지만 소독의 잔류효과가 지속되지 않는 단점을 가지고 있다. 다른 염소계 화학제와 달리 THM과 같은 유해한 반응 부산물을 생성시키지 않고 산소만을 원료로 하고 있어 전력만 충족되면 제조와 관리가 용이하여 국내외의 다양한 산업분야에서 오존을 활용한 기계장치들을 개발하여 사용하고 있다(8-13). 미국 FDA에서는 1982년 오존을 GRAS(Generally Recognized As Safe)로 지정하였으며, 2001년 6월 26일부터 가공육과 식육 등 식품에 대하여 가스상 또는 액상의 오존을 미생물 살균을 목적으로 사용할 수 있는 식품첨가물로써의 기능을 인정하고 있다. 또한 일본에서는 1998년 후생성의 제 56호 후생성 생활위생국장 통지 “식품위생법에 근거하는 첨가물의 표시등에 대해서”에 의해 식품첨가물로 등재 되었으며 국내에서는 2007년 11월 9일 『식품의약품안전청고시 2007-74호 식품첨가물의 기준및규격중개정』 식품첨가물로 등재되었다(14-17). 현재 식품의 살균공정 중 식품 및 식품접촉표면의 오존 처리에 대한 국내외의 연구 사례들이 보고되어 향후 이용 가능성을 높이고 있다. 이에 본 연구에서는 오존수를 이용하여 도마표면에 존재하는 병원성 미생물의 저감효과를 조사하였다.

\*Corresponding author: Sang-Do Ha, Department of Food Science and Technology, Chung-Ang University, Ansung, Gyeonggi 456-756, Korea  
Tel: 82-31-670-4831  
Fax: 82-31-675-4853  
E-mail: sangdoha@cau.ac.kr  
Received November 12, 2008; revised January 28, 2009;  
accepted February 12, 2009

## 재료 및 방법

### 사용균주 배양

본 연구에 사용된 *Escherichia coli* O157:H7 strain ATCC 43888, *Staphylococcus aureus* strain ATCC 6538(*S. aureus*), *Salmonella enterica* subspecies *enterica* serovar Typhimurium strain ATCC 13311(*S. Typhimurium*), *Bacillus cereus* strain ATCC 4095(*B. cereus*)는 한국미생물보존센터(KCCM, Korean Culture Collection of Microorganism, Seoul, Korea)로부터 동결 건조된 상태로 분양받아 사용하였다. 시험균주는 초저온 냉동보관(MDF-U71V, Sanyo Electric Biomedical Co., Ltd., Wood Dale, IL, USA)된 시험균을 4°C 냉장상태(MIR-553, Sanyo Electric Biomedical Co., Ltd., Japan)에서 해동하였다. 그 후 tryptic soy broth(TSB, Oxoid Ltd. Basingstoke, Hampshire, UK) 배지에 각각 접종하여 36±1°C로 조정된 배양기(MIR-253, Sanyo Electric Biomedical Co., Ltd.)에서 24시간 동안 증균하였고, 활성배양을 위하여 배양된 시험균 1백 균이를 취하여 tryptic soy agar(TSA, Oxoid Ltd.)에 도달한 후 36±1°C에서 24시간 배양하였다. 배양된 시험균을 이용하여 현탁액(1.0×10<sup>8</sup> cfu/mL)을 제조하여 albumin 용액을 1:1로 혼합하였다. 현탁액은 0.85% NaCl 멸균수를 용매로 하여 제조하였다.

### 도마 처리

급식 조리시설 및 가정에서 생야채와 육류 등의 절단 작업시 사용빈도가 높은 High Density Polyethylene(HDPE) 소재의 흰색 반투명 도마와 나무 도마를 구입, 세척하여 Dry Oven에서 12시간 건조시킨 후 사용하였다. 시험균 혼합액을 도마에 분사 후 건조시간은 HDPE 도마와 나무도마 각각 무균상태인 후드(Micro Laminar Flow Cabinet)에서 10분, 30분 동안 건조시켰다.

### 오존수 발생 및 처리

오존수의 세척과 침지법의 살균효과를 비교하기 위해 오존수 기계장치(OS 800, AST, Seoul, Korea)를 설치하여 0.1, 1, 5, 10 ppm 농도별로 오존수를 발생시켰으며, 디지털 방식의 오존검출기(ATi Ozone Detector, Analytical Technology Inc., Seoul, Korea)로 확인하였다. 오염된 도마표면을 세척(washing) 및 침지(immersion) 처리하였다. 오존수의 처리 조건은 일반적인 식품가공업소, 식품 접객업소 및 집단급식소에서 실시하는 도마, 칼, 조리도구의 세척과 침지처리에 사용하는 시간을 고려하여 설정하였다. 발생된 오존수의 온도는 10±2°C였고, 일반적인 세척 시간을 고려하여 오존수 세척은 물리적인 힘을 가하지 않으며 도마를 흐르는 오존수에서 3 L/min의 유속으로 2분간 세척하였다. 침지는 15 cm×30 cm 깊이의 플라스틱통에 오존수를 받아서 5분간 침지하였다. 대조군은 수돗물 처리하였고 수돗물 자체의 잔류염소가 포함될 수 있기 때문에 실험전 수돗물의 잔류염소량을 Diethyl-P-Phenylenediamine(DPD)법으로 확인한 결과 전혀 검출되지 않았다(ND<5 ppb). 오존수의 세척과 침지 처리에 대한 *E. coli* O157:H7, *S. aureus*, *S. Typhimurium*, *B. cereus* 효능평가의 전 과정은 Fig. 1에 나타내었다.

### 미생물 분석

멸균한 swab(3M, Shanghai, China)을 이용하여 도마표면 10×10 cm<sup>2</sup>의 면적을 swab하여 병원성 미생물을 분석하였는데 ISO 18593:2004를 따랐으며(18), 2회 반복 수행하였다. *E. coli* O157:H7은 Fluorocult *E. coli* O157:H7(Merck KGaA, Darmstadt, Germany), *S. aureus*은 Mannitol Salt Agar(Difco, Becton and Dickinson Company, Sparks, MD, USA), *S. Typhimurium*은 Xylose Lysine

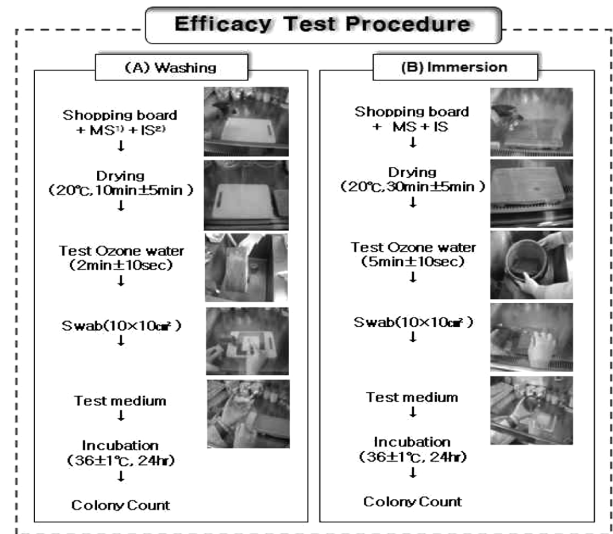


Fig. 1. Efficacy test procedure of ozone water. A, Washing; B, Immersion; <sup>1</sup>MS, Microbial suspension; <sup>2</sup>IS, Interference substance

Desoxycholate (Difco, Becton and Dickinson Company), *B. cereus*는 MYP agar(Difco, Becton and Dickinson Company)에 무균적으로 도달하여 35°C에서 24시간 배양하였다. 배양 후 균수 측정법에 따라 계수하여 균감소율(CFU/100 cm<sup>2</sup>)을 표시하였다. 균 감소율은 건조된 도마표면의 미생물 수에서 오존수 처리 후 잔존 미생물 수를 뺀 결과를 로그 치환하였고 동일 조건에 대한 실험을 2회 반복하였다.

### 통계처리

각 시험조건에 대한 미생물 제어효과를 평균±표준편차로 표시하였고, 개별 결과에 대한 통계분석을 위하여 Statistica Ver 7.1 (StatSoft, Inc., Tulsa, OK, USA)을 이용하였으며, 유의성 검증을 위하여 ANOVA로 분석한 뒤 유의적 차이를 Duncan법으로 검증하였다.

## 결과 및 고찰

네 가지 식중독 세균에 오염된 도마표면을 오존수로 세척 및 침지 처리한 결과는 Fig. 2-5에 각각 나타내었다. 각 균주는 오존수 처리 방법, 오존수의 농도, 도마의 재질에 따라 살균효과가 다르게 나타났다. *E. coli* O157:H7의 경우, 오존수를 농도별로 0.1-10 ppm 처리한 결과, 농도 증가에 따른 유의적인 차이를 보였고 살균효과 증가를 확인하였다( $p < 0.05$ ). 세척과 침지가 현저하게 유의적인 차이를 나타내어 세척보다 침지 처리가 더 큰 살균효과를 보였고( $p < 0.05$ ), wood에서 보다는 HDPE표면에서 더 큰 살균효과를 관찰할 수 있었다. HDPE 도마 표면의 경우 세척 처리 시 0.1-5 ppm에서 약 3 log, 10 ppm에서 5 log 감소효과를 보였으나 wood 도마 표면에서는 5 ppm에서도 1 log 이하의 감소만을 보였다. HDPE 도마 표면을 침지 처리하였을 경우 0.1 ppm에서 5 log, 1-10 ppm에서 약 6 log 감소효과를 보였으나, wood 도마 표면에서는 0.1 ppm에서 1 log, 1-10 ppm에서 약 2 log의 감소효과만을 보였다. *S. aureus*의 경우 HDPE 도마 표면에 세척 처리 시 0.1-5 ppm에서 1 log 이하, 10 ppm에서는 약 2 log의 감소효과를 보였고 wood 도마 표면에서는 0.1-10 ppm에서 1 log 이하의 감소

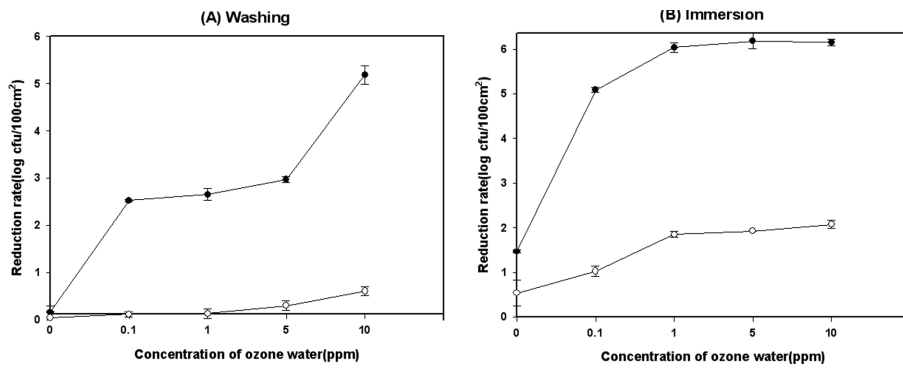


Fig. 2. Efficacy of ozone water against *E. coli* O157:H7 on chopping board by washing and immersion. ●, HDPE; ○, Wood.

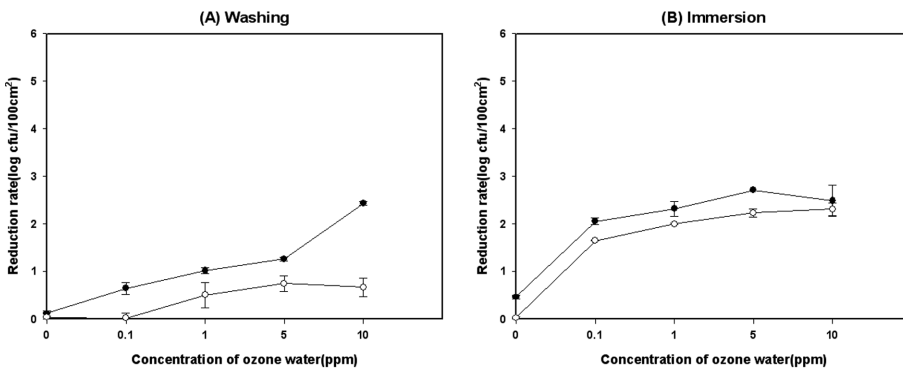


Fig. 3. Efficacy of ozone water against *S. aureus* on chopping board by washing and immersion. ●, HDPE; ○, Wood.

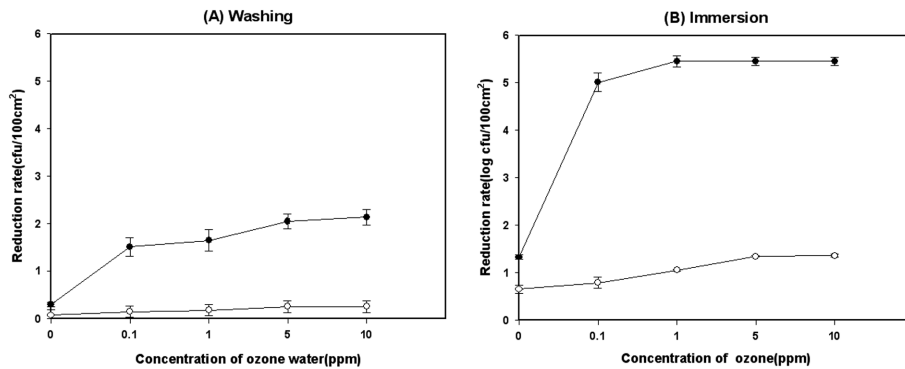


Fig. 4. Efficacy of ozone water against *S. Typhimurium* on chopping board by washing and immersion. ●, HDPE; ○, Wood.

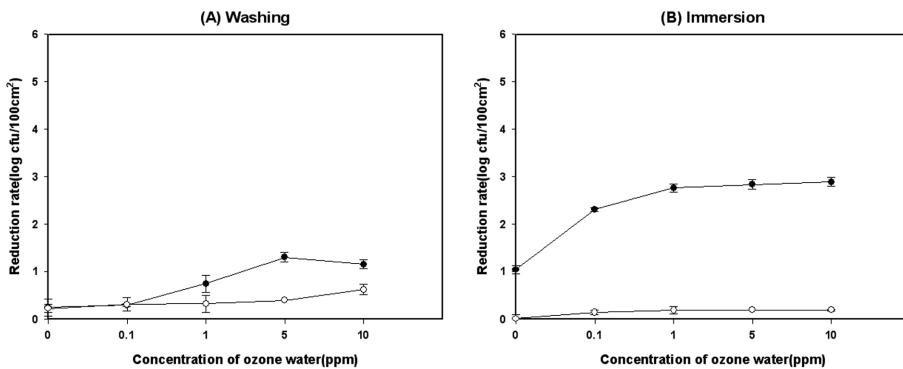


Fig. 5. Efficacy of ozone water against *B. cereus* on chopping board by washing and immersion. ●, HDPE; ○, Wood.

를 보였다. 침지하였을 경우 HDPE, wood 도마 표면 모두 0.1-10 ppm에서 약 2 log 감소하여 그람 음성균인 *E. coli* O157:H7과 *S. Typhimurium* 보다 낮은 감소율을 보였다. *S. Typhimurium*의 경우 washing 처리 시 0.1-10 ppm에서 약 2 log 감소효과를 보였으나 wood 도마 표면에서는 1 log 이하의 감소만을 보였다. HDPE 도마 표면을 침지하였을 경우 1-10 ppm에서 약 5-6 log 감소효과를 보였으나, wood 도마 표면에서는 1-10 ppm에서 1 log의 감소효과만을 보였다. *B. cereus*는 HDPE 도마 표면에 세척 처리 시 0.1-10 ppm에서 1 log의 감소효과를 보였고 wood 도마 표면에서는 HDPE 도마 표면보다 낮은 감소를 보였다. 침지하였을 경우 HDPE 도마 표면 처리 시 0.1-10 ppm에서 2-3 log 감소하였으나 wood 도마 표면에서는 다른 농도에서 1 log 이하의 낮은 감소를 보였다. 본 연구 결과, 그람 양성균인 *S. aureus*와 *B. cereus*보다 그람 음성균인 *E. coli* O157:H7과 *S. Typhimurium*이 오존수에 감수성이 높은 결과를 나타내었다. 이는 Sheldon 과 Brown(19)이 닭 도체에 3.0-4.5 ppm의 오존수를 처리하여 *E. coli*, Coliform, *Salmonella*를 91% 감소시킨 보고와 유사하며 Guentzel 등(20)이 보고한 오존에 가장 감수성이 높은 세균이 그람 음성균이고, 다음이 그람 양성 비포자형성균이며, 포자 형성균이 가장 강한 저항성을 보인다는 보고와 유사하다. 이는 그람 음성균인 *E. coli* O157:H7의 세포벽을 구성하는 지방단백질이 오존에 대한 저항력이 낮기 때문인 것으로 사료되었다. 본 연구는 살균한 도마를 사용하였으나 음식찌꺼기가 있거나 식품에 적용 시에는 그 효과가 더 낮아질 것으로 생각된다. 이는 Mohammad와 Habibi(21)가 보고한 *S. aureus*가 접촉된 건조과실류에 대해서 1 ppm과 5 ppm의 오존수를 처리한 결과, 시간과 농도에 상관없이 1 log 이하의 차이를 보인 결과와 유사하며 또한 Serdar 등(22)도 말린 무화과에서 병원성미생물을 오존수(1-10 ppm)로 처리한 결과, 오존수의 농도가 살균력에 영향을 미치지 않는다고 하였다. 본 연구결과, 나무도마 표면에 비해 HDPE 도마 표면의 병원성미생물 감소율이 높은 결과를 보였다. 이는 Hampson(23)이 나무표면보다 HDPE 표면에서의 미생물 감소효과가 20% 정도 높았다는 보고와 유사하며 Lee와 Park(24)도 염소용액 살균 시 스테인리스 표면의 미생물은 99.9% 제거되었으나 나무도마 표면에서는 미생물 감소효과가 낮았다고 하였다. 이는 나무도마 표면에 있는 미세한 홈집 속으로 침투된 미생물이 오존수의 영향을 덜 받기 때문인 것으로 판단된다. 본 연구결과 세척보다 침지 처리가 높은 살균효과를 보였는데, 이는 Kim과 Chang(25)이 0.1%의 식초 소독액에 3회 세척한 부추의 경우 저장시간에 따라 총균수와 대장균수가 증가하였으나 침지하였던 부추는 저장 시 총균수와 대장균수가 오히려 감소하였다는 보고와 유사하다.

## 요 약

식품 및 식품접촉 표면의 식중독균을 제어하기 위해 오존수를 사용하는 사례가 증가하고 있다. 본 연구는 HDPE 도마와 나무도마에 오염된 식중독균 제거를 위해 오존수 처리의 살균효과를 평가하였다. *E. coli* O157:H7, *S. aureus*, *S. Typhimurium*, *B. cereus* 모두 오염원 도마 표면을 오존수로 처리 시 농도 증가에 따른 1-5 log의 살균력이 관찰되었고, 세척보다는 침지 처리가 살균력이 높았다( $p < 0.05$ ). *E. coli* O157:H7, *S. Typhimurium* 등 그람 음성균이 *S. aureus*, *B. cereus* 등 그람양성균보다 오존수에 대한 저항성이 낮았으며, 나무도마보다 HDPE 도마에서 더 높은 살균력을 보였다. 본 연구 결과는 식품가공공장의 식품접촉 표면 식중독 미생물 제어에 효과적으로 활용될 것이다.

## 감사의 글

본 연구는 2007년도 식품의약품안전청의 지원[07052식품안전015, 살균소독제 관리방안에 관한 연구]과 경기도에서 지원하는 경기도지역협력연구센터사업(GRRC)에 의해 연구되었으며 이에 감사드립니다.

## 문 헌

- Alterkruse SF, Cohen ML, Swerdlow DL. Emerging foodborne disease. *Emerg. Infect. Dis.* 3: 285-293 (1997)
- Kim IJ, Kim YS, Kim HI, Choi HC, Jeon DH, Lee YJ and Ha SD. Assessment of both standard and isolated *vibrio parahaemolyticus* on efficacy of commercial sanitizers and disinfectants. *J. Fd Hyg. Safety* 22: 127-131 (2007)
- Kim BS, Jung JW, Jo JH, Park HW. Development of surface sterilization system for fresh leafy vegetables (E036002-0299). Korea Food Research Institute, Gyeonggi, Korea (2002)
- Jung JW, Kim YH. Surface sterilization effect of electrolyzed acid-water on vegetable. *Korean J. Food Sci. Technol.* 28: 1045-1051 (1996)
- No SY. Effect of lamp type ozone generator on inactivation of microorganism and product quality of *Angelica keiskei*. MS thesis, Yonsei University, Seoul, Korea (2003)
- EPA. 815R99014-Alternative Disinfectants and Oxidants Guidance Manual. Environmental Protection Agency, Washington DC, USA. p. 550 (1999)
- Graham DM. Use of ozone for food processing. *Food Technol.* 51: 72-75 (1997)
- Pikaev AK. Sixth International Conference on Advanced Oxidation Technologies for Water and Air Remediation. *High Energy Chemistry* 35: 50-54 (2001)
- Stephen PW, Ali D, Robert EG, Stephen BS, Robert FR. Response surface modelling for cleaning and disinfecting materials used in milking systems with electrolyzed oxidizing water. *Int. J. Dairy Technol.* 58: 65-73 (2005)
- Joanna SC, Masayuki ST, Robert HD. Ozone Industry Application. 23: 224-235 (1987)
- Joanna PL, Nobuya HS, Chobei YB. Studies on electrical discharge effects in a foaming environment. *J. Appl. Phys.* 40: 7061-7066 (2001)
- Kim JG, Kim AM. Ozone and its current and future application in the food industry. *Adv. Food Nutr. Res.* 45: 167-218 (2001)
- Guzel-Seydim ZB, Greene AK, Seydim AC. Use of ozone in the food industry. *Lebensm.-Wiss. Technol.* 37: 453-460 (2004)
- Korea Food & Drug administration. Food additive standard 2007-74. Available from: <http://www.kfda.go.kr>. Accessed Nov. 9, 2007.
- Juli HW, Li RN. Disinfection effect of chlorine dioxide on viruses, algae and animal planktons in water. *Water Res.* 31: 455-460 (1997)
- Jung JW. Development for preservation technology keeping initial quality of fresh fruits and vegetables using ultra low temperature water. GA0261-0109. Korea Food Development Institute and Ministry of Agriculture & Forestry, Korea (2001)
- Kim JG, Yousef AE, Khadre MA. Ozone and its current and future application in the food industry. *Food Nutr. Res.* 45: 167-218 (2003)
- ISO. Microbiology of food and animal feeding stuffs-Horizontal methods for sampling techniques from surfaces using contact plates and swabs (ISO 18593). 1st ed. International Organization for Standardization, Switzerland (2004)
- Sheldon BW, Brown R. Efficacy of ozone as a disinfectant for poultry carcasses and chill water. *J. Food Sci.* 51: 305-9 (1986)
- Guentzel JL, Lam KL, Michael MA. Reduction of bacteria on spinach, lettuce, and surfaces in food service areas using neutral electrolyzed oxidizing water. *Food Microbiol.* 25: 36-41 (2008)
- Mohammad B, Habibi N. Efficacy of ozone to reduce microbial populations in date fruits. *Food Control* 20: 27-30 (2008)

22. Serdar, Blent Z, Kiroglu ZF. Effect of ozone treatment on microflora of dried figs. *J. Food Eng.* 75: 396-399 (2006)
23. Hampson B. Use of ozone for winery and environmental sanitation. *Pract. Winery & Vineyard* 27-30 (2000)
24. Lee HJ, Park MJ. Effect of food additives on heat sensitivity of *Listeria monocytogenes* H-12 and decontamination of kitchen utensils. *J. Korean Fish. Soc.* 33: 524-528 (2000)
25. Kim SH, Chung SY. Effect of pre-preparation with vinegar against microorganisms on vegetables in food service operations. *J. Korean Soc. Food Sci. Nut.* 3: 230-237 (2003)