

전해수를 이용한 들깨잎 중 *Salmonella Typhimurium*과 *Staphylococcus aureus*의 저감화 효과 분석

김세리 · 류경열¹ · 이명희² · 정찬식² · 윤요한³ · 심현보⁴ · 김주희 · 김병석 · 유순영⁵ · 김두호 · 윤종철 · 정덕화^{4*}

농촌진흥청 국립농업과학원 농산물안전성부, ¹농촌진흥청 연구정책국 평가관리과, ²농촌진흥청 국립식량과학원 기능성작물부, ³숙명여자대학교 생활과학부 식품영양학과, ⁴경상대학교 응용생명과학부, ⁵서울지방식품의약품안전청

Evaluation of the Bactericidal Activity of Electrolyzed Water against *Salmonella Typhimurium* and *Staphylococcus aureus* on Perilla Leaves

Se-Ri Kim, Kyoung Yul Ryu¹, Myoung-Hee Lee², Chan-Sik Jung², Yohan Yoon³, Won-Bo Shim⁴, Ju-Hee Kim, Byung-Seok Kim, Soon-Young Yoo⁵, Doo-Ho Kim, Jong-Chul Yun, and Duck-Hwa Chung^{4*}

Department of Agro-Food Safety, NAAS, RDA

¹R&D Evaluation Division, Research Policy Bureau, RDA

²Department of Functional Crop, NICS, RDA

³Department of Food & Nutrition, Sookmyung Women's University

⁴Division of Applied Life Science, Gyeongsang National University

⁵Seoul Regional Korea Food & Drug Administration

Abstract This study was conducted to evaluate the bactericidal activity of weakly alkalic electrolyzed water (WEW) against *Salmonella Typhimurium* and *Staphylococcus aureus* on perilla leaves. The influences of organic matter, inform of bovine serum, and the ratio of WEW to perilla leaves on bactericidal activity of WEW were also examined. Treatment of these organisms with 25, 50, 75, and 100 ppm WEW was performed for 1 min, 3 min and 5 min, respectively. Higher bactericidal activity was observed after a treatment with 100 ppm WEW compared to a treatment with 25 ppm WEW by 0.7 log₁₀CFU/g. The bactericidal activity of WEW also decreased with increasing bovine serum concentration. At the ratio of 10:1 (WEW: perilla leaf), levels of *Salmonella Typhimurium* and *Staphylococcus aureus* were only reduced by 0.57 and 0.79 log₁₀CFU/g, respectively. It is suggested that the removal of organic debris prior to application of sanitizers and treatment above the ratio of 25:1 (WEW: perilla leaf) is needed in order to improve WEW activity.

Keywords: perilla leaves, weakly alkalic electrolyzed water, *Salmonella Typhimurium*, *Staphylococcus aureus*

서 론

최근 국민들의 생활수준향상과 건강에 대한 관심 증대로 육식보다는 채식, 가공품보다는 자연식품을 선호하고 있다(1). 특히 웰빙(well-being)의 영향으로 샐러드바, 새싹비빔밥 등의 신선채소류의 소비가 증가하는 추세이다(2). 조리하지 않고 바로 섭취하는 농산물의 소비가 대폭 증가하면서 신선농산물이 원인이 된 식중독발생보고 건수가 증가하고 있어 농산물의 안전성에 관한 소비자들의 우려가 높아지고 있다(3). 미국의 경우 1996년부터 2008년까지 농산물과 관련된 식중독이 82건 발생하였으며 그 중 엽

채소와 관련된 사고는 28건 이었다(4-6). 또한 국내에서는 농산물이 직접적인 원인이 되어 식중독이 발생한 사례가 많이 보고되고 있지는 않지만 농산물에서 *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Salmonella* spp. 등이 검출되었다는 보고가 있어 국내에서도 농산물의 유해미생물 관리는 대단히 시급한 실정이다(7,8).

식중독세균은 단순 물 세척만으로는 충분히 미생물 위해인자를 제거하기 어렵기 때문에 전 세계적으로 비가열 조리 신선농산물의 살균소독제 처리에 대한 연구가 활발하게 진행되고 있다(9-12). 가장 널리 이용되고 있는 살균소독제는 차아염소산나트륨 용액(NaOCl), 이산화염소(ClO₂) 등이 있으며 이들 소독제는 독성 때문에 문제가 된다(12). 너무 높은 농도나 장시간 사용 시 이미, 이취에 의한 관능적 품질의 저하, 과채류의 손상 및 잔류염소에 의한 2차적 위해요소의 큰 문제점을 초래할 수 있어 반드시 여러번의 행균과정을 거쳐 염소농도를 식수와 동일한 수준으로 낮추어야하는 등의 불편을 겪고 있다(13). 이러한 문제점을 해결하기 위해서 이미 선진외국에서는 속효성의 살균력과 인체에 무해한 전해수를 이용한 표면살균 처리 및 세정기술에 대한 연구가 진행되어 오고 있다(9,10).

*Corresponding author: Duck-Hwa Chung, Division of Applied Life Science, Gyeongsang National University, Jinju, Gyeongnam 660-701, Korea

Tel: 82-55-772-1903

Fax: 82-55-757-5485

E-mail: dhchung@gnu.ac.kr

Received March 28, 2012; revised May 30, 2012;

accepted June 2, 2012

일반적으로 신선농산물의 미생물 저감화를 목적으로 사용될 경우는 대부분 산성전해수가 사용되는데 산성전해수를 사용할 경우 금속성 장비에 부식을 유발하고 농산물에 적용할 시 변색을 유발할 수 있어 최근의 농산물에 전해수를 적용한 연구는 산성 전해수에서 약알카리 혹은 미산성전해수로 전환되고 있다(14). 그 중 약알카리전해수는 비격막식 전해수 생성장치에서 제조되는데 산성전해수와 같이 소금과 물을 첨가하여 전기분해 한 뒤 양극에서 생성된 물질을 음극으로 보내면 pH 8.0-9.0, 성분은 HOCl, NaOCl, ClO⁻, HO₂ 그리고 ·O₂인 전해수가 생성된다(15). 전해수의 미생물 저감화 기작은 높은 산화·환원전위에 의한 것이다. 높은 산화·환원전위는 세포내부에서 전자의 흐름을 변화시켜 대사흐름(metabolic flux)과 ATP 생성의 변화(modification)을 유발한다(16). 또한 HOCl은 당질대사에 관여하는 효소의 sulfhydryl group을 chlorine-oxidizing을 일으켜 glucose-oxidation을 방해하여 미생물 세포를 사멸시키는 역할을 한다(17). 그 외에도 염소(chlorine)는 단백질합성을 저해하거나, 아미노산을 oxidative decarboxylation 시켜 nitrates와 aldehyde를 생성시키며 세포 내의 효소들을 파괴하여 대사를 저해하는 등을 통하여 미생물을 저감화한다(18). 즉, 전해수의 효과는 높은 산화환원전위와 유리염소의 결합효과에 의한 것이다.

그러나 전해수를 농산물 세척에 사용할 때 토양과 같은 유기물의 존재, 전해수와 농산물의 비율 등은 전해수의 효과에 영향을 줄 수 있다. Park 등(19)은 전해수로 토마토와 양파 소독시 유기물을 첨가하고 전해수의 *E. coli* O157:H7, *Salmonella* Typhimurium, *Listeria monocytogenes*의 살균효과를 분석하였더니 유기물의 농도가 증가 할수록 살균효과는 감소한다고 보고하였다. 또한 Beuchat 등(20)은 상추와 소독제의 비율을 1:100, 1:10, 1:4, 1:2로 처리했을 때 상추와 소독제 비율이 감소할수록 소독제 속의 잔류염소량이 감소한다고 보고하였다. 따라서 전해수에 의한 식중독균 저감효과를 극대화하기 위해서는 농산물 중 유기물이 전해수의 살균효과에 미치는 영향과 농산물과 소독제의 최적 비율을 조사하는 것이 필요하다. 하지만 산성전해수에 대한 살균효과에 대한 연구는 그동안 많은 연구자에 의해 수행되어 왔지만 알카리성전해수의 효과, 유기물이 전해수의 살균효과에 미치는 영향, 농산물과 소독제의 최적 비율 설정에 대한 연구는 드문실정이다.

따라서 본 연구에서는 엽채류 중 국내 일일 평균 섭취량이 많은 들깻잎을 대상(21)으로 전해수의 식중독균 (*Salmonella* Typhimurium, *Staphylococcus aureus*) 저감효과를 분석하였다. 또한 유기물의 존재 및 전해수와 농산물의 비율이 전해수의 효과에 미치는 영향을 분석하여 수확 후 처리시설이나 단체급식소 등에 들깻잎 세척에 관한 기초자료를 제공하고자 한다.

재료 및 방법

사용된 균주

사용된 균주는 *S. aureus*(ATCC 13565 ATCC 23235, ATCC 29213), *S. Typhimurium* (ATCC 19585, ATCC 13311, DT104)였다. 각 균주는 7 mL TSB(Difco Laboratories, Detroit, MI, USA)에서 37°C, 180 rpm에서 24시간 동안 배양한 뒤 배양액을 10,000×g의 조건으로 10분간 원심분리하고 상등액을 제거하였다. 이후 균체를 각각 0.1% peptone water(PW; Difco Laboratories)에 현탁시키고 O.D. 1로 조정한 후 10배 희석하였다. 6종의 균주를 1 mL씩 혼합하여 각 균주의 최종농도가 약 10⁸ CFU/mL이 되게 혼합배양액(culture cocktail)을 조제하였다. 혼합배양액의 초기농도 확인은 9 mL의 0.1% PW에서 10배씩 희석하고 *S. Typhimu-*

*rium*은 xylose lysine desoxychate agar(XLD; Difco Laboratories)에 *S. aureus*는 Baird-parker agar(BPA; Oxoid Ltd., Basingstoke, UK)에 농도별로 200 μL씩 도말하였다. 각각의 접종된 배지는 37°C에서 24시간 동안 배양되었으며 배양 뒤 생성된 colony 중 전형적인 colony 수를 계수하였다.

전해수 준비

본 연구에서는 25, 50, 75, 100 ppm 농도의 전해수를 사용하였고 생성과정은 다음과 같다. 먼저 20% NaCl(Duksan, Gyeonggi, Korea)용액을 전해수 생성장치(HBS 3000, Han-Bio, Incheon, Korea)에 주입하고 25 ppm은 23 A, 50 ppm은 34 A, 75 ppm은 44 A, 100 ppm은 60 A의 전류를 흘려보내어 제조하였다. 전해수는 살균력을 최대화하기 위하여 처리 바로 직전에 제조하여 사용하였으며 유효염소농도를 확인하기 위하여 유효염소농도측정기(HI 95771 Chlorine Ultra HR ISM; HANNA instruments Inc., Seoul, Korea)를 사용하였다.

전해수의 미생물 저감화 효과분석

전해수의 처리농도와 처리시간에 따른 효과를 검증하기 위하여 사용된 들깻잎은 2010년 3-4월에 수원시 소재의 하나로마트에서 실험 당일 구매하여 사용하였다. 전해수 처리 전 흐르는 물에서 들깻잎을 1차 세척하여 토양, 먼지를 제거하고 1차 증류수로 행겼다. 이후 1시간 동안 소쿠리에서 물을 뺀 후 본 연구에 사용하였다. 앞서 언급한 혼합배양액 800 μL을 micro pipette으로 들깻잎 10 g(약 4-5장)에 spotting법으로 접종하고 clean bench에서 1시간 30분 동안 건조하였다. 접종 후 건조된 들깻잎 10 g을 1 L 비커에 넣고 25, 50, 75, 100 ppm의 전해수용액 500 mL을 각각 가한 후 1, 3, 5분 동안 100 rpm으로 교반하면서 반응시켰다.

유기물 함량에 따른 전해수의 미생물 저감화 효과검정

유기물의 존재가 전해수의 미생물 저감효과에 미치는 영향을 평가하였다. 흙, 먼지를 정량적으로 투입하기 어렵기 때문에 Park 등(19)의 방법에 따라 대체물질로 bovine serum(Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA)을 사용하였다. Bovine serum은 멸균 phosphate buffered saline(PBS; Difco Laboratories)에 60 mg/L 수준이 되도록 녹이고 0.45 μm milipore filter (Watman, Clifton, NJ, USA)로 여과시킨 후 본 연구에 사용하였다. 앞서와 같이 접종된 들깻잎 10 g을 비커(1 L)에 넣고 100 ppm 전해수용액, bovine serum 150, 300, 450, 600 μg/L이 함유된 100 ppm 전해수용액을 각각 500 mL씩 가한 후에 1분 동안 100 rpm 속도로 교반기에서 반응시켰다.

들깻잎과 소독제 비율에 따른 전해수의 미생물 저감화 효과

들깻잎의 보다 효과적인 세척을 위해서 적절한 소독제와 들깻잎과의 비율을 탐색하고자 본 연구를 수행하였으며 본 실험을 위하여 *S. Typhimurium*과 *S. aureus*가 접종된 들깻잎 10 g(1:50), 20 g(1:25), 50 g(1:10)을 100 ppm 전해수 500 mL과 1분 동안 100 rpm 속도로 교반하면서 반응시켰다.

미생물 분석

전해수 처리가 끝난 들깻잎은 10 g씩 멸균백에 담고 90 mL의 Dey-Engley(DE) neutralizing broth(Difco Laboratories)을 넣은 후 stomacher(Bagmixer 400VW; Interscience, Paris, France)로 2분간 균질화 하였다. 균질화된 시료는 9 mL의 0.1% BPW를 사용하여

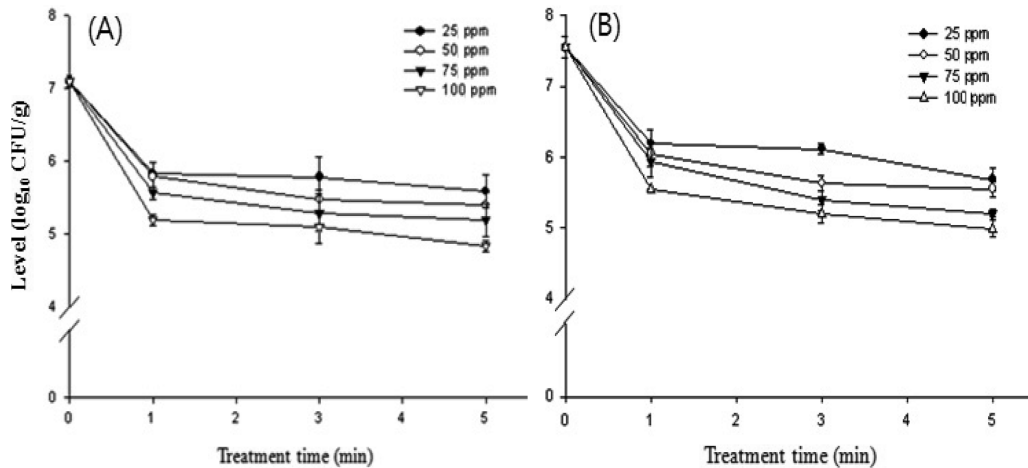


Fig. 1. Efficacy of weakly alkalic electrolyzed water with different concentration of chloride in killing *S. Typhimurium* (A) and *S. aureus* (B) cells inoculated on perilla leaves.

10배씩 희석되었으며 희석 후 *S. Typhimurium*은 xylose lysine desoxychate agar(XLD; Difco Laboratories)에 *S. aureus*는 Barid-parker agar(BPA; Oxoid Ltd.)에 농도별로 200 μ L씩 도말하였다. 각각의 접종된 배지는 37°C에서 24시간 동안 배양되었으며 배양 후 생성된 colony 중 선택배지에서의 각각의 전형적인 colony 수를 계수하였다(19).

통계처리

모든 실험은 3반복으로 수행되었으며 관찰된 실험결과는 SAS 통계 프로그램(version 9.1, SAS Institute, Cary, NC, USA)의 ANOVA procedure를 이용하여 분석되었다. 각각의 처리군이 통계적으로 유의적으로 나타나는 경우에($p < 0.05$) 각각의 3반복 실험에 의한 평균값은 Tukey test를 통하여 다중비교를 하였다.

결과 및 고찰

전해수 처리 농도와 시간에 따른 미생물 저감화

들깨잎 표면에 오염된 *S. Typhimurium*과 *S. aureus*에 대한 전해수 처리 농도와 시간에 따른 저감화 효과를 나타낸 결과는 Fig. 1과 같다. *S. Typhimurium*과 *S. aureus* 모두 농도에 따른 미생물 저감효과의 차이가 두드러지게 나타났다($p < 0.05$). *S. Typhimurium*은 1분 처리 후 25, 50, 75, 100 ppm에서 각각 1.26, 1.30, 1.52, 1.90 \log_{10} CFU/g가 감소하였다. 또한 *S. aureus*는 25, 50, 75, 100 ppm에서 각각 1.35, 1.49, 1.62, 2.01 \log_{10} CFU/g 수준으로 감소하여 농도가 증가함에 따라 미생물 제어효과는 증가하는 경향을 보였다. 한편, 두 균주 모두 처리 시간에 따른 효과는 나타나지 않았다($p > 0.05$).

Guentzel 등(22)은 상추 표면에서 *S. Typhimurium*, *S. aureus*, *L. monocytogenes*와 *E. faecalis*에 대한 중성전해수효과를 검정한 결과 100 ppm에서 10분간 처리하였을 때 균주에 따라 차이가 있었지만 저감화 수준은 *S. Typhimurium*은 3.34 \log_{10} CFU/g, *S. aureus*는 2.69 \log_{10} CFU/g 정도 감소하였다고 보고하였다. 이는 본 연구결과보다는 저감효과가 높은 결과이다. 염구조가 거칠고 굴곡이 많은 농산물 일수록 전해수 효과가 낫다는 Koseki 등(23)의 연구결과로 미루어 볼 때, 들깨잎은 중량 당 표면적이 다른 농산물에 비하여 넓고, 염구조가 거칠어서 상대적으로 상추에 비하여 전해수 효과가 낮은 것으로 판단된다. 하지만 중성전해수 100 ppm

으로 1분 이상 처리한다면 99%의 식중독균의 사멸은 가능하므로 살균, 소독제로서의 가치는 충분이 인정된다.

유기물 함량에 따른 전해수의 미생물 저감화 효과

소독제의 효과에 영향을 미치는 인자는 다양하다. 여러 가지 요인이 있지만 그 중에서도 농산물에 존재하는 흙, natural microflora 등 유기물질은 소독제의 효과를 저감시킨다고 보고된 바 있다(19). 따라서 들깨잎 세척시 유기물 존재가 소독에 미치는 영향을 확인하고자 연구를 수행하였으며 그 결과는 Fig. 2에 나타난 바와 같이 유기물 함량이 높아질수록 *S. Typhimurium*과 *S. aureus*에 대한 저감화 효과는 감소하는 것으로 나타났다.

유기물이 없는 상태에서 전해수를 처리했을 시에는 *S. Typhimurium*은 2.02 \log_{10} CFU/g 감소하였으나 300, 600 μ g/L 첨가시 각각 1.62, 1.10 \log_{10} CFU/g가 감소하였다. 또한 *S. aureus*의 경우도 전해수 단독처리에서는 2.08 \log_{10} CFU/g이었으나 600 μ g/L의 유기물이 함유된 상태에서 전해수에 의한 미생물 저감화는 1.28 \log_{10} CFU/g으로 0.8 \log_{10} CFU/g 정도의 효과가 감소되는 것으로 나타났다. Park 등(19)은 *S. Typhimurium*, *L. monocytogenes*, *E. coli* O157:H7를 약 7 \log_{10} CFU/g 접종된 양파에 산성전해수로 처리했을 때 유기물이 없을 때는 3분내 6 \log_{10} CFU/g 이상 감소하였으나 유기물이 300 μ g/L이 존재할 때는 각각 1.27 \log_{10} CFU/g, 0.82 \log_{10} CFU/g, 1.40 \log_{10} CFU/g만 감소하였다고 보고하였다. Huang 등(16)은 농산물에 존재하는 유기물은 mono-chloramine(NH_2Cl)이라는 물질이 생성되어 유효염소를 제거시키기 때문에 소독의 효율을 떨어뜨린다고 보고하고 있다. 따라서 자연환경에서 채배되는 농산물은 흙이나 먼지 등에 오염될 수밖에 없다. 하지만 소독제의 효과를 극대화 하기 위해서는 소독제를 처리하기 전에 유기물을 제거하는 과정이 선행되어야 한다.

들깨잎과 전해수 비율에 따른 미생물 저감화 효과

수확후 처리시설이나 단체급식소에서 농산물을 세척할 시 참고자료로 사용되는 학교급식관리 지침에 100 ppm으로 5분간 침지하라는 지침은 있으나 농산물과 세척액의 비율에 대해서는 언급하고 있지 않다(24). Beuchat 등(20)의 연구에서 양상추와 세척수의 비율에 따른 유효염소량을 측정할 바 있으며 그 결과 세척수가 양상추의 무게의 10배보다 적을 경우 유효염소량이 급감하여 세척의 효과가 떨어진다고 보고하고 있다. 따라서 들깨잎에

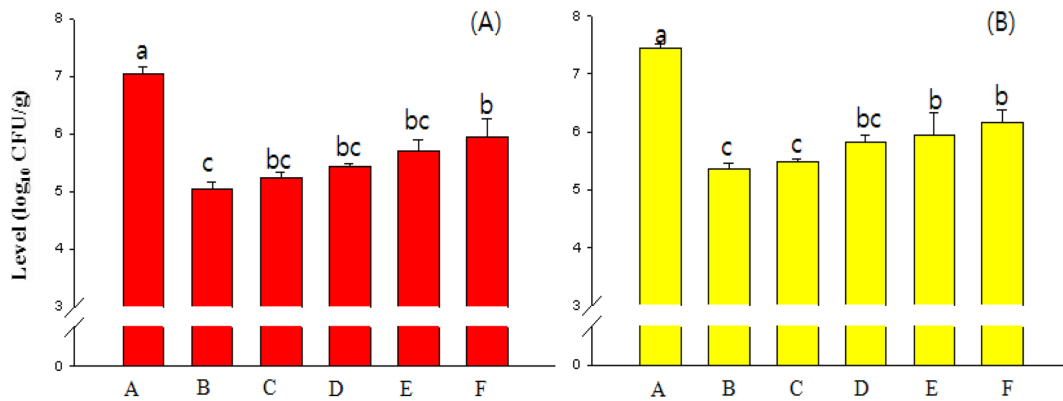


Fig. 2. Efficacy of weakly alkalic electrolyzed water combined with different concentration of bovine serum in killing *S. Typhimurium* (A) and *S. aureus* (B) cells inoculated on perilla leaves. A: Initial level, B: 100 ppm WEW, C: 100 ppm WEW with 150 μ g/L serum, D: 100 ppm WEW with 300 μ g/L serum, E: 100 ppm WEW with 450 μ g/L serum, F: 100 ppm WEW with 600 μ g/L serum

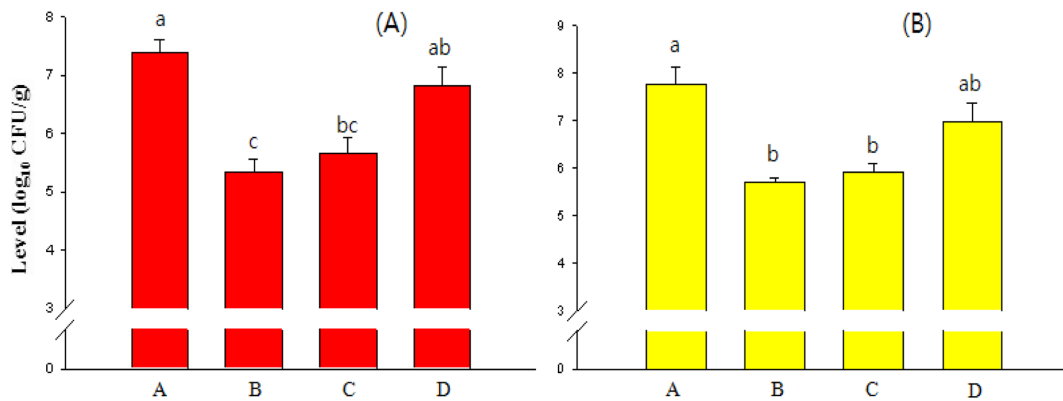


Fig. 3. The effect of the ratio between the weight of perilla leaves and the volume of weakly alkalic electrolyzed water in killing *S. Typhimurium* (A) and *S. aureus* (B) cells. A; Initial level, B; 1:50 (Perilla leaves: WEW), C; 1:25 (Perilla leaves: WEW), D; 1:10 (Perilla leaves: WEW)

존재하는 미생물의 저감화를 위해서 최적의 들깨잎과 전해수의 비율을 결정하고자 연구하였다. Fig. 3에서 보는 바와 같이 들깨잎과 전해수 비율이 1:50, 1:25, 1:10으로 전해수의 양이 줄어들면서 *S. Typhimurium*과 *S. aureus*의 저감화 효과는 유의적으로 줄어드는 것으로 나타났다($p < 0.05$). *S. Typhimurium*은 1:10, 1:25, 1:50으로 처리했을 때 저감효과는 각각 0.57, 1.73, 2.04 \log_{10} CFU/g으로 나타났다. 또한 *S. aureus*의 경우도 1:50과 1:25의 저감화 효과(약 2.0 \log_{10} CFU/g)는 유의차가 없었지만 1:10에서 저감효과는 0.79 \log_{10} CFU/g로 전해수에 의한 미생물저감 효과를 기대하기 어려웠다. Szabo 등(25)의 연구에서도 상추를 세척할 시 *L. monocytogenes*를 2.0 \log_{10} CFU/g 이상 저감시키기 위해서는 소독수와 상추의 비율을 1:19로 처리할 것을 권장하였다. 특히 들깨잎은 단위무게 당 엽면적이 양상추보다 4배 이상 커(들깨잎: 55 cm^2/g , 양상추: 12 cm^2/g , data not shown) 전해수의 살균 소독효과를 높이기 위해서는 타 엽채소보다 단위무게 당 전해수 비율을 높이는 것이 중요하다. 따라서 본 연구의 내용의 결과로 미루어 볼 때 들깨잎과 소독수의 비율을 1:25 이상 유지해야 할 것으로 사료된다.

요 약

본 연구는 들깨잎에 존재하는 *Salmonella Typhimurium*, *Staphylococcus aureus*에 대한 전해수의 저감효과를 분석하고 전해수로

의 유기물의 유입과 들깨잎과 전해수의 비율이 전해수의 효과에 미치는 영향을 분석하고자 수행하였다. 들깨잎에 *S. Typhimurium*과 *S. aureus*을 7.0 \log_{10} CFU/g 정도로 접종 한 후 25, 50, 75, 100 ppm에서 1, 3, 5분 동안 각각 처리하여 시간과 농도에 따른 전해수 효과를 분석하였다. 또한 유기물이 전해수의 효과에 미치는 영향을 분석하기 위해 전해수에 첨가한 유기물 농도는 150, 300, 450, 600 μ g/L 수준이었고, 들깨잎과 전해수의 처리비율은 1:10, 1:25, 1:50이었다. 그 결과, *S. Typhimurium*과 *S. aureus* 모두 유효 염소 농도가 증가할수록 미생물 저감효과도 높아지는 경향을 보였으며($p < 0.05$) 두 균주 모두 100 ppm 처리에서 25 ppm 처리에서 보다 전해수의 저감효과가 약 0.7 \log_{10} CFU/g 정도 높게 나타났다($p < 0.05$). 하지만 처리 시간에 따른 효과는 없었다($p > 0.05$). 또한 전해수 중 유기물 함량이 증가할수록 *S. Typhimurium*과 *S. aureus*의 제어효과는 감소하였다($p < 0.05$). 유기물 600 μ g/L 첨가시 유기물 첨가를 하지 않았을 때에 비하여 *S. Typhimurium*은 1.10 \log_{10} CFU/g, *S. aureus*는 0.8 \log_{10} CFU/g의 전해수 효과가 감소하였다. 들깨잎과 전해수의 처리비율은 1:10으로 처리하였을 때 미생물 저감효과는 *S. Typhimurium* 0.57 \log_{10} CFU/g, *S. aureus* 0.79 \log_{10} CFU/g로 전해수에 의한 미생물저감 효과를 기대하기 어려웠다. 따라서 들깨잎에서 *S. Typhimurium*과 *S. aureus*의 효과적인 제어를 위해서는 전해수 처리전에 물 세척을 통하여 흙과 먼지를 제거하고 전해수 농도 100 ppm에서 1분 이상 처리해야 한다. 또한 들깨잎과 전해수 비율은 1:25 이상 유지

하는 것이 바람직할 것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구는 농촌진흥청 공동연구사업(과제번호: PJ007612)의 지원에 의해 이루어진 것임.

문헌

- Kennedy E, Meyers L, Layden W. The 1995 Dietary Guidelines for America: An Overview. *J. Am. Diet. Assoc.* 96: 234-237 (1996)
- Kim YG, Kim TW, Ding T, Oh DH. Effect of electrolyzed water and citric acid on quality enhancement and microbial inhibition in head lettuce. *Korean J. Food Sci. Technol.* 41: 578-586 (2009)
- Choi JW, Park SY, Yeon JH, Lee MJ, Chung DH, Lee KH, Kim MG, Lee DH, Kim KS, Ha SD. Microbial contamination levels of fresh vegetables distributed in markets. *Korean J. Fd. Hyg. Safety* 20: 43-47 (2005)
- Food and Drug Administration. Guidance for Industry: Guide to Minimize Microbial Food Safety Hazards of Leafy Greens; Draft Guidance. Available from: <http://www.fda.gov/Food/Guidance-ComplianceRegulatoryInformation/GuidanceDocuments/Produce-andPlanProducts/ucm174200.html>. Accessed Jan. 15, 2010.
- Centers for Disease Control and Prevention. Update on Multi-State Outbreak of *E. coli* O157:H7 Infections From Fresh Spinach, October 6, 2006. Available from: <http://www.cdc.gov/ecoli/2006/september/updates/100606.html>. Accessed Feb. 20, 2010.
- Patel J, Sharma M. Differences in attachment of *Salmonella enteric* serovars to cabbage and lettuce leaves. *Int. J. Food Microbiol.* 139: 41-47 (2010)
- Kim SH, Kim JS, Choi JP, Park JH. Prevalence and frequency of food-borne pathogens on unprocessed agricultural and marine products. *Korean J. Food Sci. Technol.* 38: 594-598 (2006)
- Kim JS, Bang OK, Chang HC. Examination of microbiological contamination of ready-to-eat vegetable salad. *J. Fd. Hyg. Safety* 19: 60-65 (2004)
- Kim C, Hung YC, Brachett RE. Efficacy of electrolyzed oxidizing(EO) and chemically modified water on different types of food-borne pathogens. *Int. J. Food Microbiol.* 61: 199-207 (2000)
- Zhou B, Feng H, Luo Y. Ultrasound enhanced sanitizer efficacy in reduction of *Escherichia coli* O157:H7 population on spinach leaves. *J. Food Sci.* 74: 308-313 (2009)
- Oomori T, Oka T, Inuta T, Arata Y. The efficiency of disinfection of acidic electrolyzed water in the presence of organic materials. *Anal. Sci.* 16: 365-369 (2000)
- Sekiya S, Ohmori K, Harii K. Treatment of infectious skin defects or ulcers with electrolyzed strong acid aqueous solution. *Artif. Organs* 21: 32-38 (1997)
- Jeong JW, Kim JH, Kim BS, Jeong SW. Characteristics of electrolyzed water manufactured from various electrolytic diaphragm and electrolyte. *Korean J. Food Preserv.* 10: 99-105 (2003)
- Abadias M, Usall J, Oliveira M, Alegre I, Vinas I. Efficacy of neutral electrolyzed water (NEW) for reducing microbial contamination on minimally-processed vegetables. *Int. J. Food Microbiol.* 123: 151-158 (2008)
- Ayebath B, Hung YC. Electrolyzed water and its corrosiveness on various surface materials commonly found in food processing facilities. *J. Food Process Eng.* 28: 247-264 (2005)
- Huang YR, Hung YC, Hsu SY, Huang YW, Hwang DF. Application of electrolyzed water in the food industry. *Food Control* 19: 329-345 (2008)
- McPherson LL. Understanding ORPs in the disinfection process. *Water Eng. Manag.* 140: 29-31 (1993)
- Marriott NG, Gravani RB. Principles of Food Sanitation. 5th ed. Springer, New York, NY, USA. pp. 149-151 (2006)
- Park EJ, Alexander E, Taylor GA, Costa R, Kang DH. The decontaminative effects of acidic electrolyzed water for *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* Typhimurium, and *Listeria monocytogenes* on green onions and tomatoes with different organic demands. *Food Microbiol.* 26: 386-390 (2009)
- Beuchat LR, Farbar JM, Garrett EH, Harris LJ, Parish ME, Susslow TV, Busta FF. Standardization of a method to determine the efficacy of sanitizers in inactivating human pathogenic microorganisms on raw fruits and vegetables. *J. Food Protect.* 64: 1079-1084 (2001)
- Ministry of Health & Welfare. Report of Korea National Health & Nutrition Examination Survey. Available from: <http://knhanes.cdc.go.kr/>. Accessed Dec. 20, 2011.
- Guentzel JL, Lam KL, Callan MA, Emmons SA, Dunham VL. Reduction of bacteria on spinach, lettuce, and surfaces in food service areas using neutral electrolyzed oxidizing water. *Food Microbiol.* 25: 36-41 (2008)
- Koseki S, Yoshida K, Kamitani Y, Itoh K. Efficacy of acidic electrolyzed water for microbial decontamination of cucumbers and strawberries. *J. Food Protect.* 61: 1247-1251 (2004)
- MEST. Food Safety Guideline for School Food Service. Ministry of Education, Science and Technology, Seoul, Korea. p. 35 (2004)
- Szabo EA, Simons L, Coventry MJ, Cole MB. Assessment of control measures to achieve a food safety objective of less than 100 CFU of *Listeria monocytogenes* per gram at point of consumption for fresh precut iceberg lettuce. *J. Food Protect.* 66: 256-264 (2003)