KOREAN J. FOOD SCI. TECHNOL. Vol. 47, No. 6, pp. 719~724 (2015)
http://dx.doi.org/10.9721/KJFST.2015.47.6.719

KOREAN JOURNAL OF
한국식품과학회지
FOOD SCIENCE AND TECHNOLOGY

©The Korean Society of Food Science and Technology

어패류에 오염된 장염비브리오균(*Vibrio parahemolyticus*)에 대한 차아염소산수의 살균효과

김희연 · 최진경 · 신일식[1,*]
우송대학교 외식산업경영학과, [1]강릉원주대학교 해양식품공학과

Bactericidal Effects of Hypochlorous Acid Water against *Vibrio parahaemolyticus* Contaminated on Raw Fish and Shellfish

Hee-Yun Kim, Jin-Kyung Choi, and Il-Shik Shin[1,*]
Department of Foodservice Management, Woosong University
[1]Department of Marine Food Science and Technology, Gangneung-Wonju National University

Abstract The bactericidal effects of strongly acidic hypochlorous acid water (StAHA) and slightly acidic hypochlorous acid water (SlAHA) against *Vibrio parahaemolyticus* contaminated on surface of raw fish and shellfish were examined. *V. parahaemolyticus* contaminated with about 7.0 log CFU/g on the meat chunk of olive flounder (*Paralichthys olivaceus*), and yellow tail (*Seriola quinqueradiata*), and 4.0 log CFU/g on the shucked scallop (*Patinopecten yessoensis*) were not detected after washing with StAHA and SlAHA at a ratio of 30:1 on a sample weight basis. However, 1.0 log CFU/g of *V. parahaemolyticus* was survived on shucked oyster (*Crassostrea gigas*) under same treatment conditions. The bactericidal effects of acidic hypochlorous acid water against *V. parahaemolyticus* contaminated on surface of shucked oyster were not as effective as those against *V. parahaemolyticus* contaminated on surface of meat chunk of olive flounder, yellow tail, and shucked scallop. Such differences can be attributed to the complicated surface conformation of oyster.

Keywords: *Vibrio parahaemolyticus*, bactericidal effect, strong acidic hypochlorous acid water, mildly acidic hypochlorous acid water

서 론

삼면이 바다로 둘러 싸여 있는 우리나라에서 수산식품은 동물성 단백질 공급원으로서 주요한 위치를 차지하고 있으며, 2012년 총생산액은 76,890억원에 달한다(1). 그러나 수산식품은 그 생물학적 특성으로 인하여 미생물의 오염기회가 많고 쉽게 부패하는 특성을 가지고 있으며 매년 여름이면 어패류 및 그 가공품에 오염된 콜레라균(*Vibrio cholerae*), 비브리오 패혈증균(*V. vulnificus*)에 의한 전염병이나 장염비브리오균(*V. parahaemolyticus*)에 의한 식중독사고로 사망자가 발생하여(2) 생선회집을 비롯한 수산식품 산업에 막대한 경제적 피해를 끼치고 있다.

이들 균에 의한 식중독사고를 예방하기 위해서는 수산식품이나 원료에서의 병원체 존재 여부, 개인의 병력 파악 등 건강상태의 조사에 더하여 가공공장의 작업환경, 생선회집의 주방환경의 소독, 용수시설 및 수조해수의 살균 등 2차 오염에 의한 병원체의 오염 및 침입을 방지하는 것이 중요하다. 특히 최근의 생선회집은 날로 대형화하고 있으며, 또한 대부분 연안해수를 용수로서 이용(내륙의 경우 같은 해수를 장기간 사용)하기 때문에 해수 중에 병원체가 존재하면 수조 중의 어류, 주방환경 등의 오염에 의하여 식중독이 발생할 가능성이 높다고 하겠다. 또 병원미생물에 의하여 오염된 배수를 환경 중에 방출하게 되면 환경수가 오염되고 이 해수를 다시 용수로 사용하는 악순환이 반복될 위험성도 있다.

이에 수산식품의 위생학적 안전성 확보를 위한 새로운 소독 및 살균 기술의 필요성이 요구되고 있으며 그러한 기술의 하나로 차아염소산수(hypochlorous acid water)에 의한 살균에 관심이 집중되고 있으며, 차아염소산수를 이용한 어패류와 그 가공품, 가공공장의 작업환경, 생선회집의 주방기구 등에 부착하고 있는 미생물 제거 및 생선회집의 해수살균, 종묘생산 양식장의 해수 및 배수 살균에 대하여 일본, 미국을 중심으로 활발한 연구가 이루어지고 있다(3-6).

차아염소산수에는 희박식염수(0.2% 이하의 염화나트륨 수용액)를 유격막 전기분해조에서 전해하여 양극측으로부터 얻어지는 강산성차아염소산수(strong acidic hypochlorous acid water, 유효염소농도 20-60 ppm, pH 2.7 이하)와 2-6% 염산을 무격막 전기분해조 안에서 전해하여 얻어지는 미산성차아염소산수(mildly acidic hypochlorous acid water, 유효염소농도 10-30 ppm, pH 5.0-6.5)가 있으며 이들 차아염소산수는 살균효과가 뛰어나 식품산업의 현장에 있어서 식중독 원인 미생물의 오염제거, 식품소재의 살균으로 인한 건전성의 확보 등 식품의 안전성 확보를 위한 유효한 수단으로 인정되고 있다. 일본후생노동성에서는 2002년 6월 강산성차아염소산수와 미산성차아염소산수를 식품첨가물(살균제)로 인

*Corresponding author: Il-Shik Shin, Department of Marine Food Science and Technology, Gangneung-Wonju National University, Gangneung 25457, Korea
Tel: 82-33-640-2346
Fax: 82-33-640-2346
E-mail: shinis@gwnu.ac.kr
Received October 7, 2015; revised November 25, 2015; accepted November 25, 2015

정(후생노동성령 75호, 고시 212호)한 바 있고(7), 식품산업 현장에의 적용 또한 활발히 진행되고 있으며(7,8), 우리나라도 2007년 11월 강산성차아염소산수와 미산성차아염소산수를 식품첨가물로 인가한 바 있다(9).

차아염소산수는 염소소독에 비하여 훨씬 저농도의 유효염소농도로 단시간에 강력한 살균효과를 나타낸다. 그 효과는 병원성 비브리오를 비롯한 식중독세균(10), *Escherichia coli* O157:H7(11), *Listeria monocytogenes*(12), 포자형성균(10,13), 곰팡이(14), 황색포도상구균의 enterotoxin 분해(15), 세균, 원생동물인 아메바성 이질에 의해 오염된 음료수의 살균, 병원균에 오염된 손, 피부, 그리고 주방기구 등에 의한 2차 오염의 방지(16), 어병세균 및 바이러스에 대한 살균효과(5) 등 광범위한 응용이 가능하다.

본 연구에서는 수산식품의 위생학적 안전성을 확보하기 위하여 생선회 및 패류 등 수산식품의 주요 식중독균인 장염비브리오균(*V. parahaemolyticus*)에 대한 차아염소산수의 살균효과를 구명하였으며, 그 결과를 보고하는 바이다.

재료 및 방법

공시균주 및 균수 측정

실험에 사용한 균주는 *Vibrio parahaemolyticus* ATCC 17802로 35-37°C에서 brain heart infusion broth (Difco, Becton Dickinson and Company, Sparks, MD, USA)에 전 배양하였으며, 균수 측정은 식품공전(17) 중 장염비브리오균 정량시험법에 따라 측정하였다. 즉 시료 50 g을 취하여 450 mL의 인산완충용액(3% NaCl 함유)을 가하여 2분간 고속으로 균질화한 후, 10배 단계 희석액을 만든 다음 각 단계별 희석액을 Thiosulfate citrate bile salts agar (TCBS agar, Difco) 3장에 0.3, 0.4, 0.3 mL씩 총 접종액이 1 mL가 되게 도말하였다. 접종액이 배지에 완전히 흡수되도록 도말한 후, 10분간 실내에서 방치하고 35-37°C에서 18-24시간 배양한 다음 청록색의 서당 비분해 집락을 계수하였다. 계수한 평판에서 5개 이상의 전형적인 집락을 선별하여 2% 염화나트륨(NaCl)을 첨가한 보통한천배지(Plate count agar, Difco)에 접종하고 35-37°C에서 18-24시간 배양한 후 희석배수를 곱하여 측정하였다.

시료

실험에 사용한 넙치(Olive flounder, *Paralichthys olivaceus*), 방어(Yellow tail, *Seriola quinqueradiata*), 가리비(Scallop, *Patinopecten yessoensis*), 참굴(Oyster, *Crassostrea gigas*)은 강원도 강릉시 소재의 횟집에서 실험 당일 생물 상태로 구입하였으며, ice box (5°C)에 넣어 실험실로 운반하였다.

차아염소산수의 제조 및 물성 측정

강산성차아염소산수는 0.2% 염화나트륨 용액 60 L를 격막식 전해수 생성장치 DIPS-4K II (Wonjinenc Co., Ansan, Korea)와 연결된 물탱크에 넣고 전압 8.8 V, 전류 17.1 A, 유속 4.8 L/min로 전기분해하여 제조하였으며, 미산성차아염소산수는 4% 염산을 무격막식 전해수 생성장치(DIPS KI/KII/F, e-suenc Co., Ltd, Seoul, Korea)와 연결된 물탱크에 넣고 전압 7.2 V, 전류 17.1 A, 유속 4.8 L/min로 전기분해하여 제조하여 유효염소농도, 산화환원전위(oxidation-reduction potential, ORP), pH를 측정하였다. 유효염소농도는 각 차아염소산수 10 mL를 탈이온수로 100배 희석하여 휴대용 염소측정기(Pocket colorimeter, HACH Co., Colorado, USA)로 측정하였다. 산화환원전위와 pH는 각 차아염소산수 300 mL를 취하여 pH/ISE meter (Istek Co., Seoul, Korea)로 측정하였다.

멸균해수와 멸균수도수의 제조 및 물성 측정

대조구로 사용한 멸균해수는 자연해수를 pore size 0.45 μm의 membrane filter (Millipore Ireland Ltd, Cork, Ireland)로 여과멸균하여 제조하였으며, 멸균수도수는 일반수도수를 autoclave (Hiclave HVA-110, Hirayama Manufacturing Co., Tokyo, Japan)에서 121°C, 15분간 멸균하여 제조하였다.

차아염소산수의 살균효과 측정

넙치와 방어는 가식부(근육)를 일정크기의 block 형태로 잘라 50 g을, 가리비와 참굴은 가식부 50 g을 무균적으로 채취한 후 시료에 부착되는 균수가 10^7-10^8/g(가리비는 약 10^4-10^5/g)이 되도록 장염비브리오균 배양액에 시료를 60초간 침지하였다. 균이 오염된 각 시료를 멸균 핀셋으로 집고 시료 중량 대비 10배(500 mL), 20배(1,000 mL), 30배(1,500 mL) 용량의 강산성차아염소산수와 미산성차아염소산수를 분당 500 mL의 유속으로 시료 표면을 골고루 유수 세정하고, 500 mL의 탈이온수로 같은 방법으로 헹군 후 균수를 측정, 살균효과를 조사하였다. 대조구로는 같은 용량의 멸균해수와 멸균수도수를 사용하였다. 각 항목에 대하여 동일한 실험을 3회 반복 실시하였다.

통계처리

본 연구에서 모든 실험은 세 번 반복으로 행하였으며, 수치는 세 실험값의 평균값으로 나타내었다. 통계프로그램은 SPSS version 20 software (SPSS Inc., Chicago, IL., USA)에서 one-way ANOVA 중 Duncan's multiple range test (10)를 사용하여 $p<0.05$에서 유의성을 조사하였다.

결과 및 고찰

처리수의 물성

실험에 사용한 차아염소산수의 물성을 측정한 결과는 Table 1과 같다. 강산성차아염소산수의 유효염소농도는 35.23±0.42 ppm, ORP는 1125.33±13.46 mV, pH는 2.36±0.12이었고, 미산성차아염소산수의 유효염소농도는 32.61±0.35 ppm, 산화환원전위는 730.33±11.37 mV, pH는 5.87±0.09이었다.

넙치와 방어육에 오염시킨 장염비브리오균에 대한 차아염소산수의 살균효과

넙치육에 장염비브리오균을 인위적으로 오염시킨 후, 차아염소산수로 세정하여 그 살균효과를 조사한 결과는 Fig. 1과 같다.

멸균해수의 경우 10배의 양으로 세정한 결과, 장염비브리오균은 약 1.3 log 감소하였으며, 30배의 양으로 세정하여도 약 2.8 log 정도만 감소, 약 4.3 log의 균이 잔존하였다. 멸균수도수의 경우는 30배의 세정으로 약 4.5 log가 감소하여 유의적인 차이는 없었지만($p>0,05$) 멸균해수보다 살균효과가 좋았다. 이는 장염비브리오균이 호염성균이며, 담수에서 증식을 하지 못하는 것이 원인인 것으로 사료된다. 한편 강산성차아염소산수 및 미산성차아염소산수 공히 10배의 양으로 세정한 결과, 약 4.0 log가 감소하였으며, 30배의 양으로 세정한 경우, 검출한계 이하로 나타나 강력한 살균효과가 있는 것을 확인하였으며($p<0.05$) 방어에 있어서도 넙치와 비슷한 결과를 얻을 수 있었다 (Fig. 2). 이러한 결과는 장염비브리오균과 비브리오패혈증균 현탁액을 20배의 미산성차아염소산수(유효염소농도 약 35 ppm)와 혼합하였을 때, 30초 만에 균이 검출되지 않았고, 배양액의 경우 50배의 미산성차아염소산수로 60초간 처리하였을 때, 약 5.0 log의 균이 감소하였다는

Table 1. Properties of treatment water

Type	Available chlorine (ppm)	Oxidation-reduction potential (mV)	pH
Strongly acidic hypochlorous acid water	35.23±0.42[1)]	1125.33±13.46	2.36±0.12
Slightly acidic hypochlorous acid water	32.61±0.35	730.33±11.37	5.87±0.09

[1)]Values are mean±SD of triplicate analyses.

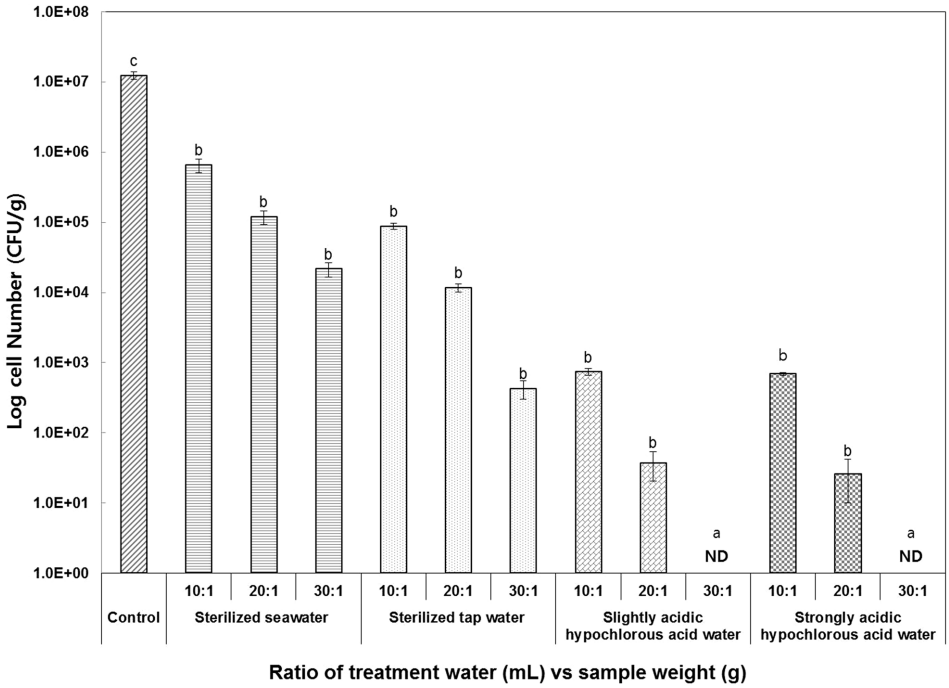

Fig. 1. Bactericidal activity of hypochlorous acid water against *V. parahaemolyticus* contaminated on meat chunk of olive flounder (*Paralichthys olivaceus*). ND, not detected.

보고(18)와 유사한 경향을 나타내었다. 한편 Lee 등(19)은 활어수조에 어류를 혼합 수용하고 사육용수에 장염비브리오균 배양액을 접종하여 1일간 오염시킨 후, 염소 농도가 0.07-0.09 ppm으로 유지되도록 전기분해를 실시하면서 해수를 순환시켜 어류의 아가미, 내장 및 표피의 장염비브리오균 농도 변화를 경시적으로 관찰한 결과 초기 균수 2.3-2.6 Log CFU/g의 장염비브리오 균은 아가미에서는 12시간 후, 내장에서는 36시간 후 그리고 표피에서는 24시간 후부터 검출되지 않았다고 보고한 바 있는데, 본 실험의 결과보다 많은 시간이 걸리는 이유에 대해서는 어류의 아가미, 내장 또는 표피에 세균이 부착한 경우 염소에 대한 노출지연과 점질물 등의 보호작용으로 사멸에 도달하는데 상대적으로 긴 시간이 필요한 것으로 사료된다고 하였다.

차아염소산수의 강한 살균력의 주요인으로서 처음에는 높은 ORP나 낮은 pH가 주요인이라고 간주되었지만, 일본 Functional Water Foundation 연구진에 의해 HOCl이 주요인인 것이 밝혀졌다(4). HOCl은 pH에 따라서 존재비율이 변하는데, pH가 강산성 차아염소산수 영역(pH 2.2-2.7)에서는 Cl_2와 HOCl가 약 2:8, 약산성차아염소산수 영역(pH 5-6.5)에서는 거의 HOCl만, 전해차아수 영역(pH 8-9)에서는 HOCl과 ClO^-가 약 1:9의 비율로 되며, 더 높은 pH에서는 ClO^-만이 존재하게 된다. 살균력은 HOCl이 ClO^-에 비하여 약 80배 정도 더 강한 것으로 알려져 있다. 따라서 유효염소농도 40 ppm의 차아염소산수는 1,000 ppm의 차아염소산나트륨용액에 필적하는 살균력을 나타낸다(4).

한편, 라디칼(radical) 소거제의 첨가에 의해 차아염소산수의 살균력이 약화됨으로써 ·OH (hydroxy radical)이 차아염소산수의 살균력에 관여하고 있는 것이 확인되었으며, 또한 차아염소산수에 Fe^{2+}를 첨가하였을 때, ·OH의 생성량이 증가하여, 차아염소산수에는 과산화수소(H_2O_2)가 존재하고, 펜톤(Fenton)반응에 의해 ·OH이 생성되는 것으로 알려져 있다(4). 차아염소산수는 세균의 핵산이나 단백질, 혹은 세포막에 손상을 주는데, 이것도 ·OH의 작용에 의해 설명할 수 있다. 이 살균메커니즘은 생체의 방어기작의 하나인 호중구(백혈구의 일종)의 살균메커니즘과 아주 유사하다. 호중구에서는 myeloperoxidase에 의하여 염소와 산소로부터 HOCl, NADPH oxidase에 의해 분자상 산소로부터 super oxide (O^{2-})와 H_2O_2가 생성되며, 여기에서 생성된 ·OH이 살균작용을 나타낸다. 즉 차아염소산수도 이와 같은 기구에 의해 살균효과를 발휘하는 것으로 볼 수 있으며, HOCl은 ·OH의 공급자로서의 역할을 하는 것으로 보고되고 있다(4,20).

가리비와 참굴에 오염시킨 장염비브리오균에 대한 차아염소산수의 살균효과

가리비에 장염비브리오균을 인위적으로 오염시킨 후, 차아염소산수로 세정하여 그 살균효과를 조사한 결과는 Fig. 3과 같다. 멸균해수의 경우 10배의 양으로 세정한 결과, 장염비브리오균은 약 1.3 log 감소하였으며, 30배의 양으로 세정하여도 약 2.8 log 정도만 감소, 약 5.1 log의 균이 잔존하였다. 멸균수도수의 경우도 30배의 세정으로 약 1.9 log가 감소하여 유의적인 차이는 없었다 (p>0.05). 한편 강산성차아염소산수 및 미산성차아염소산수 공히

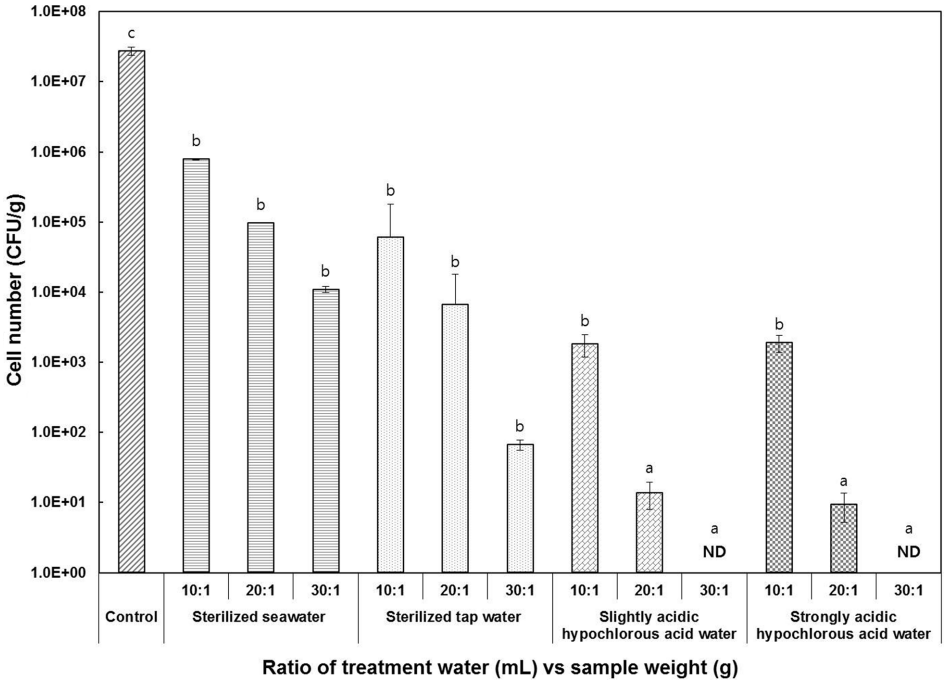

Fig. 2. Bactericidal activity of hypochlorous acid water against *V. parahaemolyticus* contaminated on meat chunk of yellow tail (*Seriola quinqueradiata*). ND, not detected.

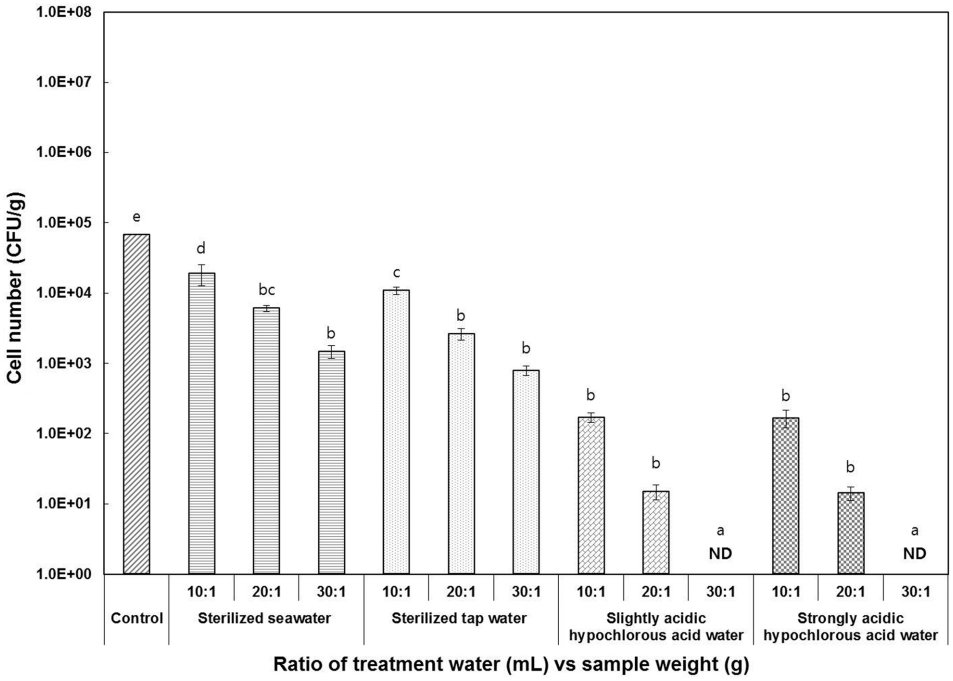

Fig. 3. Bactericidal activity of hypochlorous acid water against *V. parahaemolyticus* contaminated on edible part of scallop (*Patinopecten yessoensis*). ND, not detected.

10배의 양으로 세정한 결과, 약 4.2 log가 감소하였으며, 30배의 양으로 세정한 경우에는 장염비브리오균이 검출되지 않아 강력한 살균효과를 나타내었다(p<0.05).

참굴에 장염비브리오균을 인위적으로 오염시킨 후, 차아염소산수로 세정하여 그 살균효과를 조사한 결과는 Fig. 4와 같다. 멸균해수의 경우 10배의 양으로 세정한 결과, 장염비브리오균은 약 1.1 log 감소하였으며, 30배의 양으로 세정하여도 약 2.4 log 정도만 감소, 약 5.4 log의 균이 잔존하였다. 멸균수도수의 경우는 30배의 세정으로 약 3.6 log가 감소하여 유의적인 차이는 없었지만(p>0.05) 멸균해수보다 살균효과가 좋았다. 한편 강산성차아염소산수 및 미산성차아염소산수 공히 10배의 양으로 세정한 결과, 약 3.8 log가 감소하였으며, 30배의 양으로 세정한 경우, 7.0 log가 감소하여, 넙치, 방어, 가리비에 비해서는 살균효과가 다소 낮았지만 강력한 살균효과가 있는 것을 확인하였다(p<0.05).

Ren과 Su (10)는 순수 배양한 장염비브리오균(8.74×10^7 CFU/mL)과 비브리오 패혈증균(8.69×10^7 CFU/mL)을 강산성차아염소산

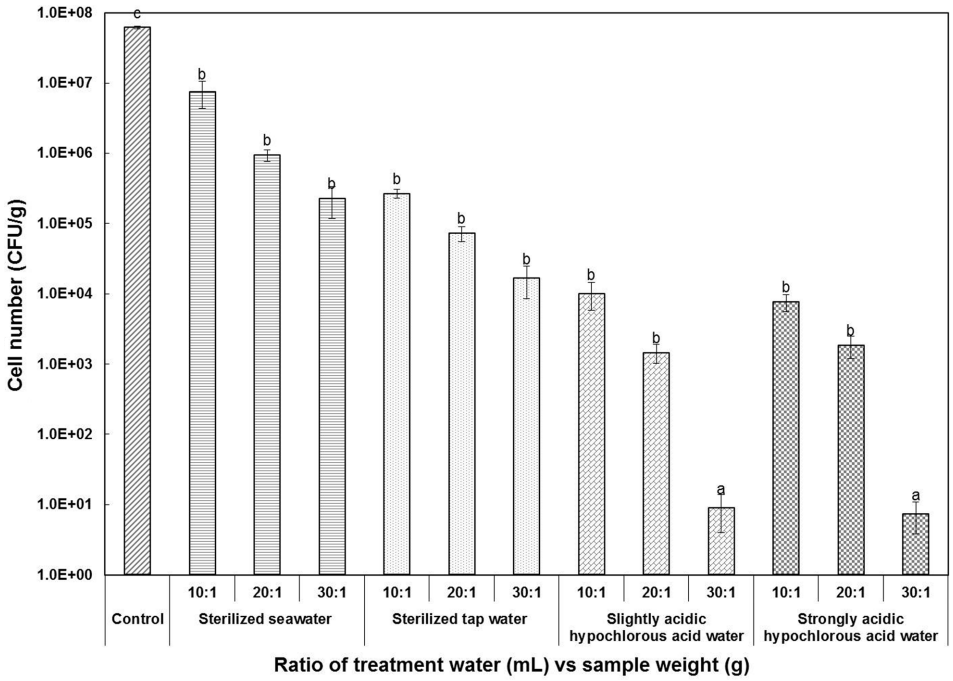

Fig. 4. Bactericidal activity of hypochlorous acid water against *V. parahaemolyticus* contaminated on shucked oyster (*Crassostrea gigas*).

수(염소농도, 30 ppm; pH 2.82; ORP, 1131 mV)로 처리한 결과 처리 15초만에 검출한계 이하로 감소하였지만, 살아있는 굴에 10^4-10^6 most probable number (MPN)/g의 장염비브리오균과 비브리오패혈증균을 오염시킨 후 강산성차아염소산수로 4-6시간 처리하여도 균수가 각각 1.13, 1.05 log MPN/g 밖에 감소하지 않았으며 8시간 이상 처리하는 경우 높은 염소농도(>30 ppm) 때문에 굴이 사멸하여, 차아염소산수를 패류에 사용하는 경우, 탈각 후에 사용하는 것이 보다 높은 살균효과를 얻을 수 있다고 보고한 바 있다. 본 실험의 경우 탈각 후 패육에 대한 차아염소산수의 살균효과를 조사하였기 때문에 짧은 시간에 살균효과가 높았던 것으로 판단된다.

한편 참굴에 비하여 가리비에 오염된 장염비브리오균에 대한 살균효과가 높게 나타났는데, 가리비의 경우 섭취 시 내장을 제거하고 패주와 아가미만 섭취하므로 실험에 사용한 가식부에서 참굴보다 패주가 차지하는 비율이 높고 복잡한 구조의 표면인 아가미의 비율이 상대적으로 낮았기 때문인 것으로 판단된다.

또한 어류에 비해 패류인 참굴에서 차아염소산수의 살균효과가 다소 떨어지는 것으로 나타났는데, 그 이유는 차아염소산수의 살균효과가 표면에 국한되기 때문인 것으로 판단된다. Suzuki(10)는 *E. coli* O157:H7를 오염시킨 무순을 강산성차아염소산수로 살균한 결과, *E. coli* O157:H7에 대한 살균효과가 거의 없었으며, 그 이유로서 *E. coli* O157:H7가 무순의 조직 안으로 침투하여, 표면살균효과를 지닌 강산성차아염소산수의 영향을 받지 않는다고 보고한 바 있는데, 본 실험의 경우도 이와 비슷한 결과로 패류의 경우 어류의 근육에 비하여 그 표면구조가 다소 복잡하기 때문에 차아염소산수의 살균력에 차이가 있는 것으로 판단된다.

요 약

넙치, 방어 어류 2종과 가리비, 참굴 패류 2종에 수산식품의 주요 식중독균인 장염비브리오균(*V. parahaemolyticus*)을 인위적으로 오염시킨 후, 강산성차아염소산수와 미산성차아염소산수의 살균효과를 조사한 결과를 요약하면 다음과 같다. 넙치에 장염비브리오균을 인위적으로 오염시킨 후, 강산성차아염소산수 및 미산성차아염소산수 공히 10배의 양으로 세정한 결과, 약 4.0 log가 감소하였으며, 30배의 양으로 세정한 경우, 검출한계 이하로 나타나 강력한 살균효과가 있는 것을 확인하였으며 방어에 있어서도 넙치와 비슷한 결과를 확인하였다. 가리비에 장염비브리오균을 인위적으로 오염시킨 후, 강산성차아염소산수 및 미산성차아염소산수 공히 10배의 양으로 세정한 결과, 약 4.2 log가 감소하였으며, 30배의 양으로 세정한 경우에는 장염비브리오균이 검출되지 않아 강력한 살균효과를 나타내었다. 참굴에 장염비브리오균을 인위적으로 오염시킨 후, 강산성차아염소산수 및 미산성차아염소산수 공히 10배의 양으로 세정한 결과, 약 3.8 log가 감소하였으며, 30배의 양으로 세정한 경우, 7.0 log가 감소하여, 강력한 살균효과가 있는 것을 확인하였지만 넙치, 방어, 가리비에 비해서는 살균효과가 다소 낮게 나타났다. 어류 근육이나 가리비에 비해 참굴에 오염된 장염비브리오균에 대한 차아염소산수의 살균효과가 다소 떨어지는 것은 참굴의 표면 구조의 복잡성 때문인 것으로 판단된다.

감사의 글

이 논문은 2014년 강릉원주대학교 학술연구조성비 지원에 의해 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

References

1. MAFRA. Food, Agriculture, Forestry and Fisheries Statistical Yearbook. Ministry of Agriculture, Food and Rural Affairs. Sejong, Korea. pp. 298-300 (2012)
2. Ministry of Food and Drug Safety. Food poisoning statistics. Available from: http://www.foodsafetykorea.go.kr/portal/healthy-

foodlife/foodPoisoningStat.do?menu_no=519&menu_grp=MENU_GRP02. Accessed Jul. 27, 2014.
3. Suzuki T. Challenges and prospects of acidic electrolyzed water use in the food industry. New Food Ind. 39: 61-66 (1997)
4. Hotta K, Suzuki T. Electrolyzed water: Formation principle, physicochemical property and function. Biosci. Ind. 57: 22-26 (1999)
5. Jorquera MA, Valencia G, Eguchi M, Katayose M, Riquelme C. Disinfection of seawater for hatchery aquaculture systems using electrolytic water treatment. Aquaculture 207: 213-224 (2002)
6. Fabrizio KA, Cutter CN. Stability of electrolyzed oxidizing water and its efficacy against cell suspensions of *Salmonella* Typhimurium and *Listeria monocytogenes*. J. Food Protect. 66: 1379-1384 (2003)
7. Kawata K. A road to the approval of electrolytic acid water as a food additive. Bokin Bobai 30: 801-812 (2002)
8. Achiwa N. Application and popularization of electrolyzed acidic and alkaline water. Bokin Bobai 32: 41-47 (2004)
9. MFDS. Revision of Food additives standards and specification. Ministry of Food and Drug Safety. Cheongju, Korea. (2007)
10. Ren T, Su YC. Effects of electrolyzed oxidizing water treatment on reducing *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio vulnificus* in raw oysters. J. Food Prot. 69: 1829-1834 (2006)
11. Sharma RR, Demirci A. Treatment of *Escherichia coli* O157:H7 inoculated alfalfa seeds and sprouts with electrolyzed oxidizing water. Int. J. Food Microbiol. 86: 231-237 (2003)
12. Park H, Hung YC, Chung DH. Effects of chlorine and pH on efficacy of electrolyzed water for inactivating *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes*. Int. J. Food Microbiol. 91: 13-18 (2004)
13. Kim C, Hung YC, Brackett RE. Efficacy of electrolyzed oxidizing (EO) and chemically modified water on different types of foodborne pathogens. Int. J. Food Microbiol. 61: 199-207 (2000)
14. Al-Haq MI, Seo Y, Oshita S, Kawagoe Y. Disinfection effects of electrolyzed oxidizing water on suppressing fruit rot of pear caused by *Botryosphaeria berengeriana*. Food Res. Int. 35: 657-664 (2002)
15. Suzuki T, Itakura J, Watanabe M, Ohta M, Sato Y, Yamaya Y. Inactivation of Staphylococcal enterotoxin-A with and electrolyzed anodic solution. J. Agr. Food Chem. 50: 230-234 (2002)
16. Suzuki T. Strong acid electrolyzed solution: Application and problems. Bokin Bobai 27: 487-492 (1999)
17. MFDS. Korea Food Code. Ministry of Food and Drug Safety. Cheongju, Korea. pp. 212-213 (2015)
18. Quan Y, Choi KD, Chung DH, Shin IS. Evaluation of bactericidal activity of weakly acidic electrolyzed water (WAEW) against *Vibrio vulnificus* and *Vibrio parahaemolyticus*. Int. J. Food Microbiol. 136: 255-260 (2010)
19. Lee HJ, Yu HS, Oh EG, Shin SB, Park KBW, Kim JH. Germicidal effect of electrolyzed seawater on live fish and shellfish. Kor. J. Fish Aquat. Sci. 46: 534-539 (2013)
20. Hotta K. The use of acidic electrolyzed water for sanitary or hygienic measure in food and medical field. Food Process. Ingred. 36: 10-12 (2001)