

## 수출 딸기 중 이산화염소 가스 처리를 통한 병원성 *Escherichia coli*와 *Salmonella* spp. 저감화 효과

이효섭<sup>1</sup> · 심원보<sup>2</sup> · 안현미<sup>3</sup> · 하지형<sup>4</sup> · 이은선<sup>3</sup> · 김원일<sup>3</sup> · 김황용<sup>5</sup> · 김세리<sup>3\*</sup>

<sup>1</sup>국립농업과학원 농산물안전성부 화학물질안전과, <sup>2</sup>경상대학교 식품공학과  
<sup>3</sup>국립농업과학원 농산물안전성부 유해생물팀, <sup>4</sup>세계김치연구소 위생안전성분석센터  
<sup>5</sup>농촌진흥청 기술협력국 국외농업기술과

### Antimicrobial Effects of Chlorine Dioxide Gas on Pathogenic *Escherichia coli* and *Salmonella* spp. Colonizing on Strawberries for Export

Hyo-Sub Lee<sup>1</sup>, Won-Bo Shim<sup>2</sup>, Hyun Mi An<sup>3</sup>, Ji-Hyoung Ha<sup>4</sup>, Eun-Seon Lee<sup>3</sup>, Won-Il Kim<sup>3</sup>,  
Hwang-Yong Kim<sup>5</sup>, and Se-Ri Kim<sup>3\*</sup>

<sup>1</sup>Chemical Safety Division, Agro-Food Safety and Crop Protection Department, National Institute of Agricultural Sciences (NAS), Rural Development Administration (RDA), Wanju 55365, Republic of Korea  
<sup>2</sup>Department of Food Science and Technology, Gyeongsang National University, Jinju 52828, Republic of Korea  
<sup>3</sup>Microbial Safety Team, Agro-Food Safety and Crop Protection Department, National Institute of Agricultural Sciences (NAS), Rural Development Administration (RDA), Wanju 55365, Republic of Korea  
<sup>4</sup>Hygienic Safety and Analysis Center, World Institute of Kimchi, Gwangju 61755, Republic of Korea  
<sup>5</sup>Division for Korea Program on International Agriculture, Technology Cooperation Bureau, RDA, Jeonju 54875, Republic of Korea

(Received June 28, 2016/Revised July 16, 2016/Accepted September 24, 2016)

**ABSTRACT** - The purpose of this study was to determine the antimicrobial effects of ClO<sub>2</sub> gas on pathogenic *E. coli* and *Salmonella* spp. colonizing on the fruit surface of strawberries for export. Factorial design was employed to treat strawberries inoculated with pathogenic *E. coli* or *Salmonella* spp. with a combination of ClO<sub>2</sub> gas concentrations (10, 20, 30, 40, and 50 ppmv), RH (50, 70, and 90%), and treatment time (0, 5, 10, 20, and 30 min). Interaction between the factors was observed to note that the reduced levels of microbial population were the highest when RH is set at 90% with gas concentration- and treatment time-dependent manner. With RH and gas concentration fixed at 90% and 50 ppmv, the populations of *E. coli* and *Salmonella* spp. decreased by 2.07 and 2.28 log CFU/g when treated for 20 min whereas population reduction by 0.5 and 0.7 log CFU/g were observed when treated for 5 min, respectively. The results help establish most effective conditions for ClO<sub>2</sub> gas treatment to enhance microbial safety of strawberries for export.

**Key words** : food safety, strawberries, chlorine dioxide, foodborne pathogens

딸기는 장미과에 속하는 다년생 과채류로서 미네랄, 비타민 C가 풍부하고, 맛과 향이 좋아서 전 세계적으로 인기가 있다<sup>1-4</sup>. 특히 최근 들어 딸기는 내수용뿐만 아니라

싱가포르, 홍콩, 말레이시아 등 동남아시아 지역으로 수출되는 수출용 딸기의 재배도 활발히 이루어지고 있으며 수출액도 꾸준히 증가하고 있다<sup>5</sup>.

그러나 최근 들어 농산물에 의한 식중독사고가 발생하면서 세계 각국은 자국의 농산물뿐만 아니라 수입농산물에 대해서도 안전관리를 강화하고 있는 추세이다<sup>6-8</sup>. 미국에서는 식품사고를 예방하기 위하여 2010년 12월 미국 식품 현대화법을 제정하였고 식품안전현대화법의 실행을 위하여 FDA가 제안한 다섯 가지 규칙 중의 하나가 농산물 안전기준이다<sup>9</sup>. 미국의 농산물안전기준은 생물학적 위해

\*Correspondence to: Se-Ri Kim, Microbial Safety Team, Agro-Food Safety & Crop protection Department, National Institute of Agricultural Science, Rural Development Administration, 166, Nongsaengmyeong-ro, Iseo-myeon, Wanju-gun, Jeollabuk-do 55365, Republic Korea  
Tel: 82-63-238-3395, Fax: 82-63-238-3840  
E-mail: seri81@korea.kr

요소가 신선 과일과 채소에 유입되는 것을 예방하기 위하여 미생물 오염 5대 경로 ① 농업용수, ② 가축분뇨를 이용한 생물학적 토양 개량제, ③ 작업자의 건강과 개인위생, ④ 장비, 도구, 건물, 하수설비, ⑤ 가축과 야생동물을 관리하도록 하는 것이 주요한 내용이다<sup>9)</sup>. 이 기준은 미국 내 농가뿐만 아니라 미국으로 수출하는 농산품을 생산하는 모든 농가에게 동일하게 적용된다<sup>9)</sup>. 2016년 2월부터 시행되는 인도네시아의 ‘수입 농산물 식품안전 관리규정’에서는 수출 상대국이 인도네시아로 농산물을 수출할 시 GAP 등 삼자 인증을 취득한 농산물을 수출하도록 규정하고 있다. 비인증 농산물에 대해서는 수출 농산물에 각종 위해요소를 검사한 성적서를 첨부하도록 규정하고 있다<sup>7)</sup>. 대상 물질로 잔류농약, 중금속, 곰팡이 독소 뿐만 아니라 *Salmonella* spp., *Eshcherichia coli*도 해당되며 딸기는 *Salmonella* 불검출/25 g, *E. coli*는 20 CFU/g이하인 딸기만 수출할 수 있도록 규정하였다<sup>7)</sup>. 이들 사례들을 통해 볼 때 농산물 안전성에 있어서 화학적 위해 요소뿐만 아니라 생물학적 위해 요소의 관리가 한층 강화되는 추세임을 알 수 있다. 이에 세계 각국은 식중독세균에 오염된 농산물에 의한 식중독사고를 예방하고자 소독제를 이용한 미생물저감 기술을 농산물에 적용하고 있는 실정이다<sup>10-11)</sup>. 농산물 중 미생물 제어를 위하여 널리 사용되고 있는 소독제 중 하나가 이산화염소이다<sup>12)</sup>. 이산화염소는 그동안 식품 소독제로 가장 널리 사용되었던 차아염소산나트륨에 비해 수용성이 10배 정도 높고 유기물질과의 반응성이 약하여 반응부산물도 적을 뿐만 아니라 차아염소산나트륨에 비하여 살균력도 약 3배 정도 높다<sup>13)</sup>. 또한 이산화염소는 공기 중에서 쉽게 분해되어 소독제 처리 후 식품에 소독성분이 잔류하지 않는 특징이 있어 농산물에 적합한 소독제라 할 수 있다<sup>13)</sup>. 농산물 중 미생물 제어에 사용되는 이산화염소는 액체와 기체로 많이 이용되는데, 기체형태가 침투력이 높아 액체보다 더 살균력이 높다고 보고되고 있다<sup>14)</sup>.

이산화염소의 살균효과는 농산물의 종류, 농도, 습도, 시간 등에 의해 영향을 받는다고 알려져 있다<sup>15-18)</sup>. Mahmoud 등<sup>16)</sup>과 Bhagat 등<sup>17)</sup>의 연구에 따르면 딸기와 토마토에 이산화염소 가스의 미생물 저감효과는 농도와 시간을 증가시켰을 때 높아진다고 보고하였고 Han 등<sup>15)</sup>은 8 mg/L의 이산화염소로 부패미생물을 저감시키는 데 있어서 상대습도가 56%에서 94%로 증가할 때 미생물 저감효과는 증가하였다고 보고하였다. 하지만 딸기를 대상으로 상대습도 차이에 따른 살균효과에 대한 연구는 아직 진행된 바가 없다.

따라서 본 연구에서는 수출용 딸기 중 병원성 *Escherichia coli*와 *Salmonella* spp.를 제어하기에 적합한 이산화염소 처리 조건을 구명하기 위하여 수행하였으며 그 결과를 보고하고자 한다.

## Materials and Methods

### 시료선정 및 전처리

딸기는 수출용으로 가장 널리 재배되는 ‘매향’(Fragarid X ananassa Duch ‘Maehyang’)을 본 연구에 사용하였으며 경남 진주시 대평면에 위치한 북부농협에서 구입하였다. 이산화염소 처리에 앞서 딸기는 꼭지를 제거하고 흐르는 물에 1분 동안 세척하였다. 이후 무균상(22 ± 3°C)에서 화염소독 한 알루미늄 호일 위에 올려 40분간 건조시켰다.

### 사용된 균주

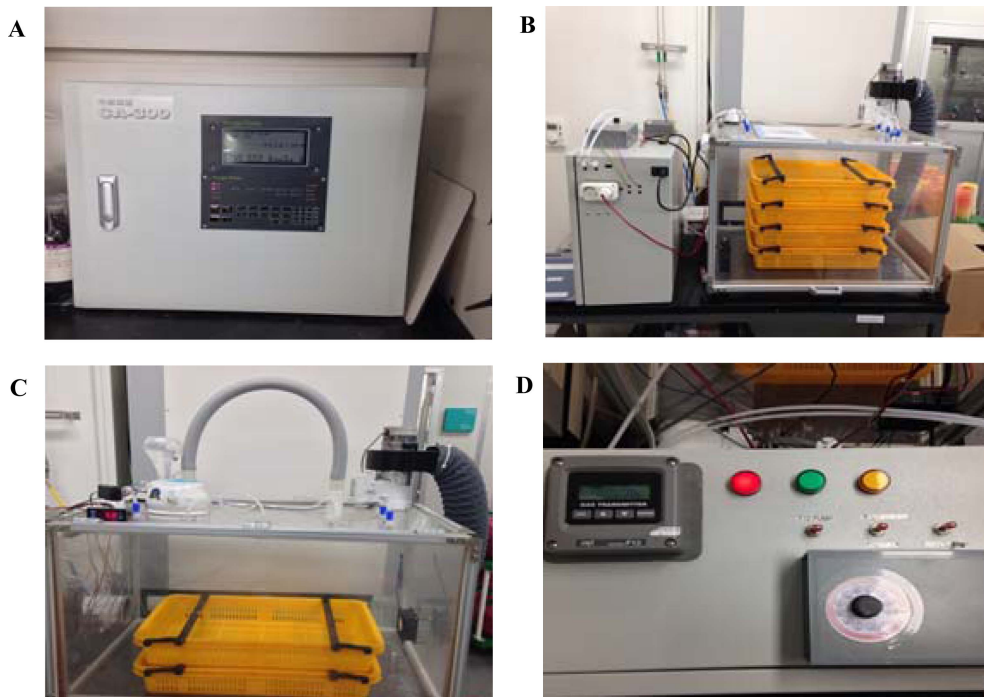
본 연구에 사용된 균주는 병원성 *E. coli* 5종 (Enterohemorrhagic *E. coli*: ATCC 43895, Enteropathogenic *E. coli*: NCCP 13715, Enterotoxigenic *E. coli*: NCCP 13718, Enteroinvasive *E. coli*: NCCP 13719, Enterohemorrhagic *E. coli*: NCCP 13721)과 *Salmonella* spp. 3종 (*Salmonella* Typhimurium: ATCC 19586, *Salmonella* Typhi: ATCC 19946, *Salmonella* Enteritidis: ATCC 43174)이었다. 시료 중 존재하는 background microflora의 생육을 억제하기 위해서 본 연구에 사용된 균주는 rifampicin (R; Biosesang, Seongnam, Korea)저항성을 유도하였다. Tryptic soy agar (TSA; OXOID, Hampshire, UK)에서 균주 1 colony를 취하여 50 µg/mL의 rifampicin이 첨가된 10 mL luria bertani broth (LB; Oxoid, Hampshire, UK)에 접종하고 37°C에서 24시간 진탕배양 하였다. 이후 50 µg/mL의 rifampicin이 함유된 luria bertani agar (LA, Oxoid, Hampshire, UK)에 접종하고 37°C에서 24시간 배양하여 rifampicin 저항성 균을 얻었다. Rifampicin 저항성균은 20% glycerol을 함유한 50 µg/mL의 rifampicin이 첨가된 tryptic soy broth (TSB-R)을 사용하여 -70°C에서 보관하였다.

### 균주 접종

딸기 중 이산화염소 효과 검정을 위하여 50 µg/mL의 rifampicin이 첨가된 tryptic soy agar (TSA-R)상에서 배양한 rifampicin 저항성 균주를 각각 TSB-R에 접종하고 37°C에서 24시간 배양하였다. 이후 4,500 × g에서 15분간 원심 분리 한 후 상등액을 제거하고 phosphate buffered saline (PBS; Difco, MD, USA) 용액 10 mL을 가한 후 4,500 × g에서 15분간 원심 분리하여 세척하였다. 병원성 *E. coli* 5종과 *Salmonella* spp. 3종은 같은 종별로 각각 1 mL씩 혼합하고 8.0~9.0 log CFU/mL 수준으로 희석하여 사용하였다. 각각의 혼합 균액 100 µL을 30 g의 딸기(2~3개)에 접종하였다. 접종 후 무균상에서 60분간 22 ± 3°C에서 건조시켰다.

### 이산화염소 가스 처리

본 연구에 사용한 이산화염소 가스 공급장치(CA-300series,



**Fig. 1.** Chlorine dioxide gas ( $\text{ClO}_2$ ) machine used in this study.  
A:  $\text{ClO}_2$  generation, B: Fumigation chamber, C: R.H controller, D: Concentration controller.

Purgofarm, Gyeonggi, Korea)는 Fig. 1과 같다. 이산화염소 가스 생성기에서 발생하는 이산화염소 가스는 배관을 통하여 훈증실 내부로 유입되는 구조로 되어 있다. 이산화염소 가스 농도는 센서(ATi Series F12 Gas Transmitter, Delph, UK)를 통해 조절하였고, 상대습도는 가습기에 습도조절센서(DH-2341A, Ko Lobster, Busan Korea)를 연결하여서 조절하였다. 병원성 *E. coli* 혹은 *Salmonella* spp.가 접종된 딸기는 250 g plastic 포장용기에 90 g씩 옮겨 담은 후 이산화염소 가스 훈증실에 넣고, 상대습도 50, 70, 90%, 이산화염소 가스 농도 10, 20, 30, 40, 50 ppmv ( $\text{mg}/\text{m}^3$ )에서 5, 10, 20, 30분간 처리하였다.

#### 미생물 저감화 효과 측정

이산화염소 가스 처리한 딸기 30 g을 stomacher bag에 넣고 D/E neutralizing broth (Difco, MD, USA) 120 mL를 가한 후 1분 동안 균질화 하였다. 이후 시료 1 mL를 취하여 10진 희석한 후 농도별로 250  $\mu\text{L}$ 씩 50  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 rifampicin이 함유된 TSA배지에 도말하고 37°C에서 24시간 동안 배양하였다. 배양 후 균수를 계수 하였으며 최종균수는 계수된 균수  $\times$  희석배수로 산출하였다.

#### 이산화염소 가스 처리에 따른 딸기의 색도변화 측정

과채류의 이산화염소 처리는 셀룰로오스, 헤미셀룰로오스와 리그닌과 같은 다양한 올리고당을 산화시켜 표백을 발생시킬 수 있다<sup>19)</sup>. 따라서 본 연구에서는 이산화염소 가스

처리가 딸기의 색도에 영향을 줄 수 있다고 사료되어 미생물 저감화 효과가 가장 높은 상대습도와 농도조건에서 5, 10, 20, 30분간 처리한 후 딸기를 20°C에서 5일 동안 저장하면서 품질의 변화를 측정하였다. 품질의 변화는 색도계(CR-300, Minolta, Osaka, Japan)를 이용하여 L (lightness), a (red-greenness), b (blue-yellowness)의 값을 측정하였다.

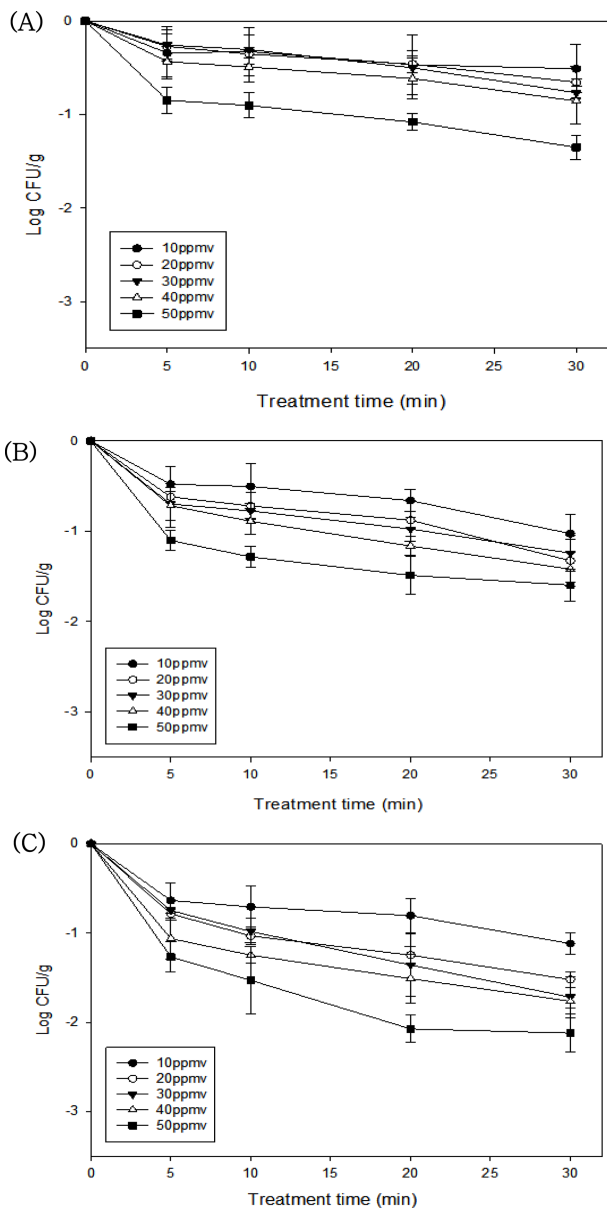
#### 통계분석

모든 실험은 3반복씩 2회에 걸쳐 수행되었으며 관찰된 실험결과는 SAS 통계 프로그램(version 9.2, SAS Institute, NC, USA)의 ANOVA procedure를 이용하여 분석되었다. 각각의 처리군이 통계적으로 유의적으로 나타나는 경우에 ( $p < 0.05$ ) 평균값은 Duncan's multiple range test에 의해 검정하였다.

## Results and Discussion

#### 이산화염소 가스 처리에 따른 병원성 *E. coli* 저감화 효과

이산화염소 가스 농도, 상대습도 및 시간에 따른 이산화염소 가스의 딸기 중 병원성 *E. coli* 제어효과를 구명한 결과는 Fig. 2와 같다. 그 결과 이산화염소 농도, 상대습도, 시간 세 요인 중 이산화염소의 효과에 가장 큰 영향을 끼치는 요인은 상대 습도였으며 상대습도가 높아질수록 저감화 효과가 두드러지게 나타났다( $p < 0.05$ ). 병원성 *E. coli*를 이산화염소 농도 50 ppmv에서 30분동안 처리하였을 때



**Fig. 2.** Reduction of pathogenic *E. coli* on strawberries by different concentration of ClO<sub>2</sub> gas (10, 20, 30, 40, 50 ppmv) and time (5, 10, 20, 30 min) at relative humidity (A) 50%, (B) 70%, (C) 90%.

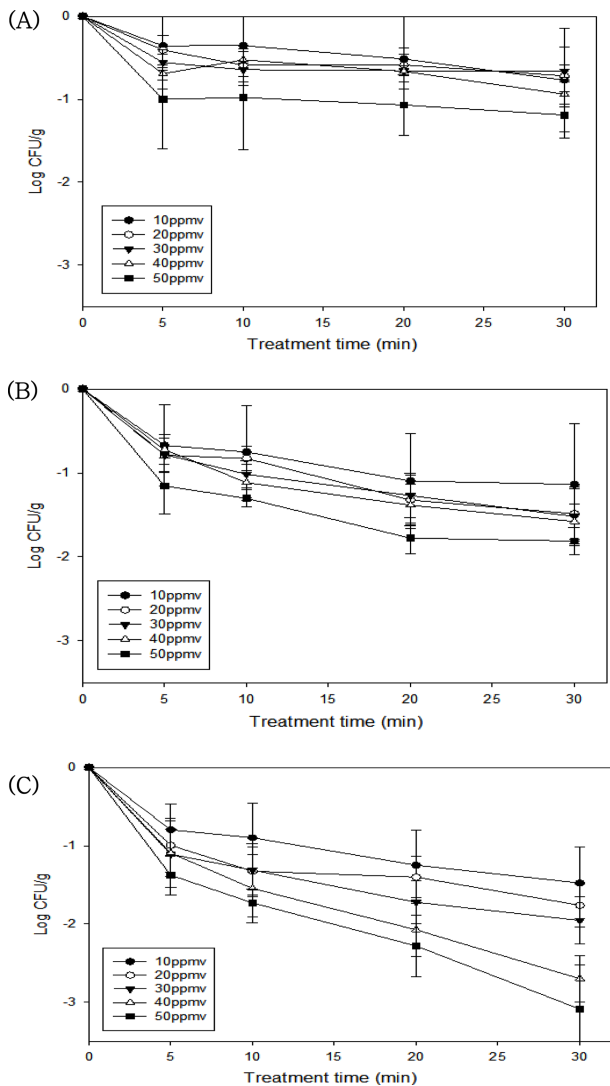
상대습도에 50%, 70%, 90%에서 저감화 효과는 각각 1.35, 1.59, 2.12 log CFU/g 수준으로 상대습도 50%보다 90%에서 약 0.80 log CFU/g 수준 정도 저감화 효과가 높게 나타났다( $p < 0.05$ ). 본 연구의 결과는 Han 등<sup>20</sup>이 수행한 피망에서 이산화염소 가스 저감화 연구에서도 같은 경향을 보였다. Han 등<sup>20</sup>은 처리농도 0.3 ppm (mg/L), 온도 15°C에서 상대습도 55~95%로 증가할 때 1.90~4.00 log CFU/5 g 수준으로 상대습도가 증가할수록 높은 저감화 효과를 얻는 것을 확인하였다( $p < 0.05$ ). 이산화염소 가스 처리시 상대습도가 높아짐에 따라 살균효과가 높아지는 이유는 상

대습도가 높아질수록 이산화염소의 용해도가 높아지기 때문이라고 보고되고 있다<sup>21</sup>). 또한 Han 등<sup>20</sup>이 수행한 연구 결과에서는 0.3 ppm의 적은 농도에서 본 연구의 50 ppmv 보다 높은 저감효과를 보이는 것을 확인할 수 있다. 이러한 현상은 ppm은 액체상에 물질이 존재하는 양으로 퍼센트와 같은 개념이지만, ppmv는 부피단위로 부피당 물질이 존재하는 양을 나타낸 것으로 이산화염소 가스 1 ppm은 ppmv 단위로는 362 ppmv와 동일한 수준으로 나타낸다고 알려져 있으며<sup>18</sup>) Han 등<sup>20</sup>이 처리한 0.3 ppm은 본 연구의 50 ppmv보다 고농도 처리를 한 것으로 판단할 수 있다.

이산화염소 가스의 농도에 따른 효과는 Fig. 2에서 보는 바와 같이 상대습도가 증가할수록 처리농도에 따른 효과가 뚜렷하게 나타났다. 특히 상대습도 90%, 처리시간 30분에서는 이산화염소 가스 농도가 10, 20, 30, 40, 50 ppmv로 증가할 때 저감화 효과는 1.12, 1.52, 1.72, 1.76, 2.12 log CFU/g 수준으로 높아지는 것을 확인할 수 있다( $p < 0.05$ ). 본 연구결과는 Park 등<sup>22</sup>이 수행한 다른 상대습도 조건하에서 이산화염소 가스 처리를 통한 시금치에 접종한 *E. coli* O157:H7의 저감화 연구에서와 유사하였는데 그들의 연구결과에 따르면 상대습도 50%에서는 이산화염소 가스 농도 증가에 따른 효과가 미미하였으나 상대습도 90%, 20분 처리조건에서 이산화염소 가스 농도가 1, 5, 10, 30, 50 ppmv로 증가할 시 0.83, 2.36, 3.63, 5.78, 5.53 log CFU/g으로 저감효과가 뚜렷하게 증가하는 경향을 보였다고 보고하였다. 한편 본 연구에 사용한 딸기에서 병원성 *E. coli*의 저감효과는 50 ppmv에서 30분 처리시 2.1 log CFU/g인데 반해 Park 등<sup>22</sup>의 연구에서 사용한 시금치에서 *E. coli* O157:H7의 저감효과는 5.00 log CFU/g 이상의 저감효과가 나타났다. 이는 이산화염소에 대한 균주의 감수성과 작물표면 및 수분 상태 등이 영향을 미친 것으로 추정된다.

또한 처리시간에 따른 병원성 *E. coli*에 대한 이산화염소 가스 처리효과는 상대습도가 높을수록 처리시간에 따른 효과는 증가하였는데 상대습도 90%, 이산화염소가스 농도 50 ppmv에서 처리시간 5, 10, 20, 30분으로 증가시켰을 때 병원성 *E. coli*의 저감 수준은 1.27, 1.53, 2.07, 2.12 log CFU/g으로 시간이 증가함에 따라 높아지는 경향을 보였다. 이에 반해 상대습도 50%에서 저감화 효과는 0.85, 0.90, 1.08, 1.35 log CFU/g 수준으로 처리시간이 증가에 따른 저감화 효과가 뚜렷하게 증가하지 않았다( $p > 0.05$ ).

이산화염소 가스의 병원성 *E. coli*에 저감효과는 상대습도에 가장 큰 영향을 받는 것을 알 수 있다. 병원성 *E. coli* 같은 경우 상대습도 90%, 처리농도 50 ppmv, 처리시간 20, 30분에서 유의적인 차이가 없었다( $p > 0.05$ ). 따라서 병원성 *E. coli*를 99% 저감하기 위해서는 상대습도 90%에서 이산화염소농도 50 ppmv, 처리시간 20분으로 처리하는 것이 가장 적절할 것으로 사료된다.



**Fig. 3.** Reduction of *Salmonella* spp. on strawberries by different concentration of ClO<sub>2</sub> gas (10, 20, 30, 40, 50 ppmv) and time (5, 10, 20, 30 min) at relative humidity (A) 50%, (B) 70%, (C) 90%.

#### 이산화염소 가스 처리에 따른 *Salmonella* spp. 저감화 효과

이산화염소 가스 처리에 따른 *Salmonella* spp.의 저감화 효과는 Fig. 3과 같다. Fig. 3에서 보는 바와 같이 이산화염소 가스를 이용한 *Salmonella* spp.의 저감화 효과는 병원성 *E. coli*와 같이 상대습도에 따른 효과가 가장 두드러지게 나타났다( $p < 0.05$ ). *Salmonella* spp.에서 처리농도 50 ppmv으로 30분동안 처리하였을 때 상대습도에 50%, 70%, 90%에서 저감화 효과는 각각 1.19, 1.81, 3.09 log CFU/g 수준이었고, 상대습도 90%와 50%를 비교하였을 때 약 2.00 log CFU/g정도 차이가 있었다( $p < 0.05$ ). Han 등<sup>23)</sup>은 스테인리스강에 *Lactobacillus buchneri*를 접종한 후 이산화염소 가스를 농도 2~14 mg/L, 시간 5~120분, 상대습도 56~94%, 온도 9~31°C 조건으로 처리한 후 *L. buchneri*를 검출하였다. 그 결과 이산화염소가스 농도 8 mg/L, 처리시

간 10분에서 상대습도 56%, 68%, 93%조건으로 처리하였을 때 56%, 63% 조건에서는 스테인리스강에서 *L. buchneri*가 각각 3개, 2개의 샘플에서 검출되었지만 93%에서는 모두 검출되지 않았고 보고하여 미생물 저감화에 상대습도가 중요한 요인으로 작용하는 것으로 판단할 수 있다.

또한 처리농도에 따른 이산화염소 가스 저감화 효과는 병원성 *E. coli*와 같이 상대습도가 높을수록 처리농도 증가에 따른 저감효과도 높아지는 경향을 보였다. 상대습도 90%, 처리시간 30분에서 이산화염소 가스를 10, 20, 30, 40, 50 ppmv으로 증가시키면서 저감화 효과를 비교하였을 때 *Salmonella* spp.는 각각 1.48, 1.76, 1.95, 2.70, 3.09 log CFU/g 수준으로 농도가 높아질수록 저감화 효과가 높아지는 것을 확인하였다. 이에 반해 상대습도 50%에서는 0.77, 0.72, 0.66, 0.94, 1.19 log CFU/g 수준으로 처리 농도별 저감화 효과의 차이가 잘 나타나지 않았다( $p > 0.05$ ).

처리시간에 따른 *Salmonella* spp.의 이산화염소 가스 처리효과를 비교한 결과, Fig. 3에서 보는 바와 같이 상대습도 50%에서는 처리시간에 대한 효과가 뚜렷하게 나타나지 않았지만 상대습도 90%에서는 처리시간이 증가함에 따라 이산화염소의 처리효과가 유의하게 증가하였다( $p < 0.05$ ). Trinetta 등<sup>24)</sup>은 토마토 표면에 *S. enterica*를 접종한 후 처리시간에 따른 이산화염소 가스 저감효과를 구명하였다. 2, 10 ppm 농도로 처리시간 10, 30, 60, 120, 180초로 처리하였을 때 2 ppm에서 0.53, 0.50, 0.94, 1.25, 2.41 log CFU/cm<sup>2</sup>, 10 ppm에서 2.71, 2.92, 3.19, 3.86, 4.87 log CFU/cm<sup>2</sup> 수준으로 저감되어 처리시간이 증가할수록 저감 효과는 증가하였다고 보고하였다.

또한 본 연구결과에서 *Salmonella* spp.와 병원성 *E. coli*의 저감화 효과를 비교하였을 때 상대습도 90%, 처리시간 30분, 처리농도 10, 20, 30, 40, 50 ppmv에서 *Salmonella* spp.는 1.48, 1.76, 1.95, 2.70, 3.09 log CFU/g이고, 병원성 *E. coli*는 1.12, 1.52, 1.72, 1.76, 2.12 log CFU/g으로 *Salmonella* spp.에서 저감화 효과가 높게 나타났다. Trinetta 등<sup>25)</sup>이 토마토, 멜론, 딸기 중 이산화염소 가스를 이용한 *S. enterica*, *E. coli* O157:H7 저감화 연구에서도 이산화염소 가스를 처리농도 10 ppm으로 180초 동안 처리하였을 때, *S. enterica*에서는 토마토, 멜론, 딸기에서 저감효과가 각각 4.80, 4.00, 4.80 log CFU/cm<sup>2</sup> 수준이었고, *E. coli* O157:H7의 저감효과는 각각 3.60, 2.90, 2.70 log CFU/cm<sup>2</sup> 수준으로 *S. enterica*의 저감효과가 *E. coli* O157:H7의 저감효과 보다 높았다. 이는 균주 마다 이산화염소에 대한 감수성의 차이로 판단된다.

이상의 결과들을 종합해 볼 때 이산화염소 가스의 식중독세균 저감효과는 대상 미생물, 대상 농산물, 상대습도, 농도, 처리시간 등 다양한 요인들이 영향을 끼치는 것을 알 수 있다.

**Table 1.** Changes in the color (Hunter parameters) of strawberries treated with ClO<sub>2</sub> gas 50 ppmv during storage at 20 ± 1°C

Storage (day)	Treatment time (min)	L <sup>2)</sup>	a <sup>3)</sup>	b <sup>4)</sup>
0	0	29.0 ± 6.3 <sup>1)</sup>	23.2 ± 5.3	15.6 ± 2.4
	5	36.9 ± 4.6	20.7 ± 1.8	17.9 ± 2.4
	10	36.9 ± 2.0	23.5 ± 2.6	18.2 ± 1.3
	20	33.9 ± 5.1	22.8 ± 3.0	17.5 ± 3.0
	30	33.4 ± 1.0	25.6 ± 0.4	16.9 ± 1.3
1	0	32.8 ± 1.7	27.3 ± 1.3	17.1 ± 0.2
	5	31.3 ± 0.3	24.8 ± 2.6	15.4 ± 1.1
	10	30.9 ± 3.5	24.8 ± 2.1	15.6 ± 1.4
	20	32.9 ± 2.0	27.0 ± 0.9	16.3 ± 1.8
	30	30.5 ± 0.0	25.3 ± 2.8	15.1 ± 1.4
3	0	33.4 ± 1.4	29.6 ± 0.7	15.9 ± 1.0
	5	31.4 ± 3.0	26.3 ± 1.0	14.4 ± 0.9
	10	30.3 ± 1.1	26.4 ± 1.0	13.8 ± 0.9
	20	30.7 ± 3.7	27.2 ± 3.0	14.1 ± 3.2
	30	30.7 ± 2.0	26.1 ± 5.3	13.4 ± 2.5
5	0	32.3 ± 1.0	24.9 ± 8.3	13.6 ± 1.8
	5	29.5 ± 16.2	22.5 ± 13.2	12.6 ± 6.5
	10	28.7 ± 16.7	21.8 ± 15.9	12.5 ± 7.3
	20	30.2 ± 18.3	23.3 ± 16.4	12.4 ± 8.2
	30	32.0 ± 2.3	27.8 ± 16.9	13.4 ± 7.7

<sup>1)</sup>Data on the same column for each day were compared and no significant between treatment time were detected differences ( $p > 0.05$ ).

<sup>2)</sup>L = lightness

<sup>3)</sup>a = red-greenness

<sup>4)</sup>b = blue-yellowness

### 수출딸기 중 이산화염소 가스 처리에 의한 색도변화

딸기 중 이산화염소 가스 처리가 딸기의 색도에 미치는 영향을 확인하기 위하여 이산화염소 가스 농도 50 ppmv, 상대습도 90% 하에서 5, 10, 20, 30분간 처리 후, 색도계 L (Lightness), a (Redness), b (Yellowness)의 값을 이용해 딸기의 품질상태를 측정 한 결과는 Table 1과 같다.

L값은 시간이 지나면서 값이 낮아지는 경향을 보였는데 0일차에서는 29.0~36.9 수준이었고, 5일차에서는 28.7~32.3 수준으로 낮아지는 것을 확인하였고, 이산화염소 가스 처리구와 무처리구 사이에서는 유의적인 차이가 없었다 ( $p > 0.05$ ).

a값은 저장기간이 증가하여도 20.7~27.8 범위에서 큰 변화가 관찰되지 않았으며 b값은 0일차에서 15.6~18.2 수준이었고, 5일차에서는 12.4~13.6으로 낮아지는 경향을 나타냈지만 유의적인 차이는 없었다( $p > 0.05$ ). 또한 이산화염소 가스 무처리구와 처리구 사이에서 a, b 값은 유의적인

차이가 없는 것을 확인하였다( $p > 0.05$ ). Mahmoud 등<sup>16)</sup>이 수행한 딸기에서 이산화염소 가스 처리에 따른 색도변화에서도 이산화염소 가스 처리구와 무처리구 사이에서 유의적인 차이가 없는 것으로 나타났다( $p > 0.05$ ).

한편 Lee 등<sup>26)</sup>의 연구에서는 딸기에 이산화염소 가스를 0, 70, 120, 170, 220 ppmv 수준으로 각각 처리하고 저장 후 딸기의 품질변화를 관찰한 결과 170 ppmv 이상일 때 딸기의 화탁 탈색이나, 부패율이 증가하는 품질저하 현상이 나타났다. Lee 등<sup>22)</sup>의 결과로 미루어 볼 때 고농도의 이산화염소는 딸기의 품질저하 현상을 일으킬 수 있기 때문에 주의해야 할 것으로 판단된다.

따라서 본 연구의 결과로 미루어 볼 때 상대습도 90%, 이산화염소 처리농도 50 ppmv, 처리시간 20분 이상 처리하면 딸기 중 병원성 *E. coli*와 *Salmonella* spp. 를 99% 이상 저감화 할 수 있고, 딸기의 급격한 색도변화도 일어나지 않을 것으로 판단된다. 한편 이산화염소 가스는 공기 중에서 쉽게 분해되어 잔류성이 낮은 소독제이지만 수출 딸기에 적용하기 위해서는 이산화염소 처리에 따른 잔류농도와 안전성에 대한 연구가 이루어져야 할 것으로 사료된다.

### Acknowledgement

본 연구는 농촌진흥청 국립농업과학원 농업과학기술 연구개발사업(과제번호: PJ00946002)의 지원에 의해 이루어진 것임.

### 국문요약

본 연구는 수출 딸기 중 병원성 *E. coli*와 *Salmonella* spp.를 제어하기 위하여 이산화염소 가스 농도, 상대습도, 시간에 따른 이산화염소 가스의 미생물 저감효과를 조사하였다. 병원성 *E. coli*, *salmonella* spp.를 접종한 딸기에 이산화염소 가스 농도(10, 20, 30, 40, 50 ppmv), 상대습도(50, 70, 90%), 처리시간(0, 5, 10, 20, 30분)에 대한 삼요인 실험을 하였다. 그 결과, 각 처리 조건 간의 상호작용이 나타났으며 미생물 저감효과는 상대습도가 가장 높은 조건인 90%에서 이산화염소 가스 농도와 처리시간의 값이 증가할수록 높아지는 경향이 있었다. 상대습도 90%, 이산화염소 가스 농도 50 ppmv에서 처리시간에 따른 미생물 저감화 효과는 5분 동안 처리하였을 때 병원성 *E. coli*와 *Salmonella* spp.이 각각 0.5, 0.7 log CFU/g 정도 감소하였으나 20분간 처리하였을 때는 각각 2.07과 2.28 log CFU/g 정도 감소하였다. 따라서 본 연구는 수출 딸기 중 병원성 *E. coli*와 *Salmonella* spp.를 제어하기 위한 최적의 이산화염소가스 처리 조건을 확립한 결과로서 수출 딸기의 미생물 안전성 향상에 기여할 수 있으리라 사료된다.

## References

1. Cho J.I., Ha S.D., Kim, K.S.: Inhibitory effects of temperature, pH, and potassium sorbate against natural microflora in strawberry paste during storage. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **36**, 355-360 (2004).
2. Ayala-Zavala J.F., Wang S.Y., Wang C.Y., Gonza'lez-Aguilar G.A.: Effect of storage temperatures on antioxidant capacity and aroma compounds in strawberry fruit. *Swiss Soc. Food Sci. Technol.*, **37**, 687-695 (2004).
3. Azodanlou R., Darbellay C., Luisier J., Villettaz J., Amado R.: Quality assessment of strawberries (*Fragaria* species). *J. Agric. Food Chem.*, **51**, 715-721 (2003).
4. Park K.H., Kim S.H.: A comparative study of consumer preference for strawberries in Korea and Singapore. *Korean J. Agric. Manag. Policy.*, **38**, 321-340 (2011).
5. Korea Agro-Fisheries & Food Trade Corporation: Agricultural products import and export statistics. Available from : <https://www.kati.net/sta/staRes1Event.do>, Accessed Mar. 10 (2014).
6. U.S. Food and Drug Administration: FSMA final rule on produce safety. Available from: <http://www.fda.gov/Food/GuidanceRegulation/FSMA/ucm334114.htm>. Accessed May. 20, 2016 (2011).
7. Korea Agro-Fisheries & Food Trade Corporation: Food safety regulations on imports and exports fresh produce in Indonesia. <http://www.kati.net/kati.do> Accessed Oct. 20, 2015 (2015).
8. United States Department of Agriculture: Imports from China and food safety issues. [http://www.ers.usda.gov/media/156008/eib52\\_1\\_.pdf](http://www.ers.usda.gov/media/156008/eib52_1_.pdf) do Accessed Oct. 15, 2015 (2009).
9. U.S. Food and Drug Administration: Analysis and evaluation of preventive control measures for the control and reduction/elimination of microbial hazards on fresh and fresh-cut produce: Chapter III. Standardization of a method to determine the efficacy of sanitizers in inactivating human pathogenic microorganisms on raw fruits and vegetables. Available from: <http://www.fda.gov/food/foodscienceresearch/safepacticesforfoodprocesses/ucm091260.htm>. Accessed Dec. 20, 2015 (2015).
10. São José J.F.B., Vanetti M.C.D.: Effect of ultrasound and commercial sanitizers in removing natural contaminants and *Salmonella enterica* Typhimurium on cherry tomatoes. *Food Control*, **24**, 95-99 (2012).
11. Keskinen L.A., Annous B.A.: Efficacy of adding detergents to sanitizer solutions for inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 on Romaine lettuce. *Int. J. Food Microbiol.*, **147**, 157-161 (2011).
12. Vicente M., Gómez L., Peter R., Visvalingam J., Johan D., Frank D.: Shelf-life of minimally processed lettuce and cabbage treated with gaseous chlorine dioxide and cysteine. *J. Food Microbiol.*, **121**, 74-83 (2008).
13. Kim J.M.: Use of chlorine dioxide as a biocide in the food industry. *Food Industry and Nutrition*, **6**, 33-39 (2001).
14. Richa V., Richard H.L., Mark T. M.: Comparison of inactivation of *Listeria monocytogenes* with a biofilm matrix using chlorine dioxide gas, aqueous chlorine dioxide and sodium hypochlorite treatments. *J. Food Microbiol.*, **27**, 979-984 (2009).
15. Han Y., Guentert A.M., Smith R.S., Linton R.H., Nelson, P.E.: Efficacy of chlorine dioxide gas as a sanitizer for tanks used for aseptic juice storage. *J. Food Microbiol.*, **16**, 53-61 (1999).
16. Mahmoud, B.S.M., Bhagat A.R., Linton, R.H.: Inactivation kinetics of inoculated *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes* and *Salmonella enterica* on strawberries by chlorine dioxide gas. *J. Food Microbiol.*, **24**, 736-744 (2007).
17. Bhagat A.R., Mahmoud, B.S.M., Linton, R.H.: Inactivation *Salmonella enterica* and *Listeria monocytogenes* inoculated on hydroponic tomatoes using chlorine dioxide gas *Food-borne Pathogens and Disease*, **7**(6), 736-744 (2007).
18. Sy, Kaye V., McWatters Kay H., Beuchat, Larry R.: Efficacy of Gaseous Chlorine Dioxide as a Sanitizer for Killing *Salmonella*, Yeasts, and Molds on Blueberries, Strawberries, and Raspberries. *J. Food Prot.*, **6**, 1132-1317 (2005).
19. Han, J.E.: Chlorine dioxide for minimally processed produce preservation : a review. *Trends in Food Science & Technology*, **20**, 445-461 (2009).
20. Han Y., Floros J.D., Linton R.H., Nielsen S.S., Nelson P.E.: Response surface modeling for the inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 on green peppers (*Capsicum annuum* L.) by chlorine dioxide gas treatments. *J. Food Prot.*, **64**, 1128-1133 (2001).
21. Han Y., Linton R.H., Nielsen S.S., Nelson P.E.: Reduction of *Listeria monocytogenes* on green peppers (*Capsicum annuum* L.) by gaseous and aqueous chlorine dioxide and water washing and its growth at 7°C. *J. Food Prot.*, **64**, 1730-1738 (2001).
22. Park, S.H., Kang, D.H.: Antimicrobial effect of chlorine dioxide gas against foodborne pathogens under differing conditions of relative humidity. *Food Sci. Technol.*, **60**, 186-191 (2015).
23. Han, Y., Guentert, A. M., Smith, R. S., Linton, R. H., Nelson, P. E.: Efficacy of chlorine dioxide gas as a sanitizer for tanks used for aseptic juice storage. *J. Food Microbiol.*, **16**, 53-61 (1999).
24. Trinetta V., Morgan M.T., Linton R.H.: Use of high-concentration-short-time chlorine dioxide gas treatments for the inactivation of *Salmonella enterica* spp. inoculated onto Roma tomatoes. *J. Food Microbiol.*, **27**, 1009-1015 (2010).
25. Trinetta V., Linton R.H., Morgan M.T.: The application of high-concentration short-time chlorine dioxide treatment for selected specialty crops including Roma tomatoes (*Lycopersicon esculentum*), cantaloupes (*Cucumis melo* ssp. *melo* var. *cantaloupensis*) and strawberries (*Fragaria \_ ananassa*). *J. Food Microbiol.*, **34**, 296-302 (2013).
26. Lee H.E., Choi J.W., Hong Y.P., Pae D.H.: Effects of Chloride Dioxide (ClO<sub>2</sub>) Gas Treatment on the quality of strawberry during storage. *Kor. J. Hort. Sci. Technol.*, **27**, 84 (2009).