

양상추에 오염된 병원성 미생물에 대한 Chlorine Dioxide 및 상업적 Chlorine 살균소독제의 저해효과 평가

최미란 · 이선영[†]
중앙대학교 식품영양학과

Inhibitory Effects of Chlorine Dioxide and a Commercial Chlorine Sanitizer Against Foodborne Pathogens on Lettuce

Mi-Ran Choi and Sun-Young Lee[†]

Department of Food and Nutrition, Chung-Ang University

Abstract

This study compared the effects of chlorine dioxide and a commercial chlorine sanitizer for inhibiting foodborne pathogens, including *Salmonella enterica* serovar Typhimurium, *Listeria monocytogenes*, and *Escherichia coli* O157 : H7, on lettuce leaves. The lettuce samples were inoculated with each cocktail of the three strains, and were then treated with chemical sanitizers [distilled water, 100 ppm commercial chlorine and 50 ppm, 100 ppm, 200 ppm chlorine dioxide (ClO₂)] for 1 min, 5 min, and 10 min at room temperature(22±2°C). Following inoculation of the leaves, initial populations of *E. coli* O157:H7, *L. monocytogenes*, and *S. Typhimurium* were approximately 5.54, 4.47, and 5.12 log CFU/g, respectively these levels were not significantly reduced by the treatment with water, whereas the 100 ppm commercial chlorine sanitizer treatment and ClO₂ (at all tested concentrations) were effective at reducing levels of all three pathogens. The treatment of 200 ppm ClO₂ for 10 min was most effective at inhibiting the three pathogens, and reduction levels of *E. coli* O157 : H7, *L. monocytogenes*, and *S. Typhimurium* were 2.28, 1.95, 1.76 log, respectively. The inhibitory effect of ClO₂ increased with increasing treatment concentration of ClO₂, but there was no significant difference by the treatment times. When chemically injured cells of *E. coli* O157 : H7 and *L. monocytogenes* and *S. Typhimurium* were examined by SPRAB and selective overlay methods, respectively, it was observed that the commercial chlorine sanitizer generated greater numbers of injured *L. monocytogenes* than the ClO₂ treatment. From the overall results, ClO₂ was more effective at inhibiting pathogenic bacteria compared to the commercial chlorine sanitizer therefore, it has potential to be utilized as an alternative sanitizer to increase the microbial safety of fresh produce.

Key words: chlorine dioxide, chemical chlorine sanitizer, foodborne pathogens, lettuce, injured cells

1. 서론

병원성 미생물에 의한 식중독 발생은 생활수준이 높은 선진국에서조차 계속해서 증가하는 추세에 있어 인간의 건강을 해칠 뿐 아니라 막대한 경제적인 손실을 야기하고 있다. 우리나라에서도 최근 5년 동안 식중독 통계를 보면 매년 조금씩 증가하는 경향을 나타내고 있다(2003년: 7,909명, 2004년: 10,388명, 2005년: 5,711명, 2006년: 10,833명, 2007년 10월: 9,124명 - 식품의약품안전청 2007). 이러

한 식중독 사고 중 과일과 야채와 같은 신선 농산물과 관련된 식중독 사고도 다수 포함되어 있으며 또한 이러한 신선 농산물의 병원성 미생물과 관련된 식중독 사고는 최근 건강과 신선 식품에 대한 소비자의 관심이 지속적으로 증가하면서 그 수가 더욱 증가되는 경향을 나타내고 있다(Beuchat LR 등 2001). 실제로 미국의 경우 신선 농산물과 관련된 식중독 사고는 1973~1987년에 비해 1988~1992년에 그 수가 두 배로 증가되었고(Beuchat LR 1996), 국내에서도 발생한 식중독의 상당수가 생채소, 과일의 미생물 오염 및 증식 혹은 조리종사자의 손이나 기구의 혼용에 의한 생채소 음식의 교차오염에 의해 발생하는 것으로 밝혀졌다(류경 2001, Park HO 등 2001). 과일 및 야채와 같은 신선 농산물은 수확되어 소비되는 과정의 여러 단계에서 병원성 미생물을 포함한 다양한 미생물에 오염

[†]Corresponding author: Sun-Young Lee, Department of Food and Nutrition, Chung-Ang University
Tel: 031-670-4587
Fax: 031-676-8741
E-mail: nina6026@cau.ac.kr

될 수 있다(Beuchat LR 등 2001). 다양한 종류의 병원성 미생물이 식중독을 야기할 수 있지만 이중 *Shigella* spp., *Salmonella*, *Escherichia coli* O157:H7, *Campylobacter* spp., *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Yersinia enterocolitica*, *Bacillus cereus*, *Clostridium botulinum*, viruses 등이 과일과 야채와 같은 신선 농산물과 관련하여 식중독 사고 및 국민의 건강상의 문제에 크게 상관성이 있는 것으로 보고되고 있다(Burnett SL와 Buechat LR 2001). 이러한 병원성 및 부패 미생물은 과일과 야채에 여러 가지 원인에 의하여 오염될 수 있으며 그러한 오염 원인으로는 토양, 분변, 관계용수, 곤충, 가축을 포함한 동물, 사람의 취급 등이 있고 수확된 후 오염 원인으로는 분변, 사람의 취급, 수확 시 이용되는 기구, 이동 컨테이너, 먼지, 세척용수, 얼음, 가공 및 수송 시 이용되는 시설 등이 포함된다(Burnett SL와 Beuchat LR 2001). 이러한 여러 오염 경로를 통하여 과일과 야채 등에 오염된 병원성 미생물은 과일과 야채의 표면 및 상처 등의 틈에서 살아서 소비되기 전에 저장기간 동안 식중독을 일으킬 수 있는 충분한 농도로 성장할 수 있다(Beuchat LR 등 2001). 특히 비가열조리 신선농산물은 가열단계가 없기 때문에 원재료의 위생상태 관리와 급식소 내에서의 병원성 미생물의 조리 후 다른 음식으로 전이를 막는 것이 매우 중요하다. 이에 전 세계적으로 비가열조리 신선농산물의 살균소독제를 이용한 처리를 권장하고 있다. 현재 미국 등 외국의 경우 신선 농산물의 병원성 미생물에 대한 안전성 문제가 중요하게 인식됨으로써 대부분의 신선 농산물을 무세척(no-rinse) 살균소독제로 처리하도록 하고 있다. 이러한 무세척이고 식품표면에 이용될 수 있는 살균소독제로 미국의 FDA에 허가 받아 사용되고 있는 화합물로는 염소(chlorine), 이산화염소·산화염소계 화합물, 요오드 화합물(Iodophors), 4급 암모늄 화합물, 산성 음이온 소독제, carboxylic acid sanitizers, peroxy acid compounds, 페놀계 등이 있으며 미국은 이러한 식품의 세척에 이용되는 세척제 및 살균소독제에 대하여 자율표시제도를 운영하고 별도의 규정을 두지 않고 있다. 이 중 chlorine dioxide(CIO₂)는 식품산업에서 표면을 소독하기 위한 실질적 목적을 가진 강력한 살균소독제이다. Benarde MA 등(1965)은 CIO₂가 chlorine보다 약 3.5배의 소독효과를 가지고 있다고 보고했고, Lillard HS(1979)는 냉장 처리한 가금류를 사용했을 때 염소처리보다 CIO₂의 살균효과는 7배 강력한 것으로 보고하였다. 그러나 국내 학교급식소에서는 비가열조리 신선 농산물의 전처리 과정에서 염소계소독제를 이용하고 있으며, 신선 농산물의 소독 방법으로 유효염소농도 100 ppm에서 5분간 침지하는 것을 권장하고 있다(교육인적자원부 2004). 하지만 기존의 여러 연구에서 야채나 과일 등의 신선 농산물의 처리에 있어서 염소계 살균소독제의 한계를 보고하고 있다. 특히, National Advisory Committee on Micro-

biological Criteria for Foods(NACMCF)에서는 새싹 채소에 사용되는 종자에 calcium hypochlorine 20,000 ppm을 처리하여 병원성미생물을 5 log cycle 감소하였으나, 그 농도가 너무 높으며 20,000 ppm 이하의 농도에서는 병원성 미생물의 수를 감소시키는데 만족할만한 효과를 나타내지 않았다고 보고하였다. 이에 본 연구에서는 신선 농산물 중 양상추를 대상으로 각각 증류수, ClO₂, 국내에서 상업적으로 상용되고 있는 염소계소독제를 이용하여 살균소독을 실시했을 때 주요 병원성 미생물(*E. coli* O157:H7, *L. monocytogenes*, *Salmonella* Typhimurium)에 대한 저해효과를 평가하였다. 또한 살균소독제를 처리했을 때 생성될 수 있는 injured cell은 죽지 않고 살아남아 저장 시 생육하여 식중독 사고를 일으킬 수 있는 잠재적인 요소로 알려져 있다. 이에 본 연구에서는 각각의 살균소독제의 처리 시 잠재적인 위해성을 가진 injured cell의 생성에 대하여도 조사하였다.

II. 재료 및 방법

1. 사용균주

실험에는 각각3종의 *S. Typhimurium*, *L. monocytogenes*, *E. coli* O157:H7를 이용하였다. *E. coli* O157:H7(ATCC 35150, ATCC 43889, ATCC 43890), *S. Typhimurium*(ATCC 19585, ATCC 43174, ATCC 363755), *L. monocytogenes* (ATCC 19114, ATCC 19113, ATCC 7644)는 한국미생물 보존센터(Korean Culture Center of Microorganisms)에서 구입하였으며 각각의 균주는 Tryptic soy broth(TSB: Difco, Becton Dickinson, Sparks, MD, USA)에서 배양 및 계대되어 사용되었다.

2. 실험재료 및 처리를 위한 미생물 접종

본 연구에 사용된 재료는 급식소에서 제공되는 식재료 중 신선 농산물의 주재료인 양상추를 대상으로 하였다. 실험에 사용된 모든 양상추는 신선한 상태의 것을 안성시 소재 대형마트에서 실험 당일 구매하여 사용하였다. 각각의 병원성 미생물을 양상추에 접종하기 위하여 다음과 같은 방법을 사용하였다. 총 9종의 균주를 각각 5 mL TSB (Difco)를 이용하여 37°C에서 24시간 동안 배양한 뒤 배양액을 4°C에서 4,000×g의 조건으로 20분간 원심분리하여 균체(cell pellet)만을 수거하였다. 분리된 균체를 5 mL buffered peptone water(Difco)에 푼 뒤, 각각 3종의 균주는 혼합되어 혼합배양액(culture cocktail)으로 만들어졌으며 각각의 혼합배양액을 2 L 증류수에 잘 섞은 후 적당한 길이로 썰어진 양상추 잎을 첨가하여 실온에서 5분간 방치하였다. 접종된 양상추 잎은 clean bench에서 1~2시간 동안 건조되었으며 건조 후 각각의 처리를 위하여 사용되었다.

3. 화학적 살균소독제 준비 및 처리

염소계 용액은 상업적으로 이용 가능한 염소계 살균소독제 중에 푸드세프-플러스(주)대성케미칼, 한국)을 선택하여 실험에 이용하였다. 본 연구에서 사용된 염소계 살균소독제 소독법의 경우 학교급식에서 사용하고 있는 학교급식 위생관리 지침서(교육인적자원부 2004)에서 제시한 유효염소농도 100 ppm을 기준으로 하였고, 5 L의 증류수에 상업적 염소계소독제 1정을 넣어 제조하였다. Chlorine dioxide(ClO₂) 용액은 영천크리스티(한국)에서 생산된 8%의 ClO₂를 이용하여 증류수에 희석하여 각각 50, 100, 200 ppm 농도로 제조 한 후 사용하였다. 각각의 살균소독제는 살균력을 최대화하기 위하여 처리 바로 직전에 제조하여 사용하였으며 사용 용액의 유효염소농도를 확인하기 위하여 유효염소농도를 측정하는 기계(HI 95771 Chlorine Ultra HR ISM, HANNA instruments, Hungary)를 이용하였다. 측정 결과 실험에 이용된 살균소독제의 유효염소농도는 상업적 염소소독제는 94±3.49 ppm이었고, 50, 100, 200 ppm ClO₂는 각각 65±3.39 ppm, 136±8.58 ppm, 252±10.95 ppm로 나타났다.

각각 준비된 살균소독제는 접종된 양상추의 처리를 위하여 이용되었으며 증류수의 처리가 대조군으로 이용되었다. 200 mL 증류수와 각각의 살균소독제 용액을 300 mL 비이커에 준비한 뒤 약 25 g의 양상추를 첨가하여 각각 1, 5, 10분 동안 처리하였다. 처리 후 양상추 잎은 clean bench에서 위와 동일한 방법으로 건조되었으며 각각의 생존한 균수의 측정을 위해 사용되었다.

4. 시료준비 및 균수 측정

살아남은 균수의 측정을 위하여 처리된 양상추의 25 g을 멸균백에 담은 뒤 50 mL의 buffered peptone water를 첨가하였다. 준비된 샘플을 stomacher(BagMixer® 400, Interscience, France)로 2분간 균질화 하고 균질화된 시료는 멸균한 buffered peptone water를 사용하여 10배씩 희석되었으며 희석 후 각각의 배지에 분주하여 계수되었다. 각각의 미생물의 계수를 위한 배지로는 Sorbitol MacConkey agar(SMAC: Difco), antimicrobial supplement(Bacto™ Oxford antimicrobial supplement, Difco)를 첨가한 Oxford agar base(OAB: Difco), Xylose lysine desoxycholate agar(XLD: Difco)가 각각 *E. coli* O157:H7, *L. monocytogenes*, *S. Typhimurium*를 위한 선택배지로서 이용되었다. 3종의 배지는 모두 37°C에서 24~48시간 동안 배양되었으며 배양 뒤 생성된 colony 중 선택배지에서의 각각의 전형적인 colony 수를 측정하였다.

5. Injured cell을 포함한 균수 측정

처리 후에 생성된 각각의 injured cell을 포함한 생존 균

수를 측정하기 위해서 다음의 방법을 사용하였다. 먼저 *E. coli* O157:H7는 Rhee MS 등(2003)의 연구방법을 참고하여 1% sorbitol을 첨가한 Phenol red agar base(STRAB; Difco)을 이용해 위와 동일한 방법으로 균수를 측정하였다. *L. monocytogenes*와 *S. Typhimurium*의 경우 Lee SY 과 Kang DH(2001)의 연구에서 사용된 over-layer agar method가 실험에 이용되었으며 본 방법을 위하여 균질화되어 희석된 샘플은 비선택배지인 Tryptic soy agar(TSA: Difco)에 분주되고 도말 되었으며 이 배지들은 injured cell의 회복을 위하여 37°C incubator에서 약 3시간 배양된 뒤 멸균후 약 45°C로 식힌 각각의 선택배지로 overlay되었다. Overlay된 배지를 균한 뒤 37°C에서 위와 동일하게 24~48시간 동안 배양된 뒤 전형적인 검은색 colony가 계수되었다.

6. 통계처리

모든 실험은 3반복으로 수행되었으며 관찰된 실험결과 는 SAS 통계 프로그램(version 9.1, SAS Institute, Cary, NC, USA)의 ANOVA procedure을 이용하여 분석되었다. 각각의 처리군이 통계적으로 유의적으로 나타나는 경우에 ($p \leq 0.05$) 각각의 3반복 실험에 의한 평균값은 Duncan's multiple range test를 통하여 분리되었다.

III. 결과 및 고찰

양상추에 *E. coli* O157:H7를 접종한 후 농도를 달리한 ClO₂와 상업적 염소소독제로 처리 한 후의 결과는 Table 1과 같다. 양상추에 *E. coli* O157:H7를 접종한 직후 균수는 5.54 log CFU/g이었으며 이 양은 대조군인 물을 10분 동안 처리했을 때에 5.10 log CFU/g수준으로 나타나 유의적인 차이가 나타나지 않았다($p > 0.05$). 하지만 그 외의 다른 처리(상업적 염소소독제, ClO₂)를 한 경우에는 모두 유의적인 감소가 관찰되었다($p \leq 0.05$). *E. coli* O157:H7에 대한 저해수준은 상업적 염소소독제와 50 ppm ClO₂보다 100 ppm ClO₂와 200 ppm ClO₂에서 더 높은 수준으로 감소를 보였고, 특히 200 ppm ClO₂으로 10분 동안 처리했을 때 2.28 log 감소로 가장 높은 저해를 나타내었다. 100 ppm 상업적 염소소독제로 10분 동안 처리했을 때 0.88 log 감소를 보인 반면 100 ppm ClO₂의 처리에서는 10분 처리에서 1.81 log 감소를 보여, 동일한 농도에서의 *E. coli* O157:H7에 대한 저해효과는 상업적 염소소독제보다 ClO₂가 더 높은 것으로 나타났다. 그러나 모든 처리 구간에서 같은 농도에 대하여 처리시간은 유의적인 차이가 없었으나($p > 0.05$) 처리 농도에서는 유의적인 차이를 나타내($p \leq 0.05$) 처리시간에 비해 처리농도의 차이에 대한 *E. coli* O157:H7의 저해효과의 차이가 크음을 알 수 있었다.

양상추에 *L. monocytogenes*를 접종한 후 농도를 달리한 ClO₂와 상업적 염소소독제로 처리 한 후의 결과는 Table

Table 1. Populations of *E. coli* O157:H7 inoculated in lettuce treating different sanitizer following treatment time(Log₁₀ CFU/g)

Culture medium	Time (min)	Treatments				
		Water	100 ppm Chlorine	50 ppm ClO ₂	100 ppm ClO ₂	200 ppm ClO ₂
SMAC	0	5.54±0.35 ^A	5.54±0.35 ^A	5.54±0.35 ^A	5.54±0.35 ^A	5.54±0.35 ^A
	1	4.91±0.06 ^{B1)a2)}	4.58±0.53 ^{Bab}	4.56±0.34 ^{Bab}	4.04±0.43 ^{Bb}	3.99±0.48 ^{Bb}
	5	5.14±0.22 ^{ABa}	4.55±0.47 ^{Bab}	4.29±0.18 ^{Bb}	3.99±0.44 ^{Bb}	3.79±0.71 ^{Bb}
	10	5.10±0.13 ^{ABa}	4.65±0.33 ^{Bab}	4.10±0.29 ^{Bbc}	3.73±0.50 ^{Bc}	3.25±0.77 ^{Bc}
SPRAB	0	5.92±0.37 ^A	5.92±0.37 ^A	5.92±0.37 ^A	5.92±0.37 ^A	5.92±0.37 ^A
	1	4.65±0.91 ^{Aa}	5.17±0.31 ^{Ba}	4.78±0.14 ^{Ba}	4.37±0.64 ^{Ba}	4.22±0.56 ^{Ba}
	5	4.76±0.80 ^{Aa}	5.03±0.38 ^{Ba}	4.83±0.42 ^{Ba}	4.41±0.57 ^{Ba}	3.99±0.48 ^{Ba}
	10	4.89±0.71 ^{Aa}	5.17±0.18 ^{Ba}	4.77±0.55 ^{Ba}	4.25±0.72 ^{Bab}	3.43±0.63 ^{Bb}

¹⁾ Means with the same letter within a column are not significantly different(p>0.05).

²⁾ Means with the same letter within a row are not significantly different(p>0.05).

2와 같다. 양상추에 처리 전의 초기 *L. monocytogenes* 수는 4.78 log CFU/g이었으며 *E. coli* O157:H7의 결과와 마찬가지로 물 처리에서는 유의적인 차이를 나타내지 않았다(p>0.05). 그러나 *E. coli* O157:H7과는 달리 100 ppm 상업적 염소소독제로 처리했을 때는 10분 동안 처리시에만 유의적인 감소를 나타내었고(p ≤ 0.05) 그 외 1분 혹은 5분 동안 처리 시에는 유의적인 차이가 나타나지 않았다(p > 0.05), 또한 50 ppm ClO₂에서는 10분 처리에서도 유의적인 차이를 나타내지 않았으며(p > 0.05). 반면 100 ppm ClO₂로 10분 혹은 200 ppm ClO₂로 5분, 10분 처리했을 때 유의적인 차이가 나타났다(p ≤ 0.05). 특히 200 ppm ClO₂으로 10분 동안 처리 시에 1.95 log 수준의 감소를 보여 가장 큰 살균소독효과를 나타내었다. 이에 *L. monocytogenes*의 저해에 있어서 ClO₂가 상업적 염소소독제에 비하여 살균력이 높을 것을 알 수 있었으며 앞선 결과와 마찬가지로 ClO₂처리에서 처리 시간에 비해 처리 농도에 의한 차이가 더 분명하게 나타났다.

Table 3은 동일한 처리에서의 *S. Typhimurium*에 대한 결과를 보여주고 있다. 초기 *S. Typhimurium*의 수는 5.12 log CFU/g이었으며 앞선 두 병원성 미생물의 결과와는 달

리 물을 처리했을 때에도 유의적인 감소를 나타냈다(p ≤ 0.05). 그러나 물을 처리 했을 때의 감소 수준은 1, 5, 10분에서 각각 0.82, 0.82, 0.97 log로 나타나 모든 감소수준은 1 log 이하로 나타났다. 그 외 화학적 살균소독제를 처리 했을 때 모든 경우에서 유의적인 감소를 나타냈으며(p ≤ 0.05), 특히 200 ppm ClO₂로 5분과 10분 동안 처리 시에 각각 1.48, 1.76 log 수준의 감소를 나타내 가장 높은 저해를 보였다. 또한 *S. Typhimurium*에 대해서도 앞선 두 병원성 미생물과 같이 처리 시간에 대한 유의적인 차이는 관찰되지 않았다(p > 0.05).

본 연구는 상업적 염소소독제와 ClO₂의 양상추에 오염된 세 가지 병원성 미생물에 대한 저해효과를 조사하였다. 세 가지 병원성 미생물에 대하여 동일한 농도의 ClO₂는 상업적 염소소독제에 비하여 높은 저해효과를 나타내었다. 몇몇 기존의 연구논문들은 본 연구의 결과와 유사한 결과를 보여주고 있다. Rolando JG 등(2004)은 *E. coli* O157:H7을 접종한 당근에 200 ppm chlorine로 2분 처리한 결과 0.84 log 감소하였다고 발표하였고, Weissinger WR 등(2000)은 120 또는 200 ppm free chlorine solution을 양상추와 토마토에 40초 동안 처리한 결과 *Salmonella baidon*

Table 2. Populations of *L. monocytogenes* inoculated in lettuce treating different sanitizer following treatment time(Log₁₀ CFU/g)

Culture medium	Time (min)	Treatments				
		Water	100 ppm Chlorine	50 ppm ClO ₂	100 ppm ClO ₂	200 ppm ClO ₂
OAB	0	4.78±0.41 ^A	4.78±0.41 ^A	4.78±0.41 ^A	4.78±0.41 ^A	4.78±0.41 ^A
	1	4.68±0.68 ^{A1)a2)}	4.23±0.39 ^{ABa}	4.16±0.46 ^{Aa}	3.98±0.53 ^{ABa}	3.59±0.33 ^{ABa}
	5	4.68±0.66 ^{Aa}	4.02±0.51 ^{ABab}	4.24±0.67 ^{Aab}	3.84±0.53 ^{Bab}	3.28±0.47 ^{Bb}
	10	4.71±0.58 ^{Aa}	3.92±0.87 ^{Bbc}	4.20±0.61 ^{Aab}	3.60±0.55 ^{Bbc}	2.83±0.21 ^{Bc}
OV-OAB	0	5.10±0.54 ^A	5.10±0.54 ^A	5.10±0.54 ^A	5.10±0.54 ^A	5.10±0.54 ^A
	1	4.83±0.74 ^{Aab}	4.99±0.67 ^{Aa}	4.45±0.60 ^{Aab}	4.14±0.59 ^{Bb}	3.74±0.41 ^{Bb}
	5	4.93±0.43 ^{Aa}	4.97±0.66 ^{Aab}	4.41±0.70 ^{Abc}	4.00±0.54 ^{Bc}	3.46±0.39 ^{Bcc}
	10	4.82±0.59 ^{Aab}	4.84±0.78 ^{Aa}	4.33±0.59 ^{Abc}	3.81±0.58 ^{Bcd}	2.86±0.26 ^{Cd}

¹⁾ Means with the same letter within a column are not significantly different(p>0.05).

²⁾ Means with the same letter within a row are not significantly different(p>0.05).

Table 3. Populations of *S. Typhimurium* inoculated in lettuce treating different sanitizer following treatment time(Log₁₀ CFU/g)

Culture medium	Time (min)	Treatments				
		Water	100 ppm Chlorine	50 ppm ClO ₂	100 ppm ClO ₂	200 ppm ClO ₂
XLD	0	5.12±0.31 ^A	5.12±0.31 ^A	5.12±0.31 ^A	5.12±0.31 ^A	5.12±0.31A
	1	4.31±0.36 ^{B1)a2)}	4.20±0.31 ^{Ba}	4.22±0.21 ^{Ba}	3.96±0.34 ^{Ba}	3.96±0.21Ba
	5	4.31±0.35 ^{Ba}	4.22±0.29 ^{Bab}	4.17±0.27 ^{Bab}	3.97±0.34 ^{Bab}	3.65±0.31Bb
	10	4.16±0.41 ^{Ba}	4.27±0.27 ^{Ba}	4.24±0.29 ^{Ba}	3.95±0.41 ^{Bab}	3.37±0.39Bb
OV-XLD	0	5.51±0.33 ^A	5.51±0.33 ^A	5.51±0.33 ^A	5.51±0.33 ^A	5.51±0.33A
	1	5.19±0.61 ^{Aa}	4.79±0.29 ^{Ba}	4.87±0.31 ^{Ba}	5.00±0.15 ^{ABa}	4.62±0.34Ba
	5	5.26±0.55 ^{Aa}	4.56±0.25 ^{Bb}	4.86±0.28 ^{Bab}	4.95±0.18 ^{ABab}	4.56±0.29Bb
	10	5.30±0.37 ^{Aa}	4.69±0.35 ^{Bab}	4.85±0.34 ^{Bab}	4.46±0.74 ^{Bab}	3.99±0.64Bb

¹⁾ Means with the same letter within a column are not significantly different(p>0.05).

²⁾ Means with the same letter within a row are not significantly different(p>0.05).

이 1 log 이하로 감소하였다고 발표하여 염소계 소독제를 약한 살균력에 대하여 보고하고 있다. 몇몇 ClO₂의 처리 시의 효과에 대한 선행연구를 살펴보면 Lee SY 등(2002)은 콩나물을 100 ppm ClO₂로 5분 동안 처리 한 결과 *S. Typhimurium*이 2.96 log 수준으로 감소함을 관찰하였고, Marcy AW 등(2000)는 사과를 80 ppm ClO₂으로 10분 동안 처리했을 때 표면에 오염된 *E. coli* O157:H7이 3 log 이하 수준으로 감소되어 본 연구와 유사한 수준의 결과를 보고하고 있다. 반면 몇몇 선행연구에서는 본 연구와 다른 연구 결과를 보여주고 있다. 김혜영(2004)은 배추에 50~75 ppm chlorine을 5분 동안 처리했을 때 오염된 대장균군이 1.65 log 수준으로 감소함을 관찰하였고, 문혜경 등(2004)은 검수 시 부추의 대장균군수는 9.3×10² MPN/g, 분변성 대장균군수는 4.3×10² MPN/g였지만 50~100 ppm chlorine으로 5분 동안 처리한 결과 대장균군수와 분변성 대장균군수가 검출되지 않아 염소소독이 본 연구결과 이상의 저해효과를 나타내었다. 하지만 사용된 실험재료와 미생물에 따라서 결과에 차이가 나타날 수 있으므로 이는 그로 인한 차이라고 여겨지며 이에 보다 다양한 조건에서의 연구가 필요함을 알 수 있다. 또한 본 연구결과에서 ClO₂의 처리 시 처리 시간에 비해 처리 농도에 따른 저해효과의 차이가 높게 나타났는데 이는 다른 연구논문에서도 동일한 결과를 찾아볼 수 있다(Youm HJ 등 2005).

살균소독 처리 후에 형성되는 injured foodborne pathogens는 uninjured counterparts 만큼이나 잠재적으로 위험하며(Kang DH와 Fung DYC 1999, Kang DH와 Siragusa GR 1999, Lee SY과 Kang DH 2001, McCarthy SA 등 1990), 몇몇 기존의 연구논문들은 injured foodborne pathogens의 계수를 위한 방법 및 배지개발을 연구하였다. Rhee MS 등(2003)은 ground beef patties의 조리 전에 형성된 injured cell은 0.05 log로 SMAC배지와 SPRAB배지는 유의적으로 차이가 없었으나, 71.1°C에서 한번 또는 여러 번 뒤집

으면서 조리한 결과 injured cell이 각각 0.82, 1.07 log 수준으로 나타나 유의적인 차이를 보여 SPRAB배지는 injured *E. coli* O157:H7의 계수를 위한 recovery medium으로 적당함을 확인하였다. 또한 Lee SY과 Kang DH(2001)은 chemically injured *L. monocytogenes*, *S. Typhimurium*의 형성을 조사하기 위해 chemical sanitizer 처리 후에 selective over-lay(OV) medium 방법을 이용하였다. 따라서 본 연구에서도 injured cell의 형성을 조사하기 위해 세 가지 병원성 미생물이 접종된 양상추에 화학적 살균소독제로 1, 5, 10분 처리 후 SPRAB배지와 selective OV medium 방법을 사용하였고, 그 결과는 Table 1, 2, 3과 같다. 양상추에 처리 전 초기 injured cell을 포함한 *E. coli* O157:H7, *L. monocytogenes*, *S. Typhimurium* 수는 각각 5.92, 5.10, 5.51 log CFU/g이었으며, 대조군인 물을 10분 동안 처리했을 때 각각 4.89, 4.82, 5.30 log CFU/g 수준으로 나타나 유의적인 차이가 관찰되지 않았다(p>0.05). 상업적 염소소독제와 ClO₂처리 후 SPRAB, OV-OAB, OV-XLD배지에서 도출된 수치는 SMAC, OAB, XLD배지에서 도출된 수치보다 높게 나타나 chemically injured cell이 형성되었음을 보여주었다. OV-XLD배지의 경우 100 ppm 상업적 염소소독제로 5분 동안 처리했을 때 유의적인 감소가 나타났으나(p≤0.05) chemically injured cell이 0.33 log 형성되었으며, 그 외 처리 시간인 1분 혹은 10분 처리 시에는 유의적인 차이가 나타나지 않았다(p>0.05). 또한 SPRAB배지와 OV-OAB 배지에서도 100 ppm 상업적 염소소독제로 1, 5, 10분 동안 처리했을 때 유의적인 차이가 나타나지 않았으며(p>0.05), 각각 병원성 미생물에 대해 상업적 염소소독제로 처리했을 때 선택배지의 결과와 같이 처리 시간에 의한 유의적인 차이는 관찰되지 않았다(p>0.05). 반면 200 ppm ClO₂로 처리했을 때는 OV-OAB에서 처리 시간에 대한 유의적인 감소가 나타났고(p≤0.05), 특히 10분 동안 처리 시에 형성된 injured *E. coli* O157:H7, injured *L. monocytogenes* 수는 각각 0.18, 0.03 log 수준으로 모든

처리 구간 중에서 injured cell을 가장 적게 형성하는 것으로 나타났다. 또한 OV-XLD배지에서 200 ppm ClO₂로 5분 혹은 10분 동안 처리했을 때 유의적인 차이가 관찰되어(p ≤ 0.05) 상업적 염소소독제보다 ClO₂로 살균소독했을 때 잠재적으로 위험한 injured cell을 적게 형성하면서 병원성 미생물을 제어하는데 효과적임을 알 수 있었다. Lee SY 등(2002)은 콩나물에 200 ppm NaOCl과 268 ppm chlorous acid으로 10분 동안 처리한 결과 injured *L. monocytogenes*는 0.4 log 수준으로 NaOCl보다 chlorous acid에서 chemically injured cell을 덜 형성됨을 확인하였다.

본 연구에서는 상업적 염소 소독제와 ClO₂의 양배추에 오염된 병원성 미생물에 대한 저해 효과를 조사하였다. 조사 결과 ClO₂는 상업적 살균소독제 보다 살균력이 높은 것으로 나타났으나 모든 처리 구간에서 2 log 전후의 감소를 보여 높은 효과를 나타내지는 않는 것으로 관찰되었다. 따라서 보다 효과가 높은 살균처리 기술의 개발이 절실할 것으로 보인다. ClO₂는 액체 혹은 가스 형태의 살균소독이 가능하며 최근 이러한 ClO₂ 가스 형태의 살균소독제 처리에 있어서의 병원성 미생물에 저해에 대한 연구가 발표되었으며 기존의 액체 형태의 ClO₂를 이용한 결과보다 높은 저해 효과를 보고하고 있다. Beuchat LR (1998)은 양상추에 액체형태 살균소독제로 처리한 결과 *Salmonella*가 1 log 이하 수준으로 감소함을 관찰하였고, Zhang S과 Farber JM(1996)는 22°C에서 양상추에 200 ppm chlorine과 5 ppm ClO₂로 10분 동안 처리 한 결과 *L. monocytogenes*는 각각 1.7, 0.8 log 수준으로 감소함을 보고한 반면 Han Y 등(2001)은 표면에 상처가 없거나 상처가 있는 green paper 표면에 병원성 미생물을 접종한 뒤 ClO₂를 액체 혹은 가스 형태로 처리했을 때 액체형태의 3 ppm ClO₂는 각각 3.7, 0.4 log 수준의 감소를 나타낸 반면 가스 형태의 동일 농도의 ClO₂는 각각 6, 3.5 log 감소를 나타내었다. 특히 대다수의 과일 및 야채에 오염된 병원성 미생물은 주로 액체형태의 살균소독제가 미치지 않은 좁은 공간에 오염되어 있으므로 보다 나은 살균소독 처리로써 가스 등과 같은 새로운 형태의 기술을 응용도 고려되어야 할 것으로 사료되며 처리된 재료의 종류나 미생물의 종류에 따라서 결과가 매우 달라질 수 있으므로 보다 나은 살균처리 방법을 개발하기 위하여 좀 더 다양한 연구가 수행되어야 할 것으로 생각된다.

이선영 등(2007)은 aerosolization 기술은 살균소독제의 처리 시에 액체를 이용한 방법보다 매우 쉽고 적은 양의 액체로 넓은 공간을 처리할 수 있으며 특히 처리가 어려운 부분까지 손쉽게 처리할 수 있는 미생물 제어방법임을 발표하였다. 이와 같이 ClO₂의 병원성 미생물 제어효과는 살균소독제의 형태뿐만 아니라 미생물이 오염되어 있는 물질 및 미생물의 종류에 따라서 그 연구결과가 달라질 수 있으므로 다양한 조건 및 종류를 달리한 연구가 이루어

져야 할 것으로 사료된다. 또한 본 연구결과로부터 ClO₂ 처리의 병원성 미생물에 대한 효과는 처리 시간보다 처리 농도에 높은 저해효과를 보였으므로 응용 시에 이 점이 고려되어야 할 것으로 사료된다.

IV. 요약 및 결론

ClO₂는 미생물 제어를 위한 살균소독처리에 있어 상업적 염소소독제보다 효과적이므로 식품과 식품가공을 위한 시설 및 설비 등에 새로운 살균소독처리 방법으로서의 이용 가능성이 높다. 따라서 본 연구에서는 ClO₂와 국내에서 유통되고 있는 상업적 염소소독제를 액체형태로 농도와 시간을 달리하여 처리하였을 때 *E. coli* O157:H7, *L. monocytogenes*, *S. Typhimurium*에 대한 저해효과를 평가하였다. 그 결과 상업적 염소소독제보다 ClO₂에서 세 가지의 병원성 미생물에 대하여 유의적인 차이를 관찰하였고(p ≤ 0.05), 특히 200 ppm ClO₂로 10분 동안 처리했을 때 *E. coli* O157:H7, *L. monocytogenes*, *S. Typhimurium*에 대해 각각 2.28, 1.95, 1.76 log 수준의 감소를 보여 가장 높은 살균소독력을 나타냈다. 그러나 같은 처리 농도에서 처리 시간에 대해서는 특정한 상관관계를 나타내지 않았다. 잠재적인 위험요소로 알려진 chemically injured cell 수를 측정하였을 때 상업적 염소 소독제에 비해 ClO₂의 처리 시 더 적은 양의 injured cell이 생성되는 것이 관찰되었으며 특히 200 ppm ClO₂로 10분 동안 처리했을 때 chemically injured cell이 가장 적게 형성되었다. 이에 액체형태의 살균소독제를 처리 시 200 ppm ClO₂로 5분 이상 처리 시에 기존의 상업적 살균소독제 처리에 비하여 injured cell의 생성을 막고 세 가지 병원성 미생물에 대하여 가장 높은 살균효과를 기대할 수 있을 것으로 보인다. 하지만 ClO₂가 기존의 상업적 염소소독제보다 높은 효과를 나타내었다라도 그 살균력에 있어서 매우 크지 않으므로 가스 등의 새로운 형태나 보다 살균력이 높은 새로운 살균소독제의 개발이 필요할 것으로 사료된다. 또한 화학적 살균소독제의 효과는 오염되어 있는 미생물의 종류, 식재료의 종류 등에 따라서 그 결과에 차이가 있을 수 있으므로 보다 다양한 종류의 실험이 지속적으로 이루어져야 할 것으로 보인다.

V. 감사의 글

이 논문은 2006년도 중앙대학교 학술연구비 지원에 의한 것입니다.

참고문헌

교육인적자원부. 2004. 학교 급식 위생 관리 지침서 제2차 개정

- 김혜영. 2004. 단체급식소에서 이용되는 일부 생채소의 소독방법 및 저장에 따른 품질연구. 한국조리과학회지 20(6):684-695
- 류경. 2001. 생채소 과일의 세척 및 소독. 대한영양사협회 국민영양. 2001년 1월호 통권 225호. pp 23-25
- 문혜경, 전지영, 김창순. 2004. 단체급식 비가열조리 생채소의 소독 효과. 대한영양사협회 학술지 10(4):381-389
- 식품의약품안전청. 2007. <http://www.kfda.go.kr/index.html>
- 이선영, 정진호, 진현호, 김영호, 오세욱. 2007. 에어로졸 형태의 상업적 살균소독제의 병원성 미생물에 대한 저해효과 평가. J Food Hyg safety 22(4):235-242
- Benarde MA, Israel BM, Oliveri VP, Granstrom ML. 1965. Efficiency of chlorine dioxide as a bactericide. Appl Microbiol 13(5):776-780
- Beuchat LR, Larry R. 1996. Pathogenic microorganisms associated with fresh produce. J Food Prot 59(2):204-216
- Beuchat LR. 1998. Surface decontamination of fruits and vegetables eaten raw. Document WHO/FSF/FOS/98.2. World Health Organization, Geneva.
- Beuchat LR, Farbar JM, Garrett EH, Harris LJ, Parish ME, Suslow TV, Busta FF. 2001. Standardization of a method to determine the efficacy of sanitizers in inactivating human pathogenic microorganisms on row fruits and vegetables. J Food Prot 64(7):1079-1084
- Burnett SL, Beuchat LR. 2001. Human pathogens associated with raw produce and unpasteurized juices and difficulties in decontamination. J Ind Microbiol Biotechnol 27(2):104-110
- Han Y, Linton RH, Nielsen SS, Nelson PE. 2001. Inactivation 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(3):1730-1738
- Kang DH, Fung DYC. 1999. Thin agar layer method for recovery of heat-injured *Listeria monocytogenes*. J Food Prot 62(11):1346-1349
- Kang DH, Siragusa GR. 1999. Agar underlay method for recovery of sublethally heat-injured bacteria. Appl Environ Microbiol 65(12):5334-5337
- Lee SY, Kang DH. 2001. Suitability of overlay method for recovery of heat-injured *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* Typhimurium. Food Sci Biotechnol 10(3):323-326
- Lee SY, Yun KM, Fellman J, Kang DH. 2002. Inhibition of *Salmonella Typhimurium* and *Listeria monocytogenes* in mung bean sprouts by chemical treatment. J Food Prot 65(7):1088-1092
- Lillard HS. 1979. Levels of chlorine dioxide of equivalent bactericidal effect in poultry processing water. J Food Sci 44(6):1594-1597
- Marcy AW, Bonita AG, Mark LG, Cheryl AR. 2000. Reduction of *Escherichia coli* O157:H7 counts on whole Fresh apples by treatment with sanitizer. J Food Prot 63(6):703-708
- McCarthy SA, Motes ML, McPhearson RM. 1990. Recovery of heat stressed *Listeria monocytogenes* from experimentally and naturally contaminated shrimp. J Food Prot 53(1):22-25
- Park HO, Kim CM, Woo GJ, Park SH, Lee DH, Chang EJ, Park KH. 2001. Monitoring and Trends Analysis of Food Poisoning Outbreaks Occurred in Recent Years in Korea. J Food Hyg Safety 16(4):280-294
- Rhee MS, Lee SY, Hillers VN, Mccurdy SM, Kang DH. 2003. Evaluation of consumer-style cooking method for reduction of *Escherichia coli* O157:H7 in ground beef. J Food Prot 66(6):1030-1034
- Rolando JG, Yaguang L, Saul RC, James LM. 2004. Efficacy of sanitizers to inactivate *Escherichia coli* O157:H7 on fresh-cut carrot shreds under simulated process water conditions. J Food Prot 67(11):2375-2380
- Weissinger WR, Chantarapanont W, Beuchat. 2000. Survival and growth of *Salmonella bairdson* in shredded lettuce and diced tomatoes, and effectiveness of chlorinated water as a sanitizer. J Food Microbiology 62(1):123-131
- Youm HJ, Ko JK, Kim MR, Cho YS, Chun HK, Song KB. 2005. Effect of aqueous chlorine dioxide and citric acid treatment on microbial safety and quality control of minimally processed and refrigerated(MPR) salad. Korean J Food Sci Technol 37(1):129-133
- Zhang S, Farber JM. 1996. The effects of various disinfectants against *Listeria monocytogenes* on fresh-cut vegetables. Food Microbiol 13(4):311-321

2008년 4월 17일 접수; 2008년 7월 8일 심사(수정); 2008년 7월 8일 채택