J. Fd Hyg. Safety 21(2), 60-64 (2006)

CaO (Scallop-shell powder)를 활용한 상추 중 존재하는 자연균총 및 주요 식중독균 제어

김일진 · 김용수* · 하상도†
*중앙대학교 식품공학과, *한국보건산업진흥원*

Bacteriocidal Effect of CaO (Scallop-shell powder) on Natural Microflora and Pathogenic Bacteria in Lettuce

Il-Jin Kim, Yong-Soo Kim*, and Sang-Do Ha†
Department of Food Science and Technology, Chung-Ang University, Ansung 456-756, Korea
**Korea Health Industry Development Institute*
(Received April 25, 2006/Accepted May 26, 2006)

ABSTRACT – In this study, we evaluated bacteriocidal effect of CaO (scallop shell powder) for the reduction of microorganism in lettuce, and compared with main chemical sanitizers such as chlorine, ethanol, hydrogen peroxide. As a result, the effectiveness of CaO showed dramatic reduction rate for total aerobic bacteria, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus, Listeria monocytogenes, Staphylococcus aureus*, and *Salmonella* Typhimurium and were 5.9×10^3, 1.3×10^5, 5.9×10^3, 2.7×10^6, 3.6×10^3, 4.5×10^3 and 2.6×10^4, respectively. CaO did not show better disinfecting efficiency than chlorine or hydrogen peroxide which were used as sanitizer. In *Bacillus cereus* case, it showed 10^6 reduction rate, and were 10^2~10^5 times better reduction than ethanol sanitizer. According to these results, CaO can alternate the currently used chemical sanitizers due to its natural origin as well as the effectiveness for sterilization.

Key words: Bacteriocidal effect, CaO (scallop-shell powder), lettuce, food-borne pathogenic bacteria

최근 발생하는 식품안전 사고들은 대중매체를 통해 가시화 되면서 소비자들의 식품산업에 대한 전반적인 불신을 초래하고 있다. 이러한 식품의 안전성을 위협하는 요인들 중 미생물학적인 요인이 전체의 95%로 가장 시급히 관리되어야 할 부분으로 대두되고 있어 위해미생물을 제어할 수 있는 방법에 대한 관심이 집중되고 있다.

이러한 식중독을 제어하는 방법에는 고전압펄스 전기장[1], 진동 자기장, 초고압[2], 초음파, 마이크로웨이브[3,4] 등을 이용한 물리적 방법과 hot water holding, 염소계, 알콜계, 4급 암모늄계, 요오드계, 산알칼리제, 계면활성제 등과 같은 살균소독제를 이용하는 화학적 방법, 생물학적 방법이 있다. 식중독 제어를 위하여 사용되는 가장 보편적인 물질로 살균, 보존력을 가진 세척제 및 살균제, 항균제 등이 있다. 그러나 이들 살균제들은 대부분이 편리함이나 경제적인 이유 때문에 가장 선호되고 있는데 신선한 상태로 주로 소비되는 상추와 같은 채소류들은 열처리 방법으로 살균할 수 없기 때문에 살균소독제를 이용하여 균을 제어하는 방법을 주로 선택하고 있다. 이러한 살균소독제 들은 식품 또는 기구, 용기를 통하여 인체에 유입될 수 있기 때문에 식품첨가물에 준하는 안전성이 필요하다. 살균제는 식품에 접촉되는 기구에 첨가하여 부패균이나 병원균을 살균시켜 식품의 보존성을 높이는 식품첨가물로 과산화수소, 표백분, 하이포아염소산 나트륨, 계면활성제 등이 있다. 화학적 살균소독제는 식품에 접촉되는 기구에 사용시 인체의 유해함, 이미, 이취가 있어 소비자의 고급화되어가는 기호도에 부적합하여 기피현상이 두드러지고 있다.[5] 이러한 시점에서 천연 유래 살균소독 제품에 대한 요구가 절실하며, 독성이 적고 안전하면서도 위해요소를 제거할 수 있는 살균소독, 세척제의 필요성이 대두되고 있는데 이에 대한 연구가 매우 부족한 실정이다.

천연살균소독제 중 하나인 CaO는 일본후생성 고시 120호 기존 첨가물(천연첨가물)218에 수재되어 있는 패각소성 칼슘으로 북해도에서 생산된 함박조개의 껍질을 분말로 만든 것이다. CaO의 용도에 따라 연성온도 및 pH의 조성, 입자를 바꾸는 것이 가능하고 함박조개껍질 분말의 입자 조정을 함으로서, 야채의 살균/제균제, 식품첨가물, 건축단열재료, 수질정화제 등의 용도로 널리 사용되고 있다.

†Author to whom correspondence should be addressed.

본 연구는 CaO의 미생물에 대한 저해효과를 알아보기 위하여 상추에 존재하는 일반세균과 주요 식중독균에 대하여 CaO의 살균력을 염소, 알코올, 과산화수소계 살균소독제와 농도별로 비교하여 첨가물, 약품, 화학처리를 전혀 하지 않은 조개껍질 소성칼슘인 천연살균제 CaO의 살균력을 평가하고자 하였다.

재료 및 방법

시료 전처리

실험에 사용된 상추는 서울 시내에 위치한 대형마트에서 구입하여 사용하였다. 구입한 상추를 흐르는 물에서 2분간 2회 세척하였고, 처리된 상추를 2㎠ 정도 잘라 500 ppm 농도의 락스(유한락스, 유한양행, Seoul, Korea)에 10분간 침지하여 상추에 존재하는 상존세균을 제거하였다. 처리된 상추는 10 g씩 무균적으로 취하여 멸균백에 담고 한국미생물보존센터(Korea Culture Center of Microorganism, KCCM)에서 분양받은 시험균주를 10^5~10^7 정도 각각의 상추에 접종하여 살균소독제 농도 및 시간에 따라 처리하였다. 다만 상추의 일반세균수에 대한 살균력 시험을 위해서는 상기의 전처리 과정을 거치지 않고, 상추 10 g씩을 멸균백에 담아 살균력을 직접 시험하였다.

이렇게 전 처리된 시료에 CaO 0.05%(W/V), ethanol (ET) 5, 10, 15, 20%(V/V), chlorine (CL) 50, 100, 200, 300ppm (V/V), hydrogen peroxide (HP) 0.05, 0.1%(V/V)의 살균소독제를 농도별로 분주하고 살균소독제 처리가 끝난 시료를 멸균수로 5배 희석하였다.

시험균주

본 실험에 사용된 균주는 *Escherichia coli* ATCC 10536, *Bacillus cereus* ATCC 19111, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Salmonella* Typhimurium KCTC 2053, *Listeria monocytogenes* ATCC 19111을 사용하였다.

생균수 및 살균소독력 계산

전처리 완료 또는 전처리를 하지 않은 상추에 살균소독제 처리후의 계산은 ISO (7218 : 1985 General guidance for microbiological examination)방법으로 하였다. 페트리접시 당 30~300개의 집락을 생성한 페트리접시 2개 이상을 선택하여 계산하였다. 2단계의 연속된 희석배수에서 모두 유효범위의 결과를 얻었을 경우 생균수는 산술평균으로 계산하였다. 한 단계의 희석배수에서 유효범위의 결과를 얻었을 경우 생균수는 산술평균으로 계산하였으며, 계산된 결과는 두자리 유효숫자를 얻을 때까지 반올림하였다. 마지막 숫자가 5미만인 경우, 앞자리 숫자는 조정하지 않았고, 마지막 숫자가 5이상인 경우, 앞자리 숫자에 1을 더하였다. 두자리의 유효숫자를 얻을 때까지 이 과정을 반복하였다. 생균수는 1.0과 9.9 사이의 숫자를 10의 배수로 곱한 방식으로 표현하였다.[7]

$$\text{생균수(cfu/ml)} = c/(n_1 + 0.1n_2)d$$

C: 페트리접시에서 계수된 집락수의 합
n_1: 첫 번째 희석에서 계수된 페트리접시의 수
n_2: 두 번째 희석에서 계수된 페트리 접시의 수
d: 첫 번째 희석액의 희석배수

$$\text{생균수 감소율} = N \times 10^{-1}/Na$$

N : 현탁액의 생균수
Na: 검체의 살균소독 작용

Chemical sanitizer의 종류 및 살균소독 방법

Chemical sanitizer는 CaO (surfcera, Tokyo, Japan), ethanol (바이오콜, Korea), sodium hypochlorite (염소계), hydrogen peroxide (후아산, Japan)을 사용하였다.

CaO 0.05%(W/V), ethanol 5, 10, 15, 20%(V/V), chlorine 50, 100, 200, 300 ppm(V/V), hydrogen peroxide 0.05, 0.1%(V/V)가 평가되었다.

살균제로써 이들의 최적 농도와 처리시간에 대한 명확한 결론은 이루어지지 않고 있으나 chlorine의 특유한 냄새를 고려했을 때 일반적으로 50~100 ppm 사이의 범위로 Kwon 등[8]이 사용하여 효과가 입증된 농도이며, 미국 Center for Disease Control and Prevent (CDC)나 Environmental Protection Agency (EPA)의 경우는 과채류의 세척에 있어서 50~200 ppm 염소 용액을 사용할 것을 권장하고 있다.[9] 염소 용액의 항균 작용은 그 광범위성이나 속효성에서 널리 인정 받고 있으나, 독성 때문에 너무 높은 농도나 장시간 사용시 사용자의 안전성 문제와 과채류의 손상을 초래할 수 있다.[10] Ethanaol은 0~10%를 이용하고, hydrogen peroxide의 경우는 1~3.5%의 농도로 식품 살균에 사용되어지는 것으로 알려져 있다.[6] 동일한 검체에 대하여 실험을 2회 반복하여 살균 조건별 잔존 미생물들의 균수를 측정하여 그들의 평균값을 얻었다.

미생물 분석 방법

Aerobic mesophilic bacteria – 상존세균이 제거되지 않은 상추를 식품공전 시험방법에 따라 수행 하였다.[11] 시험용액 1 ml와 각 단계별 희석액 1 ml씩을 멸균 페트리 접시에 2매 이상씩 무균적으로 취하여 약 43~45°C로 유지한 표준한천배지 (Plate Count Agar, Difco, Bacton Dickinson

and Company, Spark, MD21152 USA)를 약 15 ml를 무균적으로 분주하고 페트리 접시뚜껑에 부착하지 않도록 주의 하면서 회전시켜 검체가 균일하게 배지에 혼합되도록 하고 냉각 응고 시켰다. 냉각 응고시킨 페트리 접시는 거꾸로 하여 35±1°C에서 24~48시간 배양하였다. 이때 대조시험으로 검액을 가하지 아니한 동일 희석액 1 ml을 배지에 가한 것을 대조로 하여 페트리 접시, 희석용액, 배지 및 조작이 무균적이 였는지 확인 하였다. 배양 후 즉시 생균수 및 살균소독력 계산법에 따라 계수하였다.

Escherichia coli – 세척되어 전처리가 완료된 상추에 시험용액을 가하여 생존한 *Escherichia coli*의 계수는 데스옥시콜레이트유당한천배지 (Desoxycholate Lactose Agar, Agar-Bacton, Difco, Bacton Dickinson and company, Spark, MD21152 USA)에 의한 정량법에 따라 수행하였다.[11] 균저감화와 살균소독제 처리가 완료된 시료 0.1ml와 각 단계 희석액 0.1 ml씩을 준비된 데스옥시콜레이트유당한천배지에 도말 접종하였다. 도말 후 35±1°C에 20±2시간 배양하여 전형적인 암적색의 집락을 EMB한천배지(Eosin Methylene Blue Agar)에 분리 배양하여 이것을 35±1°C에서 재배양하여 *E. coli*를 확인하였다. 균수의 산출 및 생균수 감소율은 배양 후 즉시 평가하였다.

Bacillus cereus – 전처리가 완료된 시험용액 0.1ml와 각 단계 희석액 0.1 ml 씩을 무균적으로 취하여 준비된 Mannitol Egg Yolk Polymyxin agar (MYP agar, Spark, MD21152 USA) 배지에 도말 접종하였다. 도말 후 30°C에서 24시간 배양하여 전형적인 집락 모양인 혼탁한 환을 갖는 분홍색 집락을 선택하여 균수의 산출 및 생균수 감소율 즉시 평가하였다.

Listeria monocytogenes – 전처리가 완료된 시험용액 0.1ml와 각 단계 희석액 0.1 ml 씩을 무균적으로 취하여 준비된 Modified Oxford Agar (MOX, Difco, Bacton Dickinson and Company, Spark, MD21152 USA) 배지에 도말 접종하였다. 30°C에서 24시간 배양 후 전형적인 집락 모양인 진한 갈색 또는 검은색 환으로 둘러싸인 집락을 선택하여 균수의 산출 및 생균수 감소율 계산법에 따라 평가하였다.

Staphylococcus aureus – 전처리가 완료된 시험용액 0.1 ml와 각 단계 희석액 0.1ml 씩을 무균적으로 취하여 준비된 Manitol salt agar (MSA, Difco, Bacton, Dickinson and company Spark, MD21152 USA) 배지에 도말접종하였다. 도말 후 37°C에서 16~24시간 배양하고 전형적인 집락모양인 노란색 환이 생기는 것을 기준으로 균수의 산출 및 생균수 감소율 계산법에 따라 평가하였다.

***S.* Typhimurium** – 전처리가 완료된 시험용액 0.1ml와 각 단계 희석액 0.1ml 씩을 무균적으로 취하여 준비된 Xylose Lysine Desoxycholate (XLD, Bacton Dickinson and Company, Spark, MD21152 USA) 배지에 도말 접종하였다. 도말 후 35°C에서 20~24시간 배양하고 살모넬라의 전형적인 집락모양인 유당 비분해 및 황화수소 산 생성으로 생성된 검은 색 환을 선택하여 균수의 산출 및 생균수 감소율 계산법에 따라 평가하였다.

결과 및 고찰

상추의 일반세균수 감소율은 Table 1에 나타내었다. CaO 0.05%에서 생균수 5.9×10^3 감소율을 보였고, 염소계 CaO의 생균수 감소율보다 대략 10^3 가량 낮게 나타났다. 과산화수소 감소율은 10^6~10^7으로 나타났고, 일반세균수에 대한 과산화수소의 살균소독력 감소율은 염소계 살균소독제 보다 10^2 정도 높아 살균력이 가장 좋은 것으로 판단된다. Sawai 등[12]의 연구에서 0.1 g dm^{-3} heated scallop shell powder의 절단된 cabbage 처리로 총호기성균은 20분 내에 1 log cycle, 0.5와 1.0 g dm^{-3}에서 10분 내에 2 log cycle 이상 감소시켰고, ascorbic acid를 염소 처리에 비하여 27% 수준까지 감소시켰으며 갈변과 같은 색의 변화와 품질에 영향을 미치지 않은 것으로 나타났다. 주정 5, 10, 15%에서는 일반세균수 감소율은 없었고, 20%에서만 5.2×10^2의 일반세균 감소율이 나타났다.

*E. coli*의 살균소독력 시험결과는 Table 1에 나타내었다. CaO 0.05%에서는 1.3×10^5의 감소율을 보였고, 염소계 50, 100 ppm과 비슷한 경향을 보였다. 과산화수소는 CaO 0.05% 보다 10^2 정도 높은 감소율을 보였다. 주정은 15%까지 살균소독력을 관찰할 수 없었다. CaO 0.05%에 비하여 염소계(50~300 ppm), 과산화수소계(0.5~2.0%)의 살균소독력이 10^3 정도 높았으나 염소계 살균소독제의 경우 200 ppm 이상의 농도 사용시 염소계 특유의 냄새가 나 실제 100 ppm 이하가 사용가능한 농도라 판단된다. 염소계 살균소독제는 신선 채소류를 세척하였을 경우 가장 큰 문제점인 세척 후 발생하는 이미, 이취와 갈변현상으로 적당한 농도의 사용이 권장되어져야 한다.

상추에 존재하는 네 가지 식중독균에 대한 살균소독제의 살균소독 효과 평가 결과를 Table 2에 나타내었다. *B. cereus*는 0.05% CaO에서 2.7×10^6의 감소율이 나타났다. 상추에 CaO 0.05% 처리시 200, 300ppm의 염소계 살균소독제를 처리한 감소율과 유사하였고, 과산화수소 2.0% 보다 10^1 높아 *B. cereus*에 대한 CaO 0.05%의 살균력은 가장 효과적인 것으로 판단된다. 주정 5~20%에서는 생균수 감소율이 나타나지 않아 *B. cereus*에 대한 주정의 소독력은 없는

Table 1. Effects of sanitizers and disinfectants on the reduction of aerobic mesophilic bacteria and *E. coli* in lettuce by 5 min of treatment

Sanitizers	Concentration	Reduction rate	
		Aerobic mesophilic bacteria	*E. coli*
CaO	0.05%	5.9×10^3	1.3×10^5
Chlorine	50 ppm	3.2×10^5	3.0×10^5
	100 ppm	5.6×10^5	3.2×10^5
	200 ppm	1.2×10^6	4.0×10^6
	300 ppm	5.9×10^6	7.9×10^6
Ethanol	5%	0	0
	10%	0	0
	15%	0	0
	20%	5.2×10^2	2.0×10^2
H_2O_2	0.5%	3.1×10^6	6.2×10^7
	1.0%	4.0×10^6	7.0×10^7
	2.0%	1.5×10^7	8.1×10^7

Inoculated bacteria number : 10^5~10^7 CFU.

것으로 판단된다. 결과적으로, CaO 0.05%는 염소계 200, 300 ppm 그리고 과산화수소 2.0%와 견줄만한 감소율을 나타내었으며, *B. cereus*의 제거 시에는 다른 화학적 살균소독제 보다는 CaO의 사용이 효과적인 것으로 판단된다.

대상 식품별 상추의 *L. monocytogenes*에 대해 CaO 0.05% 5분 처리했을 때 감소율이 3.6×10^3으로 나타났고, 염소계 살균소독제 보다 10^2~10^3 정도 낮게 보였으며, 과산화수소보다 10^2 정도 낮게 나타났다. Yeon 등[13]의 연구에 따르면 *L. monocytogenes*는 염소계 살균소독제 처리구중 가장 큰 생균수 감소 효과를 보인다고 보고하였다. 주정의 생균수 감소율은 20% 이내 모든 농도에서 0으로 나타나 *L. monocytogenes*에 대한 주정의 소독력은 없는 것으로 판단된다. 과산화수소 0.5, 1.0, 2.0%를 5분 처리하였을 때에는 농도에 따라 생균수 감소율이 증가하는 것으로 나타났다. 결과적으로 *L. monocytogenes*는 염소계 및 과산화수소 처리시 가장 큰 생균수 감소율을 보여 염소계와 과산화수소계에 약한 것으로 나타났고, CaO 0.05%는 염소계와 과산화수소계에 비하여 살균소독 효과가 적었지만 10^3 정도 감소율이 나타났다.

*S. aureus*를 CaO 0.05%로 5분간 처리했을 때 감소율이 4.5×10^3으로 나타났고, 염소계 50 ppm 보다는 10^2 정도 낮았으나 과산화수소 0.2% 보다 높게 나타나 CaO 0.05%의 살균력은 과산화수소보다 효과적인 것으로 판단된다. 주정을 처리 했을 경우 모든 농도에서 감소율이 0으로 나타나 *S. aureus*에 대한 주정 살균소독제는 효과가 없는 것으로 판단된다. 결과, *S. aureus* 제거에는 CaO, 주정, 과산화수소 보다 염소계 살균소독제 처리가 가장 효과적인 것으로 판단된다.

S. Typhimurium을 CaO 0.05%로 5분간 처리했을 때 감소율이 2.6×10^4로 나타났고, 염소계 300ppm 보다 높게 나타났다. CaO 0.05%의 감소율은 0.5%의 과산화수소 처리구보다 10^1 정도 낮게 나타나 CaO 0.05%의 감소율은 염소계보다는 높았으나 과산화수소 보다는 낮아 CaO 0.05%의 소독력은 염소계 보다 효과적인 것으로 판단된다. 주정 처리시에는 모든 농도에서 생균수 감소율이 관찰되지 않아 살균소

Table 2. Effects of sanitizers and disinfectants on the reduction of Four kinds of Food-borne pathogenic bacteria in lettuce by 5 min of treatment

Sanitizers	Concentration	Reduction rate			
		Bacillus cereus	*Listeria monocytogenes*	*Staphylococcus aureus*	*Salmonella* Typhimurium
CaO	0.05%	2.7×10^6	3.6×10^3	4.5×10^3	2.6×104
Chlorine	50 ppm	5.3×10^5	3.3×10^5	3.0×10^5	1.9×10^1
	100 ppm	7.3×10^5	8.2×10^5	8.0×10^5	2.0×10^2
	200 ppm	1.3×10^6	2.3×10^6	2.7×10^6	1.5×10^3
	300 ppm	9.8×10^6	4.9×10^6	4.3×10^6	6.7×10^3
Ethanol	5%	0	0	0	0
	10%	0	0	0	0
	15%	0	0	0	0
	20%	0	0	0	0
H_2O_2	0.5%	1.5×10^2	4.1×10^5	0	5.9×10^5
	1.0%	5.3×10^5	5.3×10^5	5.9×10^1	4.0×10^6
	2.0%	6.2×10^5	7×10^5	2.0×10^3	8.2×10^6

Inoculated bacteria number : 10^5~10^7 CFU.

독력이 없은 것으로 판단된다. 결과, *S.* Typhimurium은 과산화수소 처리시 가장 큰 감소율을 나타내어 과산화수소에 가장 약한 것으로 판단된다. CaO도 다른 화학적 살균소독제와 같이 식품 중 존재하는 미생물의 생육 억제 효과를 보였다. 본 연구 수행으로 향후 천연 살균소독제인 CaO가 화학적 합성물질을 대체할 수 있는 sanitizer가 될 것으로 판단된다.

국문요약

본 연구에서는 천연물질 유래 살균소독제인 CaO가 깻잎 중 존재하는 자연균총, *E. coli*, *Bacillus cereus, Listeria monocytogenes, Staphylococcus aureus, Salmonella* Typhimurium에 미치는 저해효과를 알아보았고 chlorine, ethanol, hydrogen peroxide 등 주요 화학적 살균소독제와 비교하였다. 0.05% CaO 처리시 총호기성균은 5.9×10^3, *E. coli*는 1.3×10^5, *B. cereus*는 2.7×10^1, *L. monocytogenes*는 3.6×10^3, *S. aureus*는 4.5×10^3, *S.* Typhimurium은 2.6×10^4의 감소율을 보였다. 일반적으로 사용되는 살균소독제인 염소계, 과산화수소계 보다 우수한 살균효과를 보이지는 못하였으나 *B. cereus*의 경우에는 10^6 정도의 감소율을 보여 염소 200 ppm과 대등하였고, 2%의 H_2O_2와 20%의 주정보다는 높은 감소율을 나타내었다. 본 연구에 따라 CaO는 기존의 화학적 살균제를 대체할 수 있는 좋은 천연물질유래 살균소독제로 활용될 수 있을 것이다.

참고문헌

1. Kim, K.T., Kim, S.S., Hong, H.D., Ha, S.D., and Lee, Y.C.: Quality changes and pasteurization effects of citrus fruit juice by high voltage pulsed electric fields(PEF) treatment. *Korean J. Food. Sci. Technol.* **35**, 635-641 (2003).
2. Kalchayanand, N., Sikers, T., Dunne, C.P., and Ray, B.: Hydrostatic pressure and electroporation have increased bacterdial efficiency in combination with bacteriocins. *Appl. Environ. Microbiol.* **60**, 4174-4177 (1994).
3. Shin, J.K., Pyun, Y.R.: Inactivation of *Lactobacillus plantrum* by pulsed-microwave irradiation. *J. Food. Sci.* **62**, 163-166 (1997).
4. Qin, B.L., Pothakamurry, U.R.0., Vega, H., Martin, O., abosa-Canovas., G.V., and Swanson, B.G.: Food pasteurization using high-intensity pulsed electric fields. *Food. Technol.* **49**, 55-60 (1995).
5. Jin, S.K., Song, D.J., Lee, H.G, Kim, Y.G, Park, T.S., and Park, G.B.: Effects of sodium lactate addition and lactic acid dipping on the cooking loss, salt, nitrite content, pH, WHC, water activity of sausage. *Korean J. Animal. Sci.* **37**, 379-386 (1995).
6. Cho, J.I., Kim, K.S., Park, G.J., and Ha, S.D.: Microbial assesment of wild cabbage and its control. *Korean J. Food Sci. Technol.* **36**, 162-167 (2004).
7. Acomparative Study on Efficacy Evaluation Methods Adopted in USA and EU concerning Sanitizers and Disinfectants, Korea (2004).
8. Kwon, N.H., Kim, S.H., Jim, J.Y., Lim, J.Y., Kim, J.M., Jung, W.K., Park, K.T., Bae, W.K., Noh, K.M., Choi, J.W., Hur, J., and Park, Y.H.: Antimicrobial activity of GC-100X against major foodborne pathogens and detaching effects of it against *Escherichia coli* O157:H7 on the surface of tomatoes. *J. Food Hyg. Safety* **17**, 36-44 (2002).
9. Holiday, S.L., Scouten, A.J., and Beuchat, L.R.: Efficacy of chemical treatments in elimination *Salmonella* and *Escherichea coli* O157:H7 on scarified and polished alfalfa seeds. *J. Food Prot.* **64**, 1489-1495 (2001).
10. Beuchat, L.R., Ryu, J.H.: Produce handling and processing practices. *Emerg. Infect. Dis.* **3**, 459-465 (1997).
11. Korea Food and Drug administration : Food Code, Korea Food & Drug Administration, Korea (2005).
12. Sawai, J., Igarashi, H., Hashimoto, A., Kokugan, T., and Shimizu, M.: Evaluation of growth inhibitory effect of ceramics powder slurry on bacteria by conductance method. *J. Chem. Eng. Japan* **28**: 288-293 (1995).
13. Yeon, J.H., Lee, D.H., and Ha, S.D.: Bacteriocidal Effec of Calcium oxide (CaO, Scallop-shell Powder) on Natural Microflora and Pathogenic Bacteria in Sesame Leaf. *Korean J. Food. Sci. Technol.* **37**, 844-849 (2005).