pISSN 1229-1153 *J. Fd Hyg. Safety*
Vol. 27, No. 3, pp. 264~270 (2012)

Journal of Food Hygiene and Safety
Available online at http://www.foodhygiene.or.kr

유기산 및 초음파 병용처리된 전해수를 이용한 들깻잎 중 *Salmonella* Typhimurium, *Staphylococcus aureus, Bacillus cereus*의 저감효과

김세리[1] · 오기원[2] · 이명희[3] · 정찬식[3] · 이서현[1] · 박선자[4] · 박정현[5]
류경열[2] · 김병석[1] · 김두호[1] · 윤종철[1] · 정덕화[6]*

[1]농촌진흥청 국립농업과학원 농산물안전성부, [2]농촌진흥청 연구정책국, [3]농촌진흥청 국립식량과학원 기능성작물부
[4]경남과학기술대학교 제약공학과, [5]계명대학교 전통미생물자원개발 및 산업화연구센터, [6]경상대학교 응용생명과학부

Effect of Electrolyzed Water Combined with Ultrasound and Organic Acids to Reduce *Salmonella* Typhimurium, *Staphylococcus aureus, Bacillus cereus* on Perilla Leaves

Se-Ri Kim[1], Ki-Won Oh[2], Myoung-Hee Lee[3], Chan-Sik Jung[3], Seo-Hyun Lee[1], Sun-Ja Park[4], Jung-Hyun Park[5], Kyoung Yul Ryu[2], Byung-Seok Kim[1], Doo-Ho Kim[1], Jong-Chul Yun[1], and Duck-Hwa Chung[6]*

[1]*Department of Agro-Food Safety, NAAS, RDA,* [2]*Research Policy Bureau, RDA,*
[3]*Department of Functional Crop, NICS, RDA,*
[4]*Department of Pharmaceutical Engineering, Gyeongnam National University of Science and Technology,*
[5]*The Center for Traditional Microorganism Resources, Keimyung University,*
[6]*Division of Applied Life Science, Gyeongsang National University*

(Received March 26, 2012/Revised May 26, 2012/Accepted July 26, 2012)

ABSTRACT - This study was performed to compared the effectiveness of individual treatments (electrolyzed water: EW, organic acid, and ultrasound) and their combination on reducing foodborne pathogens from perilla leaves. Perilla leaves were innoculated with a cocktail of *Salmonella* Typhimurium, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*. Inoculated perilla leaves were treated with EW combined with different concentration of acetic acid (0.5%, 1.0%, 1.5%, 2.0%) for 1 min at room temperature. Treatment of 3 pathogens on perilla leaves with electrolyzed water combined with ultrasound (25 kHz) and 0.5% acetic acid was also performed for 1 min. While the numbers of *S.* Typhimurium and *B. cereus* showed reduced with increasing acetic acid concentration, there is no difference in the number of *S. aureus* treated with EW containing 0.5% to 1.5% acetic acid. Discoloration was observed the perilla leaves treated with EW combined with more than 1.0% acetic acid. For all three pathogens, the combined treatment of EW and ultrasound resulted in additional 0.42 to 0.72 $\log_{10}$ CFU/g. The maxium reductions of *S.* Typhimurium and *B. cereus* were 0.95, 1.23 $\log_{10}$ CFU/g after treatment with EW combined with 0.5% acetic acid and ultrasound simultaneously. The results suggest that the treatment of EW combined with 0.5% acetic acid and ultrasound increased pathogens reduction compared to individual treatment.

Key words : perilla leaves, foodborne pathogen, electrolyzed water, ultrasound, acetic acid

최근 국민소득증가와 생활수준향상으로 건강에 대한 관심이 커져 조리하지 않고 바로 섭취하는 농산물의 소비가 대폭 증가하고 있다[1]. 비가열 농산물은 여러 가지 생리기능성이 유지되는 장점이 있으나 농산물에 존재하는 미생물은 제어되지 않는 문제가 있다[2]. 특히 엽채류는 표면적이 넓고 생산 과정 중 주변환경과 접촉 빈도가 높아 유해미생물에 오염되기 쉬우며 최근에는 엽채소의 섭취로 인한 식중독발생이 국내외적으로 보고되고 있다. 미국의 경우 1996년부터 2008년까지 농산물과 관련된 식중독이 82건 발생하였으며 그 중 엽채소와 관련된 사고는 28건이었다[3]. 엽채류에 의한 식중독사고의 예로는 2006년에 *Escherichia*

*Correspondence to: Duck-Hwa Chung, Division of Applied Life Science Graduate School of Gyeongsang National University, Jinju, Gyeongnam 660-701, Korea
Tel: 82-55-772-1903, Fax: 82-55-757-5485
E-mail: dhchung@gnu.ac.kr

coli O157:H7에 오염된 시금치가 원인이 되어 발생한 식중독 사고를 들 수 있으며 이 사고로 199명 이상의 환자가 발생하였고 3명이 사망하였다[4]. 그 외에도 영국에서 발생한 *Salmonella* Thompson에 오염된 상추로 인한 식중독과 덴마크에서 발생한 *Salmonella* Anatum에 의해 오염된 바질에 의한 식중독 등이 있다[5]. 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 관리가 시급하다[6,7].

식중독세균은 단순 물 세척만으로는 충분히 제거하기 어렵기 때문에 비가열 농산물의 살균소독제 처리에 대한 연구가 활발하게 진행되고 있다[8-12]. 살균소독제는 적용범위가 넓은 차아염소산나트륨, 이산화염소 등이 널리 사용되고 있으며 이들 소독제는 고농도로장시간 사용 시 관능적 품질의 저하 및 잔류염소에 의한 2차적 위해로 인한 문제를 초래할 수 있어 반드시 여러번의 헹굼과정을 거쳐 염소농도를 식수와 동일한 수준으로 낮추어야하는 등의 불편을 겪고 있다[11]. 이러한 문제점을 해결하기 위해서 이미 선진외국에서는 속효성의 살균력과 인체에 무해한 전해수를 이용한 표면살균 처리 및 세정기술에 대한 연구가 진행되어 오고 있다[8,9].

그러나 전해수 단독으로 세척시 신선농산물 자체에 존재하는 미생물을 줄이는 데는 한계가 있기 때문에 최근 채소의 세척시 유기산을 비롯한 화학적 처리, 마이크로웨이브, 초음파와 같은 물리적처리를 병용하는 세척기술이 연구되고 있다[9,13]. Park[13] 등은 산성, 알칼리성 전해수에 1% lactic acid, acetic acid, citric acid의 병용처리를 통해 양상추 중 총균수와 *L. monocytogenes*의 수가 산성, 알카리성 전해수 단독처리에 비해 1.0 log CFU/g 내외의 상승효과를 보였다. 또한 Zhou 등[9]은 시금치에 *E. coli* O157:H7을 접종하고 각종 소독제와 초음파를 결합 처리했을 때 소독제를 단독처리하는 것보다 상승효과가 있음을 입증하였다. 그러나 시금치와 상추를 대상으로 전해수의 미생물 제어 연구는 많지만 들깻잎은 한국, 중국, 일본 등 아시아 일부국가에서 주로 소비되고 있어 이에 대한 미생물제어 연구는 드문실정이다.

본 연구에서는 들깻잎을 대상으로 전해수를 단독처리와 유기산 및 초음파 병용처리시전해수의 *Salmonella* Typhimurium, *Staphylococcus aureus, Bacillus cereus* 제어효과를 구명하고자 수행하였다.

재료 및 방법

사용된 균주

사용된 균주는 *S.* Typhimurium(ATCC 19585, ATCC 13311, DT104), *S. aureus*(ATCC 13565 ATCC 23235, ATCC 29213), *B. cereus*(ATCC 10876, ATCC 13061, KCTC 1092)였다. 각 균주는 7 ml trypticase soy broth(TSB, Oxoid, Hampshire, UK)에 접종한 후 *S.* Typhimurium와 *S. aureus*는 37°C, *B. cereus*는 30°C, 180 rpm에서 24시간 동안 배양하였다. 배양액은 10,000 × g의 조건으로 10분간 원심분리하고 상등액을 제거하였다. 이후 균체를 각각 0.1% buffered peptone water(BPW, Difco, IL, USA)에 현탁시키고 $O.D._{600}$ 1.0으로 조정한 후 10배 희석하였다. 6종의 균주를 1 ml 씩 혼합하여 각 균주의 최종농도가 약 10^8 CFU/ml이 되게 혼합배양액(culture cocktail)을 조제하였다.

전해수 준비

본 연구에서는 100 ppm 농도의 전해수를 사용하였고 생성과정은 다음과 같다. 먼저 20% NaCl(Ducksan, Gyeonggi, Korea)용액을 무격막식 전해수 생성장치(HBS 3000, Han-Bio, Incheon, Korea)에 주입하고 60 A의 전류를 흘려보내어 100 ppm 전해수를 제조하였다. 전해수는 살균력을 최대화하기 위하여 처리 바로 직전에 제조하여 사용하였으며 유효염소농도를 확인하기 위하여 유효염소농도측정기(HI 95771 Chlorine Ultra HR ISM, HANNA instruments, Hungary)를 사용하였다.

병용처리 유기산 선정

전해수효과를 보다 상승시키기 위해서 유기산을 병용처리를 하였다. 병용처리할 유기산을 선정하기 위하여 acetic acid(Junsei, Tokyo, Japan), citric acid(Biosesang, Gyeonggi, Korea), maleic acid(Junsei, Tokyo, Japan)를 전해수 100 ppm에 2%씩 첨가하였으며 유기산이 첨가된 전해수의 이화학적 특성을 조사하기 위하여 pH, 산화환원전위, 유효염소량 측정하였다. pH 측정은 pH 미터(SP2300, Suntex, Taiwan), 산화환원전위는 ORP 미터(OAKTON, Coleparmer, USA), 유효염소량은 염소측정계(HI 95771 Chlorine Ultra HR ISM, HANNA instruments, Hungary)를 이용하여 측정하였다. 또한 유기산이 첨가된 전해수의 미생물 제어능을 비교하기 위하여 100 ppm전해수에 2% acetic acid, citric acid, maleic acid를 각각 첨가하고 멸균시험관에 9 ml씩 분주하였다. 앞서 언급한 혼합배양액 1 ml을 가한 후에 30초간 반응시켰다. 이후 반응액 1 ml을 9 ml의 Dey-Engley nutralizing broth (DEB, Difco, IL, USA)에 넣어 반응을 종료시켰다.

3종의 유기산을 이용하여 결합처리 효과를 검정한 결과 acetic acid를 사용하였을때 상승효과가 가장 높아 acetic acid 농도에 따른 상승효과를 검정하였다. 이를 위하여 전해수 100 ppm에 0.5%, 1.0%, 1.5%, 2.0%를 첨가한 후 이후 멸균시험관에 9 ml씩 분주하였다. 이후 실험법은 앞서 3종의 유기산을 사용하여 병용처리한 과정과 같다.

Acetic acid 병용처리에 따른 들깻잎 중 미생물 저감화 효과분석

Acetic acid 병용처리에 따른 들깻잎 중 *Salmonella* Typhimurium, *Staphylococcus aureus, Bacillus cereus*의 제어효과 검정을 위해 들깻잎은 수원시 소재의 하나로마트에서 실험 당일 구매하여 사용하였다. 실험 전 들깻잎은 흐르는 물에서 1차 세척하여 토양, 먼지를 제거하고 1차 증류수로 2차 세척하였다. 이후 1시간 동안 실온에 방치하여 물기를 일부 제거한 후 본 연구에 사용하였다. 그리고 앞서 언급한 혼합배양액 800 μl를 micro pippet으로 들깻잎 10 g(약 4~5장)에 spotting법으로 접종하고 clean bench에서 90분 동안 건조하였다. 접종된 들깻잎 10 g을 0.5%, 1.0%, 1.5%, 2.0%가 함유된 100 ppm 전해수용액 500 ml에 각각 담그고 1분 동안 100 rpm 속도로 교반기에서 반응시켰다.

초음파와 acetic acid 병용처리에 의한 미생물 저감화 상승효과

들깻잎에서 전해수에 의한 미생물 저감화 효과를 높이기 위하여 초음파처리, 초음파와 acetic acid 병용처리를 하였다. 들깻잎에 *S.* Typhimurium, *S. aureus, B. cereus*접종은 앞서 acetic acid 병용처리와 같은 방법으로 하였다. 접종된 들깻잎 10 g은 1분 동안 100 ppm 전해수 단독처리, 초음파(25 KHz)단독처리, 100 ppm전해수와 초음파병용처리(25 KHz), 0.5% acid를 가한 100 ppm전해수와 초음파 병용처리를 하였다.

미생물 분석

각 처리가 끝난 들깻잎을 10 g씩 멸균백에 담고 90 ml의 DEB(Difco, IL, USA)을 가한 후 stomacher(Bagmixer 400VW, Interscience, Paris, France)로 2분간 균질화시켰다. 균질화된 시료는 9 ml의 0.1% BPW에서 10배씩 희석하였으며 희석 후 *S.* Typhimurium은 xylose lysine desoxychate agar(XLD, Difco, IL, USA)에 *S. aureus*는 Barid-parker agar(BPA, Oxoid, Hampshire, UK)에 *B. cereus*는 mannitol egg yolk polymyxin agar(MYP, Oxoid, Hampshire, UK)에 농도별로 200 μl씩 도말하였다. 각각의 접종된 배지는 37°C에서 24시간 동안 배양하였으며 배양 뒤 생성된 colony 중 각각의 선택배지에서 전형적인 colony 수를 계수하였다.

통계처리

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

결과 및 고찰

유기산 첨가에 따른 전해수의 미생물 저감효과

Acetic acid, citric acid, maleic acid는 2%씩 100 ppm 전해수에 각각 첨가하고 pH, 유효염소량, ORP에 대하여 측정한 결과는 Table 1과 같다. 유기산을 첨가했을 때 ORP가 증가하였고 pH는 낮아졌으며 citric acid와 maleic acid를 첨가하였을 때 유효염소량이 0.8 ppm으로 급감하였다. 이에 반해 2% acetic acid를 처리하였을 때 유효염소량의 변화가 없고 산화・환원전위가 1807.7 mV까지 증가하였다. 따라서 유기산 첨가는 pH의 감소, ORP의 증가시켜 이

Table 1. Physicochemical properties of electrolyed water containing acid

Sanitizer	pH	Free chloride (ppm)	ORP (mV)
Electrolyzed water	8.39 ± 0.03[a]	102.67 ± 2.52[a]	754.67 ± 9.07[d]
Electrolyzed water with 2%acetic acid	2.58 ± 0.08[b]	103.00 ± 2.00[a]	1807.67 ± 2.52[a]
Electrolyzed water +2%citric acid	1.94 ± 0.04[c]	0.80 ± 0.02[b]	789.33 ± 3.06[c]
Electrolyzed water +2%maleic acid	1.52 ± 0.02[d]	0.83 ± 0.02[b]	841.67 ± 2.08[b]

Means ± standard deviations with different letters within a column are significantly different ($P < 0.05$)

Table 2. Efficacy of electrolyzed water combined with an organic acid for killing *S.* Typhimurium, *S. aureus* and *B. cereus* cells

Pathogen	$\log_{10}$ CFU/ml[1)]				
	Initial level	A[2)]	B[3)]	C[4)]	D[5)]
S. Typhimurium	8.92 ± 0.30[a]	3.10 ± 0.10[d]	N. D.[6)e]	6.73 ± 0.45[c]	8.20 ± 0.39[b]
S. aureus	8.81 ± 0.08[a]	3.72 ± 0.10[d]	N. D.[e]	6.13 ± 0.12[c]	8.63 ± 0.10[b]
B. cereus	7.59 ± 0.03[a]	4.34 ± 0.04[b]	N. D.[c]	4.53 ± 0.12[b]	4.53 ± 0.12[b]

[1)]Means ± standard deviations with different letters within a line are significantly different ($P < 0.05$)
[2)]A : 100ppm electrolyzed water
[3)]B : 100ppm electrolyzed water with 2% acetic acid
[4)]C : 100ppm electrolyzed water with 2% maleic acid
[5)]D : 100ppm electrolyzed water with 2% citric acid
[6)]N. D.: Not detected (Detection limit : 3 $\log_{10}$ CFU/ml)

로 인한 전해수의 상승효과를 기대할 수 있을 것으로 보인다.

유기산 병용처리를 들깻잎에 적용하기에 앞서 미생물 배양액에 먼저 효과를 검정하였으며 그 결과는 Table 2와 같다. *S.* Typhimurium, *S. aureus*, *B. cereus*의 초기 균수는 각각 8.92, 8.81, 7.59 $\log_{10}$CFU/ml였으며 전해수 단독 처리시 각각 5.82, 5.09, 3.25 $\log_{10}$CFU/g씩 감소하였다. 이에 반해 acetic acid 병용처리에 의해 검출한계 이하(3.0 $\log_{10}$ CFU/ml)로 검출되어 전해수 단독처리보다 미생물 저감화 효과가 극대화되었다. 반면 maleic acid나 citric acid 병용처리시에 전해수 단독 처리보다 오히려 미생물 저감 효과가 감소되었다. 이는 acetic acid 첨가에 의해 pH저하와 산화환원전위가 상승에 의한 효과로 인한 것으로 판단된다. 한편 citric acid나 maleic acid 첨가는 오히려 유효염소량을 감소시키 때문에 이로 인한 전해수의 미생물 저감효과를 감소시킨 것으로 보인다. 따라서 전해수의 미생물 저감효과 상승을 위해서는 acetic acid의 병용처리가 효과적이다.

Acetic acid 병용처리시 전해수의 미생물 저감화에 상승효과를 보여 acetic acid 첨가량에 따른 상승효과를 검정하였으며 그 결과는 Table 3과 같다. 전해수나 2% acetic acid 단독처리에 비하여 전해수와 acetic acid 병용처리에 의해 미생물 저감화 효과가 상승하는 경향이 있었다. 0.5% 결합처리로도 약 1.0 $\log_{10}$CFU/ml이상의 상승효과가 있었고, 1.0% 결합처리부터는 검출한계 이하(3.0 $\log_{10}$CFU/ml)로 검출되어 농도별 효과는 비교할 수 없었다. 따라서 acetic acid를 전해수에 0.5% 이상만 첨가한다면 전해수에 의한 미생물 저감화 효과를 보다 상승시킬 수 있을 것으로 판단된다.

들깻잎에서 acetic acid 병용처리에 따른 미생물 저감화 효과

들깻잎 표면에 접종된 *S.* Typhimurium, *B. cereus*, *S. aureus*에 대한 전해수와 acetic acid 병용처리에 따른 저감화 효과를 나타낸 결과는 Fig. 1에서 보는 바와 같다. *S.* Typhimurium은 전해수 단독처리에 의해 2.03 $\log_{10}$CFU/g감소하였고, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0% acetic acid를 병용처리하였을 때 각각 0.34, 0.69, 0.80, 1.05 $\log_{10}$CFU/g의 상승효과를 보였다. 또한 전해수 단독처리에 의해 *B. cereus*의 저감화는 2.03 $\log_{10}$CFU/g인데 비하여 0.5, 1.0, 1.5, 2.0% acetic acid를 병용처리하였을 때 각각 0.26, 0.77, 0.91, 1.17 $\log_{10}$ CFU/g의 상승효과가 관찰되었다. 하지만 *S. aureus*는 acetic acid 0.5%~1.5% 병용처리하였을 때는 acetic acid 결합처리에 의한 상승효과는 관찰할 수 없었으나 2.0% 결합처리에서 0.68 $\log_{10}$CFU/g의 상승효과를 보였다. 이는 타 연구자의 결과에서도 같은 경향을 보였는데 Park[13] 등의 연구에서는 산성, 알칼리성 전해수에 1% lactic acid, acetic acid, citric acid의 병용처리를 통해 양상추 중 총균수와 *L.*

Table 3. Efficacy of electrolyzed water with different concentration of acetic acid in killing *S.* Typhimurium, *S. aureus* and *B. cereus* cells

Pathogens	Initial level	$\log_{10}$ CFU/ml[1)]					
		A[2)]	B[3)]	C[4)]	D[5)]	E[6)]	F[7)]
S. Typhimurium	8.92 ± 0.36^{a}	3.10 ± 0.10^{c}	7.57 ± 0.08^{b}	N. D.[8)c]	N. D.^{c}	N. D.^{c}	N. D.^{c}
S. aureus	8.81 ± 0.10^{a}	3.72 ± 0.12^{c}	8.30 ± 0.05^{b}	N. D.^{d}	N. D.^{d}	N. D.^{d}	N. D.^{d}
B. cereus	7.59 ± 0.04^{a}	4.34 ± 0.05^{c}	6.03 ± 0.02^{b}	3.16 ± 0.28^{d}	N. D.^{d}	N. D.^{d}	N. D.^{d}

[1)]Means ± standard deviations with different letters within a line are significantly different ($P < 0.05$)
[2)]A: 100ppm electrolyzed water,
[3)]B: 2% acetic acid,
[4)]C: 100ppm electrolyzed water with 0.5% acetic acid,
[5)]D: 100ppm electrolyzed water with 1.0% acetic acid,
[6)]E: 100ppm electrolyzed water with 1.5% acetic acid,
[7)]F: 100ppm electrolyzed water with 2.0% acetic acid
[8)]N. D.: Not detected (Detection limit : 3 $\log_{10}$ CFU/ml)

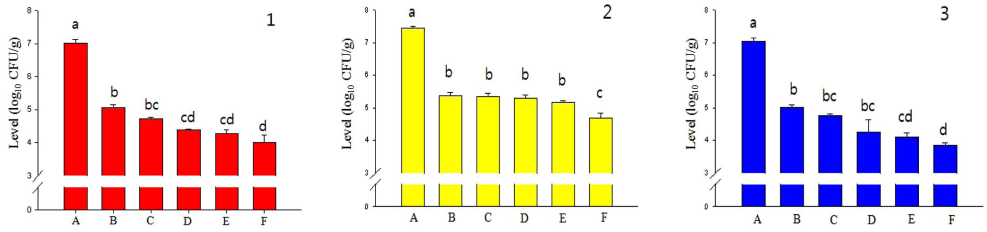

Fig. 1. Efficacy of electrolyzed water combined with different concentration of acetic acid in killing *S.* Typhimurium(1), *S. aureus*(2), and *B. cereus*(3) cells inoculated on perilla leaves.
A: Initial level, B: 100ppm electrolyzed water, C: 100ppm electrolyzed water with 0.5% acetic acid, D: 100ppm electrolyzed water with 1.0% acetic acid, E : 100ppm electrolyzed water with 1.5% acetic acid, F: 100ppm electrolyzed water with 2.0% acetic acid

*monocytogenes*의 수가 산성, 알카리성 전해수 단독처리에 비해 1.0 $\log_{10}$CFU/g 내외의 상승효과를 보였다. 또한 Singh 등[14]은 오존, 이산화염소로 양상추를 살균처리 할 시 충분한 살균효과가 없었지만 유기산 병용처리시 식중독균 저감에 상승효과가 있었다고 보고하였고 Kim 등[15]도 알카리 전해수에 1% citric acid를 병용처리하였을 때 양상추 중 *E. coli* O157, *L. monocytogenense*가 알카리 전해수 단독처리보다 약 1.0 $\log_{10}$CFU/g의 상승효과가 있었다고 보고하였다. 따라서 전해수과 유기산 병용처리는 농산물 중 식중독균 저감화에 효과적일 것으로 판단된다.

한편, 유기산 첨가는 변색, 이취발생시켜 농산물의 품질에 변화를 초래한다고 보고된 바가 많다[16-17]. 유기산 병용처리에 의해 식중독균의 저감화 효과가 상승할 지라도 품질을 저하시킨다면 실용화되기 어려운 기술이 된다. 따라서 전해수 처리 후 7일 동안 4ºC에서 저장하면서 외관을 관찰한 결과, 전해수 단독처리, 0.5% acetic acid 결합처리에서는 품질의 열하를 관찰할 수 없었지만 1.0% 이상 처리함으로써 들깻잎 표면에 검은 반점이 형성되는 것을 관찰하였다(data not shown). 들깻잎에 acetic acid 병용처리를 할 경우 0.5%까지 첨가 가능하며 유기산 병용처리는 산처리에 의해 변색을 일으키지 않는 농산물에 처리하는 것이 바람직할 것으로 판단된다.

초음파와 acetic acid 병용처리에 따른 전해수의 미생물 저감화

초음파처리시 발생하는 미세한 공기방울은 소독제에 담긴 농산물 표면에 도달하면 붕괴된다. 공기방울 붕괴시 발생하는 에너지에 의해 농산물 표면에 부착된 식중독세균을 사멸시키거나 농산물 표면으로부터 이들 세균들을 탈리시키는 역할을 한다[18-19]. 따라서 초음파를 전해수와 병용처리할 경우 초음파에 의해 농산물표면에 있는 식중독세균을 탈리시키고 탈리된 식중독 균은 전해수에 의해 다시 사멸시키는 작용을 통하여 식중독세균을 효과적으로 제어시킬 수 있을 것이다. 따라서 들깻잎 중 식중독세균의 효과적인 제어법을 확립하기 위하여 들깻잎 표면에 *S.* Typhimurium, *B. cereus*, *S. aureus*를 접종하고 전해수와 초음파, acetic acid를 병용처리하여 저감화 효과를 비교하였다. 그 결과 Fig. 2에서 보는 바와 같이 *S.* Typhimurium의 경우 전해수, 초음파단독처리에 의해 각각 2.02, 1.05 $\log_{10}$CFU/g 감소하였고, 전해수와 초음파의 병용처리에 의해 2.72 $\log_{10}$CFU/g, 전해수, 초음파, 0.5% acetic acid 병용처리에 의해 2.95 $\log_{10}$CFU/g가 감소하였다. 또한 *B. cereus*는 전해수, 초음파 단독처리에 의해서 각각 2.03, 0.63 $\log_{10}$CFU/g 감소하였으며 전해수와 초음파 병용처리(25 KHz)에 의해 2.54 $\log_{10}$CFU/g, 전해수에 0.5% acetic acid를 첨가한 후 초음파처리한 구에서는 3.26 $\log_{10}$CFU/g으로 전해수 단독처리에 비해 1.23 $\log_{10}$CFU/g의 상승효과가 나타났다. *S. aureus*는 전해수, 초음파 단독처리에 의해서 각각 2.08, 0.70 $\log_{10}$CFU/g 저감되었으며 전해수와 초음파 결합처리(25 KHz)는 전해수 단독처리구에 비해 0.42 $\log_{10}$CFU/g의 상승효과가 나타났다. 이에 반해 전해수에 0.5% acetic acid를 첨가한 후 초음파처리한 구에서는 전해수 단독 처리와 차이가 없었다. 앞서 acetic acid 첨가 농도별 저감화효과 검정 결과에서 나타난 바와 같이 *S. aureus*는 초음파 결합처리에 의한 전해수와 초음파에 의한 살균효과는 있지만 acetic acid에 의한 효과는 크지 않은 것으로 생각된다. Zhou 등[9]의 연구에서도 시금치에 *E. coli* O157:H7을 접종하고 각종 소독제와 초음파 병용처리를 하였고 그 결과 소독제를 단독처리하는 것보다 초음파 병용처리에 의해 0.7~1.1 $\log_{10}$CFU/g의 상승 효과가 있음을 입증하였다. 또한 Sagong 등[19]은 상추 중 *E. coli* O157:H7, *L. monocytogenes*, *S. Typhimurium*의 저감화를 위해 malic acid, citric acid, lactic acid와 초음파를 병용처리했을 때 유기산 단독처리보다 0.8~1.0 $\log_{10}$CFU/g의 상승효과 있었다고 보고하였고, Seymour 등[20]도 100 ppm 염소수와 초음파를 결합처리했을 때 염소수 단독처리보다 약 1.0 $\log_{10}$CFU/g정도 상승효과가 있었다고 보고하였다.

따라서 본 연구의 결과를 통해 볼 때 들깻잎 중 식중독세균의 저감화를 위하여 전해수, 0.5% acetic acid, 초음파 병용처리가 보다 효과적 일 것으로 보이며, 이 결과의 농식품산업에서 적용하기에 앞서 산업적 스케일에서 병용처리의 효과를 검증하는 추후연구가 필요할 것으로 사료된다.

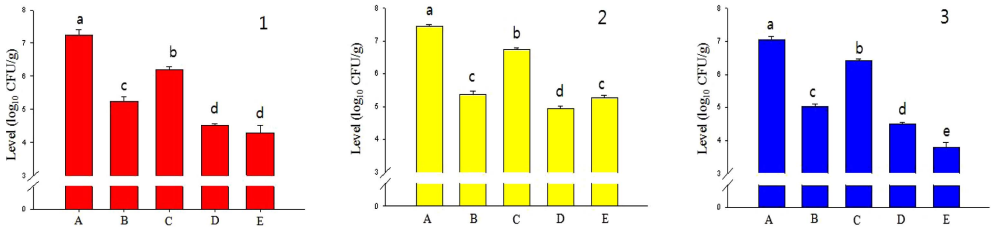

Fig. 2. Efficacy of combination of electrolyzed water with acetic acid and ultrasound treatment in killing *S.* Typhimurium(1), *S. aureus* (2), and *B. cereus*(3) cells inoculated on perilla leaves.
A: Initial level, B: 100ppm electrolyzed water, C: ultrasound(25 KHz), D: 100ppm electrolyzed water combined with ultrasound (25 KHz), E : 100ppm electrolyzed water combined with 0.5% acetic acid and ultrasound (25 KHz)

요 약

본 연구는 들깻잎의 미생물 안전성을 확보하기 위하여 전해수의 세척 효과를 검정하고 아울러 전해수와 유기산, 초음파 병용처리의 효과를 검토하였다. 병용처리할 유기산을 선정하기 위하여 acetic acid, citric acid, maleic acid를 전해수 100 ppm에 2%씩 첨가하고 약 8.0 log CFU/mL 의 *S.* Typhimurium, *B. cereus*, *S. aureus*와 반응시켰다. 세 유기산 중 acetic acid의 상승효과가 가장 높아 첨가 농도별 저해 효과를 분석하고자 0.5, 1.0, 1.5, 2.0%씩 100 ppm 전해수에 첨가하고 배양액과 들깻잎표면에서 식중독세균 저감효과를 분석하였다. 아울러 100 ppm 전해수와 초음파(25 KHz), 100 ppm 전해수, 0.5% acetic acid, 초음파를 병용처리를 하였다. 세 종류의 유기산 중 acetic acid의 상승효과가 가장 탁월하였고, *B. cereus, S. Typhimurium*은 acetic acid의 농도가 증가할수록 미생물 저감효과도 높아졌으며 2.0% 첨가시 약 1.0 $\log_{10}$CFU/g의 상승효과가 관찰되었다. *S. aureus*는 전해수 단독처리(2.08 $\log_{10}$CFU/g감소)에 비하여 1.5%까지는 상승효과가 없었지만 2.0% 결합처리에서 0.68 $\log_{10}$CFU/g의 상승효과가 나타났다. 한편, 들깻잎은 acetic acid의 첨가량이 0.5% 이상일 경우 변색되기 때문에 0.5% 이상 첨가하는 것은 품질적 측면에서 바람직하지 못하다. 전해수와 초음파를 병용처리하였을 때, 들깻잎 중 *S.* Typhimurium, *B. cereus*, *S. aureus*는 전해수 단독처리보다 0.72, 0.51, 0.42 $\log_{10}$CFU/g의 상승효과가 관찰되었고, 전해수, 초음파, 0.5% acetic acid 병용처리에 의해 0.95, 1.23 $\log_{10}$CFU/g의 상승효과가 관찰되었으나 *S. aureus*의 경우 전해수 단독처리와 유의적인 차이를 보이지 않았다. 따라서 본 연구의 결과를 통해 볼 때 들깻잎 중 식중독세균의 저감화를 위하여 전해수, 0.5% acetic acid와 초음파 병용처리가 가장 효과적일 것으로 사료된다.

감사의 글

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

참고문헌

1. KIM, G.H. and Bang, H.Y.: A survey on consumption pattern of minimally fruits and vegetables. *Korean J. Dietary Culture*, **13**, 267-274 (1998).
2. Choi, J.W., Park, S.Y., Yeon, J.H., Lee, M.J., Chung, D.H., Lee, K.H., Kim, M.G., Lee, D.H., Kim, K.S. and Ha, S.D.: Microbial contamination levels of fresh vegetables distributed in markets. *Korean J. Fd. Hyg. Safety*, **20**, 43-47 (2005).
3. FDA: Guidance for Industry: Guide to Minimize Microbial Food Safety Hazards of Leafy Greens; Draft Guidance. Available from: http://www.fda.gov/Food/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/GuidanceDocuments/ProduceandPlanProducts/ucm174200.html. Accessed Jan. **15**, 2010 (2009).
4. CDC: 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 (2006).
5. Patel, J. and Sharma, M.: Differences in attachment of *Salmonella enteric* serovars to cabbage and lettuce leaves. *Int. J. Food Microbiol*. **139**, 41-47 (2010).
6. Kim, S.H., Kim, J.S., Choi, J.P., and Park, J.H.: Prevalence and frequency of food-borne pathogens on unprocessed agaricultural and marine products. *Korean J. Food Sci. Technol*., **38**, 594-598 (2006).
7. Kim, J.S., Bang, O.K. and Chang, H.C.: Examination of microbiological contamination of ready-to-eat vegetable salad. *J. Fd. Hyg. Safety,* **19**, 60-65 (2004).
8. Kim C., Hung, Y.C. and Brachett, R.E.: Efficacy of electrolyzed oxidizing(EO) and chemically modified water on different types of food-borne pathogens. *Int. J. Food Microbiol.,* **61**, 199-207 (2000).
9. Zhou, B., Feng, H. and Luo, Y.: Ultrasound enhanced sanitizer efficacy in reduction of *Escherichia coli* O157:H7 population on spinach leaves. *J. Food Sci.,* **74**, 308-313 (2009).
10. Oomori, T., Oka, T., Inuta, T. and Arata, Y.: The efficiency of disinfection of acidic electrolyzed water in the presence of organic materials. *Anal. Sci.*, **16**, 365-369 (2000).
11. Jeong, J.W., Kim, J.H., Kim, B.S. and Jeong, S.W.: Characteristics of electrolyzed water manufactured from various electrolytic diaphragm and electolyte. *Korean J. Food Preserv.*, **10**, 99-105 (2003).
12. Huang, Y.R., Hung, Y.C., Hsu, S.Y., Huang, Y.W. and Hwang, D.F.: Application of electrolyzed water in the food industry. *Food control,* **19**, 329-345 (2008).
13. Park, B.K., Oh, M.H. and Oh, D.H.: Effect of Electrolyzed water and organic acid on the growth inhibition of Listeria monocytogenes on lettuce. *Korean J. Food Preserv.,* **11**, 530-537 (2004).
14. Shingh, N., Shingh, R.K., Bhunia, A.K., and Stroshine, R.L.: Efficacy of chlorine dioxide, ozone, and thyme essential oil or sequential washing in killing *Escherichia coli* O157:H7 on lettuce and baby carrots, *Lebensm.-Wiss. Technol.,* **35**, 720-729 (2002).
15. Kim, Y., Kim, T.W., Ding T. and Oh, D.H.: 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).
16. Ruiz-Cruz S., Acedo-Félix E., Díaz-Cinco M., Islas-Osuna M.A. and González-Aguilar G. A.: Efficacy of sanitizers in reducing *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* spp. and *Listeria monocytogenes* populations on fresh-cut carrots, *Food Control.* **18**, 1383-1390 (2007).
17. Heaton J.W. and Marangoni A.G.: Chlorophyll degradation in processed foods and senescent plant tissues. *Trends in Food Sci. Technol.,* **7**, 8-15 (1996).

18. Dehghani, M.H.: Effectiveness of ultrasound on the destruction of *E. coli*. *American J. Environ. Sci.*, **1**, 187-189 (2005).
19. Sagong, H.G., Lee, S.Y., Chang, P.S., Heu, S., Ryu, S., Choi, Y.J. and Kang, D.H.: Combined effect of ultrasound and organic acids to reduce *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* Typhimurium, and *Listeria monocytogenes* on organic fresh lettuce. *Int. J. Food Microbiol.,* **145**, 287-292 (2011).
20. Seymour, I.J., Burfoot, D., Smith, R.L., Cox, L.A. and Lockwood, A.: Ultrasound decontamination of minimally processed fruits and vegetables. *Int. J. Food Sci. Technol.*, **37**, 547-557 (2002).