pISSN 1229-1153 / eISSN 2465-9223 *J. Food Hyg. Saf.*
Vol. 32, No. 2, pp. 154~162 (2017)
https://doi.org/10.13103/JFHS.2017.32.2.154

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

영양부추에서 이산화염소와 차아염소산나트륨 처리의 식중독세균 저감화 효과

윤보현 · 이효섭[1] · 안현미 · 김원일 · 김황용[2] · 한상현 · 김현주 · 류재기 · 김세리*
국립농업과학원 농산물안전성부 유해생물팀, [1]국립농업과학원 농산물안전성부 화학물질안전과,
[2]농촌진흥청 기술협력국 국제기술협력과

Effect of Chlorine Dioxide and Sodium Hypochlorite Treatment on the Reduction of Foodborne Pathogen in Korean Chive

Bohyun Yun, Hyo-Sup Lee[1], Hyun Mi An, Won-Il Kim, Hwang-Yong Kim[2], Sanghyun Han, Hyun-Ju Kim, Jae-Gee Ryu, and Se-Ri Kim*
Microbial Safety Team, Agro-Food Safety & Crop Protection Department, National Institute of Agricultural Sciences (NAS), Rural Development Administration (RDA), Wanju, Korea
[1]Chemical Safety Division, Agro-Food Safety & Crop Protection Department, NAS, RDA, Wanju, Korea
[2]Technology Cooperation Bureau, RDA, Jeonju, Korea
(Received December 21, 2016/Revised January 19, 2017/Accepted March 20, 2017)

ABSTRACT - The purpose of this study was to investigate the microbial reduction effect of chlorine dioxide and sodium hypochlorite in Korean chive. Korean chive inoculated with foodborne pathogens at the level of approximately 7~8 log CFU/g was treated with various concentration of chlorine dioxide (3, 4, 10, 25 and 100 ppm and sodium hypochlorite (100, 150 and 200 ppm) for 5, 10, 30 and 60 minutes. The treatment of 150 ppm sodium hypochlorite and 50 ppm chlorine dioxide for 30 min reduced the number of total bacteria in Korean chive up to 2.0 log CFU/g. Reduction of microbial levels was observed for all concentrations of sanitizers but their effectiveness did not correspond to their concentration. Due to the quality degradation, 50 ppm chlorine dioxide was not appropriate for Korean chive. Most effective reduction of microbial levels was observed when Korean chive were treated with 9 times more sanitizer in volume. For field application, the treatment of 150 ppm sodium hypochlorite showed 2.7 and 4.0 log CFU/g reductions for numbers of total bacteria and coliforms, respectively. Therefore, washing with sodium hypochlorite of a ratio of 1:9 (Korean chive : 150 ppm sodium hypochlorite (w/v)) for 30 minutes can reduce the number of foodborne pathogen in Korean chive.

Key words : Korean chive, Chlorine dioxide, Sodium hypochlorite, Foodborne pathogen

최근 국민들의 생활수준향상과 건강에 대한 관심 증대로 육식보다는 채식, 가공품보다는 자연식품을 선호하고 있다[1)]. 특히 웰빙(well-being)의 영향으로 샐러드, 새싹비빔밥 등의 신선채소류의 소비가 증가하는 추세이다[2)]. 조리하지 않고 바로 섭취하는 농산물의 소비가 대폭 증가하면서 신선농산물이 원인이 된 식중독발생보고 건수가 증가하고 있어 농산물의 안전성에 관한 소비자들의 우려가 높아지고 있다[3)]. 국내에서는 농산물이 직접적인 원인이 되어 식중독이 발생한 사례가 많이 보고되고 있지는 않지만 국내 농산물 중 식중독균 모니터링 자료에 따르면 지속적으로 *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens*와 같은 식중독균이 검출되고 있어 국내 엽채류도 식중독으로부터 안전하다고는 할 수 없는 실정이다[4-6)].

특히 부추는 일반세균수 1.6×10^7 CFU/g, 대장균군 9.8×10^6 CFU/g으로 타 농산물에 비하여 높게 검출되고 있으며 식중독 세균인 *C. perfringens*(23.1%)와 *E. coli*(7.7%)도 검출되고 있어 각별한 관리가 필요한 농산물이다[6)]. 또한 부추는 겉절이 등 생식으로 이용할 경우에는 식중독세균을

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

사멸시키거나 또는 그 수를 감소시키는 과정을 거치지 않기 때문에 생산에서부터 유통단계에 이르기까지 발생할 수 있는 위해요소를 파악하고 사전에 오염을 예방하는 것이 식중독사고의 위험을 감소시킬 수 있는 최선의 방법이다[7,8]. 이에 최근 미생물 등 위해요소를 관리하기 위한 노력의 일환으로 식품의 원료가 되는 농축산물을 안전하고 위생적으로 공급할 수 있도록 농산물의 생산부터 수확 후 포장단계까지 농산물에 잔류할 수 있는 농약·중금속 또는 미생물 등의 위해요소를 사전에 관리하여 안전성을 확보하려는 제도인 Good Agricultural Practices (GAP) 도입을 권장하고 있다[9].

GAP 제도를 시행하는데 농업인들이 가장 어려워하는 부분이 바로 수확 후 관리 부분이다. 엽채류는 수확 후 2~3시간 내에 예냉처리를 하지 않으면 신선도가 떨어지는 문제가 있기 때문에 수확 직후에 농가인근에서 예냉, 세척, 포장할 수 있는 위생적인 수확 후 처리시설이 필요하다. 이에 농가에서 영양부추에 활용할 수 있는 소규모 수확 후 처리시설을 개발하여 현장에 적용하였다. 하지만 영양부추 중 위생지표세균과 식중독세균을 조사한 결과 냉수를 이용하여 예냉하는 과정에서 미생물수가 증가하는 경향을 보여, 위생적인 수확 후 처리시설 뿐만 아니라 현장에서 저비용으로 식중독세균을 저감화 할 수 있는 기술이 필요한 실정이다.

농산물 중 식중독세균을 감소시키기 위해 사용되는 비가열 처리에는 차아염소산나트륨(NaOCl), 전해수, 유기산, 이산화염소(ClO_2) 및 UV-C, 전자선, 감마선 조사 등이 있다[10-13]. 이들 중 가장 널리 이용되는 기술은 주로 차아염소산나트륨, 이산화염소 등 살균성이 있는 화학소독제를 이용하는 방법이다[14]. 차아염소산나트륨은 다루기 쉽고 가격이 저렴하여 식품업계에서 많이 사용하는 살균소독제이며, 미국의 경우 과일과 채소의 수확 후 미생물 오염을 제거하기 위하여 50~200 ppm의 농도로 사용하고 있다[15]. 이산화염소는 그동안 식품 소독제로 가장 널리 사용되었던 차아염소산나트륨에 비해 수용성이 10배 정도 높고 유기물과의 반응성이 약하여 처리후 반응부산물도 적을 뿐만 아니라 살균력도 약 3배 정도 높다. 또한 이산화염소는 공기 중에서 빠르게 분해되어 소독제 처리 후 식품에 소독성분이 잔류하지 않는 특징이 있어 농산물에 적합한 소독제라 할 수 있다[16].

소독제의 효과는 농산물의 종류, 소독제의 농도, 처리시간, 농산물과 소독제 비율 등에 의해 영향을 받는다고 알려져 있다[17-20]. Mahmoud 등[18]과 Trinetta 등[19]의 연구에 따르면 딸기와 토마토에 처리된 이산화염소 가스의 미생물 저감효과는 농도와 시간을 증가시켰을 때 높아진다고 보고하였다. Beuchat 등[21]은 상추와 소독제의 비율을 1 : 100, 1 : 10, 1 : 4, 1 : 2로 처리했을 때 상추와 소독제 비율이 감소할수록 소독제 속의 잔류염소량이 감소한다고 보고하였다. 따라서 이산화염소와 차아염소산나트륨에 의한 식중독세균 저감효과를 극대화하기 위해서는 농산물과 소독제의 최적 비율을 조사하는 것이 필요하다. 하지만 부추에 대한 이산화염소수와 차아염소산나트륨수의 효과를 분석하고 실제 현장에서 실증한 연구는 수행된 바 없다.

따라서 본 연구는 영양부추의 미생물학적 안전성을 확보하기 위하여 이산화염소와 차아염소산나트륨을 이용한 영양부추 중 식중독세균 저감기술을 확립하였고, 확립된 최적조건을 현장에 적용하여 현장실용화 가능성을 평가하기 위하여 수행하였다.

Materials and Methods

이산화염소 및 차아염소산나트륨의 영양부추 중 식중독세균 저감화 효과

실험균주

본 연구를 위하여 사용한 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), *Bacillus cereus* 3종 (KCCM 40138, ATCC 10876, ATCC 13016), *Staphylococcus aureus* 3종 (ATCC 23235, ATCC 27664, ATCC 13565)이다.

시료 중 존재하는 background microflora의 생육을 억제하기 위해 rifampicin 항생제를 사용하고자 실험균주는 rifampicin 저항성을 유도하였다. Rifampicin 저항성 유도는 tryptic soy agar (TSA; Oxoid, Basingstoke, Hampshire, England) 상에서 배양한 각 균주를 1 loop 취하여 50 μL/mL의 rifampicin (R; Biosesang, Sungnam, Gyeonggi, Korea)이 함유된 luria bertani (LB) broth (Oxoid, Bashingstoke, Hampshire, England)에 접종하고 37°C에서 24시간 진탕 배양하였다. 이후 50 μL/mL의 rifampicin이 함유된 LB agar (Oxoid, Basingstoke, Hampshire, England)에 접종하고 37°C에서 24시간 배양하여 rifampicin 저항성 균주를 얻었다. Rifampicin 저항성 균주는 20% glycerol을 함유하는 tryptic soy broth-rifampicin (TSB-R)를 사용하여 −70°C에서 보관하였다. 사용 시에는 상온에서 해동한 후 10 μL를 취하여 7 mL의 TSB-R에 넣은 후 *E. coli, Salmonella* spp., *S. aureus*는 37°C, *B. cereus*는 30°C에서 18시간 동안 배양하였다. 이후 1차 배양액 1 mL을 200 mL의 TSB-R에 접종하고 *E. coli, Salmonella* spp., *S. aureus*는 37°C, *B. cereus*는 30°C에서 2차 배양하였다. 배양된 균은 4,500 × g에서 15분간 원심분리 한 후 phosphate buffered saline (PBS; Difco Laboratories, Detroit, MI, USA)에 시험균을 현탁하

였다. 이후 생균수가 7~8 log CFU/mL가 되도록 희석하여 본 연구에 사용하였다.

살균소독제 준비

영양부추 중 식중독세균을 저감시키기 위하여 이산화염소와 차아염소산나트륨을 물로 희석한 이산화염소수와 차아염소산수를 본 연구에 사용하였다. 먼저 이산화염소수는 이산화염소수 생성장치(CA200, Purgofarm, Gyeonggi, Korea)를 이용하여 조제하였으며, 실험시 유효염소의 농도는 3, 5, 10, 25, 50, 100 ppm으로 하였다. 차아염소산나트륨수는 교육부 지침서에 제시된 공식(100 ppm/1,000,000 × 100/소독제의 유효농도 × 물의 양)에 의하여 첨가할 차아염소산나트륨 용액량을 산출하였다. 실험시 유효염소의 농도는 100, 150, 200 ppm로 하였다. 살균소독제는 살균력을 최대화하기 위하여 처리 바로 직전에 제조하여 사용하였다. 이산화염수소와 차아염소산수에 존재하는 유효염소의 농도를 측정하기 위하여 제조사 사용매뉴얼에 따라 유효염소농도측정기(HI 95771 Chlorine DPD, LaMotte, MD, USA)를 사용하였다.

실험균주 접종 및 살균소독제 농도별 처리효과

영양부추 100 g을 멸균팩에 넣고 실험균주별로 앞서 준비한 균액 500 mL을 가하여 10분간 침지한 후 멸균된 철제 그물망에 영양부추를 일렬로 펼쳐놓고 2시간 건조한 것을 본 연구에 사용하였다. 균주가 접종된 영양부추 60 g을 농도별로 제조된 이산화염소수 또는 차아염소산나트륨수 540 mL에 넣고 10분간 반응시켰다. 미생물 저감효과를 확인하기 위하여 살균소독제와 10분간 반응시킨 영양부추 20 g을 취하여 Dey Egley Neutralizing broth (Difco Laboratories, Detroit, MI, USA) 80 mL을 넣고 stomacher로 2분간 처리하였다. 그중 1 mL을 취하여 십진희석하고 각 희석액을 250 μL씩 취하여 TSA-R 배지에 도말하였다. 이후 37°C에서 24시간 배양하여 세균 집락수를 계수하였다.

살균소독제 처리가 미생물 저감에 어느 정도 효과가 있었는지를 판단하기 위한 지표로서 영양부추 중 일반세균수, 대장균군수, *E. coli* 세균수를 조사하였다. 각 처리구별로 채취한 영양부추로부터 시료를 25 g씩 취하여 0.85% 생리식염수 225 mL과 혼합하고 stomacher에서 2분간 균질화 하였다. 균질화 된 시료 1 mL를 취하여 십진 희석한 후 희석액별로 일반세균수 측정용 AC Petrifilm™ (3M, St. Paul, MN, USA)에 접종하고 37°C에서 24시간 배양하였다. 대장균군 및 *E. coli* 세균수의 측정은 Coliform/EC Petrifilm™ (3M, St. Paul, MN, USA)을 이용하였으며 각각의 희석액 농도별로 1 mL씩 취하여 Petrifilm에 접종하고 37°C에서 24시간 배양 후 기포를 가진 red colony는 대장균군으로 그리고 기포를 가진 blue colony는 *E. coli*로 인정하여 계수하였다. 최종균수는 전형적인 집락을 보이는 균주 × 희석배수로 계산하였다[22].

살균소독제 농도별 처리시간 결정

살균소독제 농도별 최적 처리시간을 조사하기 위해 이산화염소수의 유효염소 농도는 5, 10, 25, 50 ppm로 준비하였고, 차아염소산수의 유효염소 농도는 100, 150 ppm로 준비하였다. 각각의 살균소독제 농도별로 5, 10, 30, 60분간 처리하고 살균소독 효과를 비교하였다. 미생물 저감효과 확인 방법은 앞의 살균소독제 농도별 처리효과 실험과정과 동일하다.

영양부추에 처리되는 소독제양 결정

실험균주가 접종된 영양부추를 차아염소산수 (유효염소 150 ppm)에 침지하여 10분간 처리하였으며 소독제 처리양에 따른 효과를 확인하기 위하여 영양부추와 소독제의 처리비율을 각각 1 : 2, 1 : 4, 1 : 9, 1 : 19로 하여 실험결과를 비교하였다.

확립된 미생물 저감법의 현장 적용

살균소독제 처리

확립된 영양부추의 미생물 저감기술을 농가단위 소규모 수확 후 처리시설이 설치된 경기도 양주시 영양부추 생산농가 2곳에 적용하였다. 물 70 L에 4~5% 차아염소산나트륨 385 mL을 첨가하여 유효염소가 약 150 ppm이 되도록 살균소독제를 만든 다음, 영양부추 100단(150 g/단)을 침지하여 30분간 처리하였다. 처리후 잔류하는 살균소독제를 제거하기 위하여 흐르는 물에 1분 동안 3회 세척하였다. 대조구로 살균소독제를 처리하지 않는 같은 지역 소재의 영양부추 생산농가 2곳을 선정하여 그 곳에서 생산되는 영양부추의 미생물 세균수를 측정하였다. 살균소독제 처리농가와 비처리 대조구 농가에서 각각 영양부추를 5단씩(300 g/단) 채취하여 실험에 사용하였다. 살균소독제 처리가 미생물 저감에 어느 정도 효과가 있었는지를 판단하기 위한 지표로서 앞에서 기술한 방법에 따라 영양부추 중 일반세균수, 대장균군수, *E. coli* 세균수를 조사하였다.

관능평가

살균소독제 처리 후 물로 3회 세척한 영양부추를 4°C저온창고에서 30일간 보관하면서 신선도 및 이취발생을 정도를 육안으로 평가하였다. 50% 이상 변질되고 이취가 강할 경우 1점, 30% 이상 변질되고 이취가 날 경우 2점, 5~10%가 변질되고 이취발생하기 시작할 경우 3점, 이취발생은 없으나 시드는 등 약간의 외관상 신선도가 떨어지기 시작할 경우 4점, 신선하고 이취 발생 없을 경우 5점으로 점수를 부여하였으며 4점까지는 상품으로 가치가 있는 시점으로 평가하였다.

통계처리

모든 실험은 3반복으로 수행되었으며 관찰된 실험결과의 처리간 효과는 SAS 통계 프로그램(version 9.1, SAS Institute, NC, USA)의 분산분석(ANOVA procedure)을 이용하여 분석하였다. $p < 0.05$ 수준에서 처리효과가 유의적인 경우에는 Tukey's HSD test를 이용하여 평균간 다중비교를 하였다.

Results and Discussion

차아염소산나트륨과 이산화염소의 농도에 따른 식중독세균과 일반세균의 저감화 효과

소독제의 농도별 저감효과를 분석하기 위하여 차아염소산나트륨 100, 150, 200 ppm과 이산화염소 3, 5, 10, 25, 50, 100 ppm을 영양부추에 10분 동안 처리하였으며 처리한 후 미생물 저감효과를 분석한 결과는 Fig. 1과 2와 같다. 먼저 일반세균수는 차아염소산나트륨 100, 150, 200 ppm 처리 하였을 때, 0.7, 1.5, 1.8 log CFU/g으로 감소하였으나($p < 0.05$), 차아염소산나트륨 150 ppm과 200 ppm 처리구 사이에서는 유의적 차이가 없었다. 한편 이산화염소 3, 5, 10, 25, 50, 100 ppm로 처리하였을 때 0.8, 0.8, 0.8, 1.3, 1.5 log CFU/g으로 감소하였으나($p < 0.05$), 이산화염소 3, 5, 10, 25 ppm 처리구 사이에서는 유의적인 차이가 나타나지 않았다. Vandekinderen 등[23]은 부추에서 차아염소산나트륨 20, 200 ppm 처리 시 일반세균수가 각각 0.8, 1.0 log CFU/g 수준 감소하였다고 보고하였다. 또한, 양배추에서 차아염소산나트륨 200 ppm 처리 시 2.0 log CFU/g 감소되었으며, 양상추에서 차아염소산나트륨 100 ppm 처리 시 1.8 log CFU/g이 감소되었다고 보고된바 있다[24,25]. 이산화염소의 경우 상추와 깻잎에서는 이산화염소 30 ppm 처리시 각각 3.6, 3.0 log CFU/g이 감소하였고[26], 레드치커리와 청경채에서는 이산화염소 50 ppm 처리시 각각 1.4, 1.2 log CFU/g이 감소되었다는 연구결과들이 있다[27]. 이러한 결과들로 미루어 볼 때, 농산물마다 소독제의 효과는 다소 차이가 있는 것으로 보이며 이는 농산물의 표면구조, 미생물의 부착능력 등에 의한 것으로 판단된다.

식중독세균의 경우 *B. cereus*는 차아염소산나트륨 100, 200 ppm로 처리하였을 때, 2.1, 2.4 log CFU/g으로, 이산화염소 3, 5, 10, 25, 50, 100 ppm로 처리하였을 때 1.8, 1.8, 1.8, 2.0, 2.1, 2.3 log CFU/g으로 감소하였다($p < 0.05$). *E. coli*도 차아염소산나트륨 100, 200 ppm로 처리하였을 때, 2.4, 2.8 log CFU/g으로, 이산화염소 3, 5, 10, 25, 50, 100 ppm로 처리하였을 때 2.1, 2.0, 2.4, 2.5, 2.4, 2.5 log CFU/g으로 감소하였다($p < 0.05$). 하지만 각 처리구 사이에 효과는 뚜렷하게 관찰되지 않았다. *Salmonella* spp.는 차아염소산나트륨 100, 200 ppm로 처리하였을 때, 2.0, 2.1 log CFU/g으로, 이산화염소 3, 5, 10, 25, 50, 100 ppm로 처리하였을 때 1.5, 1.7, 1.6, 1.6, 2.0, 2.0 log CFU/g으로 감소하였다($p < 0.05$). 또한 *S. aureus*는 차아염소산나트륨 100, 200 ppm로 처리하였을 때, 1.9, 1.9 log CFU/g으로, 이산화염소 3, 5, 10, 25, 50, 100 ppm로 처리하였을 때 1.8, 1.9, 1.9, 2.1, 2.7, 2.8 log CFU/g으로 감소하였다($p < 0.05$). 결과적으로 식중독세균은 일반세균수 보다는 낮은 농도에서 저감화 효과를 나타내었으며, 차아염소산나트륨 100 ppm과 200 ppm 간의 뚜렷한 차이는 관찰되지 않았다. 이산화염소의 경우도 3~25 ppm까지는 농도 간 두드러지는 효과 차이는 없었다. Lee 등[28]은 양상추에 차아염소산나트륨 100 ppm 처리시 *E. coli* O157:H7은 0.6 log CFU/g, *S.* Typhimurium은 1.45 log CFU/g, *S. aureus*은 0.9 log CFU/g 감소를 확인하였다. Park 등[29]의 연구에서도 배추에서 차아염소산나트륨 100 ppm, 이산화염소 100 ppm의 처리에 따라 *E. coli*는 3 log CFU/g 이상, *S.* Typhimurium은 차아염소산나트륨 100 ppm에서 1.8 log CFU/g의 감소를 보였으며, 이산화염소 100 ppm처리 시에는 4 log CFU/g 이상 감소를 확인하였다. *B. cereus*의 경우 차아염소산나트륨 100 ppm 처리 시 3.2 log CFU/g, 같은 농도의 이산화염소 처리시 *B. cereus*가 검출이 되지 않을 정도로 살균력이 우수하였다. *S. aureus*의 경우도 앞서 언급한 농도의 차아염소산나트륨 처리 시 2.3 log CFU/g, 이산화염소 처리 시 3.5 log CFU/g의 감소효과를 보고함으로써, 본 연구 유사

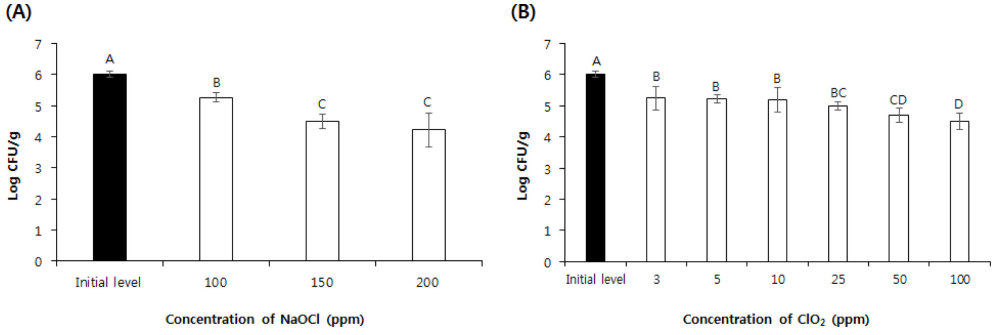

Fig. 1. Effects of various concentration of sodium hypochlorite (A) and chlorine dioxide (B) of on total aerobic number of bacterial in Korean chive. Error bars indicate standard deviation; bars labeled with the same letter are not significantly different at $p < 0.05$.

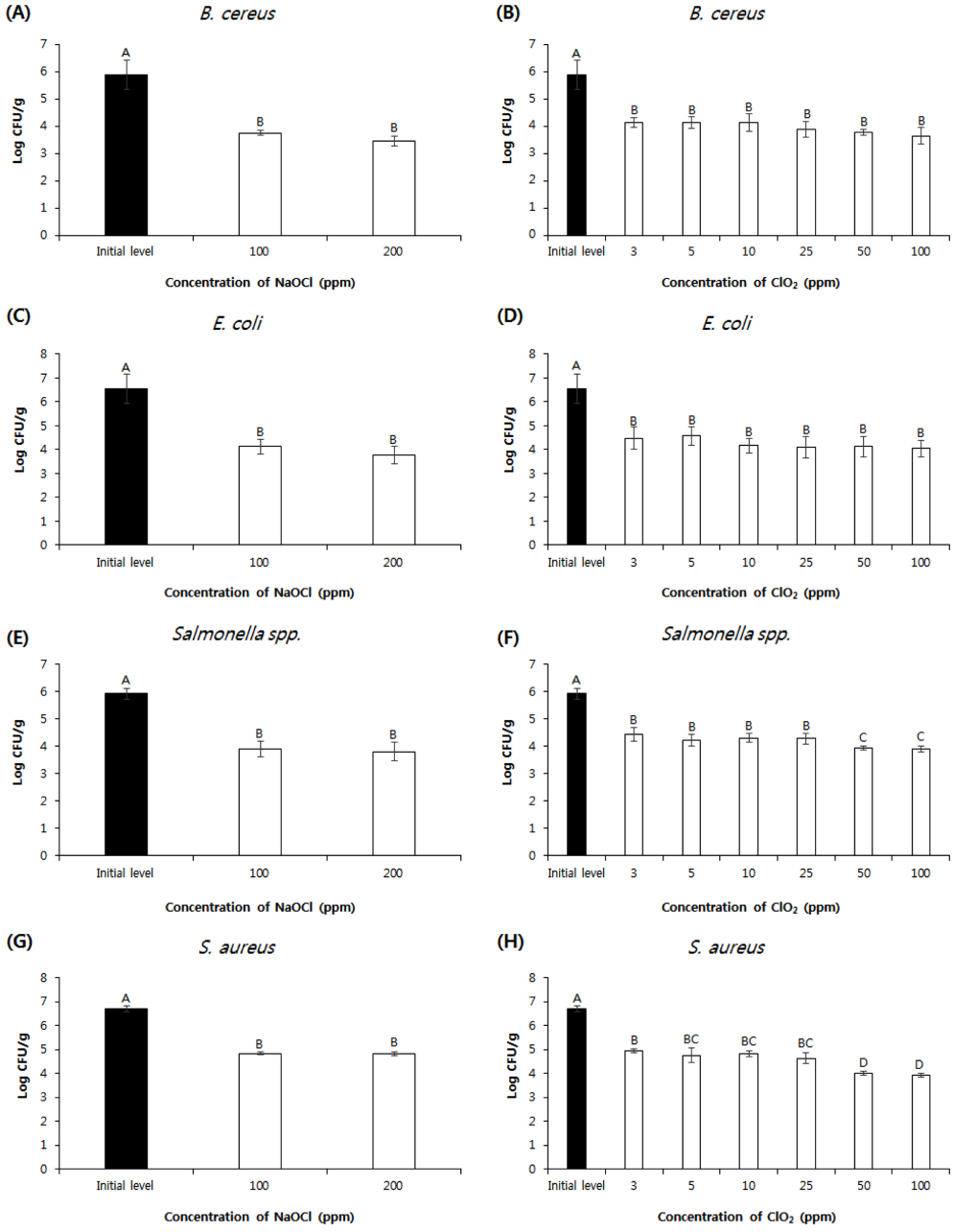

Fig. 2. Effects of various concentration of sodium hypochlorite (A, C, E, G) and chlorine dioxide (B, D, F, H) concentration on number of foodborne pathogen inoculated in Korean chive. Error bars indicate standard deviation; bars labeled with the same letter are not significantly different at $p < 0.05$.

하게 식중독세균에 있어 높은 살균력을 나타낸다고 보고하고 있다. 이상의 결과를 볼 때 일반세균수와 식중독세균에 대한 저감화 효과를 얻기 위해서는 차아염소산나트륨 150 ppm, 이산화염소 50 ppm 이상 처리해야 할 것으로 사료된다.

차아염소산나트륨과 이산화염소의 농도 및 시간에 따른 식중독균과 일반세균의 저감화 효과

영양부추 표면에 오염된 일반세균과 식중독세균 4종에 대한 차아염소산나트륨과 이산화염소의 처리 농도와 시간에 따른 저감화 효과를 나타낸 결과는 Fig. 3과 4와 같다. 일반세균수는 차아염소산나트륨 150 ppm에서 5분, 10분, 30분, 60분 처리시 각각 1.3, 1.9, 2.1, 2.6 log CFU/g으로 감소하였으므로($p < 0.05$), 2 log CFU/g이상의 저감화 효과를 보기위해서는 차아염소산나트륨 150 ppm에서 30분이상의 처리되어야함을 알 수 있었다. 이산화염소 50 ppm에서 5분, 10분, 30분, 60분 처리시 각각 1.1, 1.7, 2.0, 2.2 log CFU/g으로 감소되었다($p < 0.05$). 하지만 이산화염소

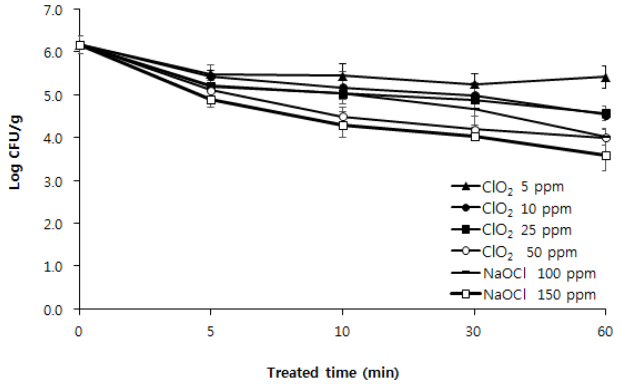

Fig. 3. Effects of treatment time of chlorine dioxide and sodium hypochlorite on number of total aerobic bacteria in Korean chive. Error bars indicate standard deviation.

50 ppm 이하에서는 처리시간이 길어짐에 따라 유의적으로 감소는 하나($p < 0.05$), 2 log CFU/g이상 감소되지 않았으며, 2 log CFU/g이상 저감화 효과를 보려면 50 ppm에서 30분의 처리가 필요하다. 식중독세균은 차아염소산나트륨 150 ppm에서 5분간 처리시 *B. cereus*은 2.3 log CFU/g, *E. coli*는 2.1 log CFU/g, *S. aureus*은 2.8 log CFU/g, *Salmonella* spp.의 경우 1.9 log CFU/g으로 감소하였다. 하지만 처리시간 증가에 따른 뚜렷한 저감화 효과는 보이지 않았다. 이산화염소의 경우에는 50 ppm에서 5분간 처리시 *B. cereus*은 2.3 log CFU/g, *E. coli*는 2.1 log CFU/g, *S. aureus*은 2.0 log CFU/g, *Salmonella* spp.의 경우 1.8 log CFU/g으로 감소하였으며, 처리시간에 따른 저감화 효과는 차아염소산나트륨과 동일하게 뚜렷한 저감화 효과는 보이지 않았다. 본 연구결과에서 차아염소산나트륨과 이산화염소의 처리시 처리 시간에 비해 처리 농도에 따른 저해효과의 차이가 높게 나타났으며, 이는 다른 연구자들의 연구에서도 동일한 결과를 보고하고 있다[29-32]. 따라서 영양부추의 미생물 저감화를 위해서는 차아염소산나트륨 150 ppm, 이산화염소 50 ppm에서 30분 이상 처리가 필요하다. 하지만 채소류의 이산화염소 처리는 갈변반응 또는 표백으로 인하여 관능적 품질을 떨어뜨릴 수 있다고 보고되고 있으며[33], Park 등[29]의 연구에서 이산화염소 처리시 배추의 품질 저하가 야기되었다고 보고되었다. 본 연구에서도 이산화염소 50 ppm 처리 후 저장을 했을 때 무처리보다 빨리 상품성이 저하되는 경우를 보여, 현장 적용은 어렵다고 판단된다.

영양부추와 차아염소산나트륨용액의 처리 비율에 따른 식중독세균과 일반세균의 저감화 효과

Beuchat 등[21]의 연구에서 양상추와 세척수의 비율에 따른 유효염소량을 측정한 바 있으며, 그 결과 세척수가 양상추의 무게의 10배보다 적을 경우 유효염소량이 급감하여 세척의 효과가 떨어진다고 보고하고 있다. 따라서 영양부추에 존재하는 미생물의 저감화를 위해서 최적의 영양부추와 소독제의 비율을 결정하고자 연구하였다. 영양부추와 소독제 처리 비율을 결정하기 위하여 영양부추와 소독제의 비율을 1 : 2, 1 : 4, 1 : 9, 1 : 19로 처리하고 미생물 저감화 효과를 분석하였다. 그 결과, 일반세균수는 차아염소산나트륨 150 ppm을 처리하였을 때 1 : 2, 1 : 4, 1 : 9, 1 : 19일 경우 각각 1.9, 1.8, 2.4, 2.3 log CFU/g으로 감소하여($p < 0.05$), 차아염소산나트륨은 1 : 9정도의 비율에 침지하는 것이 바람직할 것으로 보인다. 한편 식중독세균은 영양부추와 소독제 비율에 대한 차이는 뚜렷하게 나타나지 않았다(Table 1). Kim 등[34]의 연구에서도 들깻잎 세척

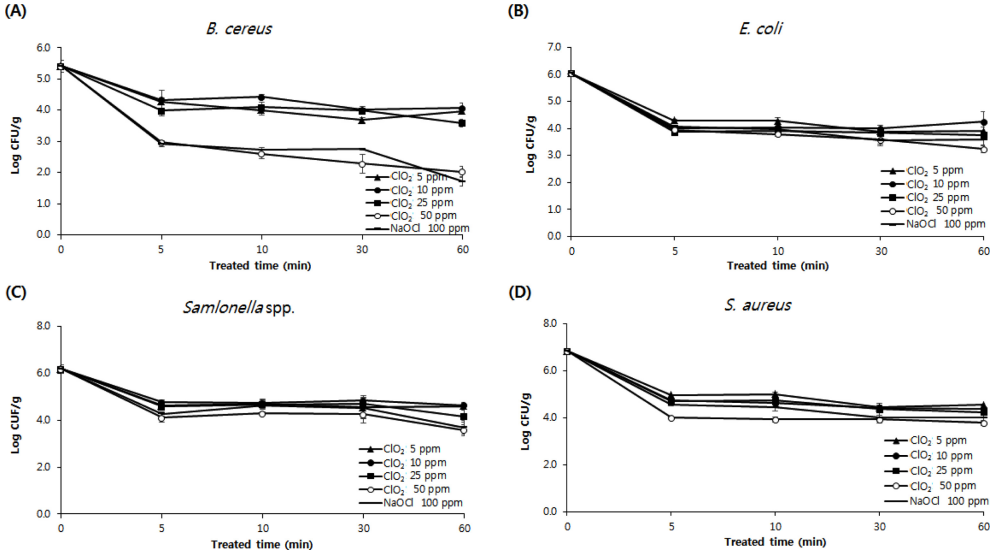

Fig. 4. Effects of treatment time of chlorine dioxide and sodium hypochlorite on number of foodborne pathogen inoculated in Korean chive. Error bars indicate standard deviation.

Table 1. Effects of sodium hypochlorite ratio on the number of total aerobic bacteria and foodborne pathogen in Korean chive

	Ratio of sodium hypochlorite (Korean chive : NaOCI (w/v))				
	Control	1:2	1:4	1:9	1:19
Total aerobic bacteria	$6.3 \pm 0.2^{A*}$	4.4 ± 0.3^{B}	4.4 ± 0.2^{B}	3.9 ± 0.1^{C}	3.9 ± 0.2^{C}
B. cereus	6.5 ± 0.5^{A}	3.7 ± 0.4^{B}	3.7 ± 0.4^{B}	3.3 ± 0.8^{B}	3.6 ± 0.3^{B}
E. coli	6.1 ± 0.3^{A}	3.5 ± 0.2^{B}	3.5 ± 0.2^{B}	3.6 ± 0.3^{B}	3.5 ± 0.3^{B}
Salmonella spp.	5.9 ± 0.1^{A}	4.2 ± 0.2^{B}	4.0 ± 0.4^{B}	3.8 ± 0.1^{B}	4.0 ± 0.5^{B}
S. aureus	6.9 ± 0.1^{A}	4.2 ± 0.3^{B}	4.0 ± 0.4^{B}	4.0 ± 0.2^{B}	4.2 ± 0.4^{B}

* Mean ± standard devation
Values on the same column with different letters are significantly different at $p < 0.05$

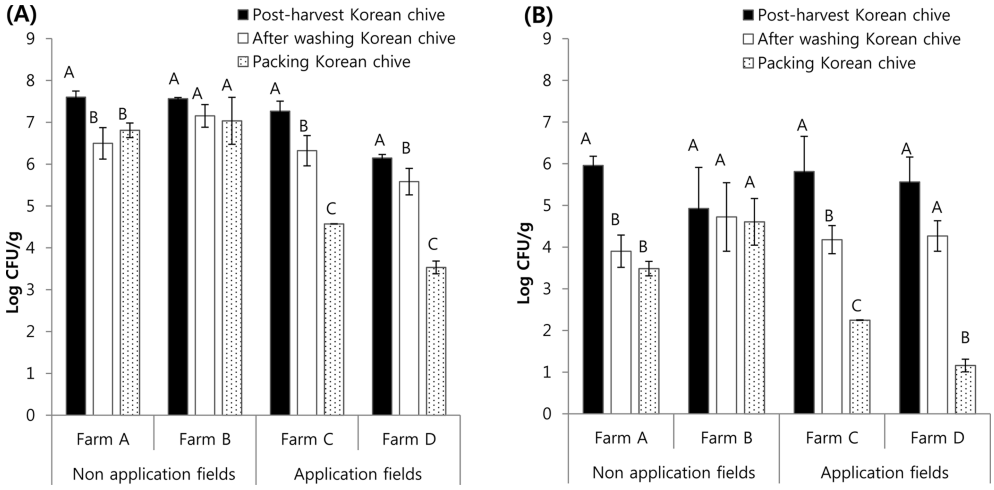

Fig. 5. Effects of sodium hypochlorite on the number of total aerobic bacteria (A) and coliform (B) in Korean chive. Error bars indicate standard deviation; bars labeled with the same letter within one group farm location are not significantly different at $p < 0.05$.

Table 2. Overall quality of Korean chive treated with sodium hypochlorite during storing for 30 days at 4°C

	days									
	3	6	9	12	15	18	21	24	27	30
Non treatment	5	5	5	4.5	4	3.5	3	3	2	1
Treatment with NaOCI	5	5	5	5	4.5	4	3.5	3	2	1

1: Decayed over 50%, off-odor; 2: Decayed over 30%, off-odor; 3: Decayed 510%, started off-odor; 4: Initial wilting, natural odor; 5: Fresh, natural odor

시 소독수의 비율을 1 : 25 이상 처리를 권장하고 있으며, 본 연구에서도 경제성과 저감화 효과를 동시에 만족하기 위하여 1 : 9의 비율의 처리가 적절할 것으로 판단된다.

개발된 영양부추의 미생물 저감기술 현장 적용

개발된 영양부추의 미생물 저감기술이 현장 적용 가능한지를 검토하기 위하여 경기도 양주시 영양부추 농가 2곳을 선정하여 개발된 미생물 저감기술을 적용하였다. 대조군으로 소독제를 처리하지 않는 관행농가 2곳에서 수확 후 처리단계별 영양부추의 미생물 오염도를 조사하였다.

그 결과, Fig. 5에서 보는 바와 같이 비적용 농가에서는 이물질제거한 후와 세척, 포장한 후에 영양부추의 일반세균수는 A농가의 경우 세척 후, 0.8 log CFU/g의 감소효과만 있었으며, B농가의 경우 유의적 차이가 없었다. 반면 차아염소산나트륨 150 ppm을 처리한 농가의 경우 모두 감소하였으며($p < 0.05$), 약 2.7 log CFU/g이 감소하였다. 대장균군도 일반세균과 유사하게 비적용 농가에서는 이물제거 후 세척하는 과정에서 유의적인 감소를 나타내지 않았으나($p > 0.05$), 차아염소산나트륨 150 ppm을 처리한 농가에서는 각각 2.0, 3.1 log CFU/g 정도 감소하였다($p < 0.05$). 농가 간 처리효과의 차이는 영양부추에 잔존하는 유기물 수준 차이로 판단된다. 차아염소산나트륨은 유기물의 정

도에 따라 소독효과가 차이가 나며 흙, 이물이 많이 제거하지 않으면 소독효과가 낮아지기 때문이다. 따라서 소독제 처리 전에 이물을 충분히 제거하면 소독효과를 보다 높일 수 있다고 판단된다.

또한 영양부추를 소독처리한 후 관능검사를 수행하였으며, 그 결과는 Table 2에서 보는 바와 같이 소독제 처리구에서는 18일간, 무처리구에서는 15일간 품질이 유지되어 소독제 처리로 인한 상품성에 큰 영향이 없는 것으로 판단되었다. 따라서 영양부추와 차아염소산나트륨수의 비율은 1 : 9, 차아염소산나트륨 농도 150 ppm수준으로 30분간 처리하고 물로 3회 세척하여 유통한다면 보다 안전한 부추를 소비자에게 공급할 수 있을 것이다.

Acknowledgement

본 연구는 농촌진흥청 국립농업과학원 농업과학기술 연구개발사업(과제번호: PJ009460)의 지원에 의해 이루어진 것임.

국문요약

본 연구는 영양부추의 미생물학적 안전성을 확보하기 위하여 이산화염소와 차아염소산나트륨을 이용하여 미생물의 저감효과를 분석하고, 최적의 영양부추와 소독제의 비율을 결정하기 위하여 수행하였다. 이를 위하여 영양부추에 *E. coli*, *Salmonella* spp., *S. aureus*, *B. cereus*을 7.0 log CFU/g 정도로 접종 한 후 이산화염소는 3, 5, 10, 25, 100 ppm 차아염소산나트륨은 100, 150, 200 ppm에서 5, 10, 30, 60분간 처리하였으며, 또한 유기물이 이산화염소와 차아염소산나트륨의 효과에 미치는 영향을 분석하기 위해 영양부추와 소독제를 1 : 2, 1 : 4, 1 : 9, 1 : 19 비율로 처리하여 소독제의 효과를 분석하였다. 그 결과, 소독제의 농도에 따른 저감효과는 차아염소산나트륨 150 ppm, 이산화염소 50 ppm으로 30분간 처리시 일반세균수는 2.0 log CFU/g 정도 감소효과를 나타내었으며, 식중독세균은 차아염소산나트륨 100 ppm, 이산화염소 3 ppm에서 약 2.0 log CFU/g 정도 감소효과를 보였다. 한편, 이산화염소의 경우 50 ppm으로 30분간 영양부추를 처리할 경우 탈색 등 상품성이 저하되어 현장 적용이 어렵다고 판단되었다. 또한 영양부추와 소독제 처리 비율에 따른 미생물 저감효과는 일반세균의 경우 1 : 4에 비하여 1 : 9에서 유의적으로 높은 저감효과를 보였다($p < 0.05$). 확립된 기술을 영양부추 생산농장에 적용한 결과 일반세균수의 경우 2.7 log CFU/g, 대장균군의 경우 4.0 log CFU/g의 감소효과를 보였다. 따라서 영양부추를 세척이후 차아염소산나트륨 150 ppm에서 1 : 9 정도의 비율로 30분간 침지하면 미생물 안전성을 향상시킬 수 있으며, 최종 소비자에게 보다 안전한 부추의 공급이 가능할 것으로 판단된다.

References

1. Choi, J.H.: Commercialization strategies for export markets of fresh-cut baby leaf vegetables. *Food Sci. Ind.*, **46**, 23-29 (2013).
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., Ha, S.D.: Microbial contamination levels of fresh vegetables distributed in markets. *Korean J. Food Hyg. Safety*, **20**, 43-47 (2005).
3. Oh, T.Y, Baek, S.Y., Choi, J.H., Jeong, M.C., Koo, O.K., Kim, S.M., Kim, H.J: Analysis of Foodborne Pathogens in *Brassica campestris* var. *narinosa* microgreen from Harvesting and Processing Steps. *J. Appl. Biol. Chem.*, **59**, 63-68 (2016).
4. Centers for Disease Control and Prevention: 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).
5. Patel J., 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., Park, J.H.: Prevalence and frequency of food-borne pathogens on unprocessed agricultural and marine products. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **38**, 594-598 (2006).
7. Kim, J.S., Bang, O.K., Chang, H.C.: Examination of microbiological contamination of ready-to-eat vegetable salad. *Korean J. Food Hyg. Safety*, **19**, 60-65 (2004).
8. Kim, C., Hung, Y.C., 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. Kim, K., Nam M.J., Lee. H., Shim, W.B., Yoon, Y., Kim, S.R., Kim, D.H., Ryu, J.G., Hong, M.K., You, O.J., Chung, D.H.: Microbiological safety assessment of a perilla leaf postharvest facility for application of Good Agricultural Practices (GAP) system. Korean *J. Food Sci. Technol.*, **41**, 352-398 (2009).
10. Hao, J., Li, H., Wan, Y., Liu, H.: Combined effect of acidic electrolyzed water (AcEW) and alkaline electrolyzed water (AlEW) on the microbial reduction of fresh-cut cilantro. *Food Control*, **50**, 699-704 (2015).
11. Hayashi, N., Yagyu, Y., Yonesu, A., Shiratani, M.: Sterilization characteristics of the surfaces of agricultural products using active oxygen species generated by atmospheric plasma and UV light. *Jpn. J. Appl Phys*, **53**, 5S1 (2014).
12. Sekiya, S., Ohmori, K., Harii, K.: Treatment of infectious skin defects or ulcers with electrolyzed strong acid aqueous solution. *Artificial Organs*, **21**, 32-38 (1997).
13. Seong, K.H., Kang, J.H., Song, K.B.: Effects of combined acetic acid and UV-C irradiation treatment on the microbial growth and the quality of sedum during its storage. *Korean J.*

Food Preserv., **21**, 581-586 (2014).
14. Feliziani, E., Lichter, A., Smilanick, J. L., Ippolito, A.: Disinfecting agents for controlling fruit and vegetable diseases after harvest. *Postharvest Biol. Tec.*, **122**, 53-69 (2016).
15. Lee, H.H., Hong, S.I., Kim, D.M.: Microbiological characterization and chlorine treatment of buckwheat sprouts. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **41**, 452-457 (2009).
16. Jeong, J.W., Kim, J.H., Kim, B.S., Jeong, S.W.: Characteristics of electrolyzed water manufactured from various electrolytic diaphragm and electolyte. *Korean J. Food Preserv.*, **10**, 99-105 (2003).
17. Han Y., Guentert A.M., Smith R.S., Linton R.H. and Nelson, P.E.: Efficacy of chlorine dioxide gas as a sanitizer for tanks used for aseptic juice storage. *Food Microbiol.*, **16**, 53-61 (1999).
18. Mahmoud, B.S.M., Bhagat A.R. and Linton, R.H.: Inactivation kinetics of inoculated *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes and Salmonella* enterica on strawberries by chlorine dioxide gas. *Food Microbiol.*, **24**, 736-744 (2007).
19. Trinetta V., Morgan M.T. and Linton R.H.: Use of high-concentration-short-time chlorine dioxide gas treatments for the inactivation of *Salmonella enterica* spp. inoculated onto Roma tomatoes. *Food Microbiol.*, **27**, 1009-1015 (2010).
20. Trinetta V., Linton R.H. and 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*). *Food Microbiol.*, **34**, 296-302 (2013).
21. Beuchat, L.R., Farbar, J.M., Garrett, E.H., Harris, L.J., Parish, M.E., Suslow, T.V., Busta, F.F.: Standardization of a method to determine the efficacy of sanitizers in inactivating human pathogenic microorganisms on raw fruits and vegetables. *J. Food Prot*, **64**, 1079-1084 (2001).
22. Ayebath, B., Hung, Y.C.: Electrolyzed water and its corrosiveness on various surface materials commonly found in food processing facilities. *J. Food Process Eng.*, **28**, 247-264 (2005).
23. Vandekinderen, I., Van Camp, J., Devlieghere, F., Ragaert, P., Veramme, K., Bernaert, N., Denon, Q., De Meulenaer, B.: Evaluation of the use of decontamination agents during fresh-cut leek processing and quantification of their effect on its total quality by means of a multidisciplinary approach. *Innov. Food Sci. Emerg.*, **10**, 363-373 (2009).
24. Cha, H.S., Kim, S., Kim, B.S., Kim, S.H., Park, S.J., Cho, H.S.: Effect of inhibition on browning and microbial growth of minimally processed lettuce. *Korean J. Food Preserv.*, **11**, 331-335 (2004).
25. Jin, Y.G., Kim, T.W., Ding, T., 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).
26. Park, K.J., Jeong, J.W., Lim, J.H., Jang, J.H., Park, H.J.: Effect of an Aqueous Chlorine Dioxide Generator and Effect on Disinfection of Fresh Fruits and Vegetables by Immersion Washing. *Korean J. Food Preserv.*, **15**, 236-242 (2008).
27. Kim, H.J., Song, H.J., Song, K.B.: Effect of combined treatment of aqueous chlorine dioxide with ultraviolet-C on the quality of red chicory and pak choi during storage. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **40**, 245-252 (2011).
28. Lee, H. H., Hong, S. I., Kim, D.: Microbial reduction efficacy of various disinfection treatments on freshcut cabbage. *Food Sci. Nutr.*, **2**, 585-590 (2014).
29. Park, S.S., Sung, J.M., Jeong, J.W., Park, K.J., Lim, J.H.: Efficacy of electrolyzed water and aqueous chlorine dioxide for reducing pathogenic microorganism on chinese cabbage. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **44**, 240-246 (2012).
30. Bermúdez-Aguirre, D., Barbosa-Cánovas, G. V.: Disinfection of selected vegetables under nonthermal treatments: chlorine, acid citric, ultraviolet light and ozone. *Food Control*, **29**, 82-90 (2013).
31. Choi, M.R., Lee, S.Y.: Inhibitory effects of chlorine dioxide and a commercial chlorine sanitizer against foodborne pathogens on lettuce. *Korean J. food Cook Sci.*, **24**, 445-451 (2008).
32. Ryu, S.H.: Effects of aqueous chlorine dioxide against *Escherichia coli* O157: H7 and *Listeria monocytogenes* on broccoli served in foodservice institutions. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **36**, 1622-1627 (2007).
33. Gómez-López, V.M., Rajkovic, A., Ragaert, P., Smigic, N., Devlieghere, F.: Chlorine dioxide for minimally processed produce preservation: a review. *Trends Food Sci. Tech.*, **20**, 17-26 (2009).
34. Kim, S.R., Ryu, K.Y., Lee, M.H., Jung, C.S., Yoon, Y.H., Shim, W.B., Kim, J.H., Kim, B.S., Yoo, S.Y., Kim, D.H., Yun, J.C., Chung, D.H.: Evaluation of the bactericidal activity of electrolyzed water against *Salmonella* Typhimurium and *Staphylococcus aureus* on perilla leaves. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **44**, 467-471 (2012).