pISSN 1229-1153 / eISSN 2465-9223 *J. Food Hyg. Saf.*
Vol. 40, No. 2, pp. 147~155 (2025)
https://doi.org/10.13103/JFHS.2025.40.2.147

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

주방용품과 농산물에 형성된 식중독 세균의 biofilm에 대한 계피(cinnamon), 정향(clove) 및 레몬 그래스(lemon grass) 정유의 억제 효과

김형은[1] · 김용석[2]*
[1]한국식품산업클러스터진흥원
[2]전북대학교 식품공학과

Elimination Effects of Essential Oils from Various Spices Against Biofilms Formed by Foodborne Bacteria on Kitchen Utensils and Agricultural Products

Hyeong-Eun Kim[1], Yong-Suk Kim[2]*
[1]*Sauce Industrialization Center, The Food Industry Promotional Agency of Korea, Iksan, Korea*
[2]*Department of Food Science and Technology, Jeonbuk National University, Jeonju, Korea*

(Received Januanry 14, 2025/Revised February 26, 2025/Accepted March 10, 2025)

ABSTRACT - The elimination effects of cinnamon, clove, and lemongrass essential oils (EOs) against biofilms formed by six foodborne bacteria on various kitchen utensils (dish sponge, rubber glove, and dishcloth) and agricultural products (lettuce and soybean) were studied. Additionally, the elimination effects of treatments with commercial sanitizers and EOs from the three spices were compared. Treatments with alcohol-based sanitizer and lemongrass EO were ineffective at inactivating biofilms formed by the six foodborne bacteria on plastic and stainless steel surfaces. In contrast, treatments with chlorine-based sanitizer, quaternary-ammonium-based sanitizer, and clove EO (0.5%) were highly effective at inactivating the biofilms formed on plastic and stainless steel surfaces. The biofilm-forming ability on the surface of kitchen utensils, based on cell enumeration, ranged from 5.67 log colony forming units (CFU)/coupon (*Bacillus cereus* on rubber gloves) to 8.22 log CFU/coupon (*Listeria monocytogenes* on dishcloth). Clove EO (0.5%) showed a strong elimination effect against biofilms formed by foodborne bacteria, particularly reducing *Staphylococcus aureus* biofilm by 2.28 log CFU/coupon on dishcloth surface. Initial biofilm populations of foodborne bacteria ranged from 7.89±0.04 to 8.63±0.03 log CFU/coupon and 6.92±0.04 to 8.11±0.03 log CFU/coupon on the surfaces of lettuce and soybean coupons, respectively. These biofilms were significantly reduced when treated with 0.5% cinnamon EO or clove EO for 5 min at 20°C. These results suggest that cinnamon EO and clove EO can be used as novel agents to reduce biofilms of foodborne bacteria formed on various kitchen utensils and agricultural products.

Key words: Biofilm, Essential oil, Foodborne bacteria, Food contact materials, Antimicrobial

생물막(biofilm)은 액체와 접촉하는 고체 물질의 표면에 세균이 부착하여 증식하면서 세포 외에 다당류를 분비하고, 이것을 매개로하여 인접한 세균들이 모여 한 덩어리가 되면서 고체나 생체 표면에 막(film)을 형성하는 상태를 말한다[1-4]. 세균이 고체 표면에 부착하여 성숙, 이탈 단계를 거치면서 biofilm은 더욱 견고해지며, 각 단계별로 필요한 요소들은 세균의 신호전달에 의해 조절한다[5]. 주로 물과 접촉이 많은 식품가공 장비나 농산물의 표면에 형성되는 biofilm은 식중독 세균의 중요한 저장소 역할을 하므로 biofilm 내부의 세균들은 저항성이 증가하여 세척에 의해 제대로 제거되지 않고 재증식함으로써 식품의 안전에 중요한 위험요소가 될 수 있다[1,6]. Biofilm을 형성하여 둘러싸여진 세균들은 같은 균주일지라도 부유상태의 세균보다 항생물질에 대한 저항성이 500-1,000배 더 강한 것으로 알려져 있다[4,7,8].

*Correspondence to: Yong-Suk Kim, Epartment of Food Science and Technology, Jeonbuk National University, Jeonju 54896, Korea
E-mail:kimys08@jbnu.ac.kr
Tel: +82-63-270-2567, Fax: +82-63-270-2572

Copyright © The Korean Society of Food Hygiene and Safety. All rights reserved. The Journal of Food Hygiene and Safety is an Open-Access journal distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License(http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0) which permits unrestricted non-commercial use, distribution,and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

식중독 세균이 식품이나 식품접촉표면에 형성하는 biofilm을 제거하기 위하여 많은 연구가 수행되고 있다. 주로 과산화수소 제제, 4급 암모늄계, 염소계, 요오드계 등의 화학적 살균·소독제를 대상으로 처리 시간이나 농도에 따라 biofilm을 제어하는 방법에 대한 연구[9-15]가 많이 이루어지고 있다. 현재 우리나라의 「식품첨가물의 기준 및 규격」에서는 기구 등의 살균·소독제로 과산화수소제제, 과산화초산제제, 구연산제제, 에탄올제제, 차아염소산나트륨제제, 차아염소산수 등 13품목이 지정·고시되어 있다[16]. 그러나 화학적 살균·소독제의 경우 정도의 차이는 있지만 인체에 부정적 영향을 줄 가능성이 있으며, 소비자들이 기피현상이 두드러지고 있는 경향에 따라 독성이 낮거나 거의 없는 천연 항균제 개발에 대한 수요가 증가하고 있다[17].

천연 물질을 이용하여 biofilm을 억제하는 연구로 자몽종자추출물, 초산, 구연산 및 젖산을 이용한 biofilm 억제[13], 백리향(thyme), citronella, oregano, lemon grass, 계피 및 감귤류 등 식물의 정유를 이용한 biofilm 억제 연구[19-24]가 진행되었으나, 여러 식중독 세균 중 주로 *Listeria monocytogens*나 *Salmonella* Typhimurium 등이 형성하는 biofilm에 대한 억제 연구에 한정되고 있다. 최근에는 다양한 식물의 정유를 활용하여 미생물이 형성한 biofilm을 제어하는 연구가 수행되고 있다. 고수(*Coriandrum sativum* L.), 레몬 그래스(*Cymbopogon citratus*) 및 정향(*Syzygium aromaticum*)의 정유는 구강에 있는 *Candida albicans*에 의한 biofilm 형성 제어[25-27], 울금(*Curcuma longa*) 정유는 *Streptococcus mutans*에 의한 biofilm 제어[28], 백리향(thyme) 정유는 *Acinetobacter, Sphingomonas, Stentrophomonas*에 의한 biofilm 억제 효과[29]를 나타내었다. Oregano, savory 및 백리향(thyme)의 정유(1%)는 살구, 복숭아, 자두 등 핵과류의 표면에 *Monilinia laxa*와 *Botrytis cinerea*에 의해 형성된 biofilm을 억제하는 효과를 나타냈다[30]. 계피, 정향, 레몬 그래스의 정유와 그 유효성분이 *Bacillus cereus* 등의 식중독 세균에 의한 biofilm의 형성을 억제하거나 형성된 biofilm을 제거하였다[31,32].

상업적으로 이용하고 있는 화학적 살균 소독제를 대체할 수 있는 천연 살균·소독제를 개발하기 위하여 본 연구에서는 선행 연구[31,32]에서 플라스틱(polyethylene)과 스테인리스스틸 표면에 형성된 biofilm 제거 활성이 입증된 계피(cinnamon), 정향(clove) 및 레몬 그래스(lemon grass)의 정유와 시판 살균·소독제의 제거 효과를 비교하였으며, 이들 정유가 몇 가지 주방용품 및 농산물에 형성된 biofilm을 제거하는 활성을 시험하였다.

Materials and Methods

식중독 세균

전북대학교 식품공학과(Jeonju, Korea)에 보관하고 있는 Gram(+) 식중독 세균인 *Bacillus cereus* ATCC 13061, *Listeria monocytogenes* ATCC 19112, *Staphylococcus aureus* KCCM 11812와 Gram(-) 식중독 세균인 *Escherichia coli* KCCM 11234, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Salmonella* Typhimurium ATCC 11862를 대상으로 biofilm 제거 효과를 시험하였다. 6종의 시험 균주는 tryptic soy broth (TSB, Difco, Becton Dickinson, Sparks, MD, USA) 0.7 mL와 glycerol (50%, v/v) 0.3 mL에 넣어 -80°C 초저온냉동고에 보관하였다. 모든 시험 균주는 TSB (Difco, USA) 배지를 이용하여 계대 배양하였으며, 30°C에서 24시간 간격으로 2회 활성화한 후 실험에 사용하였다[2].

계피(cinnamon), 정향(clove) 및 레몬 그래스(lemon grass) 정유의 추출

실험에 사용된 계피(cinnamon, 베트남산), 정향(clove, 마다카스카르산) 및 레몬 그래스(lemon grass, 터키산)는 전주시(Jeonbuk, Korea)에 소재한 대형마트에서 구입하여 사용하였다.

계피(cinnamon) 등의 정유 성분 추출은 Kim 등[2]의 방법에 따라 수행하였다. 정유 성분 추출을 위해 수증기 증류(steam distillation) 장치(EssenLab-plus, Hanil Lab Tech Co., Ltd, Yangju, Korea)를 이용하여 3시간 동안 추출하였다. 증류에 의해 얻은 정유는 물층으로 부터 분리한 후 무수황산나트륨(Na_2SO_4 anhydrous, Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA)을 첨가하고 4°C에 보관하여 수분을 제거하였다. 추출한 정유는 휘발성 성분의 휘발을 최소화하기 위하여 시험에 사용하기 전까지 -40°C의 냉동고에 보관하였다. 시험에 사용하기 전에 보관된 정유 emulsion을 30초 동안 균질화한 후 사용하였다.

향신료 정유와 시판 살균·소독제의 biofilm 제거 효과

계피(cinnamon), 정향(clove) 및 레몬 그래스(lemon grass) 등 3종의 향신료 정유와 시판 살균·소독제의 biofilm 제거 활성을 비교하였다. 3종의 향신료 정유는 Tween 20 (Merck, Darmstadt, Germany)이 2% 첨가된 멸균 증류수로 희석하여 0.5%로 조정한 후 사용하였으며, 시판 살균·소독제로는 알코올계, 암모늄계 및 염소계 살균·소독제를 대상으로 시험하였다[33]. 알코올계 살균·소독제는 Bio-Cleancohol (ethyl alcohol 75%(v/v) 이하 함유, Jinro Fermentation, Ansan, Korea)을 사용하였다. 암모늄계 살균·소독제는 J-80(유효성분: alkyl (C_{12}-C_{18}) benzyldimethyl chlorides, Songha F&F, Gunpo, Korea) 9.6 mL를 증류수 1 L에 희석하여 제조한 후 사용하였다. 염소계 살균·소독제는 Biospot-N (유효성분: sodium dichloroisocyanurate, Hydra-Chem Limited, Billingshurst, UK) 1정을 증류수 10 L에 넣어 제조한 것을 사용하였다.

2차 활성 시킨 6종의 식중독 세균 배양액 100 μL를 멸

균된 플라스틱(polyethylene, 13-mm diameter, Thermanox® polyethylene coverslip, NUNC™, Rochester, NY, USA)과 스테인리스스틸(stainless steel, SUS 304, No. 4, 1×1 cm) 쿠폰(coupon)에 각각 접종하여 30°C, 24시간 배양시켜 biofilm을 형성시켰다. 플라스틱과 스테인리스스틸 쿠폰에 남아있는 배양액의 미생물을 제거하기 위해 쿠폰 위에 멸균 증류수 1,000 μL를 피펫으로 올려놓고 1분 동안 정치한 후 버리는 방법으로 3회 세척한 후 상온에서 30분 동안 방치하여 건조하였다. Biofilm이 형성된 플라스틱 쿠폰과 스테인리스스틸 쿠폰을 향신료 정유와 시판 살균·소독제가 각각 5 mL씩 들어있는 비커에 넣어 20°C, 5분 동안 침지시켜 biofilm 제거 활성을 시험하였으며, 대조구로는 멸균 증류수를 이용하였다. 향신료 정유 및 시판 살균·소독제를 처리한 후 멸균 증류수 1,000 μL로 플라스틱 쿠폰과 스테인리스스틸 쿠폰을 3회 세척한 후 다시 상온에서 표면을 건조시켜 남은 biofilm을 glass bead 법으로 측정하였다[19].

주방용품에 형성된 biofilm대한 향신료 정유의 제거 효과

식중독 세균이 주방용품에 형성한 biofilm을 향신료 정유가 제거하는 활성을 평가하기 위하여 주방에서 사용 빈도가 높고 교차오염의 주요 원인이 될 수 있는 수세미(dish sponge), 고무장갑(rubber gloves), 행주(dishcloth)를 대상으로 시험하였다(Fig. 1). 수세미, 고무장갑 및 행주는 각각 1×1 cm 크기로 절단하여 121°C, 15분 동안 멸균(autoclave, WAC-100, Daihan Scientific Co., Wonju, Korea) 한 후 주방용품 표면에 2차 활성한 식중독 세균 배양액을 각각 100 μL씩 접종하여 30°C, 24시간 동안 biofilm을 형성시켰다. 3종의 주방용품 표면에 남아있는 배양액의 세균을 제거하기 위해 멸균 증류수 1,000 μL로 3회 세척한 후 상온에서 30분 동안 건조하였다. Biofilm이 형성된 각 주방용품은 계피(cinnamon), 정향(clove) 및 레몬 그래스(lemon grass) 정유(0.5%)가 각각 5 mL씩 담겨 있는 비커에 넣고 20°C, 5분 동안 침지시켰으며, 대조구는 멸균 증류수를 이용하였다. 향신료 정유와 멸균증류수를 처리한 후 수세미, 고무장갑 및 행주는 멸균 증류수 1,000 μL로 3회 세척한 후 다시 상온에서 표면을 건조시키고 남은 biofilm을 glass bead법으로 측정하였다[19].

농산물에 형성된 biofilm대한 향신료 정유의 제거 효과

식중독 세균이 농산물에 형성한 biofilm을 향신료 정유가 제거하는 활성을 측정하였다(Fig. 1). 시험에 사용한 농산물은 주로 신선한 상태로 섭취되어 식중독의 원인이 될 수 있는 양상추와 내열성이 강하여 장류 등에서 *B. cereus*의 오염 원인이 되는 대두를 대상으로 시험하였다. 양상추와 대두는 표면에 부착되어 있는 이물질을 제거하기 위하여 흐르는 수돗물로 가볍게 세척하였으며, 표면에 남아있는 물을 제거하였다. 양상추는 1×1 cm 크기로 절단한 후 표면에 식중독 세균 배양액 100 μL를 각각 접종하였으며, 대두는 petri-dish에 넣고 1개 당 식중독 세균 배양액 100 μL를 각각 접종하여 30℃, 24시간 배양하여 biofilm을 형성시켰다. 양상추와 대두 표면에 남아있는 배양액의 미생물을 제거하기 위하여 멸균 증류수 1,000 μL로 3회 세척 후 상온에서 30분 동안 건조하였다. Biofilm이 형성된 양상추와 대두는 계피(cinnamon), 정향(clove) 및 레몬

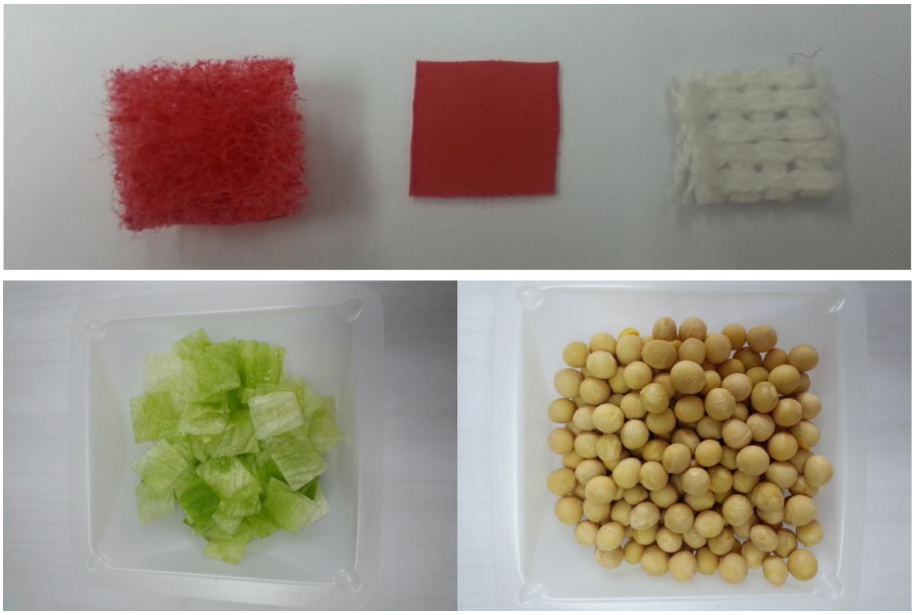

Fig. 1. Kitchen utensils coupon (upper, from the left: dish sponge, rubber glove, and dishcloth) and agricultural food coupon (bottom, from the left: lettuce and soybean).

그래스(lemon grass) 정유(0.5%)가 각각 5 mL씩 담겨 있는 비커에 넣고 20°C, 5분 동안 침지시켰으며, 대조구는 멸균 증류수를 이용하였다. 향신료 정유와 멸균 증류수를 처리한 후 양상추와 대두는 멸균 증류수 1,000 μL로 3회 세척한 후 다시 상온에서 표면을 건조시키고 남은 biofilm을 glass bead법으로 측정하였다[19].

통계처리

모든 실험은 3회의 독립적인 반복실험을 수행하였다. 결과는 평균±표준편차(standard error of mean, SEM)로 표시하였고, 각 실험에서 얻어진 결과값에 대한 유의성은 SAS Package (Statistical Analysis System, SAS version 9.3, SAS Institute INC, Cary, NC, USA)를 이용하여 분산분석(analysis of variance), Duncan의 다중 범위 검정(Duncan's multiple range test)을 실시하여 검증하였다(P<0.05)[34].

Results and Discussion

향신료 정유와 시판 살균·소독제의 biofilm 제거 효과 비교

계피(cinnamon), 정향(clove) 및 레몬 그래스(lemon grass) 정유를 식품용 기구 및 용기·포장의 살균·소독제로 이용 가능성을 시험하기 위하여 시판 살균·소독제와 biofilm 제거 활성을 비교하였다. 플라스틱(polyethylene)과 스테인리스스틸 쿠폰에 식중독 세균에 의한 biofilm을 형성시키고 시판 살균·소독제와 향신료 정유(0.5%)를 처리한 결과는 Table 1과 같다. 알코올계 살균·소독제를 이용하여 세척하였을 때 대조구인 멸균 증류수로 세척하였을 때와 biofilm의 수는 유의적으로 감소하였으며, 암모늄계 살균·소독제와 염소계 살균·소독제를 처리했을 때는 모든 식중독 세균에서 biofilm이 모두 제거되는 효과를 나타내었다. 이 결과는 플라스틱과 스테인리스스틸 표면에 biofilm이 형성된 식중독 세균을 물, 화학적 살균제 및 71℃ 건열살균 처리하였을 때, 알코올계 소독제 처리에 의해 모든 병원성 세균에 대하여 유의적인 감소(P<0.05)가 나타났으며, 염소계 살균·소독제는 *S.* Typhimurium에서만 유의적인 감소(P<0.05)를 나타내었다고 보고한 연구결과[38]와 다르게 나타났다. 살균·소독제의 biofilm 제거 효과에 관한 연구결과의 차이는 플라스틱과 스테인리스스틸 표면에 오염된 세균의 종류, 균수 및 biofilm 생성 등에 따른 차이에 의해 나타나는 것으로 생각된다.

향신료 중 정향(clove) 정유를 처리했을 때 모든 균주에서 플라스틱과 스테인리스스틸 표면에 형성된 biofilm을 제거하는 효과가 높게 나타났다. 계피(cinnamon) 정유의 경우 *E. coli*에 의해 형성된 biofilm이 플라스틱과 스테인리스스틸 쿠폰에서 모두 제거되었으며, *S. aureus*를 제외한 다른 세균에 의해 플라스틱 표면에 형성된 biofilm을 완전히 제거하였다. 레몬 그래스(lemon grass) 정유는 *B. cereus*에 의해 플라스틱 및 스테인리스스틸 표면에 형성된 biofilm 제거에는 효과를 보였으나, 나머지 식중독 세균에 대해서는 알코올계 살균·소독제와 비슷한 수준의 감소를 나타내었다.

Table 1. Elimination effect of commercial sanitizer and 0.5% essential oils treatment at 20°C for 5 min on the against biofilm formed by foodborne bacteria on plastic (P) and stainless steel (SS) coupon surface (Unit : log cfu/coupon)

	Coupon	Control	Commercial sanitizer			Essential oils (0.5%)		
			Alcohol-based sanitizer (70%)	Chlorine-based sanitizer	Quaternary ammonium sanitizer	Cinnamon	Clove	Lemon grass
B. cereus ATCC13061	P	2.67±0.04[a1)]	2.48±0.01[b]	N.D.[c2)]	N.D.[c]	N.D.[c]	N.D.[c]	N.D.[c]
	SS	3.14±0.01[a]	2.50±0.01[c]	N.D.[d]	N.D.[d]	2.58±0.01[b]	N.D.[d]	N.D.[d]
L. monocytogenes ATCC19112	P	4.61±0.06[a]	4.54±0.06[b]	N.D.[d]	N.D.[d]	N.D.[d]	N.D.[d]	3.03±0.03[c]
	SS	4.89±0.04[a]	4.57±0.03[b]	N.D.[e]	N.D.[e]	2.60±0.11[d]	N.D.[e]	3.03±0.06[c]
S. aureus KCCM11812	P	4.55±0.00[a]	4.44±0.03[b]	N.D.[e]	N.D.[e]	2.89±0.01[c]	N.D.[e]	2.65±0.11[d]
	SS	5.08±0.00[a]	3.94±0.01[c]	N.D.[d]	N.D.[d]	N.D.[d]	N.D.[d]	4.08±0.06[b]
E. coli KCCM11234	P	4.76±0.04[a]	4.51±0.03[b]	N.D.[d]	N.D.[d]	N.D.[d]	N.D.[d]	3.09±0.01[c]
	SS	5.39±0.00[a]	4.57±0.03[b]	N.D.[d]	N.D.[d]	N.D.[d]	N.D.[d]	3.00±0.01[c]
P. aeruginosa ATCC27853	P	4.98±0.02[a]	2.96±0.00[c]	N.D.[d]	N.D.[d]	N.D.[d]	N.D.[d]	4.30±0.03[b]
	SS	6.17±0.01[a]	4.57±0.03[b]	N.D.[e]	N.D.[e]	4.17±0.01[d]	N.D.[e]	4.33±0.04[c]
S. Typhimurium ATCC11862	P	5.17±0.04[a]	4.29±0.02[b]	N.D.[d]	N.D.[d]	N.D.[d]	N.D.[d]	2.80±0.02[c]
	SS	5.25±0.00[a]	3.61±0.50[b]	N.D.[d]	N.D.[d]	N.D.[d]	N.D.[d]	2.88±0.00[c]

Data represent means±standard deviations of three measurements.
[1)]Means with the different letters within a row are significant different (P<0.05).
[2)]N.D. = Not detected.

주방용품에 형성된 biofilm대한 향신료 정유의 제거 효과

식중독 세균에 의해 주방용품 표면에 형성된 biofilm을 제거하는 효과를 시험하기 위하여 수세미, 고무장갑 및 행주(1×1 cm)에 식중독 세균을 접종하여 biofilm을 형성시킨 후 계피(cinnamon), 정향(clove) 및 레몬 그래스(lemon grass) 정유(0.5%)에 5분 동안 침지시킨 후 biofilm을 측정한 결과는 Fig. 2와 같다.

주방용품 중 행주에 형성된 biofilm은 *B. cereus* 7.69±0.04 log CFU/coupon, *L. monocytogenes* 8.22±0.03 log CFU/coupon, *S. aureus* 7.39±0.03 log CFU/coupon, *E. coli* 7.53±0.05 log CFU/coupon, *P. aeruginosa* 8.03±0.02 log CFU/coupon 및 *S.* Typhimurium 8.15±0.03 log CFU/coupon으로 모든 식중독 세균에서 가장 높게 나타났다. 고무장갑과 수세미에서도 biofilm 형성능이 높게 나타났는데,

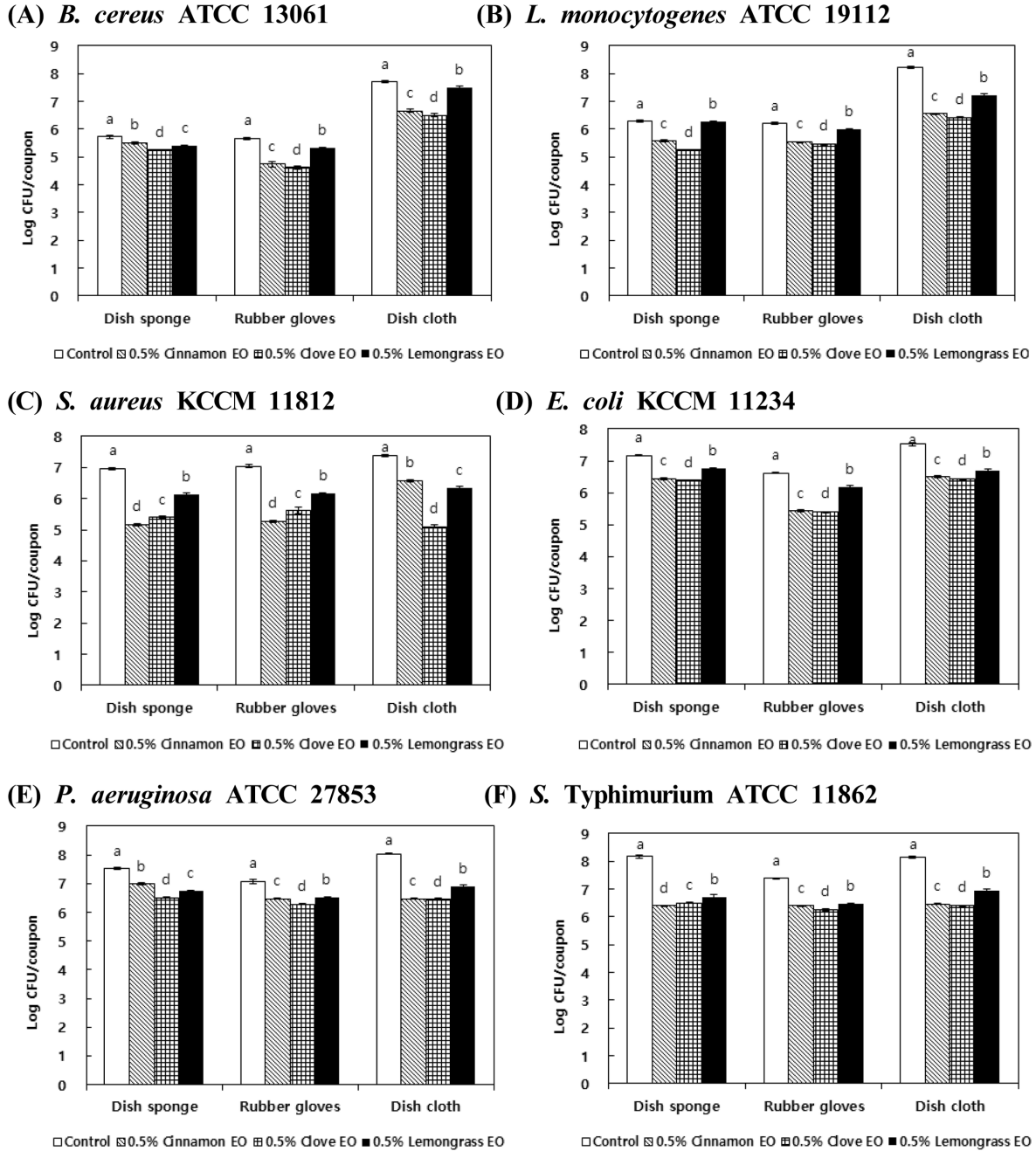

Fig. 2. Elimination effect of 0.5% cinnamon, clove, and lemon grass essential oils (EO) on the against biofilm formed by foodborne bacteria on dish sponge, rubber gloves, and dishcloth.
Data represent means±standard deviations of three measurements.
[1)]Means with the different letters within a matrix are significant different (P<0.05).

특히, *S.* Typhimurium은 수세미에서 8.17±0.04 log CFU/coupon, 고무장갑에서 7.39±0.01 log CFU/coupon으로 주방용품 중에서 가장 높은 biofilm 형성능을 나타내었다.

*S. aureus*와 *S.* Typhimurium이 수세미 표면에 형성한 biofilm에 대해 계피(cinnamon) 정유가 유의적인 차이(P<0.05)를 나타내며 biofilm의 제거 활성을 나타냈으며, 두 균주를 제외한 나머지 식중독 세균에 대해서는 정향(clove) 정유가 biofilm 생육을 억제하는 효과를 나타내었다. 고무장갑 표면에서는 *S. aureus*에 의해 형성된 biofilm에 대해 계피(cinnamon) 정유 처리(0.5%)에 의하여 약 25%의 제거 효과를 나타내었으며, 나머지 균주에 대해서는 정향(clove) 정유 처리가 biofilm 제거 활성이 높은 것으로 나타났다.

행주의 경우 6종의 식중독 세균에 의해 형성된 biofilm이 정향(clove) 정유 처리에 의해 효과적으로 감소하였으며, 특히 행주 표면에 형성된 *S. aureus*의 biofilm은 2.28 log CFU/coupon 감소되었다. 레몬 그래스(lemon grass) 정유는 3종의 주방용품 표면에 형성된 식중독 세균의 biofilm 제거율이 가장 낮은 것으로 나타났다.

3종의 주방용품표면에 형성된 식중독 세균의 biofilm이 계피(cinnamon), 정향(clove) 및 레몬 그래스(lemon grass) 정유 처리에 의해 유의적으로 감소하였으며(P<0.05), 특히 정향(clove) 정유 처리에 의한 biofilm 제거능이 유의적으로(P<0.05) 높은 것으로 나타났다. 이는 앞에서 시험한 플라스틱과 스테인리스스틸 표면에 형성된 biofilm 제거 시험 결과와 유사한 경향을 보였다. 그러나 주방용품 표면에서의 biofilm 형성능이 높기 때문인지 계피(cinnamon), 정향(clove) 및 레몬 그래스(lemon grass) 정유 처리 후에도 대부분의 주방용품 표면에서 5 log CFU/coupon 이상의 biofilm이 남아있는 것을 확인하였다.

본 연구결과를 통하여 biofilm의 형성 및 제거 활성은 같은 식중독 세균이라 하더라도 재질의 종류나 표면의 상태에 따라 달라질 수 있음을 확인하였으며, 플라스틱 및 스테인리스스틸을 포함한 다양한 재질에 형성된 biofilm을 제거하기 위해서는 여러 가지 살균·소독제를 처리할 때 효과를 증진시킬 수 있는 방법 등에 대한 연구가 지속적으로 수행되어야 할 것으로 생각된다.

농산물에 형성된 biofilm대한 향신료 정유의 제거 효과

건강에 대한 소비자의 관심이 높아지면서 과일과 채소의 섭취가 증가하고, 이들 신선 농산물과 관련된 식중독 사고의 발생이 증가하고 있다. 식중독의 발생은 식품 원재료에 오염되어 있는 미생물뿐만 아니라 식품의 제조나 조리 등을 위한 준비 과정 중 작업자의 손이나 기구 등에 의한 교차오염을 통해 발생될 수 있으며, 토양이나 분변, 사람, 기구, 세척용수 등이 오염원인과 경로가 될 수 있다[35]. 다양한 경로를 통해 식품 표면에 접촉한 식중독 미생물은 재료의 표면이나 상처 등의 틈에서 살아남아 생육할 수 있으며, 특히 양상추와 같이 신선한 상태로 섭취되는 신선채소는 가열단계가 없이 섭취되기 때문에 식품첨가물로 허용된 살균·소독제를 이용하여 미생물을 제어하는 방법이 주로 이용되고 있다. 현재 이용되고 있는 대부분의 살균·소독제는 화학적 합성품이며, 소득수준의 향상으로 소비자의 선택이 다양화되면서 화학적 합성품에 대한 기피현상이 두드러지고 있다. 따라서 식중독 세균을 효과적으로 억제할 수 있으면서 인체에 무해한 살균·소독제 및 세척제가 필요한 상황이다[36].

6종의 식중독 세균에 의해 양상추와 대두 표면에 형성된 biofilm을 제거하기 위하여 계피(cinnamon), 정향(clove) 및 레몬 그래스(lemon grass) 정유(0.5%)에 5분 동안 침지시킨 후 biofilm을 측정한 결과는 Fig. 3과 같다.

양상추 표면에 형성된 biofilm은 *B. cereus* 7.89±0.04 log CFU/coupon, *L. monocytogenes* 8.37±0.03 log CFU/coupon, *S. aureus* 8.63±0.03 log CFU/coupon, *E. coli* 8.27±0.03 log CFU/coupon, *P. aeruginosa* 8.36±0.05 log CFU/coupon 및 *S.* Typhimurium 8.48±0.00 log CFU/coupon으로 플라스틱이나 스테인리스스틸 표면에 형성된 것보다 많은 biofilm을 형성하였다. 이는 양상추의 표면이 플라스틱이나 스테인리스스틸 표면보다 울퉁불퉁하며 상처나 틈새가 많아 세균의 부착이 더 용이하기 때문인 것으로 생각되었다.

대두 표면에 형성된 biofilm은 *B. cereus* 6.92±0.04 log CFU/coupon, *L. monocytogenes* 7.50±0.03 log CFU/coupon, *S. aureus* 7.32±0.01 log CFU/coupon, *E. coli* 7.07±0.06 log CFU/coupon, *P. aeruginosa* 7.22±0.01 log CFU/coupon 및 *S.* Typhimurium 8.11±0.03 log CFU/coupon으로 양상추 보다는 biofilm 형성이 낮았으나 플라스틱 및 스테인리스스틸 표면보다는 높게 형성되었다.

계피(cinnamon), 정향(clove) 및 레몬 그래스(lemon grass) 정유를 처리한 후 양상추와 대두 표면에 형성된 biofilm 제거 양상은 비슷하였으며, 시험한 모든 식중독 세균에서 이들 향신료 정유를 처리한 후 biofilm이 감소하는 것으로 확인되었고, 그 처리 효과는 정향(clove)>계피(cinnamon)>레몬 그래스(lemon grass) 순으로 나타났다.

양상추 표면에 형성된 *B. cereus*의 biofilm은 0.5% 정향(clove) 정유 처리에 의해 2.17 log CFU/coupon이 감소하였다. Choi와 Lee[35]의 연구에서 양배추 표면에 오염된 병원성 미생물에 200 ppm ClO_2로 10 분 동안 처리했을 때 *E. coli* O157:H7, *L. monocytogenes* 및 *S.* Typhimurium에 대해 각각 2.28, 1.95 및 1.76 log 수준의 감소를 보여 가장 높은 살균소독력을 나타내었다는 결과와 유사한 경향을 보였다.

대두 표면에 *B. cereus*와 *S.* Typhimurium에 의해 형성된 biofilm은 정향(clove) 정유(0.5%) 처리에 의해 각각 1.45 및 1.78 log CFU/coupon 감소시켰다.

시험한 6종의 식중독 세균이 양상추와 대두 표면에 7

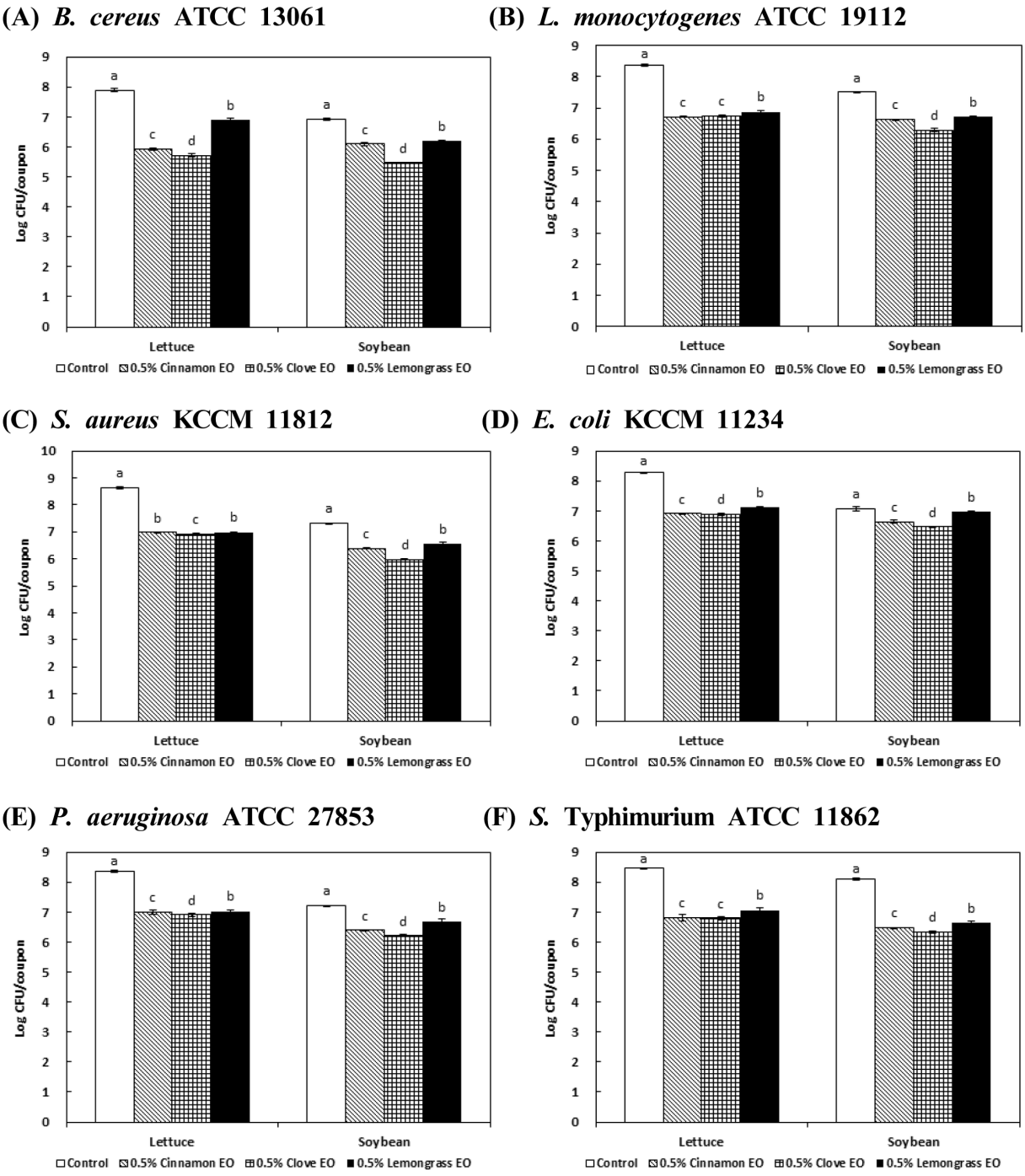

Fig. 3. Elimination effect of 0.5% cinnamon, clove, and lemon grass essential oils (EO) on the against biofilm formed by foodborne bacteria on lettuce and soybeans.
Data represent means±standard deviations of three measurements.
[1)]Means with the different letters within a matrix are significant different (P<0.05).

log CFU/coupon 이상의 높은 biofilm 형성능을 나타내었기 때문에 계피(cinnamon), 정향(clove) 및 레몬 그래스(lemon grass) 정유(0.5%) 처리에 의해 biofilm이 일부 제거되었음에도 불구하고 양상추와 대두 표면에 식중독을 유발할 수 있는 정도의 biofilm이 잔존하는 것으로 확인되었다. 이는 신선식품 및 비가열 조리 식품의 세척 및 biofilm 제거의 필요성을 확인할 수 있는 결과이며 추후 양상추 및 대두와 같은 식품표면의 biofilm을 제거할 수 있는 적절한 정유의 농도 및 처리 시간 등에 관한 연구가 필요한 것으로 생각된다.

국문요약

상업적으로 이용하고 있는 화학적 살균·소독제를 대체할 수 있는 천연 살균·소독제를 개발하기 위하여 식중독 세균에 의해 플라스틱(polyethylene)과 스테인리스스틸(stainless steel) 표면에 형성된 생물막(biofilm)에 대한 계피, 정향 및 레몬 그래스 정유와 시판 살균·소독제의 제거 효과를 비교하였다. 또한 몇 가지 주방용품(수세미, 고무장갑, 행주)과 농산물(양상추, 콩)에 형성된 biofilm에 대한 계피, 정향 및 레몬 그래스 정유의 제거 효과를 시험하였다. 향신료 정유와 시판 살균·소독제의 biofilm 제거 활성을 비교한 결과 시판 살균·소독제 중 염소계 및 암모늄계 살균·소독제와 정향 정유 처리에 의해 시험한 모든 식중독 세균의 biofilm이 제거되는 효과를 나타내었다. 계피 정유를 처리한 경우 *E. coli*에 의해 플라스틱과 스테인리스스틸 표면에 형성된 biofilm이 모두 제거되었으며, *S. aureus*를 제외한 다른 식중독 세균에 의해 플라스틱 표면에 형성된 biofilm을 완전히 제거하였다. 식중독 세균은 주방용품 표면에서 5.67±0.03-8.22±0.03 log CFU/coupon의 biofilm을 형성하였다. 계피, 정향 및 레몬 그래스의 정유를 처리한 후 모든 주방용품 표면에 형성된 biofilm이 유의적으로 감소하였으며, 특히 정향 정유에 의한 biofilm 제거 활성이 유의적으로(P<0.05) 높은 것으로 나타났다. 양상추와 대두 표면에 형성된 식중독 세균의 biofilm 제거 효과를 측정한 결과, 모든 균주에서 계피, 정향 및 레몬 그래스 정유를 처리에 의해 biofilm이 감소하는 것으로 확인되었고, 그 제거 효과는 정향>계피>레몬 그래스 순으로 나타났다. 본 연구를 통하여 계피와 정향 정유(0.5%)는 몇 가지 주방용품과 농산물 표면에 식중독 세균이 형성하는 biofilm을 제거할 수 있는 천연 살균·소독제로 이용될 수 있다고 생각된다.

Conflict of interests

The authors declare no potential conflict of interest.

ORCID

Hyeong Eun Kim https://orcid.org/0000-0002-9944-4597
Yong-Suk Kim https://orcid.org/0000-0003-1331-4175

References

1. Yun, H.J., Kho, Y.L., Na, S.S., Lee, Y.W., Studies on growth and decontamination of *Listeria monocytogenes* attached to food contact surface materials. *Kor. J. Env. Hlth. Soc.*, **27**, 75-82 (2001).
2. Xu, H., Zou, Y.Y., Lee, H.Y., Ahn, J.H., Effect of NaCl on the biofilm formation by foodborne pathogens. *J. Food Sci.*, **75**, 580-585 (2010).
3. Choi, Y.W., Lee, H.W., Kim, S.M., Lee, J.C., Lee, Y.C., Seol, S.Y., Cho, D.T., Kim, J.M., Biofilm forming ability and production of curli and cellulose in clinical isolates of *Enterobacteriaceae*. *Korean J. Microbiol.*, **47**, 335-341 (2011).
4. Jahid, I.K., Ha, S.D., A review of microbial biofilms of produce: future challenge to food safety. *Food Sci. Biotechnol.*, **21**, 299-316 (2012).
5. Parsek, M.R., Greenberg, E.R., Sociomicrobiology: the connections between quorum sensing and biofilms. *Trends Microbiol*., **13**, 27-33 (2005).
6. Brooks, J.D., Flint, S.H., Biofilms in the food industry: problems and potential solutions. *Int. J. Food Sci. Technol.*, **43**, 2163-2176 (2008).
7. Simoes, M., Simoes, L.C., Vieira, M.J., A review of current and emergent biofilm control strategies. *Food Sci. Technol.*, **43**, 573-583 (2010).
8. Kim, C.B., Rho, J.B., Lee, H.K., Choi, S.H., Lee, D.H., Park, S.J., Lee, K.H., Characteristics of developmental stages in bacterial biofilm formation. *Kor. J. Mocrobiol. Biotechnol.*, **33**, 1-8 (2005).
9. Joseph, B., Otta, S.K., Karunasagar, I., Biofilm formation by *Salmonella* spp. on food contact surfaces and their sensitivity to sanitizers. *Int. J. Food Microbiol.*, **64**, 367-372 (2001).
10. Kim, S.W., Baek, S.B., Ha, J.H., Lee, M.H., Choi, C.S., Ha, S.D., Chlorine treatment to inactivate norovirus on food contact surfaces. *J. Food Prot.*, **75**, 184-188 (2012).
11. Gibson, H., Taylor, J.H., Hall, K.E., Holah, J.T., Effectiveness of cleaning techniques used in the food industry in terms of the removal of bacterial biofilms. *J. Appl. Microbiol.*, **87**, 41-48 (1999).
12. Wang, R., Bono, J.L., Kalchayanand, N., Shackelford, S., Harhay, D.M., Biofilm formation by shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157:H7 and non-O157 strains and their tolerance to sanitizers commonly used in the food processing environment. *J. Food Prot.*, **75**, 1418-1428 (2012).
13. dos Anjos, M.M., Ruiz, S.P., Nakamura, C.V., de Abreu Filho, B.A., Resistance of *Alicyclobacillus acidoterrestris* spores and biofilm to industrial sanitizers. *J. Food Prot.*, **76**, 1408-1413 (2013).
14. Sharma, M., Ryu, J.H., Beuchat, L.R., Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 in biofilm on stainless steel by treatment with an alkaline cleaner and a bacteriophage. *J. Appl. Microbiol.*, **99**, 449-459 (2005).
15. da Silva Meira, Q.G., de Medeiros Barbosa, I., Athayde, A.J.A.A., de Siqueira-Júnior, J.P., de Souza, E.L., Influence of temperature and surface kind on biofilm formation by *Staphylococcus aureus* from food-contact surfaces and sensitivity to sanitizers. *Food Control*, **25**, 469-475 (2012).
16. Ministry of Food and Drug Safety (MFDS), (2025, January 10). Food additives code. Retrieved from http://www.mfds.go.kr
17. Kim, Y.S., Shin, D.H., Researches on the volatile antimicrobial compounds from edible plants and their food application. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **35**, 159-165 (2003).

18. Ha, S.J., Yang, S.K., Park, H.J., Kim, C.H., Oh, S.W., Efficacy of aerosolized natural antimicrobial and organic acids as a sanitizer against foodborne pathogens on stainless steel. *J. Food Hyg. Saf.*, **26**, 336-341 (2011).
19. Desai, M.A., Soni, K.A., Nannapaneni, R., Schilling, M.W., Silva, J.L., Production of *Listeria monocytogenes* biofilms on stainless steel and polystyrene surface by essential oils. *J. Food Prot.*, **75**, 1332-1337 (2012).
20. de Oliveira, M.M.M, Brugnera, D.F., Cardoso, M.D.G., Alves, E., Piccoli, R.H., Disinfectant action of *Cymbopogon* sp. essential oils in different phases of biofilm formation by *Listeria monocytogenes* on stainless steel surface. *Food Control*, **21**, 549-553 (2010).
21. Soni, K.A., Oladunjoye, A., Nannapaneni, R., Schilling, M.W., Silva, J.L., Mikel, B., Bailey, R.H., Inhibition and inactivation of *Salmonella* Typhimurium biofilms from polystyrene and stainless steel surfaces by essential oils and phenolic constituent carvacrol. *J. Food Prot.*, **76**, 205-212 (2013).
22. Oliveira, M.M.M., Brugnera, D.F., Nascimento, J.A., Batista, N.N., Piccoli, R.H., Cinnamon essential oil and cinnamaldehyde in the control of bacterial biofilms formed on stainless steel surfaces. *Eur. Food Res. Technol.*, **234**, 821-832 (2012).
23. Laird, K., Armitage, K., Phillips, C., Reduction of surface contamination and biofilms of *Enterococcus* sp. and *Staphylococcus aureus* using a citrus-based vapour. *J. Hosp. Infect.*, **80**, 61-66 (2012).
24. Lin, C.M., Sheu, S.R., Hsu, S.C., Tsai, Y.H., Determination of bactericidal efficacy of essential oil extracted from orange peel on the food contact surface. *Food Control*, **21**, 1710-1715 (2010).
25. Furletti, V.F., Texixerira, I.P., Obando-Pereda, G., Mardegan, R.C., Sartoratto, A., Figueira, G.M., Duarte, R.M.T., Rehder, V.L.G., Duarte, M.C.T., Hofling, J.F., Action of *Coriandrum sativum* L. essential oil upon oral *Candida albicans* biofilm formation. *Evid. Based Complement. Alternat. Med.*, **2011**, 1-9 (2011).
26. Khan, M.S., Ahmad, I., Biofilm inhibition by *Cymbopogon citratus* and *Syzygium aromaticum* essential oils in the strains of *Candida albicans*. *J. Ethnopharmacol.*, **140**, 416-423 (2012).
27. Taweechaisupapong, S., Aieamsarrd, J., Chitropas, P., Khunkitti, W., Inhibitory effect of lemon grass oil and its major constituents on *candida* biofilm and germ tube formation. *South African J. Botany*, **81**, 95-102 (2012).
28. Lee, K.H., Kim, B.S., Keum, K.S., Yu, H.H., Kim, Y.H., Chang, B.S., Ra, J.Y., Moon, H.D., Seo, B.R., Choi, N.Y., You, Y.O., Essential oil of *Curcuma longa* inhibits *Streptococcus mutans* biofilm formation. *J. Food Sci.*, **76**, 226-230 (2011).
29. Szczepanski, S., Lipski, A., Essential oils show specific inhibiting effects on bacterial biofilm formation. *Food Control*, **36**, 224-229 (2014).
30. Lopez-Reyes, J.G., Spadaro, D., Prelle, A., Garibaldi, A., Gullino, M.L., Efficacy of plant essential oils on postharvest control of rots caused by fungi on different stone fruits *in vivo*. *J. Food Prot.*, **76**, 631-639 (2013).
31. Kim, H.E., Kim, Y.S., Inhibitory effects of cinnamon, clove and lemon grass essential oils against biofilm formation by food poisoning bacteria. *J. Food Hyg. Saf.*, **36**, 430-439 (2021).
32. Kim, H.E., Kim, Y.S., Volatile components of essential oils from spices and it's inhibitory effects against biofilm formed by food poisoning bacteria. *J. Food Hyg. Saf.*, **37**, 285-295 (2022).
33. Bae, Y.M., Heu, S.G., Lee, S.Y., Inhibitory effect of dry-heat treatment and chemical sanitizers against foodborne pathogens contaminated on the surfaces of materials. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **38**, 1265-1270 (2009).
34. Statistical Analysis Systems (SAS) Institute, Inc., 199.. SAS user's guide, SAS Institute, Cary, NC, USA.
35. Choi, M.R., Lee, S.Y., Inhibitory effects of chlorine dioxide and a commercial chlorine sanitizer against foodborne pathogens in lettuce. *Korean J. Food Cook. Sci.*, **24**, 445-451 (2008).
36. Yeon, J.H., Lee, D.H., Ha, S.D., Bacteriocidal effect 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).