J. Fd Hyg. Safety 17(1), 36–44 (2002)

GC-100X의 주요 식품위해 미생물에 대한 항균효과와 토마토 표면에 부착된 *Escherichia coli* O157:H7에 대한 세척 효과

권남훈* · 김소현* · 김지연* · 임지연* · 김준만* · 정우경* · 박건택* · 배원기* · 노경민* · 최종우** · 허 진* · 박용호*†

*서울대학교 농생명공학 사업단 수의대 미생물학교실, ** 범우화학 기술연구소

Antimicrobial Activity of GC-100X against Major Food-Borne Pathogens and Detaching Effects of It against *Escherichia coli* O157:H7 on the surface of Tomatoes

Nam Hoon Kwon*, S. H. Kim*, J. Y. Kim*, J. Y. Lim*, J. M. Kim*, W. K. Jung*, K. T. Park*, W. K. Bae*, K. M. Noh*, J. W. Choi, J. Hur* and Y. H. Park*†**

Department of Microbiology, College of Veterinary Medicine and School of Agricultural Biotechnology, Seoul National University

**Buhmwoo Institute of Technology Research*

ABSTRACT – GC-100X is non-corrosive alkaline ionic water (pH 12). It is composed of hydroxyl radicals and supplemented with xylitol. Its antimicrobial activity was examined against 6 major food-borne pathogens; *Staphylococcus aureus* FRI 913, *Salmonella enterica* serova Enteritidis ATCC 13076, *S. enterica* serova Typhimurium Korean isolate, *Vibrio parahaemolyticus* ATCC 17803, *Escherichia coli* O157:H7 ATCC 43894 and *Pseudomonas aeruginosa* KCTC 1637 at three different temperatures (4°C, 25°C and 36°C) with or without an organic material (2% yeast extract), respectively. The antimicrobial activities showed over 4 log-reductions (1.0×10^4 CFU/ml reduction) against all pathogens reacted at 37°C for 3 hours in the absence of the organic material. The activities showed same results when GC-100X was diluted with same volume of distilled water or standard hard water ($CaCO_3$ 300 ppm). Its antimicrobial activity was more effective and quicker in Gram-negative bacteria than Gram-positive bacteria. Its washing efficacy against *E. coli* O157:H7 exposed to the surfaces of tomatoes (grapes) was compared with that of the other sanitizers such as other kitchen synthetic detergent and 100-ppm chlorine water. For the toxicological evaluation of the sanitizers, viable counts of *E. coli* O157:H7 penetrated into the core of tomatoes after washing products were also compared. The result revealed that GC-100X stock solution and its 5% diluted solution had similar washing effects to 100-ppm chlorine water and more effective than the other kitchen synthetic detergent. This result indicated that GC-100X had antimicrobial activity and no toxicological side effects, therefore, could be useful for a new sanitizer to use in food safety and kitchen hygiene.

Key words □ GC-100X, Food-borne pathogen, Produce wash, Tomatoes

식중독이란 오염된 식품을 섭취함으로써 일어나는 질병을 광범위하게 말하는 것으로 문화의 발달과 문명의 진보, 생활수준 향상과 과학기술의 발전에 따라 그 발병양상이 변한다. 식품소비에 있어 질적, 양적인 변화와 함께 외식과 국제교류가 증가함에 따라 식품의 오염과 변질의 기회가 급증하고 그에 따라 식품위해의 종류와 원인들이 점차 다양해지고 사건의 규모도 커지고 있는 실정이다. 이제 식중독은 인류의 건강을 위협하는 가장 큰 원인의 하나로 대두되고 있다[3].

†Author to whom correspondence should be addressed.

국내의 여러 연구자료 및 통계자료에 따르면 *Salmonlla, Staphylococcus aureus, Vibrio parahaemolyticus* 등이 국내의 주요 식중독 원인균들이며 이외에도 *Shigella, Escherichia coli* 등에 의한 감염이 보고되고 있다[3]. 한편, 원인식품별 식중독 사례를 보면 고기류와 생선이 가장 큰 비중을 차지하고 있는데 이외에도 과일과 야채 등에서 비롯된 식중독 사례가 증가 추세에 있다는 점은 주목할 만 하다[3]. 이는 다른 선진국들의 경우도 예외가 아니며 미국에서도 상추, cantaloupe, 토마토, parsley, alfalfa sprouts, scallions, radish

sprouts, 사과 주스, 오렌지 주스 등이 *Salmonlla, Escherichia coli* O157:H7 등에 오염된 것이 보고되거나 혹은 식중독을 유발한 사례가 있다[5,11,12,14]. 특히 2000년 7월 미국에서 1명의 사망자와 60여명의 환자를 발생시킨 시즐러 레스토랑의 식중독 사고는 과채류 안전관리의 중요성을 일깨워 주는 중요한 사건이었다[3].

야채류에서 일반적으로 발견되는 미생물의 수는 10^3-10^9 CFU/g에 이르며 그 오염 경로도 다양하다[11,26]. 수확 전에는 분변, 토양, 관계수, 살충제, 먼지, 동물 ,곤충, 관리자의 손 등이 오염원인이나 매개체로 작용하고 수확 후에는 수확장비, 운송수단, 얼음, 물, 포장과정, 저장단계에서의 교차 오염이 가능하며 이외에도 취급자의 손, 곤충, 동물 등에 의한 오염이 있을 수 있다[6,15,30].

우리나라도 최근 국민들의 식생활이 서구화 되면서 대규모 레스토랑과 샐러드 바가 수적으로 증가하는 추세에 있으므로 미국에서와 같은 교차오염에 의한 식중독 발생 증가 가능성을 무시할 수 없으며, 따라서 과채류 등의 안전성에 대한 주의가 더욱 필요하다고 할 수 있다.

현재 많은 가정에서는 과채류 세척에 수돗물이나 주방용 세제를 이용하고 있다. 그러나 수돗물은 흙 등의 불순물을 제거하는 역할은 할 수 있지만 식중독 원인균 등의 미생물 위해 요소를 제거하는 효능은 기대하기 어렵다[6,11]. 주방용 세제는 어느 정도 그 효능이 있는 것으로 보여지나 완전히 제거되지 않을 경우 잔류하여 안전성 문제를 야기할 수 있고 또 과채류의 질적 손상을 초래할 수 있으므로 5분 이상 적용하지 말 것을 제조업체에서 권장하고 있다. 현재 미국 Centers for Disease Control and Prevention(CDC)나 Environmental Protection Agency(EPA)의 경우는 과채류의 세척에 있어서 50 ppm~200 ppm 염소 용액을 사용할 것을 권장하고 있다[13]. 염소 용액의 항균 작용은 그 광범위성이나 속효성에서 널리 인정 받고 있다[6]. 그러나 염소 역시 독성 때문에 너무 높은 농도나 장시간 사용 시 사용자의 안전성 문제와 과채류의 손상을 초래할 수 있다. 따라서 독성이 없고 안전하면서도 과채류의 식품위해 요소를 제거할 수 있는 세척제의 필요성이 대두되고 있다고 하겠다. 이에 본 연구에서는 살균, 세척기능을 가지는 GC-100X의 식중독 예방을 위한 사용가능성에 대해 조사하고자 하였다. GC-100X는 OH^- radical을 다량 함유한 강 알칼리 수로 0.5% 자일리톨(xylitol)을 함유하고 있다. pH 12의 강 알카리성을 나타내지만 한국화학시험연구원의 급성 독성 시험 결과 그 무독성이 입증된 바 있는 안전한 물질로 보고되고 있다[10]. 본 연구에서는 GC-100X의 항균 효과를 여러 가지 주요 식품위해 미생물들에 대해 검증해 보고 세균 세척 효과를 인위적으로 균을 부착시킨 과일에 적용해 봄으로써 그 효능을 확인해 보고자 하였다. 또한 시판 주방용 합성세제, 염소 용액 등과 세균박리 작용을 비교해보아 GC-100X의 식품분야 적용 가능성을 높이고자 하였다.

재료 및 방법

시험 제재

OH^- radical을 비롯한 음이온을 다량 함유한 알칼리 이온수인 GC-100에 0.5% xylitol이 첨가된 GC-100X를 항균력 시험과 세척효과 시험에 사용하였다. 세척효과 비교대상으로는 시판 염소 용액(차아염소산나트륨액: 한국), 시판 주방용 합성세제(한국)를 선정하였으며 멸균 증류수와 멸균 수돗물의 세척력과도 비교하였다.

항균 효과 시험에는 GC-100X 원액과 함께 멸균 증류수, $CaCO_3$ 300 ppm 표준 경수로 각각 2배 희석한 액을 사용하였으며 세척효과 시험에는 GC-100X 원액과 멸균 증류수를 이용한 5% 및 3% 희석액을 사용하였다. 염소용액은 멸균 증류수를 이용하여 제조업체의 권장희석배수(500배)로 희석하였다. 희석 염소 용액의 유효 염소 농도는 chlorine test paper(Toyo Roshi Kaisha, Japan)로 측정한 결과 100 ppm 이었다.

시험에 사용한 방울토마토는 L 마그넷(서울, 한국)에서 구입하였다.

시험 대상 유해균

GC-100X의 항균력 시험에 사용한 균주는 Table 1과 같다.

Table 1. Major food-borne bacterial pathogens used in this study

Food-borne pathogens	Characteristics
Staphylococcus aureus FRI 913	Produces toxins (SEA+, SEC+, SEE+ and TSST-1+)
Salmonella enterica serova Enteritidis ATCC 13076	
Salmonella enteritica serova Typhimurium DT104	Resistant to 5 antibiotics
(bovine fecal isolate)	(ampicillin, chloramphenicol, streptomycin, sulfonamides and tetracycline)
Vibrio parahaemolyticus ATCC 17803	
Escherichia coli O157:H7 ATCC 43894	Produces toxins (SLT I+ and SLT II+)
Pseudomonas aeruginosa KCTC 1637	

이 중 *E. coli* O157:H7 ATCC 43894는 방울토마토에 부착시켜 각 세척액의 세척효과 비교에 사용하였다. 각 유해균들은 Tryptic Soy Broth(TSB: Difco, USA)에서 24시간 배양한 뒤 실험에 이용하였다.

항균력 시험방법

항균력 시험방법은 영국 Department for Environment, Food & Rural Affairs(DEFRA)에서 권장하는 방법을 채택하되[2] 유기물의 농도는 2%, 반응시간은 3시간으로 변형하여 시행하였다.

유기물이 첨가되지 않은 조건: GC-100X 원액, 2배 희석액을 튜브에 9.0 ml 씩 분주하였다. 시험대상 유해균들을 TSB에서 24시간 동안 배양한 후 배지 성분 제거를 위해 2,500 rpm에서 30분간 원심 분리한 다음 0.85% 멸균 생리식염수로 재 부유 및 희석(1.0×10^8 CFU/ml) 하였다. 농도 조정된 각 유해균들을 GC-100X 원액, 2배 희석액이 담긴 튜브에 각각 1 ml씩 분주하여 최종 농도 1.0×10^7 CFU/ml가 되도록 하였다. 각 반응액을 서로 다른 온도(4°C, 25°C 및 36°C)에서 3시간 동안 반응시켰다. 반응 후 멸균 생리식염수로 10진 희석하고 1 ml를 Plate Count Agar(PCA: Difco)와 균등 혼합하여 petri dish에 굳히고 36°C에서 24시간 배양, 생존 균수를 측정하였다. *V. parahaemolyticus* 생존 균수 측정에는 TCBS agar(Difco)를 이용하였다. 특히 25°C에서 반응시킨 GC-100X 원액은 30초, 1분, 5분, 15분, 30분 간격으로 생존 균수를 확인하여 시간에 따른 사멸효과를 알아보았다.

항균 효능은 균수 측정 결과를 바탕으로 1.0×10^4 CFU/ml 감소를 기준으로 하였다.

유기물이 첨가된 조건: DEFRA 권장 유기물인 yeast extract를 본 실험에 사용하였다. 40% yeast extract(Difco) 용액을 만들고 이 용액과 각 유해균 배양액을 혼합하여 20% yeast extract, 균 농도 1.0×10^8 CFU/ml가 되게 조정하였다. 이 유기물-균 배양 혼합액 1 ml를 GC-100X 원액, 2배 희석액이 담긴 튜브에 각각 접종, 최종 유기물 농도는 2 %, 균 농도는 1.0×10^7 CFU/ml가 되도록 하였다.

그 외의 방법은 유기물이 첨가되지 않은 조건과 동일한 방법에 의하여 실시하였다.

방울토마토에 부착된 *E. coli* O157:H7에 대한 세척효과 시험

균 배양액과 방울토마토 준비: *E. coli* O157:H7 ATCC 43894를 TSB에서 24시간 배양한 뒤 Phosphate buffered saline으로 희석하여 1.0×10^8/ml의 농도가 되도록 2 L를 준비하였다. 방울토마토는 한 군에 20개씩 9군으로 나누었다. 음성 대조군을 제외한 8군 모두를 준비한 *E. coli* O157:H7 배양액에 2분간 침지하였다. 침지하면서 고르게 저어주어 균이 토마토의 표면에 균등분포 하도록 하였다. 침지한 토마토는 15°C Laminar-flow hood(Dwyer, USA)에서 8시간 건조시켰다.

세척액 준비와 처리군: 각 세척액과 처리군은 Table 2와 같으며 모든 세척제는 멸균 증류수로 희석하였고 25°C로 조정하였다. 주방용 합성세제는 제조자의 권장희석배수를 따랐다.

Tryptic soy agar와 chromocult coliforms agar 비교: 토마토 표면 부착 후 세척과정을 거쳐 손상받은 균수 측정에 Chromocult Coliforms Agar(CCA: Merck, Germany)가 적절한가를 판단하기 위해 양성 대조군과 염소 용액 처리군(D군)에서 각각 5개씩 표본을 추출하여 각각 Tryptic Soy Agar(TSA: Difco)와 CCA를 이용, 균수 측정을 하고 그 결과를 비교하였다.

세척액 처리와 토마토 표면에 잔존하는 *E. coli* O157:H7 균수 측정: 건조된 토마토는 25°C로 준비된 각 세척액에 침지, 2분간 세게 저어주면서 세척하였다. 세척된 토마토 중 10개는 세척 후 토마토 표면에 잔존하는 균수 측정에 이용하였고 다른 10개는 토마토 내부로 침투한 균수 측정에 이용하였다. 토마토 표면에 잔존하는 균수 측정용 토마토들

Table 2. Groups of tomatoes

Groups	Dipping in *E. coli* O157:H7 solution	Treatment with	No. of tomatoes
A	Yes	GC-100X stock solution	20
B	Yes	GC-100X 5%	20
C	Yes	GC-100X 3%	20
D	Yes	100-ppm chlorine water	20
E	Yes	Kitchen synthetic detergent	20
F	Yes	Distilled water	20
G	Yes	Sterile tap water	20
Positive control	Yes	No	20
Negative control	No	No	20

은 각각 20 ml의 Buffered Peptone Water(BPW)가 담긴 whirl-pack(휴코양행, 한국)에 하나씩 담았다. 손으로 50회씩 문질러 표면에 묻어있는 균을 떨어뜨린 후 BPW로 10진 희석하면서 CCA plate를 이용, 생존 균수를 측정하였다. 측정 후에는 각 plate별로 2 colony씩 *E. coli* O157:H7에 대한 O와 H anti serum(Difco) test를 실시하여 *E. coli* O157:H7임을 확인하였다.

토마토 내부에 잔존하는 *E. coli* O157:H7 균수 측정: 세척액 처리한 토마토(각 군별 10개)를 각각 하나씩 whirl-pack에 담아 밀봉한 뒤 15°C에서 20시간 방치하였다. 토마토의 표면을 알코올솜으로 닦아 건조 시킨 뒤 멸균된 매스를 이용, 표면으로부터 깊이 0.5 cm의 내부조직을 도려내었다. 도려낸 토마토 내부조직을 10 ml의 BPW가 담긴 whirl-pack에 담고 BPW로 10진 희석하면서 CCA Plate를 이용, 방울토마토 내부에 침투한 균수를 측정하였다. 측정 후에는 각 plate별로 2 colony씩 *E. coli* O157:H7에 대한 O와 H anti serum test를 실시하여 *E. coli* O157:H7임을 확인하였다.

통계처리

시험한 결과는 SAS 통계 프로그램을 이용하여 paired t-test와 one-way ANOVA로 처리하였고 유의수준 0.05에서 판단하였다. 각 군 별 개별비교는 turkey 및 duncan 방법을 사용하였다.

결 과

항균력 시험

서로 다른 온도에서의 항균력 시험 (유기물첨가/유기물 무첨가): 4°C, 25°C 및 36°C에서 각각 3시간 반응시킨 GC-100X 원액과 희석액의 항균효능 결과는 Table 3과 같다.

Table 3이 제시하는 바와 같이 GC-100X의 항균력은 유기물이 첨가되면 약화되었으나 유기물이 첨가 되지 않은 조건에서는 효과적이었다. 각 온도별 항균 효능을 살펴보면 특히 36°C에서 효능이 높게 나타났다. 이 온도 조건에서는 경수로 희석한 경우에도 모든 균에 대해 항균력이 유효하였다. *V. parahaemolyticus*에 대한 항균력이 특히 탁월하였는데, GC-100X 원액, 증류수로 희석한 용액 모두에서 유기물 첨가 시에도 1.0×10^4 CFU/ml 감소 효능을 나타내었다. 25 °C 반응조건에서는 GC-100X 원액 및 증류수 희석액의 모든 균에 대한 항균 효과를 확인할 수 있었고 4°C에서는 GC-100X 원액이 모든 균에 대해 항균력를 나타내었다. 종합하여 볼 때, GC-100X의 항균 효능은 온도가 높아질수록 상승하였으며 *V. parahaemolyticus*에 대한 효능이 가장 월등하였고 *S. enterica serovar* Enteritidis, 그 다음이 *E. coli* O157:

Table 3. Antimicrobial activity of GC-100X against major food-borne bacterial pathogens in the presence or absence of an organic material (2% yeast extract) at 4°C, 25°C and 36°C for 3 h

Temperature	Condition	*Staphylococcus aureus*	*Vibrio parahaemolyticus*	*Salmonella enteritidis*	*Salmonella typhimurium*	*E. coli* O157:H7	*Pseudomonas aeruginosa*
4°C	A	○	○	○	○	○	○
	B	×	○	○	○	○	○
	C	×	○	○	×	×	×
	D	×	×	×	×	×	×
25°C	A	○	○	○	○	○	○
	B	○	○	○	○	○	○
	C	×	○	○	×	○	×
	D	×	○[1]	×	×	×	×
36°C	A	○	○	○	○	○	○
	B	○	○	○	○	○	○
	C	○	○	○	○	○	○
	D	×	○[2]	×	×	×	×

○: Effective (over 1.0×10^4 CFU/ml reduction)
×: Non-effective (below 1.0×10^4 CFU/ml reduction)
A: GC-100X stock solution
B: Two fold diluted solution of GC-100X with distilled water (DW)
C: Two fold diluted solution of GC-100X with $CaCO_3$ 300 ppm standard hard water
D: 2% yeast extract was added to GC-100X stock solution and two fold diluted solutions of GC-100X with DW or $CaCO_3$ 300 ppm standard hard water
1: GC-100X stock solution, to which 2% yeast extract was added, was only effective
2: GC-100X stock solution and two fold diluted solution with DW, to which the organic material was added, were effective

H7순으로 관찰되었다. 반면에 *S. aureus*에 대한 효능은 가장 낮은 것으로 나타났다.

25°C에서 GC-100X 원액의 항균력를 30초, 1분, 5분, 15분, 30분 간격으로 확인한 결과, 시험한 모든 그람 음성균들은 30초 내에 사멸됨을 관찰할 수 있었다. 반면, *S. aureus*는 완전히 사멸되지 않았으며 1.0×10^4 CFU/ml 감소 효과를 나타내는데 30분 이상의 시간이 요구되었다.

GC-100X의 토마토 부착 *E. coli* O157:H7에 대한 세척 효과

TSA와 CCA 비교: 손상받은 *E. coli* O157:H7의 균수 측정에 CCA 배지가 적절한가를 판단하기 위해 TSA와 비교하고 paired t-test로 분석한 결과, Table 4의 결과에서 보는 바와 같이 두 배지 사이의 유의적 차이가 없었다 ($p< 0.05$).

토마토 표면에 잔존하는 *E. coli* O157:H7 균수 측정: 각 세척액 처리 후 토마토 표면에 잔존하는 *E. coli* O157:H7 균수 측정 결과는 Table 5와 같다. Fig. 1이 제시하는 바와 같이, 염소용액(D군), GC-100X(A군), GC-100X 5%(B군), GC-100X 3%(C군) 및 시판 주방용 합성세제(E군) 간에 유의적인 차이가 없는 것으로 나타났다($p<0.05$). 그러나 이들 A~E군과 멸균 증류수(F군) 및 멸균 수돗물(G군) 사이엔 유의적인 차이가 존재하였다($p<0.05$). 즉 멸균 증류수와 수돗물의 세척효과는 A~E군에 미치지 못하였으며 멸균 수돗물은 증류수보다 토마토 표면의 균 제거 효능이 낮게 나타났다 ($p<0.05$).

토마토 내부에 잔존하는 *E. coli* O157:H7 균수 측정: 각 세척액 처리 후 15°C에서 20시간 방치한 토마토의 내부 잔존 *E. coli* O157:H7 균수 측정 결과는 Table 5와 같다. Fig. 2가 제시하는 바와 같이, GC-100X 원액(A군) 및 5%(B군), 그리고 100 ppm 염소 용액(D군) 사이엔 유의적 차이가 존재하지 않는 것으로 나타났다($p<0.05$). GC-100X 3%(C군)의 효능은 이들 3 조건에는 미치지 못하나 시판 주방용 합성세제(E군)보다 우수하게 나타났으며 합성세제는 멸균 수돗물(G군) 보다는 효과가 우수하지만 멸균 증류수(F군)와 비교시엔 유의적 차이가 없는 것으로 나타났다 ($p<0.05$).

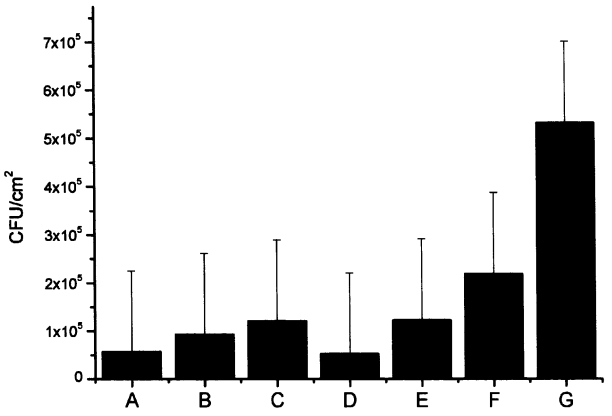

Fig. 1. Viable counts of *E. coli* O157:H7 on the surface of tomatoes after washing with different solutions
A: Group treated with GC-100X stock solution; B: Group treated with GC-100X 5% solution; C: Group treated with GC-100X 3% solution; D: Group treated with chlorine solution (100 ppm); E: Group treated with kitchen synthetic detergent; F: Group treated with DW; G: Group treated with sterilized tap water

고 찰

GC-100X의 각 온도별, 그리고 유기물 첨가 여부에 따른

Table 4. Viable cell counts of *E. coli* O157:H7 cultured at Tryptic Soy Agar (TSA) or Chromocult Coliforms Agar (CCA)

Groups	Non-treated groups		100 ppm chlorine treated groups	
Plate agar	TSA	CCA	TSA	CCA
Mean ± S.D.	6.27 ± 6.30	6.26 ± 6.34	4.81 ± 4.34	4.84 ± 4.41

Table 5. Mean values of viable counts of *E. coli* O157:H7 on the surface or inside of tomatoes after washing with different solutions (log_{10} CFU/cm^2 and log_{10} CFU/g, respectively)

Groups	A	B	C	D	E	F	G	P
Surface (Mean ± S.D.)	4.76 ± 4.83	4.97 ± 4.83	5.08 ± 4.80	4.72 ± 4.47	5.09 ± 4.94	5.34 ± 5.42	5.72 ± 5.88	6.25 ± 0.46
Core (Mean ± S.D.)	3.47 ± 3.78	3.70 ± 3.61	4.16 ± 4.17	3.71 ± 3.60	4.69 ± 4.74	4.70 ± 4.16	4.81 ± 4.19	5.50 ± 5.30

A: Group treated with GC-100X stock solution; B: Group treated with GC-100X 5% solution; C: Group treated with GC-100X 3% solution; D: Group treated with chlorine solution (100 ppm); E: Group treated with kitchen synthetic detergent; F: Group treated with DW; G: Group treated with sterilized tap water; P: Positive control

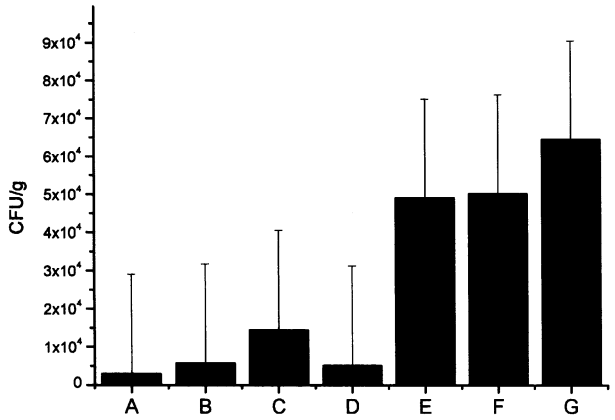

Fig. 2. Viable counts of *E. coli* O157:H7 inside of tomatoes after washing with different solutions.
A: Group treated with GC-100X stock solution; B: Group treated with GC-100X 5% solution; C: Group treated with GC-100X 3% solution; D: Group treated with chlorine solution (100 ppm); E: Group treated with kitchen synthetic detergent; F: Group treated with DW; G: Group treated with sterilized tap water.

항균력 시험 결과 주요 식품위해 미생물에 대한 항균 효능을 관찰할 수 있었다. GC-100X 원액은 4°C, 25°C 및 36 °C 모든 온도 조건에서 완전한 항균 효능을 나타내었다. 온도가 증가할수록 항균 효능은 상승되었으며 그람 음성 세균들에 대해 강력하고 빠른 효능을 보였다. 이는 그람 양성균은 그람 음성균보다 세포벽의 peptidoglycan층이 두터우므로 GC-100X 성분의 세포 내부 침투가 어렵기 때문으로 생각된다. 유기물 존재하에서는 *V. parahaemolyticus*를 제외한 다른 균에 대해서는 항균 효능을 입증할 수 없었다. 따라서 유해균 사멸을 목적으로 GC-100X를 적용한다면 먼저 적용부위를 깨끗이 세척하여 유기물을 제거한 뒤 GC-100X를 도포하는 것이 바람직하다고 사료된다.

GC-100X의 항균력은 그람 음성균 중에서도 *V. parahaemolyticus*에 대해 가장 우수하게 나타났다. *V. parahaemolyticus*는 다른 균들에 비해 건조나 햇빛 등에 약한 성질을 가지므로[16] sanitizer같은 스트레스에도 민감할 것으로 생각되며 또한 알칼리성에는 비교적 강한 균이나 GC-100X와 같은 강알칼리성 이온수에는 오히려 약한 성질이 있는 것으로도 생각해 볼 수 있다. 다른 균들의 생존 균수 측정에는 PCA를 이용한 반면 *V. parahaemolyticus* 균수 측정에는 TCBS 같은 선택 배지를 사용한 것도 고려할 필요가 있다. 선택 배지는 비 선택 배지에 비해 손상된 균의 재생율이 낮다고 알려져 있으므로[7,18,23] 이 조건을 고려하여 판단하는 것이 바람직할 것이다.

방울토마토를 이용한 세척효과 연구에 따르면, 음성 대조군의 표면 균수와 내부 균수 측정에서는 *E. coli* O157:H7이 전혀 검출되지 않았다. 토마토 표면 잔존 균수 측정에서는 GC-100X, GC-100X 5% 및 3%, 그리고 시판 주방용 합성세제의 세척효과가 100 ppm 염소 용액과 유사하게 나타났다. 따라서 이들 세척제를 이용한 과채류 세척이 소비자의 안전한 식생활에 기여할 것으로 기대된다. 그런데 토마토 표면에 부착한 유해균들은 시간이 경과함에 따라 내부로 침투하므로[32], 단순히 표면 부착균에 대한 박리 효과만으론 세척제의 효과를 검증하기엔 충분하지 못하다. 이에 본 실험에서는 세척 후 토마토 내부 침투균도 측정해 봄으로써 각 세척액 별로 어떠한 차이가 존재하는지를 살펴보고자 하였다. 그 결과 GC-100X 원액, GC-100X 5% 및 3% 희석액과 100 ppm 염소 용액은 다른 세척액들에 비해 균의 내부 침투를 막는 효능이 있음을 알 수 있었다. 그러나 본 연구에서 사용한 주방용 합성세제는 균의 내부침투를 막는 효능이 없었다. 그 이유는 GC-100X, 100 ppm 염소 용액 등은 주방용 합성세제와 달리 항균 효과를 지니고 있기 때문인 것으로 판단된다(실험을 통해, 본 연구에 사용한 주방용 합성세제의 항균 효능이 없음을 확인하였으나 자료는 제시하지는 않았다). 즉, 세척 후 토마토 표면에 미세하게 남아있는 GC-100X, 100 ppm 염소 용액 등은 떨어져 나오지 못한 소수 균들을 사멸시킨 반면, 시판 주방용 합성세제는 그렇지 못하여 소수의 균들이 내부로 침투, 증식을 한 것으로 보여진다. 토마토의 경우 토마토 표면의 온도보다 세척액의 온도가 낮을 경우 토마토 내부로의 균 침투율이 증가하므로[9,32] 본 실험에서는 토마토의 건조와 보관 등은 15°C에서 수행하였고 세척액의 온도는 모두 25°C로 조정하였다. 그럼에도 시판 주방용 세척제나 멸균 증류수, 멸균 수돗물은 토마토 내부로의 균 침투가 높게 측정되었으므로 이들의 균 침투 방지 효과는 거의 전무하다고 할 수 있을 것이다.

이상의 결과를 종합해 볼 때 GC-100X와 GC-100X 5% 및 3% 희석액은 과일 표면에 부착한 유해균 세척, 박리 효과에 있어 이미 그 효능이 입증된 100 ppm 염소 용액과 동일한 수준이며 균의 과일 내부 침투를 방지하는 측면에 있어 시판 주방용 합성세제보다 그 효능이 우수함을 알 수 있었다.

현재 과채류의 세척에 사용되는 제재들의 성능 비교, 확인을 위한 표준화된 방법은 없는 상황이며[11] 이와 관련, 다양한 방법들이 제시되고 있다[4,5,11,13]. 과일에 균을 부착시키는 방법도 침지법(dipping)과 점 접종법(spot inoculation) 등이 제시되고 있고 미국 EPA는 두 가지 방법을 다 인정하고 있다[5]. 본 연구에서 사용한 침지법은 점 접종법에 비해 접종균수의 정확한 추정이 어렵고 표준편차가 크며 재현이 쉽지 않은 단점이 있지만 적용이 쉽고 인위적으로 균의 부착 부

위를 선정하지 않는 장점이 있다. 부착 부위는 균의 부착과 침투에 영향을 미칠 수 있으며[32], 과일 내부로 침투한 균수 확인에도 침지법이 보다 바람직하다고 판단되었으므로 본 실험에서는 이 방법을 채택하였다. 한편 Beuchat 등은 토마토의 표면에 균을 접종한 뒤 2시간 이상 경과되면 부착된 *E. coli* O157:H7이 상당 수 감소하므로 적절하지 않다고 제시한 바 있으나[5] 본 실험에서는 접종 후 8시간 경과 시키는 방법을 채택하였어도 균 세척 효과를 판단하기에 충분한 균수가 존재함을 확인하였다. Beuchat 등의 방법이 점 접종법과 건조 온도 22°C를 채택하였음에 비해 본 실험에서는 침지법과 건조 온도 15°C를 택하였으므로 이 같은 차이가 나타난 것으로 생각된다. 또한 사용한 토마토의 품질차도 존재할 것으로 생각된다.

균수 측정에 적절한 배지선택에 대한 연구에 따르면, 스트레스에 노출된 균들은 세포벽 성분 등이 손상된 상태이므로 선택 배지를 사용하는 경우 비 선택 배지에 비해 정확도가 떨어져 세척액의 효능을 과대 해석할 우려가 존재한다[7,18,23]. Violet Red Bile Agar(VRBA)나 nalidixic acid가 첨가된 TSA는 손상된 *E. coli* O157:H7의 회복에 있어서 비 선택 배지인 TSA에 미치지 못한다는 보고가 있으며[7], Thin Layer Method(TLM)는 선택 배지보다 우수하며 TSA와 통계적으로 유의한 차이가 존재하지 않는다는 연구결과도 있다[28]. 그러나 이 같은 선택 배지, 비 선택 배지, 그리고 TLM 등의 비교는 스트레스 요인과 연구자에 따라 그 결과가 다양하다[1,5,18~23,25,26,28]. 따라서 실험에 이용할 배지의 유효성 여부를 사전에 확인할 필요성이 있다 하겠다[7]. 지금까지 *E. coli* O157:H7 배지로서의 CCA에 대한 연구는 적은 편이나[8], CCA는 다른 선택 배지들과 달리 peptone, pyruvate, sorbit, phosphate buffer 등이 첨가되어 있어서 치명적 손상을 입은 세균들까지도 검출할 수 있다는 장점이 있고[18] 이는 본 연구에서도 확인할 수 있었다. CCA의 단점은 *E. coli* O157:H7이 주된 대상이 아니므로 이와 동일한 발색을 보이는 균들인 *Krebsiella, Enterobacter, Citrobacter* 등이 존재하는 경우엔 *E. coli* O157:H7의 검출에 혼동이 있을 수 있다는 점이다. 그러나 이들 균들은 과채류에 흔히 존재하는 균들이 아니고 본 실험에서도 음성 대조군에서 이런 균들이 전혀 검출되지 않았으므로 과채류 실험 적용에는 무리가 없다고 판단된다. 또한 널리 이용되는 SMAC의 *E. coli* O157:H7 무색 집락은 시간이 경과함에 따라 성상이 변하는 등 혼동 우려가 존재하는 반면 CCA는 집락의 확인이 수월한 편이므로 또 하나의 장점을 갖는다고 생각된다.

GC-100X의 세척력은 항균력과는 무관한 것으로 보이며 이는 항균력이 거의 관찰되지 않는 5%와 3% 같은 저 농도에서 높은 세척효과가 나타나는 것에서 미루어 짐작할 수 있다. 따라서 항균력이 낮게 관찰되었던 *S. aureus* 등에 대한 세척효과를 확인해 볼 필요가 있다고 생각되며 *E. coli* O157:H7에 대해서도 한가지 strain이 아닌 5종 이상의 혼합 배양액으로 그 효력을 확인해 보는 것도 바람직할 것이다. Horse serum albumin 등을 접종 매개체로서 이용, 유기물과 함께 접종된 유해균에 대해서도 세척효과를 나타낼 수 있는지 여부도 앞으로 연구해 볼 필요가 있을 것이다.

감사의 말씀

본 연구는 두뇌한국 21 (BK 21)의 지원으로 수행되었으며 이에 감사드립니다.

국문요약

강 알칼리 이온수인 GC-100X의 항균력을 6 가지 주요 식품위해 미생물들에 대해 시험하되 4°C, 25°C 및 36°C의 서로 다른 온도조건과 유기물 조건 하에서 실험을 수행하였다. 그 결과 GC-100X는 37°C, 3시간 반응 조건 하에서 모든 유해균에 대해 1.0×10^4 CFU/ml 감소 이상의 효과를 나타내었으며 멸균 증류수나 표준 경수로 2배 희석한 경우에도 동일한 결과를 나타내었다. 유기물이 존재할 경우는 항균력의 약화가 관찰되었고, 그람 양성균에 대한 항균력은 높지 않았으나 그람 음성균에 대해서는 강력하고 빠른 사멸능력을 나타내었다. 방울 토마토에 인위적으로 *E. coli* O157:H7을 부착시키고 그에 대한 GC-100X의 세척효과를 기타의 세척제들과 비교해 본 결과, GC-100X 원액, GC-100X 5% 용액은 100 ppm 염소용액과 유사한 세척효과를 나타내었으며 시판 주방용 합성세제에 비해 그 성능이 우수하였다. 또한 시판 주방용 합성세제와는 달리 GC-100X, GC-100X 5% 및 3%, 100 ppm 염소용액은 세척 후 토마토 내부로의 균 침투를 억제하는 기능이 있음을 확인하였다. 이 결과는 식품 위생과 주방 청결에 일조할 하나의 방안으로서 안전성, 항균력, 세척력을 갖춘 GC-100X의 식품분야 적용 가능성을 시사하고 있다.

참고문헌

1. Ahmed, N. M. and Conner, D. E.: Evaluation of Various Media for Recovery of Thermally-injured *Escherichia coli* O157:H7, *J. Food Prot*., **58**, 357-360 (1995).
2. Antec International Ltd. Indipendent Efficacy Testing Criteria, http://www.antecint.co.uk/main/prodtest.htm
3. 박희옥, 김창민, 우건조, 박선희, 이동하, 장은정, 박기환: 최근 한국에서 발생한 식중독 모니터링 및 추이 분석, 한국식품위생안전성학회지, 16, 280-294 (2001).
4. Beuchat, L. R., Farber, J. M., Garrett, E. H., Harris, L. J., Parish, M. E., Suslow, T. V. and 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 Microbiol*., **64**, 1079-1084 (2001).
5. Beuchat, L. R., Harris, L. R., Linda, J., Ward, T. E. and Kajs, T. M.: Development of a Proposed Standard Method for Assessing the Efficacy of Fresh Produce Sanitizers, *J. Food Prot*., **64**, 1103-1109 (2001).
6. Beuchat, L. R. and Ryu, J. H.: Produce Handling and Processing Practices, *Emerg. Infect. Dis*., **3,** 459-465 (1997).
7. Brashears, M. M., Amezquita, A. and Stratton, J.: Validation of Methods Used to Recover *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella spp*. Subjected to Stress Conditions, *J. Food Prot.*, **64**, 1466-1471 (2001).
8. Byamukama, D. K. F., Mach R. L. and Farnleitner A. H.: Determination of *Escherichia coli* Contamination with Chromocult Coliform Agar Showed a High Level of Discrimination Efficiency for Differing Fecal Pollution Level in Tropical Waters of Kampala, Uganda, *Appl. Environ. Microbiol*., **66**, 864-868 (2000).
9. Guidance for Inderstry: Guide to Minimize Microbial Food Safety Hazards for Fresh Fruits and Vegetables, http://www.fda.gov.
10. 한국화학시험연구원: 독성시험성적서 (2001.02)
11. Harris, L. J., Beuchat, L. R., Kajs, T. M., Ward, T. E. and Taylor C. H.: Efficacy and Reproducibility of a Produce Wash in Killing *Salmonella* on the Surface of Tomatoes Assessed with a Proposed Standard Method for Produce Sanitizers, *J. Food Prot*. **64**, 1477-1482 (2001).
12. Hedberg, C. W., Angulo, F. G., White, K. E., Langkop, C. W., Schell, W. L., Stobierski, M. G., Schuchat, A., Besser, J. M., Dietrich, S., Helsel, L., Griffin, P. M., McFarland, J. W., Osterhorm, M. T. and The Investigation Team: Outbreaks of Salmonellosis Associated with Eating Uncooked Tomatoes: Implications for Public Health, *Epidemiol. Infect*., **122**, 385-393 (1999).
13. Holliday, S. L., Scouten. A. J. and Beychat, L. R.: Efficacy of Chemical Treatments in Eliminating *Salmonella* and *Escherichia coli* O157:H7 on Scarified and Polished Alfalfa Seeds, *J. Food Prot.,* **64**, 1489-95 (2001).
14. Itoh, Y., Sugita-Konishi, Y., Kasuga, F., Iwaki, M., Hara-Kudo, Y., Saito, N., Noguchi, Y., Konuma, H. and Kumagai, S.: Enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 Present in Radish Sprouts, *Appl. Environ. Microbiol*., **64**, 1352-1535 (1998).
15. Janisiewicz, W. J., Conway, W. S., Brown, M. W., Sapers, G. M., Fratamico, P. and Buchanan, R. L.: Fate of *Escherichia coli* O157:H7 on Fresh-Cut Apple Tissue and Its Potential for Transmission by Fruit Flies, *Appl. Environ. Microbiol*., **65**, 1-5 (1999).
16. Knudsen, D. M., Yamamoto, S. A. and Harris L. J.: Survival of *Salmonella* spp. And *Escherichia coli* O157:H7 on Fresh and Frozen Strawberries, *J. Food Prot*., **64**, 1483-1488 (2001).
17. Koneman, E. W., Allen, S. D., Janda, W, M., Schreckenberger, P. C. and Washongton, C.W. Jr.: Diagnostic Microbiology, Linpincott, New York, Philadelphia, pp. 339-348 (1997).
18. Manafi, M.: New Developments in Chromogenic and Fluorogenic Culture Media, *Int. J. Food Microbiol.*, **60**, 205-218 (2000).
19. Manafi, M. and Kremsmaier, B.: Comparative Evaluation of Different Chromogenic/Fluorogenic Media for Detection *Escherichia coli* O157:H7 in Food, *Int. J. Food Microbiol*., **71**, 257-262 (2001).
20. McCleery, D. R. and Rowe, M. T.: Development of a Selective Plating Technique for the Recovery of *Escherichia coli* O157:H7 after Heat Stress, *Lett. Appl. Microbiol*., **21**, 252-256 (1995).
21. Ray, B.: Methods to Detect Stressed Microorganisms, *J. Food Prot*., **42**, 346-355 (1979).
22. Restaino, E. W., Tuner, F. K. M. and Allison, D. R. K.: A Chromogenic Plating Medium for Isolating *Escherichia coli* O157:H7 from Beef, *Lett. Appl. Microbiol*., **29**, 26-30 (1999).
23. Rocelle, M., Clavero, S. and Beuchat, L. R.: Suitability of Selective Plating Media for Recovering Heat- or Freeze-Stressed *Escherichia coli* O157:H7 from Tryptic Soy Broth and Ground Beef, *Appl. Environ. Microbiol*., **61**, 3268-3273 (1995).
24. Samelis, J., Sofos, J. N., Kain, M. N., Scanga, J. A., Belk, K. E. and Smith, G. C.: Organic Acids and Their Salts as Dipping Solutions To Control *Listeria monocytogenes* inoculated following Processing of Sliced Pork Bologna Stored at 4 in Vacuum Packages, *J. Food Prot*., **64**, 1722-1729 (2001).
25. Silk, T. M. and Donnelly, C. W.: Increased Detection of Acid-injured *Escherichia coli* O157:H7 in Autoclaved Apple Cider by Using Non selective Repair on Trypticase Soy Agar. *J. Food Prot*., **60**, 1483-1486 (1997).
26. Taormina, P. J., Rocelle, M., Clavero, S. and Beuchat, L. R.: Comparison of Selective Agar Media and Enrichment Broths for Recovering Heat-stressed *Escherichia coli* O157:H7 from ground beef, *Food Microbiol*., **15**, 631-638 (1998).
27. Ukuku, D. O. and Sapers, G. M.: Effect of Sanitizer Treatments on *Salmonella* Stanley Attached to the Surface of

Cantaloupe and Cell Transfer to Fresh-Cut Tissues during Cutting Practices., *J. Food Prot*., **64**, 1286-1291 (2001).
28. Wu, V. C. H., Fung, D. Y. C., Kang, D. H. and Thompson, L. K.: Evaluation of Thin Agar Layer Method for Recovery of Acid-Injured Foodborne Pathogens, *J. Food Prot*., **64**, 1067-1071 (2001).
29. Uyttendaele, M., Jozwi, E., Tutenel, k, A., Zutter, L. D., Uradzinski, J., Pierard, D. and Debevere, J.: Effect of Acid Resistance of *Escherichia coli* O157:H7 on Efficacy of Buffered Lactic Acid To Decontaminate Chilled Beef Tissue and Effect of Modified Atmosphere Packaging on Survival of *Escherichia coli* O157:H7 on Red Meat, *J. Food Prot*., **64**, 1661-1666 (2001).
30. Yu, K., Newman, M. C., Archbold, D. D. and Hamilton-Kemp, T. R.: Survival of *Escherichia coli* O157:H7 on Strawberry Fruit and Reduction of the Pathogen Population by Chemical Agents, *J. Food Prot*., **64**, 1334-1340 (2001).
31. Zhao, T., Doyle, M. P., Zhao, P., Blake, P. and Wu, F. M.: Chlorine Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 in Water, *J. Food Prot*., **64**, 1607-1609 (2001).
32. Zhuang, R. Y., Beuchat, L. R. and Angulo, F. J.: Fate of *Salmonella* Montevideo on and in raw Tomatoes as Affected by Temperature and Treatment with Chlorine, *Appl. Environ. Microbiol*., **61**, 2127-2131 (1995).