



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2011-0051842
(43) 공개일자 2011년05월18일

(51) Int. Cl.

A23B 9/24 (2006.01) A23B 9/08 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2009-0108628

(22) 출원일자 2009년11월11일

심사청구일자 2009년11월11일

(71) 출원인

고려대학교 산학협력단

서울 성북구 안암동5가 1

(72) 발명자

류지훈

서울 성북구 안암동5가 고려대 International Faculty House E-114

김해영

서울 은평구 불광1동 미성아파트 6동 302호

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

이원희

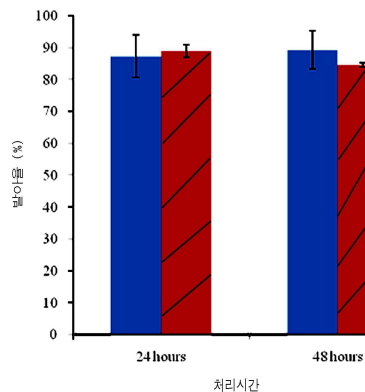
전체 청구항 수 : 총 9 항

(54) 다중스트레스의 조합처리에 의한 새싹종자의 식중독균 살균방법

(57) 요약

본 발명은 다중스트레스의 조합처리에 의한 새싹종자의 식중독균 살균방법에 관한 것으로, 보다 상세하게는 새싹종자에 이산화염소 처리 및 건조 처리가 살균시너지를 일으키고, 이산화염소 처리, 건조 처리 및 고온의 열처리의 조합이 상기 살균시너지를 극대화하며, 이들 스트레스 조건을 최적화하여 새싹 종자의 발아율에 영향을 미치지 않으면서 새싹종자에 존재하는 식중독균을 완전하게 살균시킴으로써, 새싹채소의 식중독균을 살균하는데 유용하게 사용될 수 있다.

대표도 - 도5



(72) 발명자

방지현

울산 남구 달동 583-11번지

김희경

서울 성북구 하월곡3동 삼성래미안아파트 121-1402

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 200802010331300010100

부처명 농촌진흥청

연구관리전문기관

연구사업명 농업특정연구

연구과제명 (1세부주관) 웰빙 새싹채소의 최소가공 및 포장과정중의 미생물학적 안전성 확보에 관한

연구

기여율

주관기관 고려대학교 산학협력단

연구기간 2008년 01월 01일 ~ 2008년 12월 31일

특허청구의 범위

청구항 1

- 1) 새싹종자에 이산화염소(ClO_2)를 처리하는 단계;
- 2) 단계 1)의 새싹종자를 건조시키는 단계;
- 3) 단계 2)의 새싹종자에 건열을 처리하는 단계를 포함하는, 새싹종자의 식중독균 살균 방법.

청구항 2

제 1항에 있어서, 단계 1)의 이산화염소(ClO_2)는 450 ~ 550 ppm으로 처리되는 것을 특징으로 하는 새싹종자의 식중독균 살균방법.

청구항 3

제 1항에 있어서, 단계 1)의 이산화염소(ClO_2)는 500 ppm으로 처리되는 것을 특징으로 하는 새싹종자의 식중독균 살균방법.

청구항 4

제 1항에 있어서, 단계 2)의 건조는 온도가 40 ~ 50℃이고 상대습도가 20 ~ 25%인 조건에서 20 ~ 30시간 동안 방치하는 것을 특징으로 하는 새싹종자의 식중독균 살균방법.

청구항 5

제 1항에 있어서, 단계 2)의 건조는 온도가 45℃이고 상대습도가 23%인 조건에서 24시간 동안 방치하는 것을 특징으로 하는 새싹종자의 식중독균 살균방법.

청구항 6

제 1항에 있어서, 단계 3)의 건열은 온도가 60 ~ 70℃이고 상대습도가 20 ~ 25%인 조건에서 45 ~ 55시간 동안 처리하는 것을 특징으로 하는 새싹종자의 식중독균 살균방법.

청구항 7

제 1항에 있어서, 단계 3)의 건열은 온도가 70℃이고 상대습도가 23%인 조건에서 48시간 동안 처리하는 것을 특징으로 하는 새싹종자의 식중독균 살균방법.

청구항 8

제 1항에 있어서, 식중독균은 *Escherichia coli* O157:H7인 것을 특징으로 하는 새싹종자의 식중독균 살균방법.

청구항 9

- 1) 새싹종자에 이산화염소(ClO_2) 500 ppm을 처리하는 단계;
- 2) 단계 1)의 새싹종자를 45°C , 23% 상대습도에서 24시간 동안 건조시키는 단계;
- 3) 단계 2)의 새싹종자에 70°C , 23% 상대습도에서 48시간 동안 건열 처리하는 단계를 포함하는, 새싹종자의 식중독균 살균 방법.

명세서

발명의 상세한 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 새싹종자의 발아율을 유지하면서 새싹종자에 오염되어 있는 식중독균을 완전살균시키는 방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 새싹채소는 저칼로리·저지방 식품으로 높은 영양학적 가치를 인정받아 소비자들에게 각광을 받고 있다. 하지만 새싹채소의 소비가 늘어남에 따라 이와 관련된 식중독 발병도 급증하고 있는 실정이다(M. Kumar, et al., J. of Food Protection, (69)7, 1571-1578, 2006; M. L. Bari, et al., J. of Food Protection, 71(4), 830-834, 2008). 다른 식품에 비하여 새싹채소의 섭취가 식중독의 위험에 노출되기 쉬운 이유는 다음과 같다. 우선, 새싹 채소가 재배되는 조건은 미생물이 성장하기에 적당한 온도와 습도를 제공해 준다. 따라서 새싹채소 종자에 낮은 수준으로 병원성 균이 오염된다면, 새싹채소가 성장을 마친 후 최종 재배 단계에서 병원성 균은 높은 수준으로 존재하게 될 것이다. 그리고 새싹채소는 샐러드와 같이 세척 후 조리 없이 날것의 상태로 섭취한다(Katsuyoshi Enomoto, et al., Technol. Res., 8(3), 247-251, 2002; Marina Munoz, et al., J. of Food Protection, 69(10), 2395-2402, 2006).

[0003] 미국의 식품의약품 안전청(FDA)은 새싹채소를 식중독관련 고위험식품으로 분류하고 있다. 또한 이를 해결하고자 새싹채소를 20,000 ppm의 차아염소산칼슘으로 최소 15분간 처리하여 섭취하기를 권고하고 있다(Canadian Food Inspection Agency, 2005: <http://www.inspection.gc.ca/english/corpaffr/recarapp/2005/20051224e.shtml>; Gross, R. J. et al., *Escherichia coli* diarrhea, J. Hyg. 95, 531-550, 1985). 하지만 이러한 처리는 새싹종자에서 식중독균들을 완전 멸균시키지도 못 할뿐만 아니라, 새싹종자의 발아율이 저하되어 새싹재배 업자에게 경제적 손실을 일으키고, 또한 고 농도의 살균소독제 처리로 인하여 작업자의 안전도 문제가 된다. 현재까지 새싹종자의 발아율을 유지하면서 식중독균을 멸균시키는 방법은 전세계적으로 개발되지 않은 상태이다. 따라서 이를 대체할 만한 살균기술 개발이 요구되는 실정이다.

[0004] 대장균(*Escherichia coli*, *E. coli*)은 분류학적으로 Enterobacteriaceae과(科) *Escherichia* 속(屬)에 속한다. 이 균은 포자를 형성하지 않는 그람 음성 간균으로 통성혐기성 균에 해당한다. *E. coli*는 보통 길이가 $2\mu\text{m}$, 지름이 $0.5\mu\text{m}$ 이며, 전체적인 세포의 부피는 $0.6\text{--}0.7\mu\text{m}^3$ 에 이른다(Kubitschek HE, et al., J. Bacteriol., 172(1), 94-101, 1990). 일반적으로 사람을 포함한 온혈동물의 장내에서 존재하며, 대부분 비 병원성 균이지만 일부 몇 종류는 질병을 유발한다(Gross, R. J. et al., *Escherichia coli* diarrhea, J. Hyg. 95, 531-550, 1985). 대표적인 예로 식중독을 유발하는 *E. coli* O157:H7(enterohemorrhagic *E. coli* or EHEC)가 있다. *E. coli* O157:H7은 157번째로 발견된 O항원과 7번째 발견된 H 항원을 지님을 뜻한다. O항원은 균체의 표면에 있는 세포벽의 성분인 지질다당류(lipopolysaccharide; LPS)의 당의 종류와 배열방법에 따른 분류로서 지금까지 173종이 발견되었다.

[0005] *E. coli* O157:H7이 오염된 식품 섭취를 통해 균에 감염되면 체내에서 독소를 분비하여 설사를 유발하게 되고 심하면 출혈성 대장염, 그리고 용혈성 요독 증후군으로 발전하게 된다(Todar, K., Pathogenic *E. coli*, Online Textbook of Bacteriology: <http://www.textbookofbacteriology.net/e.coli.html>). *E. coli* O157:H7의 질병

이 유발되는 전반적인 기작은 아직 명확하게 밝혀지지 않았지만, 균이 숙주세포의 세포막에 부착하여 독소를 생산한다고 판단되어지고 있다.

[0006] 미생물에 다양한 스트레스가 동시에 또는 순차적으로 적용 될 경우, 미생물의 사멸효과가 증대되는 현상을 보이는데 이러한 현상을 허들 효과(hurdle effect)라고 부른다(Leistner, L., Downey, W.K. (Ed.), Food Quality and Nutrition, Applied Science Publishers, London, UK, pp. 553-557, 1978). 허들 효과를 창출하기 위해 허들 요소를 계획적으로 조합해서 처리하는 기술을 허들 테크놀로지(hurdle technology)라 일컫는다(Alexander I.V. et al., *J. of Food Microbiol.*, 89, 125-138, 2003). 허들 테크놀로지는 식품의 미생물학적 안전성과 품질을 향상 시키고 영양과 경제적인 측면에도 도움이 된다.

[0007] 식품에서 보존성과 저장성을 향상 시키기 위해 사용되는 허들(hurdles)로는 온도(고온 혹은 저온), 수분활성도(a_w), 산성도(pH), 산화환원 전위(Eh), 그리고 유산균과 같은 경쟁적 미생물이 있다(Lothar Leistner, et al., *Int. J. of Food Microbiol.*, 55, 181-186, 2000; M.E. Guynot, et al., *Int. J. of Food Microbiol.*, 76, 39-46, 2002). 허들 요소는 식품에서 미생물학적 안전성을 증가시키며, 풍미와 품질을 향상시키는 역할도 수행한다(Leistner, L., Shafiur Rahman, M. (Ed.), *Handbook of Food Preservation*, Marcel Dekker, New York, pp. 457-485, 1999; Leistner, L., *Appl. Technol.*, 25, 151-158, 1992). 하지만 식품에 처리하는 허들의 강도에 따라서 간혹 식품의 맛이나 품질에 부정적인 영향을 미치기도 한다(Lothar Leistner et al., *Int. J. of Food Microbiol.*, 55, 181-186, 2000).

[0008] 다양한 살균소독제의 복합적 처리 또는 살균소독제와 다른 스트레스 사이의 살균시너지를 이용한 새싹채소 종자의 식중독균 살균 기술을 개발하려는 연구가 시도되고 있다. 선행된 연구 중에는 차아염소산나트륨 소독제와 열처리($\geq 54^\circ\text{C}$)의 살균시너지를 이용하여 알팔파의 종자와 채소에서 *Salmonella* Stanley를 제어하려는 시도를 하였다(Cynthia B. et al., *Appl. Environ. Microbiol.*, 2212-2215, 1996). 이 실험에서는 차아염소산나트륨을 처리하여 초기균수를 검출되지 않을 수준($<1 \text{ CFU/g}$)으로 감소시킬 수 있고, 열처리가 종자의 발아율을 감소시킨다는 점을 밝혀냈다(Cynthia B. et al., *Appl. Environ. Microbiol.*, 2212-2215, 1996). 또한 Scouten 등(2002)은 다섯 종류의 살균소독제, 열 및 초음파를 처리하여 알팔파 종자에서 *E. coli* O157:H7의 저감화를 연구하였다(A.J. Scouten et al., *J. of applied Microbiology*, 92, 668-674, 2002). 그러나 지금까지 개발된 기술은 새싹 종자에서 식중독균을 완전하게 사멸시키지는 못하여 이를 해결하기 위한 기술 개발이 필요하다.

[0009] 이에, 본 발명자들은 새로운 새싹종자의 식중독균 살균기술을 개발하던 중, 다양한 살균소독제 중 이산화염소가 건조환경과 함께 살균시너지를 일으켰고, 이산화염소 처리와 건조처리에 고온의 열처리를 조합함으로써 그 살균시너지를 극대화할 수 있었으며, 새싹채소에 오염된 식중독균을 멸균시키기 위한 스트레스 조건을 최적화함으로써 새싹 종자의 발아율에 영향을 미치지 않으면서 종자에 존재하는 식중독균을 완전하게 살균시킬 수 있음을 확인함으로써 본 발명을 완성하였다.

발명의 내용

해결 하고자하는 과제

[0010] 본 발명의 목적은 다중스트레스의 조합처리를 이용한 새싹종자의 식중독균 살균방법을 제공하는 것이다.

과제 해결수단

[0011] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 1) 새싹종자에 이산화염소(ClO_2)를 처리하는 단계; 2) 단계 1)의 새싹종자를 건조시키는 단계; 및, 3) 단계 2)의 새싹종자에 건열을 처리하는 단계를 포함하는, 새싹종자의 식중독균 살균 방법을 제공한다.

효 과

[0012] 본 발명의 새싹종자의 식중독균 살균 방법은 기존의 기술들이 새싹 종자에서 식중독균을 완전하게 사멸시키지는 못하거나 새싹종자의 발아율을 저하시키는 단점을 극복한 새로운 기술이다. 본 발명의 방법은 새싹종자에 처리하는 다중 스트레스 조건을 최적화하여 새싹 종자의 발아율에 영향을 미치지 않으면서 새싹종자에 존재하는 식중독균을 완전하게 살균시킬 수 있다.

발명의 실시를 위한 구체적인 내용

[0013] 이하, 본 발명을 상세히 설명한다.

[0014] 본 발명은

[0015] 1) 새싹종자에 이산화염소(ClO_2)를 처리하는 단계;

[0016] 2) 단계 1)의 새싹종자를 건조시키는 단계; 및,

[0017] 3) 단계 2)의 새싹종자에 건열을 처리하는 단계를 포함하는, 새싹종자의 식중독균 살균 방법을 제공한다.

[0018] 상기 방법에 있어서, 단계 1)의 새싹종자는 무순종자, 메밀 종자, 유채 종자, 알팔파 종자, 브로콜리 종자, 적양배추 종자, 비타민 종자, 겨자 종자, 경수채 종자 및 청경채 종자로 구성된 군으로부터 선택되는 어느 하나인 것이 바람직하나 이에 한정되지 않으며 모든 새싹종자가 사용가능하다.

[0019] 상기 방법에 있어서, 단계 1)의 이산화염소(ClO_2)는 450 ~ 550 ppm의 양으로 처리되는 것이 바람직하고, 500 ppm의 양으로 처리되는 것이 더욱 바람직하나 이에 한정되지 않는다.

[0020] 상기 방법에 있어서, 단계 2)의 건조는 온도가 40 ~ 50℃이고 상대습도가 20 ~ 25%인 조건에서 20 ~ 30시간 동안 건조시키는 것이 바람직하고, 온도가 45℃이고 상대습도가 23%인 조건에서 24시간 동안 건조시키는 것이 더욱 바람직하나 이에 한정되지 않는다.

[0021] 상기 방법에 있어서, 단계 3)의 건열 처리는 온도가 60 ~ 70℃이고 상대습도가 20 ~ 25%인 조건에서 45 ~ 55시간 동안 저장시키는 것이 바람직하고, 온도가 70℃이고 상대습도가 23%인 조건에서 48시간 동안 저장시키는 것이 더욱 바람직하나 이에 한정되지 않는다.

[0022] 상기 방법에 있어서, 식중독균은 병원성 대장균(Pathogenic *Escherichia coli*)인 것이 바람직하고, *Escherichia coli* O157:H7인 것이 더욱 바람직하나 이에 한정되지 않는다.

[0023] 새싹종자에 식중독균이 조금이라도 남아있다면 새싹재배 과정에서 식중독균의 개체수가 증가하여 10^7 cfu/g(새싹채소 1g 당 10^7 의 식중독균) 이상으로 증가하게 된다. 새싹채소를 재배한 후에는 살균소독제 처리를 하여도 식중독균이 10^6 cfu/g 이상이 남아있게 된다. 그러므로 새싹종자에서 식중독균을 완전멸균시키는 기술이 필요하다.

[0024] 기존의 연구에서는 대부분 살균소독제를 처리하는 화학적인 방법이나 열처리를 실시하는 물리적인 방법을 이용하였으나 이러한 기존의 처리는 새싹종자에 존재하는 식중독균을 완전하게 살균시키지 못하거나 식중독균이 완전하게 살균되어도 종자의 발아율을 현저히 감소시킨다는 한계를 지닌다. 그러므로 발아율을 유지하면서 식중독균을 완전하게 살균하는 새로운 기술이 개발된다면 결과적으로 새싹채소의 생산성을 향상시키고 안전성을 확보하여 새싹채소를 비롯한 신선채소 산업의 활성화에 크게 기여할 수 있다.

[0025] 본 발명에서는 이러한 문제를 해결하기 위하여 다중스트레스를 적용하는 허들테크놀러지의 원리를 이용하여, 다양한 살균소독제 중에서 이산화염소가 건조처리와 살균시너지를 일으킨다는 사실을 밝혀내었으며, 이러한 스트레스 조건에 고온처리를 추가함으로써 새싹채소에 오염된 식중독균을 멸균시키는 최적의 조건을 규명할 수 있었다.

- [0026] 본 발명의 한가지 실시예에서는 살균소독제(차아염소산칼슘과 이산화염소)와 건조 환경의 순차적 처리에 의한 저감효과를 관찰하였다. 그 결과, 이산화염소(200 ppm, 5분)와 건조 환경($25\pm 1^{\circ}\text{C}$, $40\pm 2\%$ 상대습도)의 조합 처리에서 *E. coli* 0157:H7에 대한 살균 시너지 효과를 확인할 수 있었다. 차아염소산칼슘과 건조의 조합처리는 무순 종자에 존재하는 일반세균, *E. coli* 0157:H7, 및 곰팡이/효모의 개체수를 약간 감소시킬 수 있었으나 살균 효과는 관찰되지 않았다. 반면에, 이산화염소와 건조의 조합 처리에서는 일반세균과 *E. coli* 0157:H7이 초기 균수에 비하여 유의적으로 감소시키는 살균효과를 나타냈다. 곰팡이/효모의 개체수도 검출되지 않을 낮은 수준($< 1 \log \text{CFU/g}$)으로 감소하였다. 또한 이산화염소와 건조 처리 후 종자의 발아율을 측정된 결과 94% 이상의 높은 발아율을 보였다. 따라서 이산화염소와 건조의 조합처리가 종자의 발아율에 영향을 미치지 않음을 확인할 수 있었다. 그러나 이러한 이산화염소와 건조의 조합처리는 *E. coli* 0157:H7의 저감화에 효과적이었으나 완전하게 살균시키지는 못하였다.
- [0027] 본 발명의 한가지 실시예에서는 이산화염소(200, 500 ppm) 처리 후 건열 (55°C , 23% 상대습도) 처리를 이용한 *E. coli* 0157:H7의 살균효과에 대해 관찰하였다. 그 결과, 500 ppm의 이산화염소를 처리한 경우, 일반세균과 *E. coli* 0157:H7은 초기 10^5CFU/g 의 수준에서 건열 처리 후에 모두 검출되지 않을 낮은 수준($< 1 \log \text{CFU/g}$)으로 감소하였다. 또한, 건열 처리의 온도를 60°C 로 상승시켜 살균효과를 관찰하였다. 그 결과, 일반세균과 *E. coli* 0157:H7이 이산화염소(500 ppm, 5분) 처리 후, 현저히 감소하였고, 그 후 건열처리(60°C , 23% 상대습도)를 실시한 후에는 모두 검출되지 않는 낮은 수준($< 1 \log \text{CFU/g}$)으로 사멸하였다. 특히, *E. coli* 0157:H7의 경우에는 건열 처리 후, 증균배양을 실시한 후에도 무순 종자와 새싹채소에서 모두 검출되지 않아 완전하게 사멸되었음을 확인하였다. 그러나 이러한 처리가 무순 종자의 발아율을 60% 이하로 낮아졌다.
- [0028] 본 발명의 한가지 실시예에서는 무순 종자의 내열성, 건열 처리 온도 및 처리 시간에 따른 수분활성도의 변화를 측정하였다. 상기 측정 결과를 바탕으로 이산화염소 처리 후에 고온에서 건열 처리를 실시하면 습열 처리에 노출되어 종자가 손상된다는 점을 확인하였다. 이에, 45°C 에서 24시간 건열 처리를 실시하여 수분활성도를 0.300 이하로 낮춘 후, 70°C 로 옮겨 48시간 동안 건열 처리를 실시한 결과, 무순종자에서 일반세균과 *E. coli* 0157:H7은 이산화염소 처리를 통해 현저히 감소되었고, 특히 70°C 에서 48시간의 건열 처리를 통해 무순 종자와 새싹채소에서 *E. coli* 0157:H7를 완전히 멸균시킬 수 있었다. 이렇게 처리된 무순 종자의 발아율은 84.7%까지 유지되었다. 따라서, 이산화염소 처리, 건조 처리 및 건열 처리의 순차적 스트레스 처리가 새싹종자의 발아율에 영향을 미치지 않으면서 새싹종자에서 집중된 식중독균인 *E. coli* 0157:H7을 완전하게 멸균시킬 수 있음을 확인하였다.
- [0029] 그러므로, 본 발명의 살균 방법은 새싹채소의 미생물학적 안전성 확보하고, 다양한 새싹채소에서 식중독균을 사멸시키기 위한 최적의 허들스트레스 조건을 확립한 것이다.
- [0030] 또한, 본 발명은
- [0031] 1) 새싹종자에 이산화염소(ClO_2) 500 ppm을 처리하는 단계;
- [0032] 2) 단계 1)의 새싹종자를 45°C , 23% 상대습도에서 24시간 동안 건조시키는 단계;
- [0033] 3) 단계 2)의 새싹종자에 70°C , 23% 상대습도에서 48시간 동안 건열 처리하는 단계를 포함하는, 새싹종자의 식중독균 살균 방법을 제공한다.
- [0034] 상기 새싹종자는 무순종자, 메밀 종자, 유채 종자, 알팔파 종자, 브로콜리 종자, 적양배추 종자, 비타민 종자, 겨자 종자, 경수채 종자 및 청경채 종자로 구성된 군으로부터 선택되는 어느 하나인 것이 바람직하나 이에 한정되지 않으며 모든 새싹종자가 사용가능하다.
- [0035] 상기 식중독균은 병원성 대장균(Pathogenic *Escherichia coli*)인 것이 바람직하고, *Escherichia coli* 0157:H7인 것이 더욱 바람직하나 이에 한정되지 않는다.
- [0036] 본 발명에서는 이산화염소, 건조 및 건열 처리의 조건을 최적화하여 새싹 종자의 발아율에 영향을 미치지 않으

면서 새싹종자에 존재하는 식중독균을 완전하게 살균시킬 수 있음을 확인하였다.

- [0037] 아울러, 본 발명은 상기 새싹종자의 식중독균 살균 방법에 의해 식중독균이 살균되고 발아율이 유지된 새싹종자를 제공한다.
- [0038] 상기 새싹종자는 무순종자, 메밀 종자, 유채 종자, 알팔파 종자, 브로콜리 종자, 적양배추 종자, 비타민 종자, 겨자 종자, 경수채 종자 및 청경채 종자로 구성된 군으로부터 선택되는 어느 하나인 것이 바람직하나 이에 한정되지 않으며 모든 새싹종자가 사용가능하다.
- [0039] 상기 식중독균은 병원성 대장균(Pathogenic *Escherichia coli*)인 것이 바람직하고, *Escherichia coli* 0157:H7인 것이 더욱 바람직하나 이에 한정되지 않는다.
- [0040] 본 발명에서는 새싹종자에 이산화염소 처리 및 건조 처리가 살균시너지를 일으켰으며, 이산화염소 처리, 건조 처리 및 고온의 열처리의 조합이 상기 살균시너지를 극대화하였으며, 이들 스트레스 조건을 최적화하여 새싹 종자의 발아율에 영향을 미치지 않으면서 새싹종자에 존재하는 식중독균을 완전하게 살균시킬 수 있음을 확인함으로써, 상기 방법을 이용하여 발아율이 유지되고 식중독균이 살균된 새싹종자를 제조할 수 있다.

실시예

- [0041] 이하, 본 발명을 실시예에 의하여 상세히 설명한다.
- [0042] 단, 하기 실시예는 본 발명을 구체적으로 예시하는 것이며, 본 발명의 내용이 실시예에 의해 한정되는 것은 아니다.

[0043] <실시예 1> 이산화염소와 건조의 순차적 처리에 의한 살균효과

[0044] <1-1> 균주의 배양

- [0045] 날리딕스산(Nalidixic acid)($C_{12}H_{12}N_2O_3$, SIGMA-ALDRICH Inc., USA)에 순응된 *Escherichia coli* 0157:H7 strains ATCC 43895(isolated from hamburger), F4546(from a patient in an alfalfa sprout associated outbreak), H1730(human isolate associated with consuming lettuce), E0018(isolated from bovine feces), 932(isolated from a patient with hemorrhagic colitis)를 사용하였다. 위의 균주들을 날리딕스산이 0.5% 포함된 10 ml의 TSB 배지(tryptic soy broth)(pH 7.0, BBL/Difco, Sparks, MD, USA)에 접종하여 37℃ 배양기에서 24시간 배양하였다. 24시간을 간격으로 10 μ l inoculation loop를 사용하여 세 차례에 걸쳐 계대배양을 실시하여 실험에 사용할 수 있도록 준비하였다.

[0046] <1-2> 배지의 준비

- [0047] *E. coli* 0157:H7, 일반세균 및 곰팡이/효모의 개체 수를 확인하기 위하여 세 종류의 배지를 준비하였다. 일반세균과 곰팡이/효모의 개체 수를 측정하기 위해서는 TSA(Tryptic soy agar)(pH 7.0; BBL/Difco)와 Dichloran-Rose Bengal-Chloramphenicol(DRBC, pH5.6; BBL/Difco)를 제조사 사용지침에 따라 준비하였다. 임의로 접종하는 *E. coli* 0157:H7은 날리딕스산에 순응된 균이므로 개체 수 확인을 위해 MSA(MacConkey sorbitol agar)(pH7.1; BBL/Difco)를 121℃에서 15분간 고압멸균 시킨 후 50℃로 온도를 낮춘 후, 멸균된 날리딕스산 용액의 함량이 전체 배지의 0.5%가 되도록 넣어 사용하였다. 날리딕스산 용액의 멸균은 필터(0.22 μ m Cellulose Acetate, Corning, USA)를 이용하였다.

[0048] <1-3> 살균소독제의 준비

- [0049] 이산화염소(ClO₂)를 멸균된 증류수 150ml에 아염소산 나트륨(sodium chlorite, SIGMA-ALDRICH Inc., USA) 12.5g과 1N HCl(hydrochloric acid, Biosesang Inc., Seoul, Republic of Korea) 3.5ml를 넣은 후, 150rpm의 rotary shaker(HB-203L:Hanbaek Scientific Co., Seoul, Republic of Korea)를 사용하여 용해시켰다. 1시간

경과 후, 멸균증류수로 희석하여 이산화염소의 농도를 각각 50, 200 ppm으로 조절하였다. 이때 각 농도는 염소 비색계(chlorine colorimeter)(model Dr/820; Hatch, Loveland, Co., USA)를 사용하여 사용서 지침에 따라 측정하였다. 차아염소산칼슘[Ca(OC1)₂]으로 살균소독제를 만들기 위해서는 인산완충용액(phosphate buffer)(pH 6.8)에 1N HCl 60ml과 차아염소산칼슘(SIGMA-ALDRICH Inc., USA) 40g을 넣은 후 교반기(stirrer)로 교반시켰다. 1시간 정도 교반된 차아염소산칼슘을 인산완충용액(pH 6.8)을 사용하여 희석과정을 거쳐 두 가지 농도(50, 200 ppm)로 조절하였다. 이때 살균소독제의 농도는 사용설명서에 따라 염소비색계를 사용하여 측정하였다.

[0050] <1-4> 무순 종자에 *E. coli* 0157:H7 접종

[0051] 24시간 배양한 5 종류의 *E. coli* 0157:H7 배양액을 각각 2 ml씩 50 ml 원심관(conical tube)에 담아서 원심분리(2006×g, 15분, 25℃)를 실시하였다. 상층액을 버린 후, 침전된 펠렛(pellets)을 준비된 멸균증류수에 재현탁시켜 총 부피가 1050ml이 되도록 준비하였다. 만들어진 세포 현탁액(cell suspension)(7.97 log₁₀ CFU/ml)에 인터넷 쇼핑몰(새싹마트, GyeongGi-Do, Republic of Korea)에서 구입한 무순 종자 350g을 넣어 5분간 잘 저어 주었다. 멸균된 스푼을 이용하여 체(Dia φ203×h41mm, 600μm)에 담은 후 laminar flow hood에서 2시간 동안 건조시켰다.

[0052] <1-5> 무순 종자의 살균소독제 처리 및 건조

[0053] 건조된 무순 종자(65g)를 멸균된 마개덮힌 병(500ml)에 담고, 50 및 200 ppm인 이산화염소와 차아염소산칼슘, 및 멸균증류수 200ml로 5분간 세척하였다. 살균소독제를 처리한 무순 종자를 멸균증류수(195ml)로 두 번에 걸쳐서 1분간 행구어 내었다. 살균소독을 실시한 무순 종자는 laminar flow hood 안(25±1℃, 40±2% 상대습도)에서 멸균된 스푼을 사용하여 멸균된 체(Dia φ203×h41mm, 600μm)에 담고 24시간 동안 건조를 실시하였다. 각각 0, 1, 3, 6, 9, 12, 24시간 후, 10g씩 샘플을 채취하여, 시료봉지(stomacher bag)(baglight; Interscience)에 TSB(tryptic soy broth) 100ml과 함께 넣어 균질기(BagMixer; Interscience)에서 1분간 균질화시켰다. 10ml을 멸균된 시험관에 담은 후, 0.1% 펄톤수를 이용하여 단계적으로 희석하고 시간에 따른 일반세균과 *E. coli* 0157:H7의 개체수를 확인하기 위해 희석한 용액을 TSA와 날리덱스산이 0.5% 함유된 MSA에 도말한 후 37℃에서 24시간 배양하였다. 곰팡이/효모는 DRBC에 도말하여 5일간 25℃에서 배양한 후 형성된 집락수를 측정하였다.

[0054] 모든 샘플은 세 번 반복하여 실험을 실시하였다. 실험을 통해 얻어진 자료는 SAS(Statistical Analysis System)(SAS Institute, Cary, NC)을 사용하여 분석하였으며, Fisher의 Least Significant Difference(LSD) 테스트를 사용하여 95% 유의수준에서 분석을 수행하였다.

[0055] <1-6> 무순 종자의 발아율 측정

[0056] 살균소독제 처리 후 건조 환경에 24시간 노출시킨 무순 종자 100개를 멸균된 거즈가 깔려있는 재배틀(225×325×150mm)에 골고루 잘 퍼주었다. 이때 멸균된 스푼을 사용하여 종자를 옮겨 주며, 재배틀에 미리 살균처리된 1차 증류수를 담아 두었다. 종자를 25℃에서 5일간 재배한 후, 100개의 씨앗 중 발아된 무순 종자의 수를 측정하였다. 발아율은 100개의 종자 중 발아된 종자 수를 측정하여 그 값을 100으로 나눠서 계산하였다.

[0057] <1-7> 이산화염소 및 건조의 순차적 처리에 의한 살균효과 및 발아율 측정

[0058] 두 종류의 살균소독제(차아염소산칼슘, 이산화염소)와 건조환경의 순차적 처리에 의한 일반세균, *E. coli* 0157:H7, 및 곰팡이/효모의 개체수 변화를 측정한 결과, *E. coli* 0157:H7 접종 후, 무순 종자에서의 일반세균, *E. coli* 0157:H7, 및 곰팡이/효모의 초기 개체수는 각각 6.41, 6.18 및 3.26 log CFU/g이었다.

[0059] 우선, 멸균증류수와 각각의 살균소독제를 처리한 후 무순 종자에 남아있는 일반세균수를 살펴보면, 하기 표 1에서 보는 바와 같이 멸균증류수 처리 후 5.98 log CFU/g, 50, 200 ppm 차아염소산칼슘 처리 후 각각 5.76, 5.73 log CFU/g, 및 50, 200 ppm의 이산화염소 처리 후 각각 5.56, 5.28 log CFU/g의 일반세균이 존재하고 있음을

확인하였다. 멸균증류수, 차아염소산칼슘, 이산화염소로 처리된 무순종자가 $25\pm1^{\circ}\text{C}$ 와 $40\pm2^{\circ}\text{C}$ 의 상대습도에서 건조되는 동안, 물로 세척후 24시간 건조시킨 종자에서 일반세균은 0.69 log CFU/g정도 감소하여 초기 균수와 거의 차이가 없음을 확인할 수 있었고, 50, 200 ppm의 차아염소산칼슘으로 세척 후 24시간 건조 시킨 종자에서는 각각 0.45, 0.56 log CFU/g 감소하는 효과를 보였다. 또한, 50, 200 ppm 이산화염소의 처리에서는 각각 0.81, 2.23 log CFU/g만큼 살균되었다. 특히 농도가 높은 200 ppm의 이산화염소 처리는 50 ppm의 이산화염소 처리보다 살균 효과가 더 크다는 사실도 알 수 있었다.

표 1

소독제 종류	호기성 세균수($\log_{10}\text{CFU/g}$) ¹					
	0시간	1시간	3시간	6시간	12시간	24시간
물	a 5.98 ± 0.06 A	a 5.86 ±0.12 A	a 5.57 ±0.05 B	a 5.40 ±0.10 BC	a 5.41 ±0.20 BC	a 5.29 ±0.13 C
Ca(OC1) ₂ 50ppm	a 5.76 ± 0.22 AB	a 5.88 ±0.35 A	a 5.35 ±0.33 C	a 5.44 ±0.09 ABC	a 5.36 ±0.15 BC	a 5.31 ±0.05 C
Ca(OC1) ₂ 200ppm	ab 5.73 ± 0.35 AB	a 5.85 ±0.06 A	a 5.24 ±0.48 C	a 5.35 ±0.24 ABC	a 5.46 ±0.36 ABC	ab 5.17 ±0.14 BC
ClO ₂ 50ppm	ab 5.56 ± 0.06 A	a 5.89 ±0.60 A	a 5.39 ±0.68 AB	b 4.85 ±0.08 B	b 4.61 ±0.12 B	b 4.75 ±0.18 B
ClO ₂ 200ppm	b 5.28 ± 0.32 A	b 4.58 ±0.28 AB	b 3.73 ±0.49 C	c 3.68 ±0.11 BC	c 3.71 ±0.74 C	c 3.05 ±0.54 C

¹ 처리시간에 따른 효과 비교: 동일한 종류의 소독제의 경우, 뒤에 동일한 알파벳 대문자가 아닌 값은 유의적인 차이가 있는 것이다($p\leq0.05$). 소독제의 효과 비교: 동일한 처리 시간의 경우, 앞에 동일한 알파벳 소문자가 아닌 값은 유의적인 차이가 있는 것이다($p\leq0.05$).

하기 표 2에서 보는 바와 같이, 이산화염소와 건조 사이의 살균 시너지 효과는 접종된 *E. coli* 0157:H7 사멸에서 보다 명확하게 나타났다. 멸균증류수와 살균소독제 처리 직후 생존 *E. coli* 0157:H7 개체수(5.09 ~ 6.22 log CFU/g)는 통계적으로 차이가 없는 것으로 분석되었다. 하지만 24시간이 경과한 후에는 50, 200 ppm의 이산화염소를 처리한 종자에서 개체 수가 각각 1.03, 2.51 log CFU/g 정도 감소하는 살균 시너지 효과를 관찰할 수 있었다. 50, 200 ppm 이산화염소 처리는 건조 각각 6, 3시간이 경과한 시점에서 두드러지게 감소하였다. 반면에 멸균증류수와 50, 200 ppm 차아염소산칼슘 처리에서는 24시간이 경과한 후에 각각 1.07, 0.86, 1.55 log CFU/g 만큼 감소하여 건조 전과 큰 차이가 없는 것으로 관찰되었다. 통계처리 결과, 200 ppm의 이산화염소 세척과 건조 처리가 조합된 경우에는 1시간이 경과한 후부터 *E. coli* 0157:H7에 대한 살균 효과가 다른 처리와의 비교에서 유의적인 차이를 나타내기 시작했다. 그리고 50 ppm의 이산화염소와 건조의 조합 처리도 6시간 후부터 살균 효과가 증가되어 멸균증류수와 차아염소산칼슘 처리한 실험군과 차이를 보이기 시작했다.

따라서 이산화염소(50, 200 ppm) 세척과 건조의 조합 처리가 접종된 *E. coli* 0157:H7 사멸시키는데 멸균증류수와 차아염소산칼슘에 비하여 효과가 크다는 사실을 확인할 수 있었다.

표 2

소독제 종류	<i>E. coli</i> 0157:H7 균수($\log_{10}\text{CFU/g}$) ¹					
	0시간	1시간	3시간	6시간	12시간	24시간
물	a 5.58 ± 0.36 A	a 5.51 ± 0.73 AB	a 4.96 ±0.60 AB	ab 4.63 ± 0.55 B	a 4.62 ± 0.60 B	ab 4.51 ± 0.18 B
Ca(OC1) ₂ 50ppm	0a 5.59 ±0.16 A	a 5.46 ± 0.43 AB	a 4.84 ±0.71 C	a 4.76 ± 0.18 BC	a 4.73 ±0.20 BC	a 4.73 ± 0.16 BC
Ca(OC1) ₂ 200ppm	a 6.22 ± 0.86 A	a 5.56 ± 0.05 AB	a 5.02 ±0.46 BC	ab 4.63 ± 0.16 C	a 4.74 ±0.16 C	a 4.67 ± 0.03 C

ClO ₂ 50ppm	a 5.09±0.14 A	ab 5.12±0.52 A	a 4.90 ±0.60 AB	b 4.13±0.27 B	a 4.15 ±0.30 B	b 4.06±0.30 B
ClO ₂ 200ppm	a 5.10±0.38 A	b 4.26±0.37 AB	b 3.39 ±0.57 BC	c 3.30±0.38 BC	b 3.27 ±0.78 C	c 2.59±0.52 C

[0065] ¹처리시간에 따른 효과 비교: 동일한 종류의 소독제의 경우, 뒤에 동일한 알파벳 대문자가 아닌 값은 유의적인 차이가 있는 것이다(p≤0.05). 소독제의 효과 비교: 동일한 처리 시간의 경우, 앞에 동일한 알파벳 소문자가 아닌 값은 유의적인 차이가 있는 것이다(p≤0.05).

[0066] 하기 표 3에서 보는 바와 같이, 곰팡이/효모의 개체수 변화에서도 살균소독제 처리와 건조 사이의 살균 시너지 효과는 이산화염소를 처리한 무순 종자에서 관찰되었다. 50, 200 ppm 이산화염소 처리 후 각각 24, 6시간이 경과하면 무순 종자에 존재하는 곰팡이/효모의 개체수가 <1 log CFU/g으로 감소하였으며, 24시간 건조시키면 세 번의 실험 결과 중 두 번의 실험에서 곰팡이/효모가 검출되지 않았다. 하지만 멸균증류수와 차아염소산칼슘의 처리에서는 개체수에 변화가 없는 것으로 관찰되었다. 멸균증류수는 3.30 log CFU/g에서 3.11 log CFU/g로, 50, 200 ppm의 차아염소산칼슘 처리는 2.78 log CFU/g에서 2.80 log CFU/g로, 3.77 log CFU/g에서 2.95 log CFU/g로 각각 변하지만 통계분석에서는 유의적인 차이가 없는 것으로 분석되었다.

표 3

소독제 종류	곰팡이 및 효모의 수(log10CFU/g) ¹					
	0시간	1시간	3시간	6시간	12시간	24시간
물	a 3.30±0.57 A	ab 3.22±0.32 A	a 3.50±0.83 A	ab 3.11±0.39 A	a 2.61±0.43 A	a 3.11±0.68 A
Ca(OC1) ₂ 50ppm	ab 2.78±0.50 B	a 4.25±0.62 A	a 3.07±0.76 B	a 3.38±0.50 AB	a 2.97±0.50 B	a 2.80±0.11 B
Ca(OC1) ₂ 200ppm	a 3.77 ±1.08 A	b 3.02±0.55 A	a 2.85±0.14 A	ab 2.87±0.39 A	ab 2.26±0.34 A	a 2.95±0.60 A
ClO ₂ 50ppm	ab 2.59±0.57 AB	b 3.04±0.43 A	a 2.24±0.52 AB	b 2.45±0.71 AB	bc 1.34±0.21 B	a N.D 2/3 B
ClO ₂ 200ppm	b 1.87 ±0.57 A	c 1.17±0.17 A	a 2.38±1.28 A	N.D ² 3/3	c N.D 2/3 A	a N.D 2/3 A

[0068] ¹처리시간에 따른 효과 비교: 동일한 종류의 소독제의 경우, 뒤에 동일한 알파벳 대문자가 아닌 값은 유의적인 차이가 있는 것이다(p≤0.05). 소독제의 효과 비교: 동일한 처리 시간의 경우, 앞에 동일한 알파벳 소문자가 아닌 값은 유의적인 차이가 있는 것이다(p≤0.05).

[0069] ²N.D는 검출되지 않은 것이다.

[0070] 또한, 발아율 측정 결과, 도 1에서 보는 바와 같이 멸균증류수를 처리한 종자는 97.3%의 발아율을 보였으며, 50, 200 ppm 차아염소산칼슘을 처리한 종자는 각각 94.3, 95.9% 및 50, 200 ppm의 이산화염소를 처리한 종자는 각각 95.3, 94.3%의 발아율을 보였다(도 1). 따라서 살균소독제와 건조 처리의 조합으로 일반세균, *E. coli* O157:H7, 및 곰팡이/효모를 저감화시키는데 효과적인 200 ppm 이산화염소는 종자의 발아율을 저해시키지 않았다.

[0071] 따라서 이산화염소가 향후 발아율에 영향을 미치지 않으면서 새싹채소 종자에서 식중독균을 살균시키는데 적절한 살균소독제임을 확인할 수 있었다. 또한 무순 종자에 이산화염소 처리와 건조 처리를 조합하면 시너지 효과가 발생하여 미생물을 살균시키는데 효과가 증대됨을 확인할 수 있었다.

[0072] 그러나 이러한 조합처리는 *E. coli* 0157:H7을 저감화하였으나 완전하게 살균시키지는 못하였다.

[0073] <실시예 2> 무순 종자에서 *E. coli* 0157:H7을 멸균시키기 위한 최적 조건의 확립

[0074] <2-1> 균주의 배양

[0075] 본 실험에서는 날리덱스산에 순응된 사용된 *Escherichia coli* 0157:H7 strains ATCC 43895(isolated from hamburger), F4546(from a patient in an alfalfa sprout associated outbreak), H1730(human isolate associated with consuming lettuce), E0018(isolated from bovine feces), 932(isolated from a patient with hemorrhagic colitis)를 사용하였다. 이 균주들을 날리덱스산이 0.5% 함유된 10 ml의 TSB (tryptic soy broth)(pH 7.0, BBL/Difco, Sparks, MD, USA)에 접종하여 활성화시키고, 24시간 간격으로 10 μ l inoculation loop를 사용하여 세 차례에 걸쳐 계대배양을 실시하여 여러 실험에 사용할 수 있도록 준비하였다.

[0076] <2-2> 배지의 준비

[0077] 새싹 종자와 새싹채소에 존재하는 일반세균은 TSA(Tryptic soy agar)(pH 7.0; BBL/Difco)를 사용하여 측정하였다. 곰팡이/효모의 개체 수를 측정하기 위해서는 DRBC(Dichloran-Rose Bengal-Chloramphenicol)(pH5.6; BBL/Difco)를 제조하였다. 무순 종자에 접종하는 *E. coli* 0157:H7은 0.5% 날리덱스산에 적응된 균이므로 개체 수 측정을 위해 MacConkey sorbitol agar(MSA, pH7.1; BBL/Difco)를 고압멸균(121 $^{\circ}$ C, 15분간) 시킨 후 50 $^{\circ}$ C로 온도를 낮추어 멸균된 MSA에 날리덱스산 0.5%가 포함되도록 혼합하였다. 세 종류의 배지는 제조사의 사용자 지침에 따라 준비하였다.

[0078] <2-3> 살균소독제의 준비

[0079] 이산화염소(ClO_2)는 멸균된 증류수 450ml에 아염소산 나트륨(sodium chlorite, SIGMA-ALDRICH Inc., USA) 75g 과 1N HCl(hydrochloric acid, Biosesang Inc., Seoul, Republic of Korea) 21ml를 넣은 후, 1시간 동안 150rpm의 rotary shaker(HB-203L:Hanbaek Scientific Co., Seoul, Republic of Korea)를 사용하여 용해시켰다. 완전히 용해된 이산화염소 용액을 제조하여 1시간이 지나면 멸균증류수로 희석하여 농도(200, 500 ppm)를 맞추었다. 이때 이산화 염소의 농도는 염소비색계(model Dr/820; Hatch, Loveland, Co., USA)를 사용하여 사용 설명서에 따라 측정하였다.

[0080] <2-4> 무순 종자에 *E. coli* 0157:H7 접종

[0081] 24시간 배양한 5 종류의 *E. coli* 0157:H7 배양액을 각각 2ml씩 50ml 원심관(conical tube)에 담아서 원심분리(2006 $\times$ g, 15분, 25 $^{\circ}$ C)를 실시하였다. 상층액을 버린 후, 침전된 pellets을 준비된 멸균증류수에 재현탁시켜 총 부피가 1050ml이 되도록 준비하였다. 만들어진 세포 현탁액(7.94 log CFU/ml)에 인터넷 쇼핑물(새싹마트, 경기도, 대한민국)에서 구입한 무순 종자 350g을 넣어 5분간 멸균된 스푼으로 잘 저어주었다. 멸균된 체(Dia ϕ 203 $\times$ h41mm, 600 μ m) 세 개에 나눠 담은 후 laminar flow hood에서 2시간 건조시켰다.

[0082] <2-5> 상대 습도의 조절

[0083] 아세트산 칼륨(Potassium acetate)(SIGMA-ALDRICH Inc., USA)을 멸균증류수에 용해시켜 포화상태가 되도록 만들었다. 이 포화용액을 필터처리(Bottle-Top Filter; 70mm Membrane Diameter 0.2 μ m, Corning costar)하여 멸균시켰다. 그 후 멸균된 2.1L 밀폐용기(lock&lock, Seoul, Republic of Korea)에 250ml씩 분주하였다. 밀폐용기를 선상저밀도 폴리에틸렌(L-LDPE, 세븐랩, 크린손, 대한민국)으로 포장하였다.

[0084] <2-6> 무순 종자에 살균소독제 및 건열 처리

[0085] 110g의 무순 종자를 330ml 이산화염소(200, 500 ppm)와 멸균증류수로 5분간 세척하였다. 세척된 무순 종자를

330ml 멸균증류수로 두 번에 걸쳐서 1분간 행구었다. 살균소독을 실시한 무순 종자 40g을 나누어 멸균된 체 (Dia ϕ 88.9×h41mm, 600 μ m)에 담고 23%의 상대습도로 조절된 밀폐용기에 보관하여 48시간 동안 건열 처리하였다. 이때 처리하는 온도는 각 실험 별로 45, 55, 60 및 70℃에서 진행되었다. 샘플 채취 시간은 최소 12시간을 간격으로 5g씩 취하고, 채취한 무순 종자를 시료봉지(stomacher bag)(baglight; Interscience)에 TSB 25ml과 함께 넣어 균질기(BagMixer; Interscience)에서 1분간 균질화시켰다. 그 후 10ml를 멸균된 시험관에 옮겨 0.1% 펄톤수를 이용하여 단계적으로 희석하여 TSA와 0.5% 나리딕스산을 함유한 MSA에 도말 한 후 37℃ 배양기에서 24시간 배양하고 DRBC는 25℃에서 5일간 배양하였다. 배양 후 시간 변화에 따른 일반세균(TSA), 곰팡이 및 효모(DRBC), 및 *E. coli* 0157:H7(0.5% 나리딕스산을 함유한 MSA)의 개체수를 확인하였다.

[0086] <2-7> 무순 종자의 발아율 측정

[0087] 멸균된 증류수와 이산화염소로 종자를 세척한 후 다양한 온도의 건조 (23%) 환경에 노출시킨 무순 종자 100개를 멸균된 증류수가 담겨진 새싹 채소 재배틀 (225×325×150mm)용기에 넣고 키웠다. 이때 멸균된 거즈를 사용하였다. 5일간 25℃ 배양기에서 키운 후 100개의 씨앗 중 발아된 무순 종자의 수를 측정한 후, 그 수를 100으로 나누어 발아율을 산출하였다.

[0088] <2-8> 무순 종자의 수분활성도 측정

[0089] 살균소독제 처리 후 23%의 상대습도에 노출된 무순 종자는 건열 처리 중 샘플링 시간에 3g씩 용기에 담아서 수분활성도 측정기(Model Series 3TE; AQUA LAB.: Decagon Devices Inc.)를 사용하여 그 값을 측정하였다. 기기 사용법은 사용자 지침서를 참고하였다.

[0090] <2-9> 무순 새싹 재배 후 미생물 개체수 측정

[0091] 5일간 재배한 무순 25g을 225ml TSB가 담긴 stomacher bag에 넣어 균질기를 이용하여 1분간 균질화하였다. 균질화된 용액에서 10ml를 취한 후, 0.1% 펄톤수를 사용하여 단계적으로 희석한 후, TSA, nalidixic acid가 0.5% 함유된 MSA, 그리고 DRBC에 도말하였다. DRBC는 25℃에서 5일간 배양하고 나머지는 37℃에서 24시간 배양한 뒤 집락을 계수하였다. 또한, 균질화시킨 무순 샘플은 35℃에서 48시간 증균 배양을 실시한 후 세 종류의 배지 (TSA, 나리딕스산이 0.5% 함유된 MSA, DRBC)에 streaking을 실시하여 일반세균, *E. coli* 0157:H7, 및 곰팡이/효모의 존재 여부를 판단하였다.

[0092] <2-10> 이산화염소의 농도에 따른 살균 효과와 무순 종자의 발아율 측정

[0093] 살균소독제인 이산화염소와 건조 처리의 조합은 무순 종자에 오염된 *E. coli* 0157:H7을 감소시키는데 시너지 효과를 보였다. 이 결과를 토대로 우리는 종자에 존재하는 *E. coli* 0157:H7을 완전하게 멸균시키는 기술 개발을 위해 이산화염소 농도를 200, 500 ppm으로 선정하여 실험을 진행하였다. 또한, 무순 종자의 건조 처리도 미생물을 살균시킬 수 있는 낮은 상대습도(23%)와 열(55℃)을 처리하는 건열 방식을 선택하였다.

[0094] 그 결과, 하기 표 4에서 보는 바와 같이 초기 무순 종자에 있는 일반세균은 5.90 log CFU/g에서 멸균증류수 처리 후 거의 변화가 없었고(5.93 log CFU/g), 200, 500 ppm 이산화염소 처리 후 각각 5.07, 4.85 log CFU/g로 감소하였다. 통계적 분석을 통해 멸균증류수 처리는 일반세균수에 영향을 미치지 않는 것으로 분석되었지만 이산화염소(200, 500 ppm)를 처리한 종자에서는 일반세균수가 각각 0.83, 1.05 log CFU/g 감소하는 차이를 보였다. 특히, 500 ppm의 이산화염소 세척 후 건열 처리는 12시간 만에 일반세균수를 <1 log CFU/g 수준으로 낮추는 탁월한 효과를 나타냈다.

표 4

소독제 종류	초기 수 (log ₁₀ CFU/g)	소독제 처리 후 생존수 (log ₁₀ CFU/g)	55℃에서 건열 처리 후 일반세균 생존수(log ₁₀ CFU/g) ¹					
			0시간	6시간	12시간	24시간	36시간	48시간

물	a 5.90 ±0.11 A	a 5.93 ±0.15 A	a 5.93 ±0.01 A	a 4.63 ±0.33 B	a 3.88 ±0.30 C	a 4.12 ±0.53 C	a 3.82 ±0.58 C	3.71±0.44 C
ClO ₂ 200ppm	a 5.90 ±0.11 A	b 5.07 ±0.22 B	b 4.10 ±0.35 C	b 1.51 ±0.12 E	b 1.00 ±0.12 EF	b 1.68 ±0.00 D	b 1.26 ±0.39 EF	+ ²
ClO ₂ 500ppm	a 5.90 ±0.11 A	b 4.85 ±0.32 B	c 2.62 ±0.67 C	b 1.08 ±0.35 D	+	+	+	+

[0096] ¹처리시간에 따른 효과 비교: 동일한 종류의 소독제의 경우, 뒤에 동일한 알파벳 대문자가 아닌 값은 유의적인 차이가 있는 것이다($p \leq 0.05$). 소독제의 효과 비교: 동일한 처리 시간의 경우, 앞에 동일한 알파벳 소문자가 아닌 값은 유의적인 차이가 있는 것이다($p \leq 0.05$).

[0097] ²는 양성 반응이다(배지에서는 검출되지 않았지만 증균배양 후 검출됨.).

[0098] 하기 표 5에서 보는 바와 같이, 이산화염소와 건열 처리의 살균 시너지는 접종된 *E. coli* 0157:H7에서 더욱 명확하게 관찰 할 수 있었다. 멸균증류수로 세척한 경우, 48시간 건열 처리를 실시하는 동안 초기 균수보다 2.68 log CFU/g이 감소하는 현상을 보였지만, 이산화염소를 처리한 경우 건열 처리 6시간 후부터 두 농도(200, 500 ppm)에서 모두 *E. coli* 0157:H7이 검출되지 않았다. 하지만 증균 배양을 실시한 결과 24시간 후에 무슨 종자에 *E. coli* 0157:H7이 존재하고 있음을 확인 할 수 있었다. 따라서 이산화염소와 건열 처리의 조합이 종자에 접종된 *E. coli* 0157:H7을 살균하는데 6시간 만에 5 log CFU/g정도 감소시킬 수 있음을 확인하였다.

표 5

[0099]

소독제 종류	초기 수 (log ₁₀ CF U/g)	소독제 처리 후 생 존수 (log ₁₀ CF U/g)	55℃에서 건열 처리 후 <i>E. coli</i> 0157:H7 생존수(log ₁₀ CFU/g) ¹					
			0시간	6시간	12시간	24시간	36시간	48시간
물	a 5.64 ±0.13 A	a 5.80 ±0.32 A	a 5.58 ±0.01 A	4.16±0.27 B	3.22±0.36 C	3.30±0.64 C	3.15±0.75 C	2.96±0.58 C
ClO ₂ 200ppm	a 5.64 ±0.13 A	b 4.54 ±0.23 B	b 3.80 ±0.51 C	+ ²	+	+	+	+
ClO ₂ 500ppm	a 5.64 ±0.13 A	b 4.51 ±0.44 B	c 2.06 ±0.10 C	+	+	+	+	+

[0100] ¹처리시간에 따른 효과 비교: 동일한 종류의 소독제의 경우, 뒤에 동일한 알파벳 대문자가 아닌 값은 유의적인 차이가 있는 것이다($p \leq 0.05$). 소독제의 효과 비교: 동일한 처리 시간의 경우, 앞에 동일한 알파벳 소문자가 아닌 값은 유의적인 차이가 있는 것이다($p \leq 0.05$).

[0101] ²는 양성 반응이다(배지에서는 검출되지 않았지만 증균배양 후 검출됨.).

[0102] 하기 표 6에서 보는 바와 같이, 곰팡이/효모의 개체수 변화에서도 초기 3.45 log CFU/g에서 200, 500 ppm 이산화염소 세척 후 48시간의 건열 처리를 통해 각각 0.78, 1.99 log CFU/g의 수준으로 감소시키는 효과를 보였으며, 멸균증류수 처리도 48시간 후 2.35 log CFU/g로 개체수가 감소하였다.

표 6

[0103]

소독제 종류	초기 수 (log ₁₀ CFU/ g)	소독제 처리 후 생존수 (log ₁₀ CFU/ g)	55℃에서 건열 처리 후 곰팡이/효모 생존수(log ₁₀ CFU/g) ¹					
			0시간	6시간	12시간	24시간	36시간	48시간

water	a 3.45 ±0.09 A	a 3.21 ±0.00 A	a 3.40 ±0.22 A	a 2.67 ±0.15 B	a 2.50 ±0.00 B	a 2.44 ±0.31 BC	a 2.20 ±0.45 C	a 2.35 ±0.01 BC
ClO ₂ 200ppm	a 3.45 ±0.09 A	b 1.62 ±0.20 B	b 1.15 ±0.28 C	⁺ ²	+	b 1.20 ±0.10 C	b 1.08 ±0.00 C	b 0.78 ±0.00 D
ClO ₂ 500ppm	a 3.45 ±0.09 A	b 1.51 ±0.00 B	+	b 0.78 ±0.00 C	b 1.08 ±0.00 BC	c 0.78 ±0.00 C	+	a 1.99 ±0.80 B

[0104] ¹처리시간에 따른 효과 비교: 동일한 종류의 소독제의 경우, 뒤에 동일한 알파벳 대문자가 아닌 값은 유의적인 차이가 있는 것이다($p \leq 0.05$). 소독제의 효과 비교: 동일한 처리 시간의 경우, 앞에 동일한 알파벳 소문자가 아닌 값은 유의적인 차이가 있는 것이다($p \leq 0.05$).

[0105] ²+는 양성 반응이다(배지에서는 검출되지 않았지만 증균배양 후 검출됨.).

[0106] 따라서 이산화염소(500ppm) 세척과 건열(23%, 55℃) 처리를 통해 12시간 후부터 일반세균과 *E. coli* 0157:H7을 검출되지 않을 수준(<1 log CFU/g)으로 낮출 수 있음을 확인하였다. 그러나 24시간 증균 배양을 통해 일반세균과 *E. coli* 0157:H7가 완전사멸되지는 않고 무순 종자에 여전히 존재하고 있음을 확인할 수 있었다.

[0107] 또한, 멸균증류수 또는 이산화염소(200, 500 ppm, 5분)를 처리한 후 건열 처리(23%, 55℃)에 6, 12, 24, 36 및 48시간 노출된 무순 종자 100개의 발아율을 측정한 결과, 도 2에서 보는 바와 같이 멸균증류수를 처리한 무순 종자는 94.3-98.3%, 200 ppm의 이산화염소를 처리한 무순 종자는 89.7-96.3%, 및 500 ppm의 이산화염소를 처리한 종자는 90.0-96.3%의 발아율을 보였다. 발아율은 건열 처리를 실시한 시간의 경과에 영향을 받지 않았으며, 멸균증류수를 처리한 대조군과 이산화염소(200, 500 ppm)를 처리한 실험군에서 모두 89.7% 이상의 발아율을 보였다(도 2).

[0108] 또한, 무순 종자를 5일간 재배한 후, 무순 새싹에 존재하는 일반세균, *E. coli* 0157:H7, 및 곰팡이/효모의 개체 수의 변화도 관찰하였다. 그 결과, 500 ppm 이산화염소를 처리하고 건열처리를 한 새싹채소에서 대조군과 동일한 수준으로 일반세균(10^7 CFU/g), *E. coli* 0157:H7(10^5 CFU/g), 및 곰팡이/효모(10^6 - 10^7 CFU/g)가 성장함을 확인하였다.

[0109] <2-11> 이산화염소와 고온의 건열 처리를 이용한 *E. coli* 0157:H7의 살균 효과 측정

[0110] 이산화염소 세척(500 ppm, 5분)과 건열(23%, 55℃) 처리를 이용한 기존의 방식에서 살균 효과를 증대시키기 위하여 열처리 온도를 60℃로 상승시켜 실험을 진행하였다.

[0111] 그 결과, 하기 표 7에서 보는 바와 같이 일반세균의 경우, 처음에 약 6.26 log CFU/g정도가 무순 종자에 존재하였고 멸균증류수 세척과 48시간 건열 처리로 종자에서 3.77 log CFU/g로 감소하게 되었다. 5일간의 발아과정을 통해 재배된 무순에 최종적으로 7.86 log CFU/g까지 균이 증가하였다. 이산화염소 처리는 48시간 후 무순 종자에서 일반세균이 검출되지 않을 낮은 수준(<1 log CFU/g)으로 저감화시킬 수 있지만, 5일간 재배 과정을 통해 8.13 log CFU/g까지 증가됨을 관찰할 수 있었다. *E. coli* 0157:H7은 멸균증류수 처리 후 48시간 건열(23%, 60℃)조합처리로 6.09 log CFU/g에서 3.39 log CFU/g로 감소하였고 발아 과정을 통해 5.74 log CFU/g까지 증가되었다. 반면에 이산화염소를 처리한 경우 *E. coli* 0157:H7은 초기 5.57 log CFU/g종자에 존재하였지만 48시간 후 무순 종자에서 완전히 살균되어 5일간 재배 한 무순에서도 검출되지 않았다. 따라서 500 ppm 이산화염소 처리와 건열(23%, 60℃)의 조합 처리가 무순 종자에 접종된 *E. coli* 0157:H7을 완전하게 사멸시킬 수 있음을 보여주었다. 곰팡이/효모는 처음에 4.41, 3.50 log CFU/g수준에서 멸균증류수와 이산화염소 처리로 48시간 후 종자에서 각각 1.64, 0.60 log CFU/g의 수준으로 줄어 들었다. 그리고 발아된 새싹채소에서는 각각 7.77, 7.61 log CFU/g까지 증가됨을 볼 수 있었다.

표 7

[0112]

미생물 종류	소독제의 종류	균수 ¹ (log ₁₀ CFU/g)				
		초기	소독제 처리 후	12시간	24시간	48시간
				종자에서 건열 처리 후 생존수	종자에서 건열 처리 후 생존수	종자에서 건열 처리 후 생존수
호기성 세균	물	a 6.26±0.30 A	a 6.09±0.17 A	4.82±0.66 B	a 4.17±1.20 B	3.77±0.76 B
	ClO ₂ 500ppm	a 5.77±0.12 A	b 5.01±0.16 B	+ ²	a 1.08±0.00 C	+
E. coli O157:H7	물	a 6.09±0.38 A	a 5.96±0.28 A	4.03±1.05 B	3.71±1.34 B	3.39±1.12 B
	ClO ₂ 500ppm	a 5.57±0.01 A	b 4.73±0.10 B	+	+	- ³
곰팡이/효모	물	a 4.41±0.93 A	a 3.92±0.56 AB	2.90±1.15 BC	2.06±0.83 C	a 1.64±0.60 C
	ClO ₂ 500ppm	a 3.50±0.12 A	b 1.38±0.43 A	+	+	a 0.60±0.00 B

[0113]

¹처리 공정에 따른 효과 비교: 동일한 종류의 소독제 및 미생물의 경우, 뒤에 동일한 알파벳 대문자가 아닌 값은 유의적인 차이가 있는 것이다(p≤0.05). 소독제의 효과 비교: 동일한 종류의 미생물 및 동일한 컬럼의 경우, 앞에 동일한 알파벳 소문자가 아닌 값은 유의적인 차이가 있는 것이다(p≤0.05).

[0114]

²는 양성 반응이다(배지에서는 검출되지 않았지만 증균배양 후 검출됨.).

[0115]

³는 음성 반응이다 (증균배양 후에도 검출되지 않음).

[0116]

또한, 발아율의 측정 결과, 도 3에서 보는 바와 같이 무순 종자의 발아율이 대조군(멸균증류수)과 실험군(500 ppm 이산화염소)에서 12시간 건열 처리 후 60.3, 77%, 24시간 처리 후 76, 76.7%, 그리고 48시간 처리 후 57.3, 68.7%로 발아율이 낮게 측정되었다(도 3). 즉, 500 ppm이산화염소 세척과 건열(23%, 60℃) 처리가 무순 종자에서 E. coli O157:H7을 완전하게 살균시키는 효과를 보였지만, 발아율이 낮아지는 문제점이 발견되었다.

[0117]

<실시예 3> 무순 종자에서 E. coli O157:H7을 멸균시키는 동시에 발아율을 유지시키는 최적 조건의 확립

[0118]

<3-1> 무순 종자의 내열성 측정

[0119]

이산화염소(500 ppm, 5분) 세척 후 건열(23%, 60℃) 처리를 실시한 무순 종자의 낮은 발아율을 보완하고자, 우선 멸균증류수에 5분간 세척된 무순 종자의 내열성을 측정하였다.

[0120]

그 결과, 하기 표 8에서 보는 바와 같이 세척과정을 거친 무순 종자를 60, 65 또는 70℃에서 24시간 건열 처리 하면 종자의 수분활성도는 0.25 이하로 떨어짐을 확인할 수 있었다. 60℃에서 건열 처리된 무순 종자는 24, 48 시간이 경과함에 따라 발아율이 각각 92.0, 85.0%를 보였으며, 65℃의 건열 과정을 거친 종자는 시간이 24, 48 시간이 지난 후에 각각 88.0, 78.0%의 발아율을 보였고, 70℃의 건열 과정을 거친 종자는 시간이 24, 48시간이 지난 후에 각각 68.7, 62.3%로 발아율이 낮아지는 현상을 보였다. 이러한 현상은 세척된 종자의 높은 수분활성도는 건열조건(60℃, 65℃ 또는 70℃, 23% 상대습도)에서 습열처리 효과를 발생시킨 것으로 판단된다.

[0121]

따라서, 내열성이 낮은 종자의 발아율을 높이기 위하여 건열 처리 이전에 종자의 수분함량을 최대로 낮출 수 있는 중간 과정이 필요할 것으로 판단되었다.

표 8

[0122]

건열 온도	인자	24시간 동안 건열 처 리 후	48시간 동안 건열 처 리 후
60 ℃	수분 활성도 (aw)	0.252±0.004	0.248±0.004
	발아율	92.3±3.8	85.0±7.6

65 ℃	수분 활성도 (a_w)	0.230 ± 0.010	0.213 ± 0.006
	발아율	88.0 ± 10.0	78.0 ± 14.7
70 ℃	수분 활성도 (a_w)	0.229 ± 0.011	0.221 ± 0.013
	발아율	68.7 ± 8.1	62.3 ± 9.5

[0123] <3-2> 세척된 무순 종자의 건조 후, 건열 처리에 의한 발아율의 변화

[0124] 도 4에서 보는 바와 같이, 물 세척(5분)을 실시한 무순 종자를 45℃에서 0.300 이하의 수분으로 수분활성도를 낮추기 위해서는 24시간이 소요됨을 확인하였다. 온도가 낮은 25℃에서는 48시간이 경과해야 0.300 이하의 수분활성도 수치에 도달하였다(도 4).

[0125] 따라서 살균소독제 처리 후, 곧바로 고온 상태의 건열 처리가 진행된다면 초기 수분활성도가 0.90 이상인 상태이기 때문에 습열 건조가 진행되어 높은 열에 의해 종자가 손상되어 발아율이 낮아지는 것으로 판단되었다. 그러므로 습열에 의한 종자의 손상을 막기 위해서는 23% 상대습도인 45℃ 배양기에 세척된 무순 종자를 24시간 저장하여 수분활성도를 0.300 이하로 낮춘 후, 고온에서 건열 건조를 실시하는 것이 종자의 손상을 최소화시키는 방안이라 보여진다.

[0126] <3-3> 무순 종자를 물 세척 후, 상대습도와 건열 처리에 순차적으로 노출시켰을 때의 발아율 변화

[0127] 종자의 손상을 최소화시키고 발아율을 유지하기 위하여, 23% 상대습도인 45℃에서 24시간 저장하여 수분활성도를 0.300 이하로 낮춘 후, 고온의 건열 처리를 실시하는 방법을 모색하였다. 이를 확인하기 위하여 무순을 물로 5분간 처리하여 45℃, 23%의 상대습도에 24시간 보관한 후 60, 65, 70℃에서 순차적으로 48시간 동안 건열 처리를 실시하였다.

[0128] 그 결과, 하기 표 9에서 보는 바와 같이 60℃의 경우, 24, 48시간 후에 무순 종자는 각각 88, 90%의 발아율을 보였으며, 65℃에서는 24, 48시간 후에 각각 96, 90%의 발아율을 나타냈다. 70℃의 경우, 24, 48시간 건열된 종자에서는 각각 92.3, 86.3% 이상의 발아율이 관찰되었다. 따라서 물 세척(5분) 직후, 60, 65℃에서 건열 처리를 곧바로 실시하는 경우보다 45℃에서 24시간 건열 처리 후에 고온(60, 65, 70℃)에서 건열 처리를 실시하는 것이 무순 종자의 발아율을 상승시켰다. 또한 무순 종자의 수분활성도는 45℃에서 24시간 처리하면 0.293-0.359 수준으로 감소되었고, 고온(60, 65, 70℃)에서의 건열 처리를 통해 0.203-0.224로 유지됨을 확인하였다. 따라서 고온(60, 65, 70℃)에서의 건열 처리 이전에 45℃에서 종자의 수분활성도를 낮추어 주면, 세척 후 습열 건조에 종자의 손상이 감소되어 종자의 발아율이 86.3% 이상 유지됨을 확인할 수 있었다.

[0129] 이는 무순 종자를 이산화염소로 세척과정을 거쳐 23%의 상대습도와 45℃에서 24시간 건조 처리를 하면, 70℃에서 48시간 건열 처리에서 종자의 손상을 최소화시켜 발아율에 영향을 주지 않으면서 *E. coli* 0157:H7를 사멸시킬 수 있을 것으로 판단된다.

표 9

[0130]

건열 온도	인자	건조 (45℃, 23%)	24시간 동안 건열 처리 후	48시간 동안 건열 처리 후
60 ℃	수분 활성도 (a_w)	0.293 ± 0.013	0.206 ± 0.004	0.204 ± 0.006
	발아율	92.5 ± 3.5	88.0 ± 11.3	90.0 ± 8.5
65 ℃	수분 활성도 (a_w)	0.359 ± 0.110	0.211 ± 0.022	0.203 ± 0.021
	발아율	95.0 ± 4.4	96.0 ± 1.0	90.0 ± 4.4
70 ℃	수분 활성도 (a_w)	0.326 ± 0.017	0.211 ± 0.012	0.224 ± 0.016
	발아율	93.3 ± 7.2	92.3 ± 6.1	86.3 ± 1.2

[0131] <3-4> 무순 종자에 오염된 *E. coli* 0157:H7을 멸균하기 위한 최적의 허들조건 확립

[0132] *E. coli* 0157:H7이 10^6 CFU/g으로 접종된 무순 종자를 500 ppm의 이산화염소수에 5분간 처리한 후, 45℃에서 24시

간 건조하여 종자의 수분활성도를 낮추고, 최종적으로 70℃에서 48시간 건열 처리하였다.

[0133] 그 결과, 하기 표 10에서 보는 바와 같이, 일반세균수의 변화를 살펴보면, 무순 종자에 처음에는 6.13 log CFU/g에 해당하는 일반세균이 존재하였으며, 멸균증류수와 이산화염소(500 ppm) 세척 후에도 각각 5.68, 5.33 log CFU/g이었다. 멸균증류수 세척과 건열 처리의 조합은 48시간 후 무순 종자에서 일반세균을 4.00 log CFU/g 수준으로 감소시켰으며, 이산화염소를 처리한 경우에는 1.48 log CFU/g로 감소시켰다. 종자에 남아있던 일반세균은 실험군과 대조군 모두 발아과정을 통해 동일한 수준(7.78-7.96 log CFU/g)으로 성장하여 새싹채소에 존재하였다. 초기 농도가 3.77 log CFU/g이었던 곰팡이/효모는 멸균증류수와 이산화염소 처리를 통해 각각 3.43, 1.87 log CFU/g로 감소하였으며, 48시간 건열 처리를 거쳐 각각 2.00, 1.12 log CFU/g으로 저감화되었다. 그러나, 5일간의 발아 과정을 통해 실험군(멸균증류수)과 대조군 (이산화염소)이 각각 7.91, 5.48 log CFU/g로 증가함을 확인하였다. 따라서 이산화염소와 건열 처리의 조합이 멸균증류수를 사용한 경우보다 종자에 존재하는 일반세균과 곰팡이/효모를 저감화시키는데 시너지 효과가 발생하여 더 효과적으로 제어할 수 있지만 완전하게 살균시키지는 못하였다. 그러나, *E. coli* O157:H7의 경우, 6.02 log CFU/g의 수준에서 멸균증류수와 이산화염소 처리를 통해 각각 5.57, 5.05 log CFU/g로 감소하게 되었고, 70℃에서 48시간 처리후 멸균증류수를 처리한 경우 3.51 log CFU/g의 *E. coli* O157:H7이 생존하였지만, 이산화염소를 처리한 경우 세척제와 건열 처리의 살균 시너지효과가 발생하여 종자에 존재하는 *E. coli* O157:H7이 모두 살균됨을 확인할 수 있었다. 또한 이산화염소를 처리한 경우 5일간 재배된 무순에서도 *E. coli* O157:H7은 검출되지 않았다.

[0134] 또한, 살균소독제와 건열 처리 시간에 따른 무순 종자의 발아율을 특정한 결과, 도 5에서 보는 바와 같이, 멸균증류수를 처리한 경우 24, 48시간 후에 각각 87.3, 89.3%의 발아율을 보였다. 이산화염소를 처리한 경우에는 24시간 후 89.0%, 그리고 48시간 후에 84.7%의 발아율을 나타냈다(도 5).

[0135] 따라서 45℃에서 24시간의 건조 과정을 거치면 무순 종자의 수분활성도가 낮아져서 습열 처리에 의한 종자의 손상을 최소화시킬 수 있음을 확인할 수 있었다. 또한, 이산화염소(500ppm, 5분)와 건열의 조합 처리가 높은 발아율(≥84.7%)을 유지하면서 무순 종자와 새싹 채소에서 *E. coli* O157:H7을 완전하게 사멸시켜 새싹채소의 미생물학적 안전성을 확보할 수 있었다.

표 10

미생물 종류	소독제의 종류	균수 ¹ (log ₁₀ CFU/g)			
		초기	소독제 처리 후	건조 후 (45℃, 24시간)	건열처리후 (70℃, 48시간)
일반세균	물	a 6.13±0.17 A	a 5.68±0.27 A	a 5.84±0.50 A	a 4.00±0.14 B
	ClO ₂	a 6.13±0.17 A	a 5.33±0.08 B	b 1.30±0.21 C	b 1.48±0.21 C
	500ppm				
<i>E. coli</i> O157:H7	물	a 6.02±0.15 A	a 5.57±0.10 AB	5.45±0.76 B	3.51±0.21 C
	ClO ₂	a 6.02±0.15 A	b 5.05±0.09 B	⁺ ₂	⁻ ₃
	500ppm				
곰팡이/효모	물	a 3.77±0.62 A	a 3.43±0.33 A	a 2.34±0.11 B	a 2.00±0.38 B
	ClO ₂	a 3.77±0.62 A	b 1.87±0.34 B	b 1.12±0.17 B	b 1.12±0.17 B
	500ppm				

[0137] ¹ 동일한 종류의 소독제 및 미생물의 경우, 뒤에 동일한 알파벳 대문자가 아닌 값은 유의적인 차이가 있는 것이다 (p≤0.05). 동일한 미생물 및 동일한 컬럼의 경우, 앞에 동일한 알파벳 소문자가 아닌 값은 유의적인 차이가 있는 것이다(p≤0.05).

[0138] ² +는 양성 반응이다 (배지에서는 검출되지 않았지만 증균배양 후 검출됨).

[0139] ³ -는 음성 반응이다 (증균배양 후에도 검출되지 않음).

산업이용 가능성

[0140] 상기에서 보는 바와 같이, 본 발명은 i) 새싹채소 종자의 식중독균 살균, ii) 쌈채소 종자의 식중독균 살균, iii) 기타 식물종자의 병원성 세균 및 곰팡이의 살균, 및 iv) 새싹채소, 쌈채소, 기타 농산물의 식품가공환경에 대한 살균 등에 유용하게 사용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0141] 도 1은 세 종류의 살균 세척제(멸균증류수, 차아염소산칼슘, 그리고 이산화염소)를 처리 한 후 $25 \pm 1^\circ\text{C}$, lamina flow hood에서 24시간 동안 건조 시킨 무순 종자의 발아율을 나타내는 그래프이다.

[0142] 도 2는 멸균증류수 또는 이산화염소(200, 500 ppm, 5분)를 처리한 후 건열 처리(23%, 55°C)된 무순 종자의 발아율을 나타내는 그래프이다(■: 멸균증류수, ▨: 200 ppm 이산화염소, ▩: 500 ppm 이산화염소).

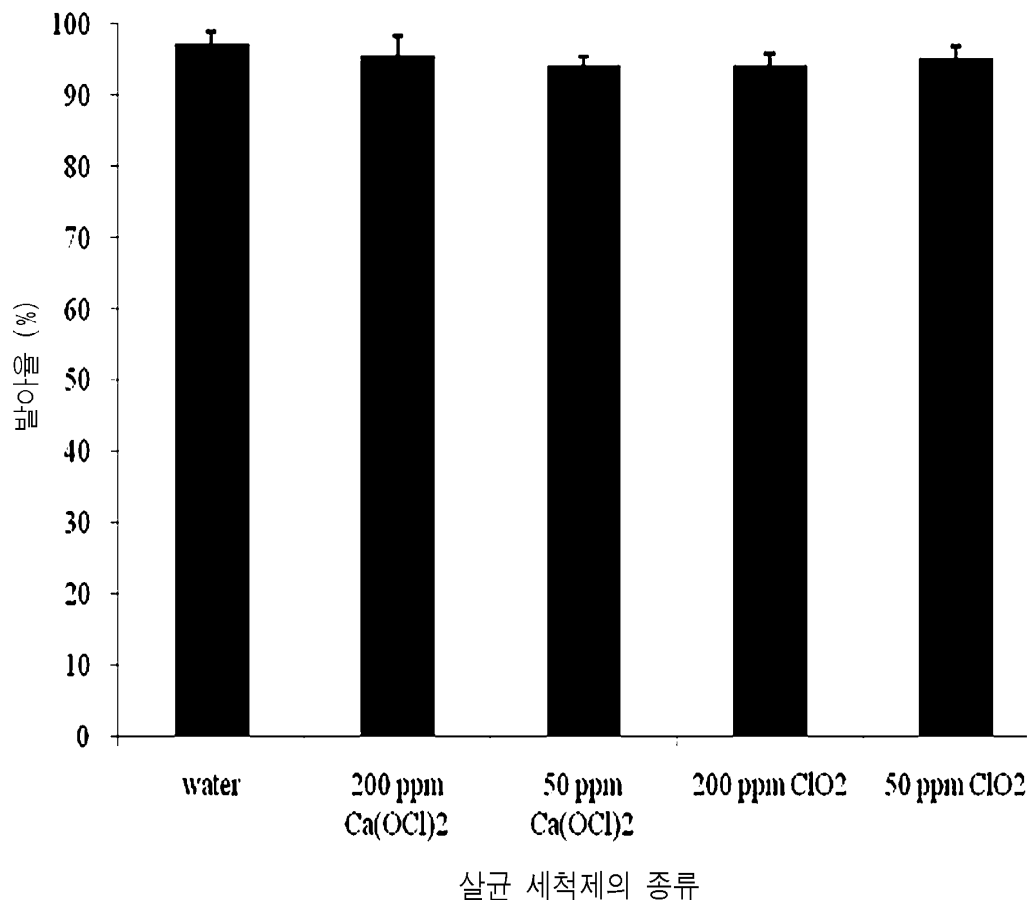
[0143] 도 3은 멸균증류수 또는 이산화염소(500 ppm, 5분)를 처리한 후 건열 처리 (23%, 60°C)된 무순 종자의 발아율을 나타내는 그래프이다(■: 멸균증류수, ▨: 500 ppm 이산화염소).

[0144] 도 4는 5분간 물세척 후 건열 처리(23%, 25 또는 45°C)된 무순 종자의 수분활성도를 나타내는 그래프이다(○: 25°C , □: 45°C).

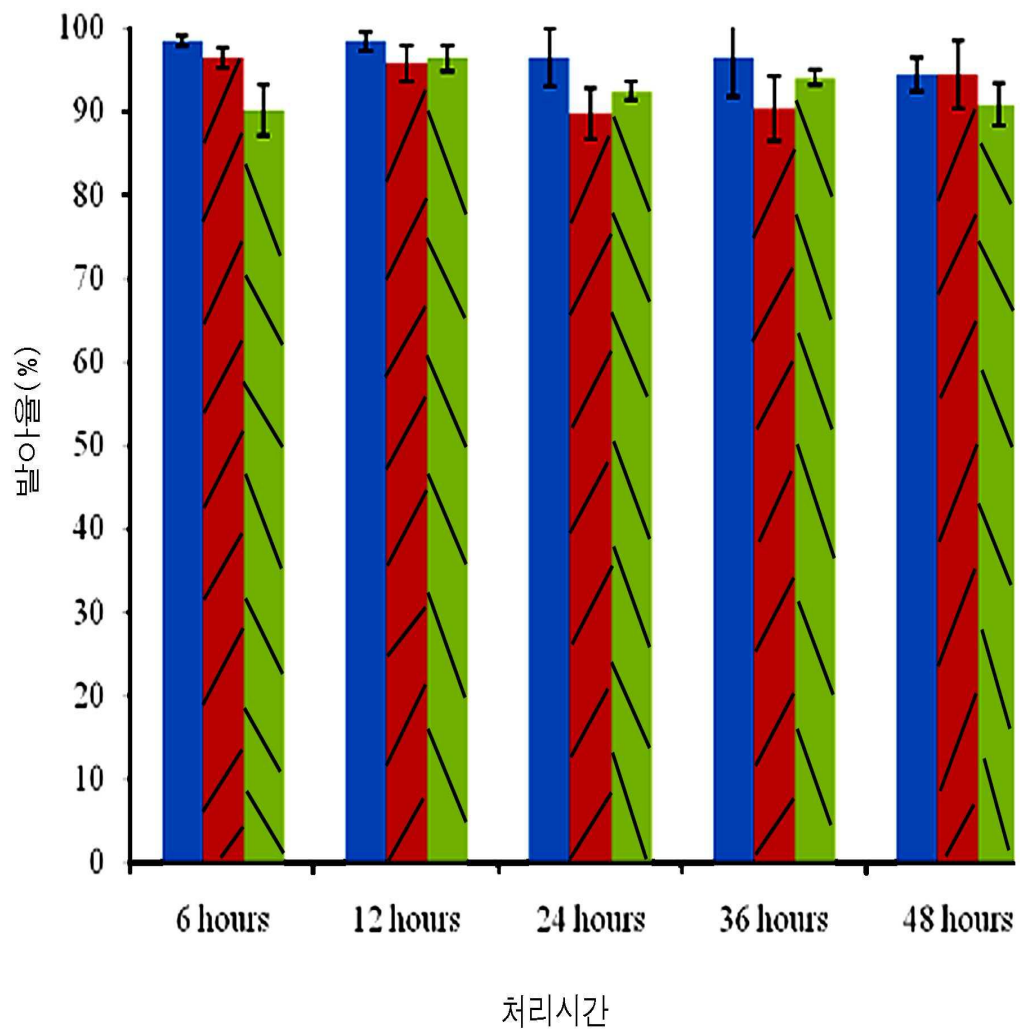
[0145] 도 5는 멸균증류수 또는 이산화염소(500 ppm, 5분)를 처리한 후 건열 처리(23%, 45, 70°C)된 무순 종자의 발아율을 나타내는 그래프이다(: 멸균증류수, : 500 ppm 이산화염소).

도면

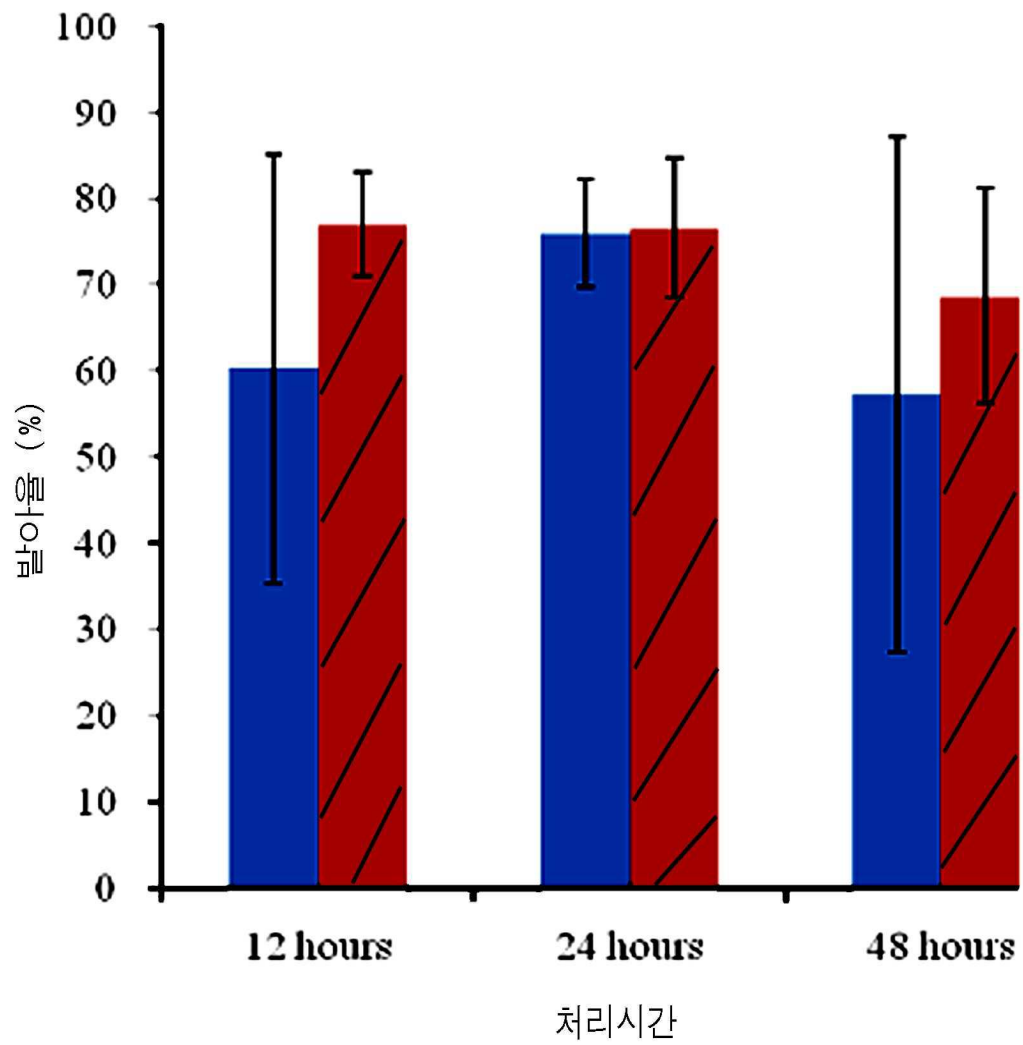
도면1



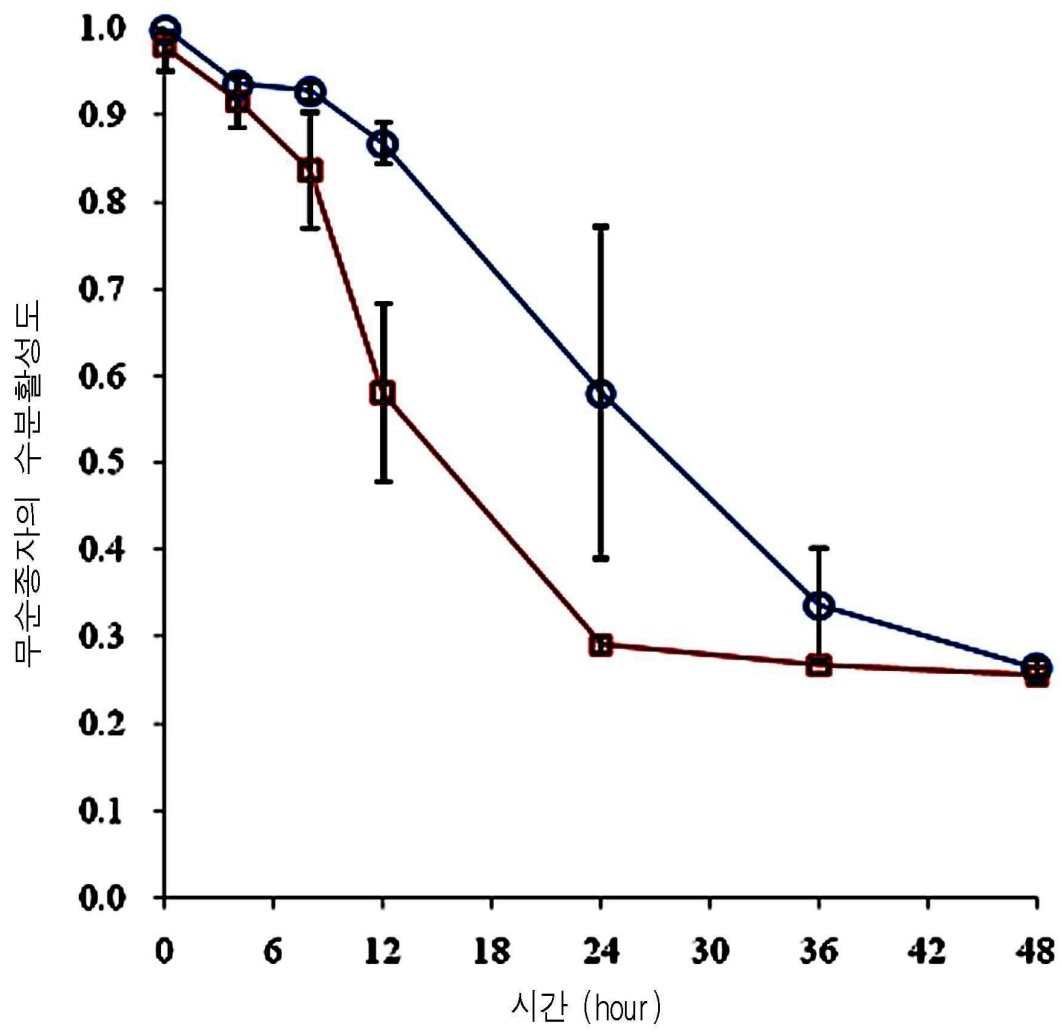
도면2



도면3



도면4



도면5

