



Research Article

The effect of aqueous chlorine dioxide on the control of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* Typhimurium inoculated into broccoli and barley seeds

이산화염소수 처리에 따른 브로콜리와 보리 종자에 접종한 *Escherichia coli* O157:H7 및 *Salmonella* Typhimurium 제어 효과

Kyung-Hee Park¹, Jong-Lak Cho¹, Ryeong-Ae Kim², Seo-Yun Son², Ji-Su Hong², Yong-Chae Oh², Jeong-Mok Kim^{1,2*}

박경희¹ · 조종락¹ · 김령애² · 손서윤² · 홍지수² · 오용채² · 김정목^{1,2*}

¹Institute of Seafood Safety and Toxicology, Mokpo National University, Muan 58554, Korea

²Department of Food Engineering Mokpo National University, Muan 58554, Korea

¹국립목포대학교 수산물안전독성연구소, ²국립목포대학교 식품공학과

Abstract Raw sprouts from contaminated seeds are responsible for many foodborne disease outbreaks. This study aimed to investigate the aqueous chlorine dioxide (ClO₂) treatment of broccoli and barley seeds on *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* Typhimurium, and seed germination. Broccoli and barley seeds were exposed to three different concentrations of ClO₂ (100, 300, 600 ppm) for 5, 10, 30, and 60 min. The microbicidal effects of aqueous ClO₂ treatment were increased as the ClO₂ concentration and treatment time increased. After 5 min of ClO₂ treatment, the number of *E. coli* O157:H7 and *S. Typhimurium* in broccoli seeds decreased by 2.08-4.49 and 2.48-3.73 log CFU/g and in barley seeds by 1.09-2.15, 1.39-2.95 log CFU/g, respectively, compared to the initial level. The decimal reduction time (D-value) of *E. coli* O157:H7 in broccoli and barley seeds with ClO₂ treatment for 0-5 min was shown to be between 2.41-1.11 and 4.61-2.37 min. Furthermore, the D-value of *S. Typhimurium* was 2.18-1.41 and 6.56-2.17 min, respectively, consistent with the decreasing trend of the survival plot. The germination rate of broccoli seeds did not significantly decrease after ClO₂ treatment. However, 600 ppm ClO₂ treatment delayed the germination rate and growth of barley sprout seeds. These results demonstrated that ClO₂ concentrations of up to 300 ppm were effective in controlling food pathogens associated with sprout consumption and did not affect the germination rate.

Keywords chlorine dioxide, *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* Typhimurium, broccoli seed, barley seed



OPEN ACCESS

Citation: Park KH, Cho JL, Kim RA, Son SY, Hong JS, Oh YC, Kim JM. The effect of aqueous chlorine dioxide on the control of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* Typhimurium inoculated into broccoli and barley seeds. Food Sci. Preserv., 32(1), 96-105 (2025)

Received: September 03, 2024

Revised: December 11, 2024

Accepted: December 13, 2024

***Corresponding author**

Jeong-Mok Kim

Tel: +82-61-450-2427

E-mail: jmkim@mnu.ac.kr

Copyright © 2025 The Korean Society of Food Preservation. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

1. 서론

최근 서구화된 식습관에 의한 심혈관질환, 당뇨, 암 등 다양한 질환에 노출되는 빈도가 증가하면서 건강 유지를 위하여 육식보다는 채식 위주의 웰빙(well-being)식 등 건강에 도움이 되는 식품에 대한 관심이 높아지고 있다. 새싹 채소는 생채소 형태로 최소가공하여 각종 비빔밥의 토핑 재료나 샐러드, 샌드위치 재료 등으로 활용되고 있는 신선편의식품 중 하나로 성인병 및 각종 질병 예방에 도움이 된다고 알려져 있다(Park 등, 2009). 새싹 채소로 활용되는 대표적 품종으로는 알팔파, 무, 브로콜리,

겨자, 적양배추, 케일, 클로버, 적무, 케일, 루꼴라 등이 있으며 발아 후 일주일 정도 된 싹을 이용하기 때문에 flavonoids, 비타민 복합체, 유기산 등 다양한 생리활성 물질들이 함유되어 있고 건강 기능으로는 항산화, 면역 증진, 장건강, 항암 및 항고혈압 등 건강에 도움을 주는 것으로 보고되어 있다(Aloo 등, 2021; Azia 등, 2022; Kim과 Lee, 2010). 이 중 브로콜리는 비타민 K, E, 페놀성 화합물 및 sulforaphane 등과 같은 기능성 물질을 함유하고 있고(Liu 등, 2018; Park 등, 2009), 새싹 보리는 비타민, 무기질, 엽록소, 페놀성 화합물 등 영양 및 기능 성분을 많이 함유하고 있으며 10-20 cm 정도 생장 시 영양성분이 가장 높고 그 이상 생장하여 성체가 될수록 유용 성분의 함량이 감소한다고 알려져 있다(Seo 등, 2013).

새싹 채소는 비위생적인 채종 조건 등 종자 단계에서부터 미생물에 의해 매우 높은 수준으로 오염되어 있고 미생물 생장에 최적인 20-40°C의 온도 및 90% 습도 조건 등으로 재배되고 있어 오염된 종자가 발아하면서 새싹 채소 전체를 오염시키게 된다(Lee 등, 2009). 주로 알팔파, 무, 클로버 종자 등을 발아시킨 새싹 채소의 생식으로 인해 식중독이 빈번하게 발생되면서 새싹 채소는 식중독 사고의 원인 식품 중 하나로 문제 제기되었다(Hung 등, 2020; Smith와 Herges, 2018). 또한, 국내에서도 새싹 보리의 항산화, 항당뇨, 항염증 등 건강 기능성이 알려지면서 이를 이용한 건조 분말, 환, 착즙액 등의 제품이 유통되고 있으나, 최근 새싹 보리 분말 등 제품에서 대장균의 기준치가 초과하여 식품의약품안전처에서는 시판 제품을 전수 조사하는 등 사회적 이슈가 된 바 있다(Choi 등, 2022). 신선편의 식품이나 채소 및 과일과 같은 농산물에 대하여 안전성 확보를 위한 비가열 살균 처리로서 방사선, 오존수, 유기산, 초고압, 염소, 전기분해수 등이 사용되고 있고, 미국 FDA에서는 새싹 채소에 존재하는 병원성 미생물을 제어하기 위하여 발아하기 이전의 종자에 20,000 ppm calcium hypochlorite(CaOCl₂)를 사용하여 살균할 것을 권하고 있다(Rajkowski와 Thayer, 2001). 그러나 염소 처리는 trihalomethanes(THM)의 생성과 pH에 따른 영향을 많이 받아서 염소 대체제로서 근래 이산화염소가 고려되고 있다.

이산화염소수는 다양한 제조 방법들이 있으며, 수용액은 연노란색을 띠고 있으며 다양한 pH 범위에서도 살균력에 영향을 받지 않으며 발암물질로 알려진 THM과 ammonia 반응 후 chloramine도 생성하지 않는다고 알려져 있기에 음용수 살균의 후처리 공정에도 적용되기도 한다(Chen, 2022; Kim, 2001; Kim 등, 2019). 최근에는 미국 FDA와 EPA에서 농업 관개용수에 항미생물제의 사용이 허가되어졌으며 이중에서 이산화염소수도 광범위한 살균제로서 활용이 검토되고 있다(Blair 등, 2024). 이러한 이산화염소수는 식품의약품안전처에서 과실류, 채소류 등 식품의 살균 목적으로 사용이 허가된 식품첨가물이며 쉽게 가수분해되지 않아 제조 후 필요한 농도로 희석하여

사용할 수 있다. 또한, 염소보다 약 2.5배 이상 산화력이 강하고 살균력이 우수하여 가열처리 시 품질에 영향을 받는 과일 및 신선 채소 등에 적용하여 부패를 방지하고 저장성을 향상시킬 수 있다(Chen, 2022; Ran 등, 2019).

따라서 본 연구에서는 국내에서 새싹으로 식품에 많이 이용되는 보리와 브로콜리 종자를 대상으로, 병원성 미생물인 *E. coli* O157:H7와 *S. Typhimurium*을 접종한 후 발생기 장치에서 제조한 이산화염소수 처리에 따른 살균 효과와 발아율을 조사함으로써 발아 후 새싹 채소의 안전성을 확보하고자 하였다.

2. 재료 및 방법

2.1. 실험재료

본 연구에서는 브로콜리(Seed & Grain Tech. Inc, Campo, CA, USA)와 보리(Cungnong seed, Bucheon, Korea)를 새싹 종자로 사용하였으며 외관 상태가 양호한 것을 선별하여 실험에 이용하였다.

2.2. 사용 균주 및 실험 처리를 위한 균 접종

실험에 사용한 병원성 균주는 *E. coli* O157:H7 ATCC 51739와 *S. Typhimurium* KCTC 2515이며, 35±2°C에서 24시간 동안 streptomycin sulfate salt(Sigma Aldrich Co., St. Louis, MO, USA)가 포함된 tryptic soy broth(TSB, Difco, Detroit, MI, USA)와 tryptic soy agar(TSA, Difco)에서 streptomycin resistant *E. coli* O157:H7와 *S. Typhimurium*을 각각 3회 이상 계대 배양하여 오염에 대한 안전성을 확인하여 실험에 이용하였다. 그리고 계대 배양과 안전성이 확인된 *E. coli* O157:H7과 *S. Typhimurium*은 35±2°C에서 24시간 동안 배양하였으며 배양액을 2,952 ×g에서 10분간 원심분리(VS-5000N, Vision Scientific Co., Ltd., Osan, Korea)하여 균체(pellet)만을 수거한 다음 0.1% 펩톤수를 첨가하여 새싹 종자 접종 배양액으로 사용하였다. 이때 배양액의 초기 균수의 경우 *E. coli* O157:H7는 9.61±0.16 log CFU/mL, *S. Typhimurium*은 9.60±0.09 log CFU/mL이었다. 실험을 위하여 새싹 채소 종자는 1 g씩 나누어 clean bench(VS-1400, Vision Scientific Co., Ltd.)에서 1시간 동안 UV 조사하여 pre-existing microorganism을 제거한 다음 *E. coli* O157:H7 및 *S. Typhimurium* 배양액을 1 mL씩 접종하고 1시간 동안 건조 후 실험에 이용하였다.

2.3. 이산화염소수의 제조 및 시료 처리

이산화염소수는 Fig. 1의 CDG(chlorine dioxide generator, CDG environmental, LLC., Allentown, PA, USA)를 이용하여 제조하였고 이산화염소수의 농도는 이산화염소가 Potassium iodide(KI) 용액과 반응하여 생성되는 iodine을 적정하는

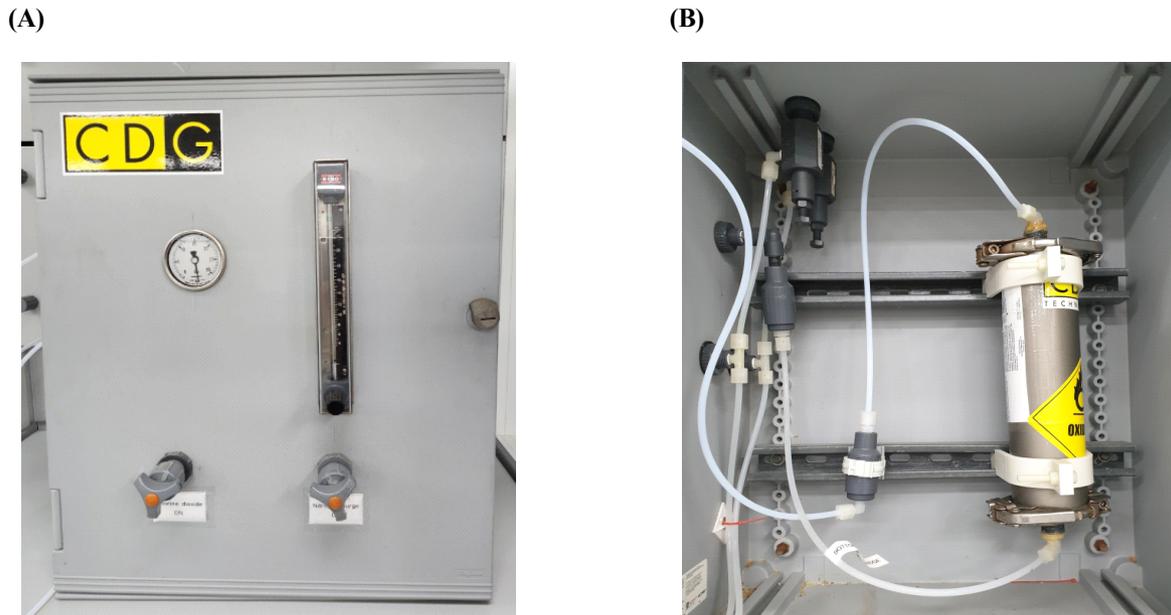


Fig. 1. The photo of chlorine dioxide generator (CDG) outside (A) and inside (B).

iodometric 방법(APHA Method 4500-ClO₂)에 따라 측정하였다. 즉 3차 증류수 15 mL를 넣은 삼각플라스크에 25% KI 용액 5 mL와 0.2 M HCl 용액 20 mL를 넣고 이산화염소수 시료 1 mL 첨가 후 잘 흔들어 섞은 다음 마개를 하여 암소에서 2분 동안 반응시켰다. 반응 종료 후 전분용액(0.5%, w/v) 1 mL를 첨가하고 0.1 N Na₂S₂O₂으로 무색이 되는 종말점까지 적정하였다. 이때 ≤200 ppm 이산화염소수 측정에는 0.01 N Na₂S₂O₂으로 적정하고 다음 식과 같이 계산하였다.

$$\text{ClO}_2/\text{L} = \frac{(\text{A}) \text{ mL} \times (\text{B}) \text{ N} \times 13490}{\text{시료첨가량 (mL)}} = (\text{C}) \text{ ppm}$$

- A: 적정 시 Na₂S₂O₂ 첨가량
- B: Na₂S₂O₂ Normality
- C: 이산화염소수 농도

CDG를 이용하여 제조된 이산화염소수는 1,200 ppm 농도였으며 실험 직전 100, 300, 600 ppm 농도로 희석 제조하여 시료에 처리하였다. 시료는 병원성 미생물이 접종된 새싹 채소 종자 1 g과 100, 300, 600 ppm 농도의 이산화염소수 9 mL을 호일로 감싼 50 mL centrifuge tube에 각각 첨가하여 0, 5, 10, 30, 60분 동안 침지시켜 처리하였다.

2.4. 병원성 미생물 수 측정

이산화염소수를 각각 농도 및 시간별로 처리한 시료 1 g에

0.1% 펩톤수 9 mL를 첨가한 후 2분 동안 균질화(Bag Mixer, Interscience Lab, Inc., Woburn, MA, USA)하고 0.1% 펩톤수에 단계적으로 희석한 다음 TSA에 도말하여 35±2°C에서 24시간 배양하였다. 배양 후 형성된 집락수는 계수하여 log CFU/g으로 나타내었다.

2.5. 병원성 미생물의 살균 효과 측정

새싹 종자에 접종된 병원성 미생물에 대한 이산화염소수의 살균 효과는 survival rate 그래프와 D-value를 측정하여 나타냈다.

즉, *E. coli* O157:H7 및 *S. Typhimurium*이 접종된 브로콜리 및 보리 종자에 농도별 이산화염소수를 처리 후 형성된 집락수를 계수하여 log scale로 환산한 다음 처리 시간에 따른 survival rate 그래프와 일정온도에서 미생물 수를 1 log 감소시키는 데 소요되는 이산화염소수 처리 시간(min)인 D-value로 나타내었다. 이때 이산화염소수 처리에 대한 전체 구간에 대한 D-value는 다음과 같이 미생물 생존곡선의 1차 반응 model을 적용한 기울기로부터 계산하고, 처리 시간에 따른 부분 구간의 D-value는 구간별 직선 기울기로 산출하였다.

$$D = \frac{t}{\log\left(\frac{N_0}{N}\right)} = -\frac{1}{\text{slope}}$$

D-value: 일정 온도에서 미생물 수를 1/10(1 log cycle) 감소에 소요되는 이산화염소수 처리 시간(min)

t: 농도별 이산화염소수 처리 시간(min)
 N_0 : 초기 미생물 집락수(colony forming unit, CFU)
 N : 이산화염소수를 t시간 처리한 후 미생물 집락수
 Slope: 미생물 생존곡선의 회귀직선 기울기

2.6. 새싹 종자의 발아율 및 성장 길이 측정

실험에 사용한 새싹 종자(브로콜리, 새싹 보리)는 외관이 양호한 씨앗 1 g을 멸균수와 100, 300, 600 ppm 농도의 이산화염소수 10 mL에 0, 5, 10, 30, 60분 동안 침지한 후 Easy Green™(Seed & Grain Tech. Inc)에서 7일간 재배한 후 발아율과 발아된 새싹 채소의 길이를 측정하였다. 발아율은 종자에서 유근 길이가 1 mm 이상인 것을 발아한 것으로 간주하여 백분율(%)로 나타내고 수율은 발아한 싹의 길이를 측정하여 cm로 나타내었으며 발아율과 수율은 3회 시험한 결과의 평균값으로 제시하였다.

$$\text{발아율(\%)} = (\text{발아된 싹의 수} / \text{전체 종자의 수}) \times 100$$

2.7. 통계 분석

모든 실험은 3회 반복하였으며, 결과는 평균과 표준편차로 나타내었다. 실험 결과는 통계처리 프로그램(IBM SPSS Statistics 27, IBM Co., Armonk, NY, USA)를 이용하여 분산분석(analysis of variance, ANOVA)으로 유의성 검정 후 평균 간 다중비교(Duncan's multiple-range test)를 실시하였으며, 통계적 유의 차이는 $p < 0.05$ 수준으로 검증하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 브로콜리 종자에 접종된 병원성 미생물에 대한 이산화염소수의 살균 효과

이산화염소수 처리에 따른 새싹 종자의 병원성 미생물 살균 효과를 확인하고자 *E. coli* O157:H7과 *S. Typhimurium*를 브로콜리 종자에 인위적으로 접종하고 멸균수와 100, 300, 600 ppm 농도의 이산화염소수를 시간을 달리하여 침지시킨 후 평가한 미생물 수의 변화는 Fig. 2와 같다. 먼저 *E. coli* O157:H7이 접종된 브로콜리 종자의 초기 균수는 9.50 ± 0.30 log CFU/g이었으며, 멸균수로 처리한 대조군의 경우 5, 10, 30, 60분 동안 침지 처리하였을 때 각각 9.31, 9.22, 9.10, 9.03 log CFU/g으로 낮아지는 경향을 보였으나 거의 유사한 균수로 나타났다. 이산화염소수 처리군의 경우 100 ppm 농도로 5, 10, 30, 60분 동안 침지하였을 때 각각 7.42, 7.11, 6.72, 6.30 log CFU/g으로, 처리 시간(5-60분)에 따라 초기 균수에 비해 각각 2.08-3.20 log 감소하였고, 300 ppm의 경우 각각 6.90, 6.49, 6.13, 5.68 log CFU/g으로 초기 균수에 비해 약 2.61-3.82 log 저감하는 살균 효과를 보였다. 그리고 600 ppm의 경우 처리 시간별 각각 5.01, 4.84, 4.61, 4.12 log CFU/g으로 초기 균수에 비해 약 4.49-5.38 log 감소하는 것으로 나타나, 이산화염소수 농도와 시간이 증가할수록 높은 살균 효과를 보이는 것으로 확인되었다.

그리고 *S. Typhimurium*의 경우 브로콜리 종자에 접종된 초기 균수는 9.33 ± 0.30 log CFU/g이었으며, 대조군의 경우 5,

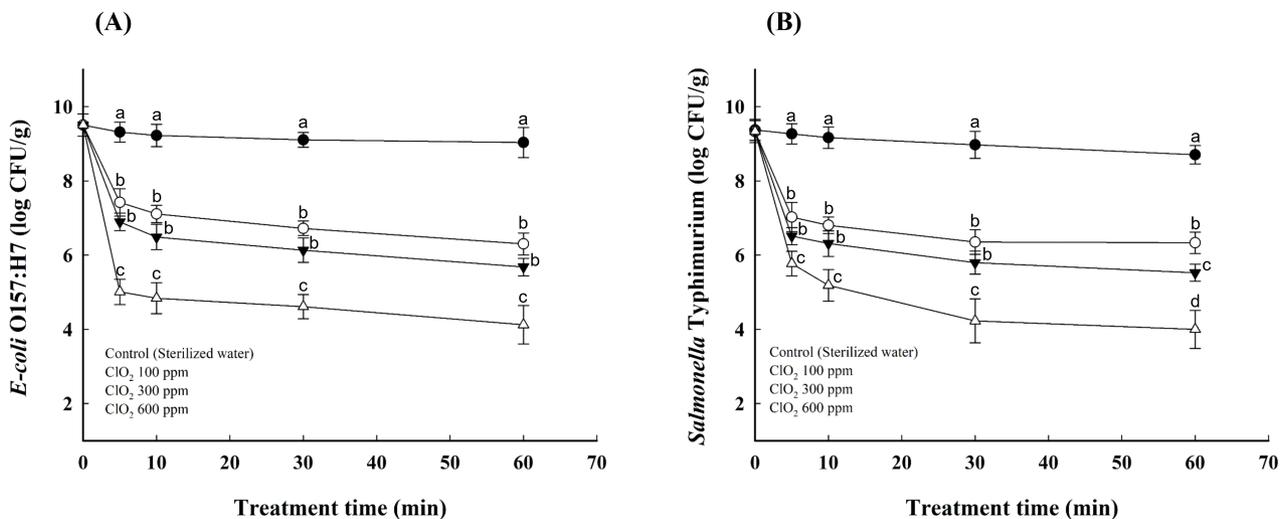


Fig. 2. Effect of aqueous ClO_2 treatment on the survival of pathogenic *Escherichia coli* O157:H7 (A) and *Salmonella Typhimurium* (B) in broccoli seeds. -●-, control (no treatment, sterilized water); -○-, ClO_2 100 ppm (100 ppm aqueous ClO_2 treatment); -▼-, ClO_2 300 ppm (300 ppm aqueous ClO_2 treatment); -△-, ClO_2 600 ppm (600 ppm aqueous ClO_2 treatment). All values are mean \pm SD ($n=3$). Different superscript letters on the bars indicate significant differences ($p < 0.05$) by Duncan's multiple range test.

10, 30, 60분 동안 침지 처리하였을 때 각각 9.27, 9.16, 8.97, 8.70 log CFU/g으로 *E. coli* O157:H7를 접종한 대조군과 거의 유사한 경향이였다. 그리고 100 ppm 농도의 이산화염소수 처리군의 경우 5, 10, 30, 60분 동안 침지하였을 때 각각 7.02, 6.81, 6.35, 6.33 log CFU/g으로, 처리 시간(5-60분)에 따라 초기 균수에 비해 각각 2.48-3.17 log 감소하였고, 300 ppm의 경우 각각 6.51, 6.31, 5.80, 5.52 log CFU/g으로 초기 균수에 비해 약 2.99-3.98 log 저감하는 살균 효과를 보였다. 600 ppm 농도의 경우 처리 시간별 각각 5.77, 5.19, 4.23, 4.00 log CFU/g으로 초기 균수에 비해 약 3.73-5.51 log 감소하는 것으로 나타나, *E. coli* O157:H7를 접종한 실험군과 마찬가지로 이산화염소수 농도와 시간이 증가할수록 높은 살균 효과를 나타냈다.

이산화염소는 cysteine, tryptophan 및 tyrosine과 같은 아미노산과의 반응성이 높아 이산화염소수 처리시 이러한 아미노산을 함유하는 단백질을 직접 산화시켜 세포내 단백질 합성 및 미생물을 저해하고, 세포막의 투과성을 변경시켜 비특이적 산화 손상을 유도하여 살균 효과를 나타내는 것으로 알려져 있다 (Kim, 2001).

또한, 염소소독에 비해 산화력이 강하고 식품 처리 후 관능적 측면에서 품질에 주는 영향이 적고 광범위한 범위의 pH에서 살균력이 우수하여 식품 산업에서 효과적인 미생물 제어 방법으로 이용되고 있다(Chen, 2022).

Kim과 Lee(2010)에 따르면, 새싹 채소와 일반 채소를 동결 건조하여 비교했을 때 새싹 채소의 미네랄과 비타민 함량은 일반 채소에 비해 전체적으로 높은 것으로 나타났으며, 이 중 무기질의 경우 칼륨 약 2배, 칼슘 및 인의 경우 약 3배, 철의 경우 약 10배 높은 함량이었다. 그리고 새싹 종자 중 브로콜리 종자에는 미네랄 함량이 무, 적양배추, 메밀, 청경채 종자 등에 비해 전반적으로 높고, 특히 새싹 분말에 함유된 비타민 C의 경우 무 (5.2 mg/100 g), 적양배추(8.4 mg/100 g), 청경채(15.1 mg/100 g)에 비해 브로콜리(30.4 mg/100 g) 새싹 분말이 가장 높은 것으로 관찰되었다. 하지만 새싹 채소는 생장 시 필요한 온도와 지속적인 수분공급에 의해 *E. coli* 및 *Salmonella* 등과 같은 병원성 미생물의 증식이 용이하기 때문에 식품 위생 측면에서 종자 단계부터 살균 처리 공정 및 관리가 필요하다.

Hung 등(2020)의 연구 결과에 의하면, 알팔파 종자에 *E. coli* O157:H7과 *S. Typhimurium*를 접종한 후 이산화염소수에 침지시켰을 때 처리 농도와 시간이 증가할수록 미생물 저감 효과가 우수한 것으로 나타났다. 이러한 결과는 본 연구와 같이 새싹 종자와 이산화염소수를 처리했을 때 이산화염소수의 농도와 처리 시간이 증가할수록 높은 살균 효과를 나타내며 이산화염소수의 침지 처리는 새싹 종자의 세균 제어에 효과적임을 알 수 있었다.

또한, Choi와 Lee(2008)의 결과에 의하면 *E. coli* O157:H7과 *S. Typhimurium*으로 인위적으로 접종한 양상추에서 100

ppm 농도의 이산화염소수로 5-10분 동안 처리했을 때 초기 균수에 비해 각각 0.94-1.19 log 감소, 200 ppm 농도에서는 각각 1.50-1.95 log 감소하여 본 연구 결과와 유사한 이산화염소수의 살균 효과를 나타냈으며, 이산화염소수는 상업적 염소 소독제에 비해 살균 효과가 우수한 것으로 보고하였다.

최근 비빔밥 토핑 재료 및 생채 활용 최소가공 샐러드 등의 소재로 다양한 새싹 채소를 많이 이용되고 있어 위생적이고 신선한 새싹 채소의 공급 방법이 매우 중요하다. 이에 새싹 채소 재배 전 새싹 채소 종자의 이산화염소수 처리 과정은 브로콜리를 비롯한 새싹 채소 재배 과정에서 위생적이며 효과적인 비가열 살균 방법이라고 판단된다.

3.2. 새싹 보리 종자에 접종된 병원성 미생물에 대한 이산화염소수의 살균 효과

새싹 보리 종자에서 *E. coli* O157:H7과 *S. Typhimurium*에 대한 이산화염소수의 살균 효과는 브로콜리 종자에 처리한 방법과 동일하게 실시하였으며 이산화염소수 처리 후 균수의 변화 결과는 Fig. 3에 제시하였다.

E. coli O157:H7이 접종된 새싹 보리 종자의 초기 균수는 9.29 ± 0.11 log CFU/g이었으며, 멸균수로 처리한 대조군의 경우 5, 10, 30, 60분 동안 침지 처리하였을 때 각각 8.51, 8.34, 8.26, 8.27 log CFU/g으로 초기 균수와 거의 유사하였다. 100 ppm의 이산화염소수를 처리한 실험군의 경우 5, 10, 30, 60분 동안 각각 8.20, 7.69, 7.62, 7.41 log CFU/g으로, 처리 시간(5-60분)에 따라 초기 균수에 비해 각각 1.09-1.88 log 감소하였고, 300 ppm의 경우 각각 7.82, 7.29, 6.85, 6.08 log CFU/g으로 초기 균수에 비해 약 1.47-3.21 log 저감 효과를 나타냈다. 또한 600 ppm 농도의 이산화염소수를 시간별 처리 후 균수는 각각 7.15, 6.51, 6.07, 4.39 log CFU/g으로 초기 균수에 비해 약 2.14-4.89 log 감소하였다.

또한, *S. Typhimurium*가 접종된 새싹 보리 종자의 초기 균수는 8.88 ± 0.17 log CFU/g이었으며, 대조군의 경우 5, 10, 30, 60분 동안 침지 처리하였을 때 각각 8.35, 8.30, 8.23, 8.07 log CFU/g으로 초기 균수와 유사한 수준이었다.

이산화염소수 100 ppm 농도로 처리한 실험군의 경우 5, 10, 30, 60분 동안 각각 8.20, 7.69, 7.62, 7.41 log CFU/g으로, 처리 시간(5-60분)에 따라 초기 균수에 비해 각각 1.09-1.88 log 감소하였고, 300 ppm의 경우 각각 7.82, 7.29, 6.85, 6.08 log CFU/g으로 초기 균수에 비해 약 1.47-3.21 log 저감 효과를 나타냈다. 또한 600 ppm 농도의 이산화염소수를 시간별 처리 후 균수는 각각 7.15, 6.51, 6.07, 4.39 log CFU/g으로 초기 균수에 비해 약 2.14-4.89 log 감소하였다.

이산화염소수 처리 후 새싹보리 종자에 접종된 병원성 미생물의 감소 경향은 브로콜리 종자와 유사하였으나 저감되는 균수는 브로콜리 종자에 비해 *E. coli* O157:H7은 0.49-2.35 log,

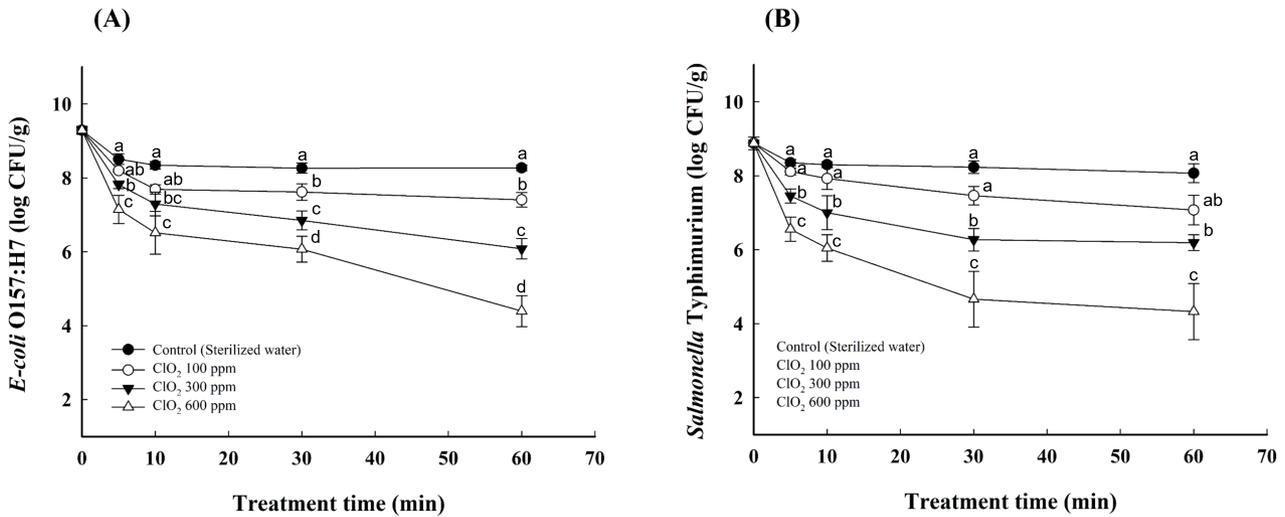


Fig. 3. Effect of aqueous ClO_2 treatment on the survival of pathogenic *Escherichia coli* O157:H7 (A) and *Salmonella* Typhimurium (B) in barley sprout seeds. -●-, control (no treatment, sterilized water); -○-, ClO_2 100 ppm (100 ppm aqueous ClO_2 treatment); -▼-, ClO_2 300 ppm (300 ppm aqueous ClO_2 treatment); -△-, ClO_2 600 ppm (600 ppm aqueous ClO_2 treatment). All values are mean \pm SD (n=3). Different superscript letters on the bars indicate significant differences ($p < 0.05$) by Duncan's multiple range test.

*S. Typhimurium*의 경우 0.33-1.12 log 낮게 감소되었다. 이는 종자의 크기 및 형태에 따른 것으로 사료된다. 즉 브로콜리 종자의 형태는 표면이 매끄러운 작은 원형으로 종자 표면에 접종된 미생물의 노출 밀도가 높고 새싹 보리 종자의 경우 브로콜리 종자에 비해 크기가 크고 표면적은 넓으나 타원형 껍질 표면에 흠과 같은 굴곡이 있어 표면에 존재하는 미생물의 노출 밀도가 낮아 접종된 균의 감소 폭이 낮았던 것으로 판단된다.

새싹 보리의 경우 비타민, 엽록소 등의 함량이 높고 phytochemical 등 다양한 생리활성성분을 함유하고 있어 최근 생채 등 최소가공식품 또는 건조 분말, 환 등의 가공 제품으로 생산하여 다양하게 소비되고 있으나, 최근 새싹 보리 분말 제품에서 기준치를 초과하는 대장균이 검출되어 사회적으로 문제가 되어(MFDS, 2019), 미생물 제어를 위한 기준 및 방안이 필요하다. 이에 본 연구 결과로 볼 때 이산화염소수 처리는 새싹 보리 종자 원료의 병원성 미생물 살균 효과를 가지며, 식품 산업에 있어 새싹 보리 생식 및 가공 제품에 대한 오염도를 감소시키고 품질과 저장성 증진 방법으로 유용하게 이용될 것으로 판단된다.

하지만 Park 등(2009)의 보고에 따라 새싹 채소는 종자 소독 후 발아하면서 재배 환경에 의해 일반세균, 대장균군 등에 오염될 수 있기 때문에 발아 과정 중 발생하는 미생물 오염에 대하여 후속적 위생 관리 조치 방안을 마련하는 것이 필요하다.

3.3. 이산화염소수 처리에 따른 브로콜리 및 새싹 보리 종자 병원성 미생물의 D-value

본 연구의 미생물 성장 곡선 결과(Fig. 2와 Fig. 3)에 의하면

대조군을 제외한 모든 실험군에서 이산화염소수 처리 후 0-5분까지 기울기가 직선적으로 변화하였으나, 5분 이후부터는 기울기가 작아져 살균 효과의 폭이 작아지는 것을 확인할 수 있었다. 이러한 패턴은 biphasic curve 형태로 해당 이산화염소수 농도에서 0-5분까지 노출되었을 때 대부분의 살균 효과를 나타내고 그 이상의 처리 시 살균 효과가 적어짐을 예측할 수 있다.

이때 이산화염소수 처리 후 미생물의 살균 효과를 측정하기 위해 감소된 미생물의 수(colony forming unit, CFU)를 선형 곡선으로 나타내고 D-value를 기울기를 통하여 구할 수 있다 (Choi 등, 2019).

따라서 브로콜리 및 새싹 보리 종자에 접종된 *E. coli* O157:H7과 *S. Typhimurium*에 대하여 농도 및 시간별 이산화염소수 침지에 따른 전체 D-value와 0-5분 구간의 D-value를 선형 곡선의 기울기를 이용하여 측정하고 이를 Table 1에 나타내었다.

브로콜리 종자에 접종된 *E. coli* O157:H7의 전체 D-value는 이산화염소수 100, 300, 600 ppm 처리시 각각 26.82분, 23.18분, 18.52분이었으며, 0-5분 구간의 D-value는 각각 2.41분, 1.92분, 1.11분으로 살균 효과가 높게 나타났다. 그리고 브로콜리 종자에 접종된 *S. Typhimurium*의 전체 D-value는 이산화염소수 100, 300, 600 ppm 처리시 각각 31.49분, 23.98분, 16.64분이었으며, 0-5분 구간의 경우 각각 2.18분, 1.78분, 1.41분으로 Fig. 2의 성장 곡선과 같이 이산화염소수 농도가 높아질수록 살균 효과에 영향을 주는 것을 재차 확인할 수 있었다.

또한, 새싹 보리 종자에 접종된 *E. coli* O157:H7의 전체 D-value는 이산화염소수 100, 300, 600 ppm 처리시 각각 45.46분, 23.93분, 15.99분이었으며, 0-5분 구간의 D-value는 각각

Table 1. D-values (time) of pathogenic bacteria on the broccoli and barley seeds treated with the aqueous ClO₂

Samples	Bacterium	ClO ₂ treatment (ppm)	D-values (min)	
			Total	0-5 min
Broccoli seed	<i>Escherichia coli</i> O157:H7	Control	153.99±6.70 ^{1)b}	26.95±3.61 ^b
		100	26.82±0.30 ^a	2.41±0.04 ^a
		300	23.18±0.42 ^a	1.92±0.03 ^a
		600	18.52±0.10 ^a	1.11±0.00 ^a
	<i>Salmonella</i> Typhimurium	Control	93.37±7.98 ^c	48.44±10.07 ^b
		100	31.49±1.53 ^b	2.18±0.20 ^a
		300	23.98±0.08 ^{ab}	1.78±0.04 ^a
		600	16.64±0.11 ^a	1.41±0.01 ^a
Barley sprout seed	<i>E. coli</i> O157:H7	Control	92.62±2.43 ^c	6.49±1.09 ^c
		100	45.46±4.36 ^b	4.61±0.52 ^b
		300	23.93±2.06 ^a	3.40±0.06 ^{ab}
		600	15.99±3.52 ^a	2.37±0.41 ^a
	<i>Salmonella</i> Typhimurium	Control	119.32±8.03 ^c	9.53±0.64 ^d
		100	41.83±9.17 ^b	6.56±0.47 ^c
		300	29.33±0.61 ^{ab}	3.53±0.25 ^b
		600	17.73±4.21 ^a	2.17±0.28 ^a

¹⁾All values are mean±SD (n=3). Different superscript letters (^{a-c}) in each column indicate significant differences at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

4.61분, 3.40분, 2.37분이었다. 그리고 새싹 보리 종자에 접종된 *S. Typhimurium*의 전체 D-value는 이산화염소수 100, 300, 600 ppm 처리시 각각 41.83분, 29.33분, 17.73분이었으며, 0-5분 구간의 D-value는 각각 6.56분, 3.53분, 2.17분으로 Fig. 3의 생장 곡선 미생물 사멸 패턴과 일치하였다.

Youm 등(2004)의 결과에 의하면 5 ppm 농도의 이산화염소수를 균에 직접 처리한 경우 5분 처리 시 초기 균수에서 1.5 log scale 감소, D-value는 3.37분으로 나타났으며, *S. Typhimurium*의 경우 본 연구와 같이 전형적인 biphasic curve 형태로 이산화염소수 처리 5분까지 약 1.3 log scale 감소하여 기대할 수 있는 사멸 효과가 대부분 나타나고 그 이상의 처리 시간에서는 효과가 거의 없는 것으로 보고하였다.

본 연구에서도 100-600 ppm의 이산화염소수를 5분 처리시, *E. coli* O157:H7의 경우 브로콜리 종자 2.08-4.49 log, 새싹 보리 종자 1.09-2.14 log 감소되었고, *S. Typhimurium*는 브로콜리 종자 2.48-3.73 log, 새싹 보리에서는 1.39-2.95 log까지 감소되어 0-5분 구간에서 높은 살균 효과를 나타내었으며, 처리 시간이 증가할수록 감소하였다.

Youm 등(2004)의 연구 결과의 경우 5 ppm의 이산화염소수를 cell culture level에서 직접 처리하였고 본 연구에서는 100-

600 ppm의 이산화염소수를 새싹 채소 종자에 접종된 균에 침지 처리하였기 때문에 이산화염소수의 처리 조건과 농도에 대한 결과 차이는 있지만, 병원성 미생물의 감소 경향은 유사하였다. 그리고 이산화염소수 처리에 의한 미생물 간의 살균 효과의 경우 새싹 채소 종자에 접종된 *E. coli* O157:H7와 *S. Typhimurium*간의 차이는 관찰되지 않았다.

3.4. 이산화염소수 처리에 대한 브로콜리와 새싹 보리 종자의 발아율과 생장 길이

브로콜리 및 새싹 보리 종자에 이산화염소수를 농도 및 시간 별로 전처리한 다음 7일간 재배하고 발아율과 생장 길이를 측정하여 Table 2에 나타내었다. 브로콜리 종자에서 발아율 측정 결과, 멸균수에 침지한 대조군의 발아율은 약 70.35-74.60% 수준으로 나타났다. 이산화염소수 처리군의 경우 100 ppm 농도에서 30분 침지했을 경우 약 88.25%로 가장 높게 나타났으며, 100-600 ppm 농도의 이산화염소수에 5-60분까지 전처리했을 경우 대부분 80% 이상의 양호한 발아율을 나타냈다. Park 등(2009)의 결과에 의하면 CaOCl₂, NaOCl 등 염소계 살균제로 브로콜리 종자를 48시간 침지 처리 했을 때 발아율이 약 72-80%

Table 2. Germination rate and shoot length of broccoli and barley seeds treated with the aqueous ClO₂

Samples	Measurement	ClO ₂ treatment (ppm)	Treatment time (min)				
			0	5	10	30	60
Broccoli seed	Germination rate (%)	Control	70.35±5.16 ^{1)NS}	72.60±1.98 ^b	73.25±1.06 ^b	73.50±1.41 ^c	74.60±4.81 ^{NS}
		100	71.75±2.47	82.40±2.26 ^a	82.60±4.81 ^a	88.25±2.76 ^a	84.10±5.23
		300	76.65±7.00	80.70±3.25 ^a	81.85±0.78 ^{ab}	83.90±2.12 ^{ab}	85.35±3.75
		600	74.10±1.98	76.70±0.28 ^{ab}	81.55±3.89 ^{ab}	82.15±0.78 ^b	84.45±2.90
	Shoot length (cm)	Control	3.93±0.40 ^{NS}	4.10±0.36 ^{NS}	4.07±0.51 ^{NS}	4.20±0.53 ^{NS}	4.50±0.50 ^{NS}
		100	4.87±0.47	4.97±0.65	4.83±0.57	4.00±0.50	4.50±0.30
		300	4.30±0.44	4.33±0.51	4.20±0.52	4.47±0.65	4.50±0.62
		600	4.20±0.56	4.23±0.35	4.33±0.46	4.33±0.70	4.37±0.86
Barley sprout seed	Germination rate (%)	Control	56.45±2.19 ^{NS}	56.85±1.20 ^{NS}	59.40±1.98 ^c	61.75±4.17 ^b	65.65±2.33 ^b
		100	55.00±2.69	59.85±3.04	78.75±4.60 ^a	86.25±2.76 ^a	88.05±5.30 ^a
		300	61.90±4.81	66.55±8.13	80.85±0.64 ^a	84.00±7.92 ^a	87.30±3.82 ^a
		600	60.35±4.17	66.05±3.61	69.25±4.60 ^b	58.35±1.77 ^b	50.45±2.05 ^c
	Shoot length (cm)	Control	10.67±1.04 ^a	11.57±0.60 ^a	11.63±0.32 ^a	12.07±0.84 ^a	12.83±0.31 ^a
		100	10.90±0.82 ^a	10.63±0.38 ^{ab}	10.27±0.59 ^{ab}	10.10±0.70 ^b	9.97±0.64 ^b
		300	9.73±0.25 ^a	9.37±1.01 ^b	8.67±1.53 ^b	8.57±1.12 ^b	8.50±2.35 ^b
		600	5.93±0.47 ^b	5.93±0.55 ^c	5.43±0.47 ^c	5.03±0.95 ^c	3.20±0.75 ^c

¹⁾All values are mean±SD (n=3). Different superscript letters (^{a-c}) in each column indicate significant differences at p<0.05 by Duncan's multiple range test. NS, not significant.

로 나타나 염소계 살균제 처리가 발아율에 영향을 주지 않은 것으로 보고하였다. 모든 실험군에서 종자 프라이밍 시간이 증가할수록 발아율이 높아지는 경향을 나타내었고, 100-600 ppm 농도의 이산화염소수로 30분 처리한 경우에서 대조군과 뚜렷한 차이가 확인되었다.

새싹 보리 종자의 대조군은 56.45-65.65%로 브로콜리 종자에 비해 낮은 발아율을 보였으며, Cha 등(2012)의 연구 결과에서 온도와 보리 종자에 따라 발아율의 차이가 있다고 보고된 바 본 연구에 사용된 보리 종자에서 발아율이 다소 낮았던 이유는 시판 유통 조건 및 사용된 종자에 의한 것으로 판단된다. 멸균수에 침지한 대조군에 비해 이산화염소수 100-300 ppm 농도에 새싹 보리 종자를 30-60분 처리한 실험군이 84.00-88.05%로 높은 발아율을 나타내었다. 그러나 600 ppm 농도의 이산화염소수 처리군의 경우 5-10분 동안 침지시켰을 때 발아율이 증가하는 경향을 보이다가 처리 30분 후부터 발아율이 낮아지는 것으로 확인되었다. 따라서 브로콜리 종자와 달리 새싹 보리 종자의 경우 100-300 ppm 농도의 이산화염소수 처리는 발아를 촉진하였으나 외피가 얇아 600 ppm 농도의 이산화염소수를 장시간 처리할 경우 발아율에 영향을 미치는 것으로 시사된다. 이 같은 결과는 일반적으로 종자는 외적으로는 성숙하지

만 내적으로 종피, 배유 등에 존재하는 아브시스산(abscisic acid), 페놀성 화합물 등에 의해 종자의 발아를 억제하고 휴면 상태를 유도하고 있다고(Falcinelli 등, 2020) 한다. 휴면 상태 종자의 발아 기간 단축과 발아율 향상을 위해 종자를 용액에 침지하는 프라이밍(priming) 기술이 이용되고 있으며, 종자의 종류에 따라 온도 조절과 다양한 화학물질들이 사용되고 있다고 보고하였다(Lee 등, 2019). 본 연구에서도 이산화염소수에 의해 종자 내부에 수분흡수를 촉진시키는 과정에서 종자의 발아에 필요한 관련 효소활성 등의 생리적 준비를 갖추는데 도움을 주었을 것으로 판단된다.

브로콜리 및 새싹 보리 종자에서 새싹 채소로 활용할 수 있는 수율을 확인하기 위하여 생장한 길이를 측정하였다. 브로콜리 종자의 경우 대조군은 시간별 처리 시 약 3.93-4.50 cm이었으며 이산화염소수 처리군들의 경우도 약 4.00-4.97 cm 사이로 나타나 대조군과 유사한 생장 길이로 통계적 유의 차이는 관찰되지 않았다. 새싹 보리 종자의 대조군의 생장 길이는 시간별 처리 시 약 10.67-12.83 cm이었으나 100 ppm 농도의 이산화염소수 시간별 처리시 약 10.90-9.97 cm으로 대조군에 비해 길이가 약 8.12-22.29% 짧았고, 300 ppm 농도의 이산화염소수 시간별 처리시 약 9.73-8.50 cm로 8.81-33.75% 대조군에 비해

생장 길이가 줄어드는 경향이였다. 그리고 600 ppm 농도의 이산화염소수의 경우 시간별 5.93-3.20 cm로 대조군에 비해 약 44.42-75.06% 짧은 길이로 나타났다. 따라서 100-300 ppm 농도의 이산화염소수를 종자에 처리했을 때 발아율에는 영향을 주지 않았으나 이산화염소수가 종자 내부에 침투하면서 생장 요인에는 다소 영향을 미치며 그리고 600 ppm 농도로 30분 이상 장시간 노출되어 있을 때는 발아율과 생장에 영향을 준 것으로 판단된다. 따라서 산업적 적용을 위해서는 여러 대량의 새싹 종자를 대상으로 병원성 미생물은 저감시키고 수율 증가를 위하여 발아율과 생장에 영향을 주지 않는 이산화염소수의 최적 농도 및 처리 시간에 대한 연구가 부가적으로 필요할 것으로 판단된다.

4. 요약

새싹 채소는 종자 단계에서부터 미생물에 의해 매우 높은 수준으로 오염되어 있어 많은 식중독 발생의 원인 식품이 되고 있다. 새싹 채소에 대한 미생물적 안전성 확보를 위해 *E. coli* O157:H7과 *S. Typhimurium*을 인위적으로 접종한 브로콜리와 새싹 보리 종자를 대상으로 이산화염소수의 농도 및 시간별 살균 효과를 확인하고, 발아율 및 생장에 미치는 영향을 조사하였다. 이산화염소수 100-600 ppm 농도에서 5분 처리 시 브로콜리에 접종된 *E. coli* O157:H7과 *S. Typhimurium*는 초기 균수에 비해 각각 2.08-4.49 log 및 2.48-3.73 log 감소되었고, 새싹 보리의 경우 *E. coli* O157:H7과 *S. Typhimurium*는 각각 1.09-2.14 log 및 1.39-2.95 log 감소하였다. 이산화염소수 처리에 따른 D-value를 측정 한 결과, 브로콜리와 새싹 보리 종자에서 *E. coli* O157:H7의 0-5분 구간의 D-value는 각각 2.41-1.11분, 4.61-2.37분이고 *S. Typhimurium*의 경우 각각 2.18-1.41분, 6.56-2.17분으로 생장 곡선에서 미생물이 저감된 경향과 일치 하였다. 이산화염소수를 처리한 브로콜리 종자에서는 대부분 80% 이상으로 발아율이 양호하였으며 생장 길이도 대조군과 유사하였다. 새싹 보리 종자의 경우 낮은 농도의 이산화염소수 처리 시 발아율이 높았으나 높은 농도에서 30분 이상 처리할 경우 발아율과 생장 길이에 영향을 주는 것으로 나타났다. 이산화염소수를 이용한 종자 소독은 새싹 채소의 초기 미생물 오염을 저감화하고 식품 위생 안전성을 향상시키는 적합한 방법으로 기대된다. 아울러 산업 현장에 적용하기 위해서는 이를 종자 발아 기술에 접목시켜서 발아율과 생장에 필요한 최적의 조건 설정이 필요할 것으로 여겨진다.

Funding

This Research was supported by Research Funds of Mokpo National University in 2023.

Acknowledgements

None.

Conflict of interests

The authors declare no potential conflicts of interest.

Author contributions

Conceptualization: Park KH, Cho JL, Kim JM. Methodology: Kim RA, Son SY, Hong JS, Oh YC. Formal analysis: Park KH, Kim RA, Son SY, Hong JS. Validation: Park KH, Cho JL. Writing - original draft: Park KH. Writing - review & editing: Cho JL, Kim JM.

Ethics approval

This article does not require IRB/IACUC approval because there are no human and animal participants.

ORCID

Kyung-Hee Park (First author)

<https://orcid.org/0000-0002-1557-546X>

Jong-Lak Cho

<https://orcid.org/0000-0003-0695-1539>

Ryeong-Ae Kim

<https://orcid.org/0000-0001-5857-5550>

Seo-Yun Son

<https://orcid.org/0000-0002-4753-1955>

Ji-Su Hong

<https://orcid.org/0000-0002-5408-9165>

Yong-Chae Oh

<https://orcid.org/0000-0003-3646-8679>

Jeong-Mok Kim (Corresponding author)

<https://orcid.org/0009-0001-3667-3114>

References

- Aloo SO, Ofosu FK, Kilonzi SM, Shabbir U, Oh DH. Edible plant sprouts: Health benefits, trends, and opportunities for novel exploration. *Nutrients*, 13, 2882 (2021)
- APHA. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 18th ed, 4500-ClO₂ Chlorine Dioxide, Washington DC, USA, p 54-55 (1992)
- Aziz A, Noreen S, Khalid W, Mubarak F, Niazi MK, Koraqi H, Ali A, Gonçalves Lima CM, Alansari WS, Eskandrani AA, Shamlan G, AL-Farga A. Extraction of bioactive compounds from different vegetable sprouts and their potential role in the formulation of functional foods

- against various disorders: A literature-based review. *Molecules*, 27, 7320 (2022)
- Blair JV, Lacombe AL, Harvey BL, Wu VCH. Chlorine dioxide is a broad-spectrum disinfectant against Shiga toxin-producing *Escherichia coli* and *Listeria monocytogenes* in agricultural water. *Front Microbiol*, 15, 1469615 (2024)
- Cha MN, Jun HI, Song GS, Kim YS. The effects of germination conditions on GABA and the nutritional components of barley. *Korean J Food Sci Technol*, 44, 41-47 (2012)
- Chen Z. Application of chlorine dioxide-based hurdle technology to improve microbial food safety-A review. *Int J Food Microbiol*, 378, 109848 (2022)
- Choi MR, Lee SY. Inhibitory effects of chlorine dioxide and a commercial chlorine sanitizer against foodborne pathogens on lettuce. *Korean J Food Cookery Sci*, 24, 445-451 (2008)
- Choi MS, Kim JY, Jeon EB, Park SY. Antibacterial activity of dielectric barrier discharge plasma against main food-borne bacteria in suspensions. *Korean J Fish Aquat Sci*, 52, 617-624 (2019)
- Choi SY, Chae HB, Hwang IJ, Hyun JE, Seo WD, Kim SR. Effects of different drying methods and storage conditions on the reduction of *Escherichia coli* and the quality parameters of barley sprouts. *Korean J Food Preserv*, 29, 1047-1058 (2022)
- Falcinelli B, Famiani F, Paoletti A, D'Egidio S, Stagnari F, Galieni A, Benincasa P. Phenolic compounds and antioxidant activity of sprouts from seeds of citrus species. *Agriculture*, 10, 33 (2020)
- Kim DS, Lee KB. Physiological characteristics and manufacturing of the processing products of sprout vegetables. *Korean J Food Cookery Sci*, 26, 238-245 (2010)
- Kim HJ, Shin JY, Kim JE, Yang JY. Effect of gaseous chlorine dioxide on sterilization in industrial food-holding cabinets. *J Food Hyg Saf*, 34, 170-177 (2019)
- Kim JM. Use of chlorine dioxide as a biocide in the food industry. *Food Ind Nutr*, 6, 33-39 (2001)
- Lee HR, Kim HM, Jeong HW, Oh MM, Hwang SJ. Germination characteristics of medicinal crop *Adenophora triphylla* var. *japonica* Hara as affected by seed disinfection and light quality. *J Bio Env Con*, 28, 404-410 (2019)
- Lee KA, Lee YA, Park IS. Sanitation effect of sprouts by chlorine water. *J Life Sci*, 19, 751-755 (2009)
- Liu M, Zhang L, Ser SL, Cumming JR, Ku KM. Comparative phytonutrient analysis of broccoli by-products: The potentials for broccoli by-product utilization. *Molecules*, 23, 900 (2018)
- MFDS. Result of the inspection of products sold by famous influencer in the SNS market. Available from: <https://www.mfds.go.kr>. Accessed Jun. 19, 2019.
- Park EJ, Kwon JH, Lee YK. Germination rate and microbial safety during cultivation of disinfected seeds. *Korean J Food Preserv*, 16, 292-298 (2009)
- Rajkowski KT, Thayer DW. Alfalfa seed germination and yield ratio and alfalfa sprout microbial keeping quality following irradiation of seeds and sprouts. *J Food Prot*, 64, 1988-1995 (2001)
- Ran Y, Qingmin C, Maorun F. Chlorine dioxide generation method and its action mechanism for removing harmful substances and maintaining quality attributes of agricultural products. *Food Bioprocess Technol*, 12, 1110-1122 (2019)
- Scouten AJ, Beuchat LR. Combined effects of chemical, heat and ultrasound treatments to kill *Salmonella* and *E. coli* O157:H7 on alfalfa seeds. *J Appl Microbiol*, 92, 668-674 (2002)
- Seo WD, Yuk HJ, Curtis-Long MJ, Jang KC, Lee JH, Han SI, Kang HW, Nam MH, Lee SJ, Lee JH, Park KH. Effect of the growth stage and cultivar on policosanol profiles of barley sprouts and their adenosine 5'-monophosphate-activated protein kinase activation. *J Agric Food Chem*, 61, 1117-1123 (2013)
- Smith DJ, Herges GR. Chloroxyanion residue on seeds and sprouts after chlorine dioxide sanitation of alfalfa seed. *J Agric Food Chem*, 66, 1974-1980 (2018)
- Youm HJ, Ko JK, Kim MR, Song KB. Inhibitory effect of aqueous chlorine dioxide on survival of *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* Typhimurium, and *Listeria monocytogenes* in pure cell culture. *Korean J Food Sci Technol*, 36, 514-517 (2004)