pISSN 1229-1153 / eISSN 2465-9223 *J. Food Hyg. Saf.*
Vol. 38, No. 6, pp. 508~516 (2023)
https://doi.org/10.13103/JFHS.2023.38.6.508

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

팽이버섯 재배 현장에서 *Listeria monocytogenes*의 성장을 억제하기 위한 살균 처리 기술 개발

박경민 · 이수빈 · 정도영 · 최송이 · 황인준 · 김세리*
농촌진흥청 국립농업과학원 농산물안전성부 유해생물과

Efficacy of Commercial Sanitizers for the Inactivation of *Listeria monocytogenes* on the Processing Equipment for Enoki Mushrooms

Kyung Min Park, Su-Bin Lee, Do-Young Jung, Song-Yi Choi, Injun Hwang, Se-Ri Kim*
Microbial Safety Division, National Institute of Agricultural Sciences, Rural Development Administration, Wanju, Korea

(Received November 2, 2023/Revised November 19, 2023/Accepted December 6, 2023)

ABSTRACT - The consumption of enoki mushrooms has been associated with cases of listeriosis produced by *Listeria monocytogenes*, highlighting the significance of sanitizing food-contact surface, such as the velcro used in welding processing of enoki mushrooms, to ensure microbial safety. We investigated the inhibitory activity of nine chemical disinfectants at regular concentrations against *L. monocytogenes* isolated from a mushroom farm environment. The bacterial suspension was prepared in phosphate buffered saline and mushroom extract broth and inoculated onto the velcro surface. After inoculation, most disinfectants reduced the initial 8 log CFU/coupon concentration by less than 2 log CFU/coupon during a 5-min treatment. Slightly acidic hypochlorous water showed a reduction of approximately 4 log CFU/coupon when tested for more than 30 min at the maximum allowable concentration of 200 mg/L. Sodium hypochlorite solution showed a reduction of approximately 5 log CFU/coupon when used at 100 mg/L for 60 min. Peracetic acid, at the maximum allowable concentration of 300 mg/L, showed the most effective reduction of 5 log CFU/coupon or more when the surface was treated with 37.5 mg/L for 30 min. These results indicate that peracetic acid can be used as the disinfectant strategy to control cross-contamination of *L. monocytogenes* on the velcro surface of plastic wrappers used in the welding processing of enoki mushrooms.

Key words: *Flammulina velutipes*, *Listeria monocytogenes*, Plastic wrapper, Antimicrobial activity, Chemical disinfectants

버섯은 고유의 풍미와 영양학적 가치로 인하여 오래전부터 식량자원으로 이용되고 있다. 식량 농업 기구에 의하면 전세계적으로 버섯의 소비량은 약 4,000만 톤으로 추정되며[1], 2018년 기준 미국내 1인당 버섯 소비량은 약 1.8 kg로 추정되고 있다[2]. 팽이버섯(*Flammulina Velutipes*)은 담자균류 주름버섯목(*Agaricales*) 뽕나무버섯과(*Physalacriaceae)*에 속하는 버섯으로 팽나무 버섯이라고도 하며 자실체는 4-12°C의 저온에서 발생되어 겨울버섯으로 알려져 있다[3]. 팽이버섯은 칼로리가 낮고 비타민류 및 식이섬유가 풍부하며 항산화 물질 및 항암작용이 있는 단백 다당류가 함유되어 있어 면역력 증진 효과가 보고되었다[4-6]. 또한 재배 면적의 대규모화와 시설 자동화로 연중 생산이 가능하여 2019년 기준 국내 버섯 생산량의 21%를 차지하며[7], 2020년 기준 버섯류 수출의 66%를 점유하고 있다[8]. 그러나 장기간 운송에 의한 팽이버섯 품질 하락이 수출에 걸림돌이 되고 있으며, 국내에서 수출한 팽이버섯 일부에서 병원성 식중독균의 일부인 *Listeria monocytogenes* (*L. monocytogenes*) 검출로 미국 내 한국산 팽이버섯 수출 업체 3곳의 제품이 리콜 조치되었다[9].

국내에서는 과일, 채소, 두류, 서류, 버섯 등의 농산물 가공품은 기타 농산가공품으로 분류되며 가열조리를 하지 않고 그대로 섭취하는 비살균 제품에 한하여 대장균(n=5,

*Correspondence to: Se-Ri Kim, Microbial Safety Division, National Institute of Agricultural Sciences, Rural Development Administration, Wanju 55365, Korea
Tel: +82-63-238-3063 Fax: +82-63-238-3840
E-mail: seri81@korea.kr

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.

c=1, m=0, M=10)의 법적 규격이 정해져 있다. 그러나 국내에서는 팽이버섯을 일반적으로 가열 조리하여 섭취하고 있어 현재까지 팽이버섯 섭취로 인한 *Listeria*균 식중독 사고는 보고되지 않았으며, 특히 가열하여 먹는 팽이버섯은 농산물로 구분되어 국내에서는 *Listeria*균에 대한 법적 관리 기준이 제정되어 있지 않다[10]. 반면, 유럽의 경우 생산·포장 단계부터 유통·판매 단계까지 법적관리 기준이 설정되어 있다. 생산·포장 단계에서는 음성/25 g의 기준으로 만족해야하며, 유통·판매 단계에서는 100 CFU/g의 법적 기준을 만족해야 한다[11]. 최근 국내에서 표고, 느타리, 새송이, 팽이, 양송이를 대상으로 진행된 연구에서 팽이버섯에서만 *L. monocytogenes*가 검출된 만큼[12] 팽이버섯 재배공정과정에서 *L. monocytogenes* 오염원을 제거하고 저감화 시킬 수 있는 기술이 필요하다.

팽이버섯은 입병, 살균, 냉각, 접종, 배양, 균긁기, 발이, 권지씌우기, 생육, 수확, 포장 등의 과정을 거쳐 생산하며, 생육 단계 중 저온에 노출되기 때문에 대표적인 저온성 식중독 미생물인 *L. monocytogenes*가 재배 공정 중 생존할 수 있으며, 저온 유통 과정 중 증식 우려가 있다[13]. 최근 연구에서는 유기산 처리시 팽이버섯 내 *L. monocytogenes*를 효과적으로 감소시켰고[14], UVD-LED 3분 처리는 팽이버섯에 오염된 *L. monocytogenes*를 0.8 log CFU/g 감소시킨 것으로 보고되었다[10]. 또한 오염된 권지로부터 팽이버섯으로 교차오염 가능성을 보이면서 권지 표면을 주기적으로 세척, 소독이 필요함을 확인하였으며, 권지씌우기 작업에 사용하는 권지의 거친 면에서 *Listeria*균의 생존율이 높고, 플라스틱 재질인 권지의 경우 화학적 살균처리가 효과적인 것으로 보고되었다[13].

현재 국내에서는 기구 등의 살균소독제가 식품접객 및 제조업소, 집단급식소 등에서 사용되는 식품용 조리 기구나 가공 기계에 오염된 식중독균을 제거하기 위해 적용되고 있다[15]. 국내 살균소독제의 주요 원료 성분은 queartemary ammonium compound (QACs), alcohol, ammonium bicarbonate, sodium hypochlorite, peracetic acid 등으로 대부분 chlorine, alcohol 계통의 살균소독제가 많이 사용되고 있다. 팽이버섯의 생산 공정은 환경, 도구 및 작업자에 의한 교차 오염 발생 가능성이 높으므로 교차오염을 방지하기 위해 팽이버섯 접촉 표면의 *L. monocytogenes* 제어 기술 개발이 필요하지만, 관련 연구는 매우 부족한 실정이다. 또한 살균 소독제의 효과는 미생물과의 접촉시간과 농도, 살균소독제를 사용할 때의 온도, pH, 유기물질, 처리시간 등에 의해 영향을 받기 때문에[16] 효과적인 처리 조건 설정을 위해서는 버섯 유기물의 유무, 처리 농도 및 시간에 따른 살균력을 평가해야만 한다. 특히 팽이버섯 고깔 작업에 사용하는 권지 표면에서 *Listeria*균의 생존이 나타났기 때문에, 본 연구는 권지씌우기를 위한 접착포 표면에 오염된 *L. monocytogenes*을 대상으로 국내 허용 살균소독제 9종의 살균력을 평가하고 최적 처리 농도와 시간을 확인하여 내수 및 수출용 팽이버섯의 안전한 생산에 기여하고자 한다.

Materials and Methods

실험 균주

본 연구에서는 팽이버섯 권지에서 분리된 *L. monocytogenes*

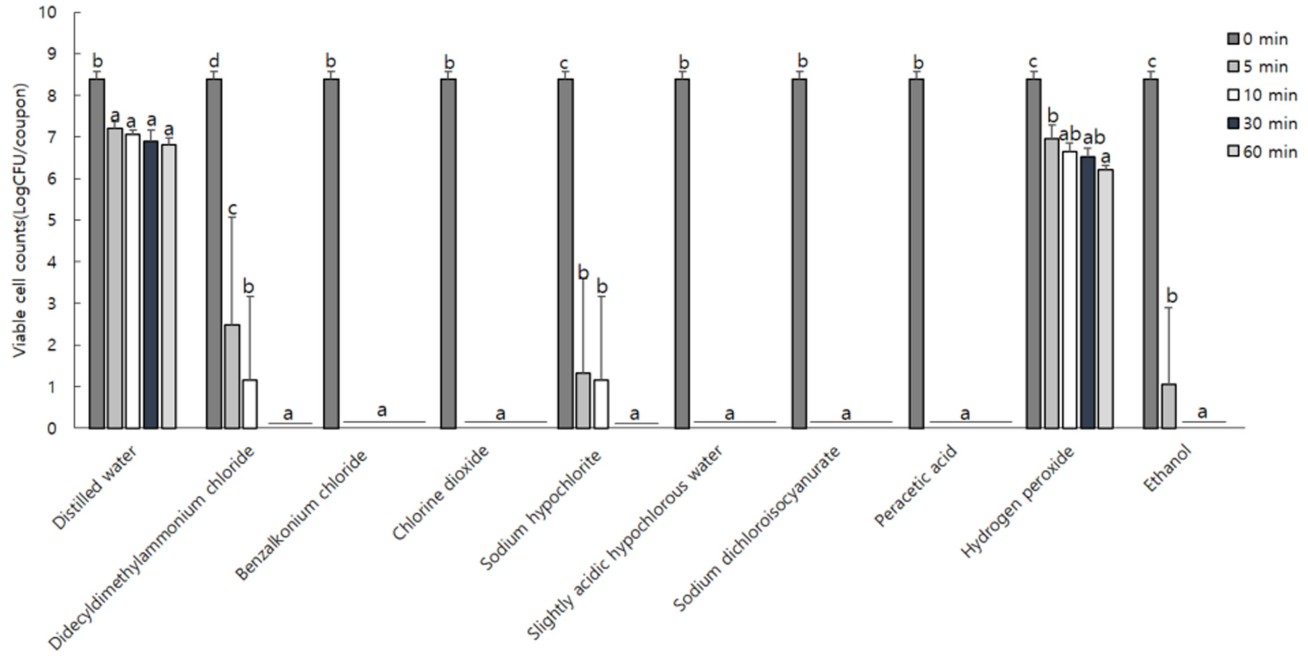

Fig. 1. Effect of antimicrobial agents on survival of *Listeria monocytogenes* on the velcro surface of a plastic wrapper with inoculation into PBS. Bars represent values of triplicate samples.

5균주를 각각 tryptic soy agar (TSA, Difco Laboratories, Detroit, MI, USA)에 배양한 후 실험에 사용 전 *L. monocytogenes* 확인을 위해 시판 중인 Genelix™ *Listeria monocytogenes* real-time PCR detection kit (Sanigen, Anyang, Korea)를 이용하여 제조사에서 제시한 시험방법에 따라 동정하였다. *L. monocytogenes*로 확인된 균주는 tryptic soy broth (TSB, Difco)에 배양한 후 glycerol이 25%가 되도록 첨가하여 -80°C에서 냉동보관하였다. 보관한 균주를 상온에서 해동한 뒤, TSB 10 mL에 *L. monocytogenes* 10 μL를 접종하여 24시간 동안 배양하였다. 배양된 균은 4,500 rpm에서 15분간 원심분리하여 상등액을 제거하고 cell pellet에 phosphate buffered saline (PBS, Difco Laboratories) 또는 버섯추출물 1 mL을 넣어 현탁하였다. PBS 또는 버섯추출물에 현탁한 5개의 균주를 동량 혼합하고 생균수가 7-8 log CFU/mL (OD_{600} >1.0)가 되도록 한 후 본 연구에 사용하였다.

팽이버섯추출물 준비

팽이버섯에서 유래된 영양원에 의한 살균력 차이를 확인하기 위하여 팽이버섯 추출액을 제조하였다. 팽이버섯 100 g에 멸균 증류수 1 L를 가하여 마쇄하고 4,000 rpm에서 5분간 원심분리하여 상등액을 취하였다. 이후 상등액을 0.45 μm 필터(Merck Millipore, Ltd., Cork, Ireland)를 이용하여 1차 여과 후 0.22 μm 필터(Merck Millipore, Ltd.)로 2차 여과하였다. 착즙액은 2%로 희석하여 사용하였고, *L. monocytogenes* 혼합 균주 제조에 사용하였다.

살균소독제 준비

살균소독제는 식품첨가물공전 기구 등의 살균소독제로 허용된 소독제 중 염화-N-데실_N (Sigma-Adrich Co., St. Louis, MO, USA), 염화알킬(Sigma-Adrich Co.), 이산화염소(200 mg/L), 차아염소산나트륨(Sigma-Adrich Co.), 이염화이소시아눌산나트륨(Sigma-Adrich Co.), 과산화초산(Sigma-Adrich Co.), 과산화수소(TCI, Tokyo Chemical Industry CO., Ltd. Tokyo, Japan), 이산화염소(Epiclean, Sungchan, Seoul, Korea), 에탄올(Sigma-Adrich Co.)등 9종의 살균제를 다음과 같은 품목별 최대 허용 농도를 기준으로 준비하였다: 염화-N-데실-N(didecyldimethylammonium chloride, 200 mg/L), 염화알킬(benzalkonium chloride, 200 mg/L,), 이산화염소(chlorine dioxide, 200 mg/L), 차아염소산나트륨(sodium hypochlorite, 200 mg/L), 이염화이소시아눌산나트륨(sodium dichloroisocyanurate, 100 mg/L), 과산화초산(peracetic acid, 315 mg/L), 과산화수소(hydrogen peroxide, 1,100 mg/L), 이산화염소(chlorine dioxide, 200 mg/L), 에탄올(ethanol, 70%). 미산성전해수는 0.1%의 NaCl (Duchsan, Gwangju, Korea)을 무격막식 전해수 생성장치(HBS 3000, HanBio, Incheon, Korea)에 주입하고 60A의 전류를 흘려보내어 pH 5.8의 미산성전해수를 제조하였다. 총 9종의 살균소독제는 소독력을 최대화하기 위해 처리 직전 제조하여 사용하였다. 차아염소산수, 미산성전해수, 이산화염소수에 존재하는 유효염소 농도를 측정하기 위하여 제조사 사용매뉴얼에 따라 유효염소농도측정기(HI 95771, Chlorine DPD, LaMotte, MD, USA)를 사용하였고 과산화초산의 농도는 과산화아세트산 테스트 스트립(Sigma-Aldrich Co.)을 통해 측정하였다.

권지 접착포 표면 균주 접종 및 살균소독제 처리 효과

본 실험에서 사용한 권지 접착포는 팽이버섯 생산공정 단계에서 사용되는 권지를 직접 수거하여 권지 접착포 부분(2×3.5 cm, velcro coupon)을 잘라 UV에 4시간 노출시켜 접착포 표면에 *L. monocytogenes*가 오염되지 않은 것을 확인 후 실험을 진행하였다. 권지 접착포 표면에 부착된 *L. monocytogenes*의 유기물 유무에 따른 살균제 처리 효과 비교를 위하여 PBS와 버섯추출물에 현탁한 *L. monocytogenes* 칵테일 균주의 최종 농도가 6 log CFU/mL이 되도록 희석하였고, 무균대에서 균주 희석액 200 μL를 권지 접착포 표면에 균일하게 접종한 후 2시간동안 건조시켜 *L. monocytogenes*가 표면에 부착할 수 있게 하였다. 살균소독제 처리는 각각의 살균소독제 용액 30 mL을 준비한 뒤 *L. monocytogenes*를 인위 접종한 권지 접착포를 상온에서 살균소독제에 담근 후 5, 10, 30, 60분간 침지하였다. 침지 후 소독제 효과를 중화시키기 위하여 D/E neutralizing broth (Difco Laboratories) 30 mL에 소독제에서 꺼낸 권지 접착포를 넣고 2분간 균질화하였다. 그 중 1 mL을 취하여 10진 희석하고 희석액 100 uL를 PALCAM agar (PALCAM Agar BASE, Oxoid, Hampshire, England) 배지에 도말하여 37°C에서 48시간 배양한 후 계수하였다.

살균소독제 농도별 처리시간 결정

살균소독제 농도별 최적 처리시간을 조사하기 위해 이산화염소수, 차아염소산나트륨, 미산성전해수 25, 50, 100, 200 mg/L으로 준비하였고, 과산화초산의 농도는 37.5, 70, 150, 300 mg/L으로 준비하였다. 각각의 살균소독제 농도별로 5, 10, 30, 60분간 처리하고 살균소독제 효과를 비교하였다. 미생물 저감효과 확인은 앞의 살균소독제 처리효과 실험과정과 동일하다. 살균제에 대한 결과는 감균효과로 나타냈고, 살균제를 처리 전후의 *L. monocytogenes* 수를 측정하여 그 차이를 log reduction으로 나타내었다.

통계처리

모든 실험은 3반복으로 수행되었으며, 관찰된 실험결과의 처리 간 효과는 SAS 통계프로그램(Ver. 9.1, SAS Institute, Cary, NC, USA)의 분산분석(ANOVA procedure)을 이용하여 분석하였다. 처리효과가 유의적인 경우(P<0.05)에는 Duncan test를 이용하여 평균간 다중비교를 하였다.

Results and Discussion

화학적살균제에 의한 *Listeria monocytogenes* 저감 효과

*L. monocytogenes*를 팽이버섯 권지 접착포에 인위적으로 접종한 후 9종의 화학적 살균제에 5, 10, 30, 60분간 침지하여 저감 효과를 나타낸 결과는 Fig. 1과 같다. *L. monocytogenes*에 대한 저감 효과는 모든 소독제에서 처리 시간에 따라 증가하는 경향을 보였다. 특히 염화알킬(benzalkonium chloride, 200 mg/L), 이산화염소(chlorine dioxide, 200 mg/L), 미산성전해수(slightly acidic hypochlorous water, 200 mg/L), 이염화이소시아눌산나트륨(sodium dichloroisocyanurate, 100 mg/L), 과산화초산(peracetic acid, 315 mg/L)은 5분 처리 후 1 log CFU/coupon 미만으로 감소하였고, 염화-N-데실(didecyldimethylammonium chloride, 200 mg/L), 차아염소산나트륨(sodium hypochlorite, 200 mg/L)은 10분 이상 처리시 검출되지 않았다. 한편 과산화수소 처리는 60분 처리시에도 6 log CFU/coupon이상의 *L. monocytogenes*가 생존하는 것으로 나타났다.

유기물 함유에 따른 화학적 살균제의 *Listeria monocytogenes* 저감 효과

농산물에 존재하는 흙, natural microflora 등 유기물질은 소독제의 살균 효과를 저감시킨다고 보고된 바 있다[17]. 따라서 권지 접착포를 포함한 권지 세척시 팽이버섯 유기물의 존재가 살균 소독에 미치는 영향을 확인하고자 연구를 수행하였으며 그 결과는 Fig. 2에 나타난 바와 같이 유기물 존재시 *L. monocytogenes*에 대한 살균제 효과가 감소하는 것으로 나타났다. 유기물이 없는 상태에서 권지 접착포에 접종한 *L. monocytogenes*는 대부분의 화학적 살균제에 높은 감수성을 보인 반면, 버섯배지에 배양한 *L. monocytogenes*는 염화-N-데실, 염화알킬, 이염화이소시아눌산나트륨, 과산화수소 30분 처리 후 4.6, 1.2, 6.5, 2.5 log CFU/coupon의 생균수가 검출되었다. 반면 이산화염소, 차아염소산나트륨, 미산성전해수, 과산화초산은 유기물 존재 여부에 상관없이 *L. monocytogenes*를 처리 시간에 따라 지속적으로 감소시켰고, 10분 이상 처리시 완전히 사멸하는 것으로 나타났다. 살균소독제의 유효성 평가를 위한 현탁액 시험법은 특정균 현탁액과 살균소독제를 반응시켰을 때 그 감소율이 5 log CFU/mL 이상일 때 살균소독력이 있다고 판정한다[18]. 화학적 살균제 9종의 유기물 유무에 따른 살균 효과 확인 실험을 통해 미산성전해수, 차아염소산나트륨, 과산화초산, 이산화염소수를 최종 선발하였고, 유기물 존재하에 권지 접착포 표면에 오염된 *L. monocytogenes* 저감을 위한 최적 농도와 시간을 확인하기 위하여 실험을 진행하였다.

미산성전해수 처리 농도와 시간에 따른 *Listeria monocytogenes* 저감 효과

권지 접착포는 면의 형상에 따라 부드러운 면과 거친면으로 구분하여 분석하였고, 표면에 오염된 *L. monocytogenes*에 대한 미산성전해수 처리 농도와 시간에 다른 저감화 효과를 나타낸 결과는 Fig. 3a와 3b와 같다. 권지 접착포의 부드러운면에 접종된 *L. monocytogenes*는 미산성전해수 25 mg/L에서 5, 10, 30, 60분 처리시 각각 2.4, 3.0, 3.0, 4.4 log CFU/coupon 감소하였고, 50 mg/L 처리시 각각 2.6, 2.9, 4.1, 4.9 log CFU/coupon 감소였다(Fig. 3a). 권지 접착포의 부드러운 표면에 5분간 100 mg/L, 200 mg/L 처

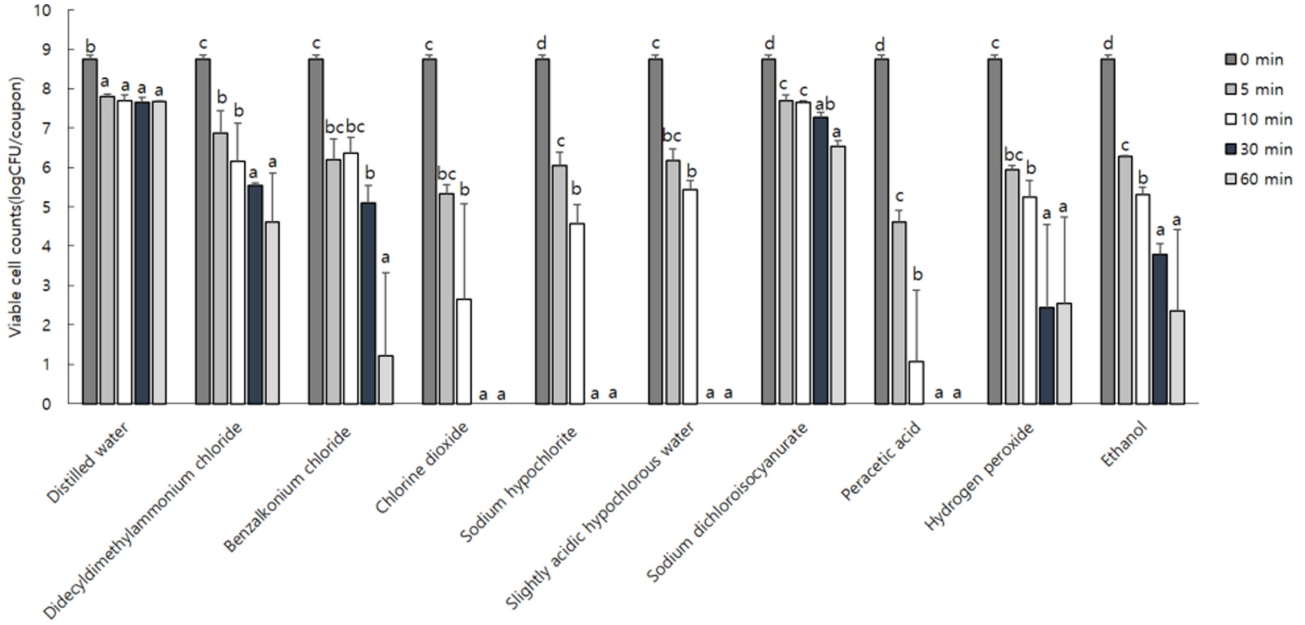

Fig. 2. Effect of antimicrobial agents on survival of *Listeria monocytogenes* on the velcro surface of a plastic wrapper with inoculation into mushroom extract broth. Bars represent values of triplicate samples.

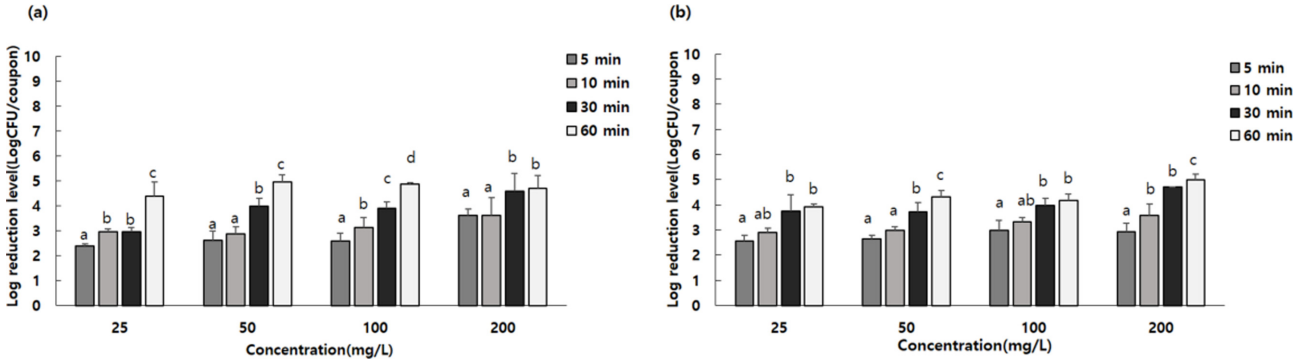

Fig. 3. Antimicrobial activity of slightly acidic hypochlorous water (SAEW) against *Listeria monocytogenes* on smooth (a) and rough (b) surface of velcro used in welding process. Bacterial suspensions (approximately 8 log CFU/mL) were cultured on substrates (smooth and rough surface of velcro) treated with antimicrobial agents. Logarithmic reduction in bacterial load after treatment time, compared with the control substrate without treatment is depicted. Bars represent values of triplicate samples.

리시 *L. monocytogenes*는 초기 접종 균수와 비교하여 각 2.6, 3.6 log CFU/coupon 감소하였고, 10분 처리시에는 100 mg/L에서 3.1 log CFU/coupon, 200 mg/L에서 3.6 log CFU/coupon 감소하였다. 미산성전해수 100 mg/L 60분, 200 mg/L 30분 이상 처리는 권지 접착포 부드러운면에 접종된 *L. monocytogenes*를 4.0 log CFU/coupon 이상 감소시켰다. 권지 접착포의 거친면에 오염된 *L. monocytogenes*에 대한 미산성전해수 살균효과는 부드러운면을 대상으로 한 실험 결과와 유사하였으며, 25 mg/L, 50 mg/L에서 60분 이상 처리 또는 100 mg/L, 200 mg/L에서 30분 이상 처리시 *L. monocytogenes*를 4 log CFU/coupon이상 감소시켰다.

미산성차아염소산수는 강력한 살균기능을 나타내는 OH^-기를 강산성 차아염소산수보다 더 많이 가지고 있으며[19], 다른 전해수들에 비해 작업자가 안전하게 사용이 가능하고 농업 환경에 거의 영향을 주지 않는 장점이 있는 것으로 알려져 있다[20,21]. 또한 다양한 병원균들에 대해 세포내 DNA와 효소에 대한 산화적 손상이나 세포막 파괴 등의 비특이적 살균기작을 가지고 있어 저항성 유발 가능성도 낮을 것으로 예상된다[19,21]. 전기분해수의 살균 원리는 전기분해수가 제조될 때 생성된 HOCl에 의해 살균이 이루어지게 되는데, 이는 해리되지 않은 HOCl 가 cell membrane을 통해 세포내로 침투하게 되면 세포 내에서 해리되어 HCl과 활성산소로 분해되고, HCl은 세포 내 pH를 낮추어 세포가 생육하기 어렵게 유도하면서 살균이 이루어지게 된다[22]. Guentzel 등[23]은 상추 표면에 *Salmonella* Typhimurium에 대한 중성전해수효과를 검정한 결과 100 mg/L에서 10분간 처리시 약 3.4 log CFU/g 감소하였다고 보고하였고 들깻잎에 오염된 *S.* Typhimurium은 100 mg/L 처리시 약 1.9 log CFU/g 감소함을 확인하였다. Park 등[24]은 *S.* Typhimurium, *L. monocytogenes, Escherichia coli* O157:H7등을 약 7 log CFU/g 접종한 양파를 산성전해수로 처리했을 때 유기물이 없는 경우는 6 log CFU/g 이상 감소하지만, 유기물이 존재하는 경우는 1 log CFU/g 미만으로 감소한다고 보고하였다. 표면이 거칠고 굴곡이 있거나 유기물 잔존에 따라 전해수 효과가 낮아진다는 연구 결과로 미루어볼 때, 권지 부착포 표면에 *L. monocytogenes*가 부착한 경우 염소에 대한 노출 지연과 버섯 유기물 등의 보호 작용으로 사멸에 도달하는데 상대적으로 긴 시간이 필요한 것으로 사료된다.

이산화염소수 처리 농도와 시간에 따른 *Listeria monocytogenes* 저감 효과

*L. monocytogenes*에 오염된 권지 부직포의 부드러운면과 거친면을 이산화염소수에 농도별로 5, 10, 30, 60분간 침지한 결과는 Fig. 4a, 4b와 같다. 25 mg/L에서 60분간 침지한 경우 권지 부직포 표면 부착 *L. monocytogenes*는 부드러운면, 거친면 모두에서 1.9 log CFU/coupon 감소하였고 50 mg/L에서 60분 처리시에도 두 개의 재질 표면에서 3 log CFU/coupon 미만의 감소를 보였다. 권지 부직포 표면 부드러운면과 거친면에서 3 log CFU/coupon 이상의 *L. monocytogenes* 감소 효과는 이산화염소수 100 mg/L에서 60분 또는 200 mg/L에서 30분 처리시 확인되었다. 이산화염소는 100% 분자상태로 존재하는 강력한 산화제로 세척 처리시 균의 세포막을 쉽게 투과하여 세포의 반투과성 막과 삼투압을 파괴시켜 미생물을 사멸시키는 것으로 알려져있다[25]. 이산화염소는 기존 염소계 소독제와 비교하여 약 2배 이상의 강한 산화력과 넓은 pH에 걸쳐 유효한 살균 효과를 나타내는 장점과 물에 대한 용해성이 높기에 배추[26], 상추[27], 또는 딸기[28]등 농산물의 표면 살균 처리방법으로 효과적이다. Kim 등[29]의 연구에 따르면 이산화염소 가스를 이용하여 작업장 내부를 소독한 후 *E. coli* 저감 효과를 확인한 결과, 약 10 mg/L을 처리하였을 때 빠른 속도로 감소하기 시작하여 24시간 후에는 균이 검출되지 않았다고 하였다. 작업화 표면에 부착된 *E. coli*에 대해서는 24시간 후 약 4.4 log CFU/plate가 감소되어 표면

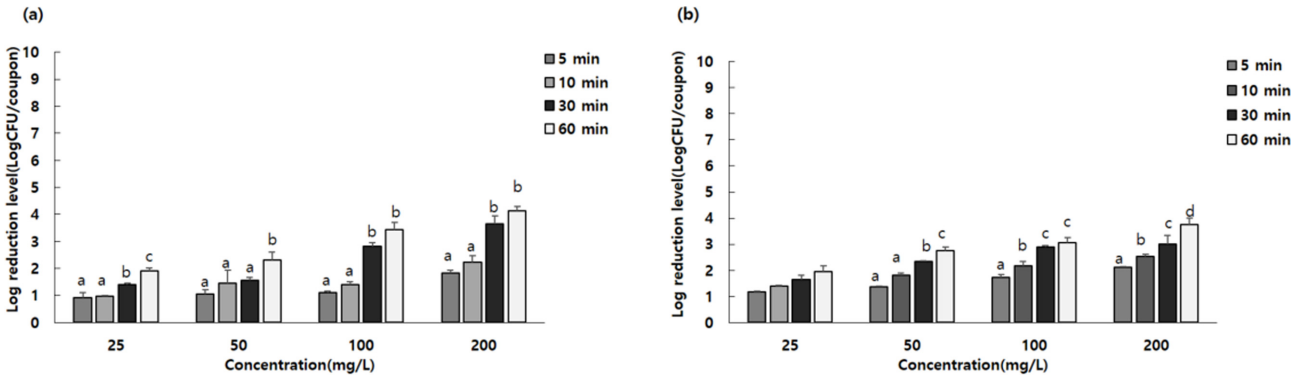

Fig. 4. Antimicrobial activity of chlorine dioxide against *Listeria monocytogenes* on smooth (a) and rough (b) surface of velcro used in welding process. Bacterial suspensions (approximately 8 log CFU/mL) were cultured on substrates (smooth and rough surface of velcro) treated with antimicrobial agents. Logarithmic reduction in bacterial load after treatment time, compared with the control substrate without treatment is depicted. Bars represent values of triplicate samples.

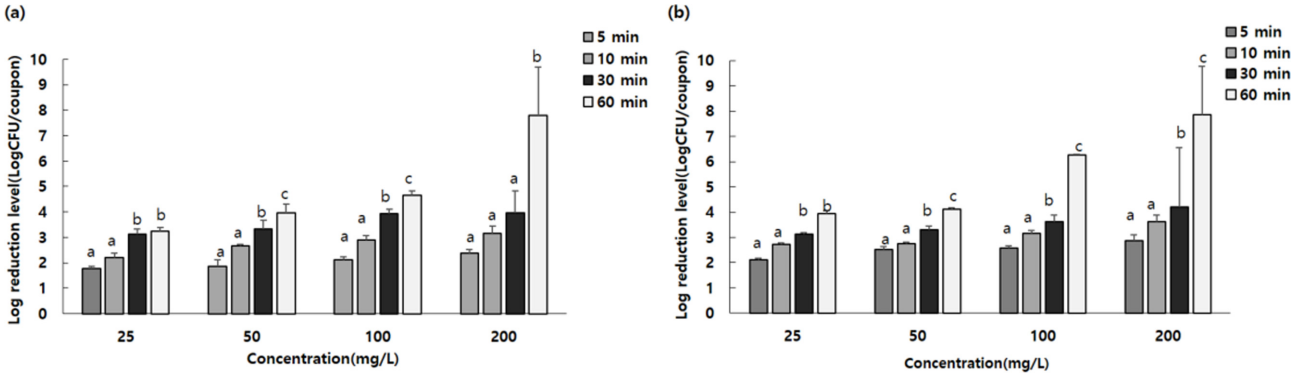

Fig. 5. Antimicrobial activity of sodium hypochlorite against *Listeria monocytogenes* on smooth (a) and rough (b) surface of velcro used in welding process. Bacterial suspensions (approximately 8 log CFU/mL) were cultured on substrates (smooth and rough surface of velcro) treated with antimicrobial agents. Logarithmic reduction in bacterial load after treatment time, compared with the control substrate without treatment is depicted. Bars represent values of triplicate samples.

의 상태에 따라 효과가 다르게 나타날 수 있음을 보고하였다. 본 연구에서는 100 mg/L 이상의 농도에서 효과가 있었는데, 이는 수용액 상태와 가스형태의 차이에서 보이는 차이로 판단되었다.

차아염소산나트륨 처리 농도와 시간에 따른 *Listeria monocytogenes* 저감 효과

권지 부직포 표면 재질에 따른 *L. monocytogenes*에 대한 차아염소산나트륨의 사용 농도와 접촉시간별 처리 효과는 Fig. 5a와 5b에 나타냈다. 차아염소산나트륨의 농도와 접촉시간이 증가할수록 *L. monocytogenes*에 대한 살균소독력이 증가하였다. 권지 부직포의 부드러운 표면에 부착된 *L. monocytogenes*의 초기균수는 8.9 log CFU/coupon이었으나 25 mg/L의 차아염소산나트륨 처리 5, 10, 30, 60분 후에는 각각 2.1, 2.7, 3.1, 3.9 log CFU/coupon 감소하였고, 거친 표면에서는 각각 1.8, 2.2, 3.1, 3.3 log CFU/coupon 감소하였다. 각각의 권지 부직포 표면에 50mg/L 처리 60분 후에는 4 log CFU/coupon 감소하였고 100 mg/L처리 60분 후에는 5 log CFU/coupon이상 감소하였다. 따라서 권지 부직표 거친면과 부드러운면에 부착된 *L. monocytogenes*에 대한 차아염소산나트륨의 살균소독력을 평가한 결과, 허용되는 최대 농도(200 mg/L) 보다 낮은 100 mg/L에서 우수한 균 저감효과를 나타냈다. 차아염소산나트륨은 생으로 먹는 채소 및 과일류 세척뿐만 아니라 식품접촉표면을 살균하는데 사용할 수 있도록 제시하고 있다. 그러나 Choi 등[30]의 연구 결과에서 양상추를 100 mg/L로 5분간 처리하였을 때 병원성 미생물의 감소 효과는 1 log CFU/g 이하였고, Lee 등[31]이 새싹채소에 동일한 농도와 시간으로 처리한 결과, 미생물이 1 log CFU/g 감소하여 미생물 제어 효과가 미비한 것으로 나타났다. 차아염소산나트륨은 강력한 산화력을 가지는 차아염소산(hypoclorous acid, HOCl)을 형성하는데, 이는 미생물의 세포벽을 통과하여 DNA를 손상시키거나, 세포의 대사를 방해하고 효소를 불활성시켜 살균작용을 하는 것으로 알려

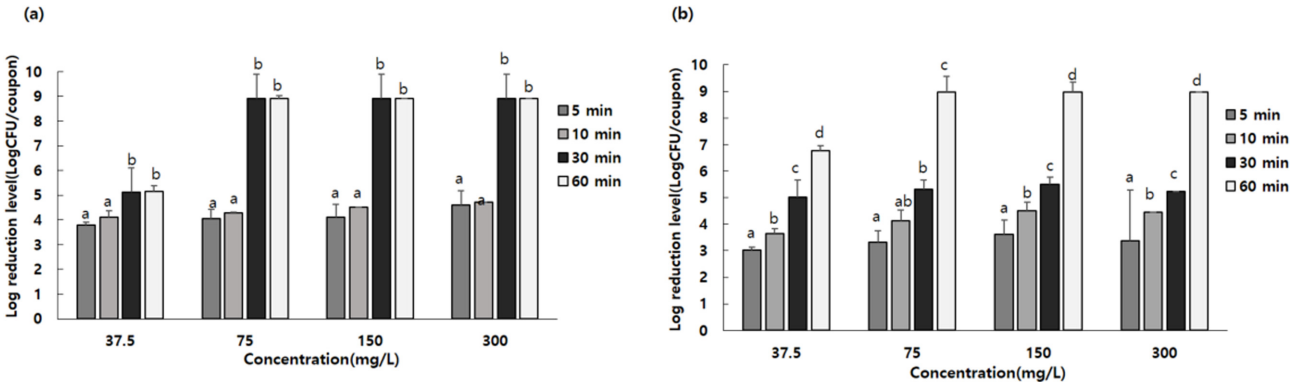

Fig. 6. Antimicrobial activity of peracetic acid against *Listeria monocytogenes* on smooth (a) and rough (b) surface of velcro used in welding process. Bacterial suspensions (approximately 8 log CFU/mL) were cultured on substrates (smooth and rough surface of velcro) treated with antimicrobial agents. Logarithmic reduction in bacterial load after treatment time, compared with the control substrate without treatment is depicted. Bars represent values of triplicate samples.

져 있다[32]. 그러나 염소계 소독제는 식품에 적용시 pH와 유기물 등에 의해 세척효과가 감소하기 때문에 부착포 표면에 *L. monocytogenes*가 오염된 경우 염소에 대한 노출 지연과 버섯 유기물 등의 보호 작용으로 사멸에 도달하는데 상대적으로 긴 시간이 필요한 것으로 사료된다.

과산화초산 처리 농도와 시간에 따른 *Listeria monocytogenes* 저감효과

권지 부착포의 부드러운면과 거친면에 오염된 *L. monocytogenes*에 대한 과산화초산의 처리 농도와 침지 시간별 저감효과를 분석하기 위해 과산화초산 37.5, 75, 150, 300 mg/L을 5, 10, 30, 60분간 처리하였으며 처리한 후 미생물 저감효과를 분석한 결과는 각각 Fig. 6a와 6b와 같다. 과산화초산에 의한 *L. monocytogenes*저감효과는 이산화염소수, 미산성전해수, 차아염소산나트륨보다 우수하였으며, 37.5 mg/L에서 30분간 처리시 부드러운면과 거친면 모두에서 5 log CFU/coupon 이상의 미생물 저감효과가 나타났다. 팽이버섯 중 *L. monocytogenes*를 감소시키기 위해 유기산을 처리하였을 때 초산의 저감 효과가 가장 높은 것으로 나타났으며, 처리 농도가 증가할수록 저감효과가 높아졌다[14]. 과산화초산 기반 소독제는 강한 산화력으로 세균의 세포막을 파괴하고 세포 내 효소, 단백질 등의 용출을 가속화시켜 세포사멸을 이끈다. 저온 환경에서 우수한 항균활성을 보이고 염소계 소독제와는 다르게 chloramine이나 haloquinones과 같은 독성물질을 발생시키지 않기 때문에 안전하게 사용할 수 있는 살균제이다[33]. 특히 과산화초산은 식품접촉표면에서 *L. monocytogenes*의 biofilm 형성능을 억제하고, 유기물질의 존재에 영향을 받지 않기때문에[34,35] 권지 표면을 세척하기 위한 살균소독제로 사용할 수 있다. Lee 등[13]은 플라스틱 권지의 거친면과 매끈한 면에 *L. innocua*를 접종하고 이온클러스터, UV 공기 살균, 증류수를 처리하여 균 저감효과를 보았고, 그 결과 홈이 있는 형상의 재질에 오염된 *Listeria*는 증류수 처리에 의해 1 log CFU/cm^2 이하의 낮은 감소율이 나타났다. 최근 연구에서 3 log CFU/mL로 오염시킨 권지로부터 팽이버섯의 최종 오염도가 3.7 log CFU/mL로 초기 오염도와 유사한 수준을 보여 오염된 권지로부터 팽이버섯 교차오염 가능성이 있음이 확인된 만큼 권지 표면의 주기적인 세척 소독이 중요하다고 할 수 있다.

팽이버섯의 영양학적 가치에 대한 소비자 관심이 증가하고 수출 확대에 따라 팽이버섯의 미생물학적 안전성 확보가 중요하나, 안전관리 부재로 인하여 생산 및 유통 과정 중 미생물의 오염과 장기간 운송에 의한 품질 하락 등의 문제가 제기되고 있다. 팽이버섯의 미생물 오염에 대한 선행연구에 따르면 생산 현장에서 사용하는 시설 및 도구(권지 등)에서 *L. monocytogenes*가 검출되었으며, 권지 표면에 오염된 *L. monocytogenes*는 팽이버섯으로 교차오염된다는 연구 결과도 존재한다. 따라서 팽이버섯 생산 현장에서 미생물 오염을 방지하기 위한 저감 기술 개발이 중요하다. 본 연구에서는 권지 부직포 표면에 오염된 *L. monocytogenes*의 경우 과산화초산 처리로 인하여 오염도를 낮추고 부직포 표면 차이에 상관없이 높은 살균활성을 보였다. 따라서 권지 세척을 위해 증류수보다 과산화초산 같은 살균제 처리가 권지 부직포 표면에 오염된 *Listeria* 저감에 효과적이라고 할 수 있다.

Acknowedgement

본 연구는 농촌진흥청 공동연구사업(과제번호: RS-2023-00230820)의 지원에 의해 이루어졌으며, 이에 감사드립니다.

국문요약

본 연구는 팽이버섯 생산현장에서 사용하는 권지 접착

포에서 팽이버섯으로 *Listeria monocytogenes* 교차오염을 예방하기 위하여 화학적 살균제에 의한 *L. monocytogenes* 저감 효과를 확인하였다. 과산화초산, 미산성전해수, 이산화염소수, 차아염소산나트륨을 10분간 처리했을 때 권지 표면에 부착된 *L. monocytogenes*를 최대 99.99% 이상 저감화시켰고, 이들 4종의 살균소독제는 팽이버섯 유기물 존재 여부에 관계없이 높은 살균능을 보이므로 권지의 세척 소독에 활용가능성이 있음을 확인하였다. 특히 과산화초산은 권지 접착포 거친면과 부드러운면 모두에서 *L. monocytogenes*를 99.999% 이상 감소시킬 수 있으므로 팽이버섯 권지 세척시 30mg/L 이상의 과산화초산에 30분 이상 침지한 후 사용하면 권지에 오염된 *L. monocytogenes*의 교차오염을 예방할 수 있을것으로 사료된다.

Conflict of interests

The authors declare no potential conflict of interest.

ORCID

Kyung Min Park	https://orcid.org/0000-0003-3858-9773
Su-Bin Lee	https://orcid.org/0000-0002-6366-9209
Do-Young Jung	https://orcid.org/0000-0003-1876-2663
Song-Yi Choi	https://orcid.org/0000-0002-5343-2945
Injun Hwang	https://orcid.org/0000-0001-8960-9354
Se-Ri Kim	https://orcid.org/0000-0001-8759-2333

References

1. Chen, M., Cheng, J., Wu, Q., Zhang, J., Chen, Y., Zeng, H., Ye, Q., Wu,S., Cai, S., Wang, J., Ding, Y., Prevalence, potential virulence, and genetic diversity of *Listeria monocytogenes* isolates from edible mushrooms in Chinese markets. *Front. Microbiol*., **9,** 1711 (2018).
2. Lee, Y., Yoon, Y., Seo, Y., Kim, S., Ha, J., Lee, J., Choi, Y., Oh, H., Kim, Y., Kang, J., Park, E., Kim, W.I., Lee, S., Combined enrichment and quantitative polymerase chain reaction to improve sensitivity and reduce time of detection of *Listeria monocytogenes* in mushrooms. *Foodborne Pathog. Dis.,* **17**, 276-283 (2019).
3. Jhune, C.S., Leem, H.T., Yun, H.S., Kong, W.S., Cho, J.H., Sung, G.H., Lee, C.J., The influence on cultivation characteristics of fruiting body of winter mushroom by growing humidity. *J. Mushrooms,* **8**, 116-121 (2010).
4. Bao, H.N., Ushio, H., Ohshima, T., Antioxidative activity and antidiscoloration efficacy of ergothioneine in mushroom (*Flammulina velutipes)* extract added to beef and fish meats. *J. Agric. Food Chem.,* **56,** 10032-10040 (2008).
5. Kim, K.J., Jin, S.W., Choi, B.S., Kim, J.K., Koh, Y.W., Ban, S.E., Seo, K.S., Evaluation of the nutrition properties of *Flammulina velutipes*. *J. Mushrooms,* **14,** 44-50 (2016).
6. Im, J.H., Oh, M.J., Oh, Y.L., Kim, M.S., Lee, Y.S., Breeding of a new cultivar of white *Flammulina velutipes*, 'Seolhan'. *J. Mushroom.,* **19,** 279-284 (2021).
7. Ministry of Agriculture, Food and Rural Affairs, (2021, December 9). Major statistics on Ministry of Agriculture, Food and Rural Affairs. Retrieved from https://mafra.go.kr/bbs/mafra/131/327491/artclView.do
8. Korea Agro-Fisheries & Food Trade Corporation, (2021, October 10). KATI agri-food export information. Retrieved from https://www.kati.net/product/basisInfo.do?lcdCode=MD163
9. Centers for Disease Control and Prevention, (2023, April 4). *Listeria* (Listeriosis) outbreaks. Retrieved from http://cdc.gov/listeria/outbreaks/enoki-mushrooms-03-20
10. Lee, H.K., Jeon, J.H., Lee, J.S., Yoon, S. Y., Kim, W.Y., Yoon, K. S., Effect of control measures on the contamination and growth inhibition of *Listeria monocytogenes* in *Flammulina velutipes*. *J. Mushrooms,* **20,** 78-85 (2022).
11. Lee, J.E., Kim, S.A., Shim, W.B., Occurrence and reduction of *Listeria monocytogenes* in fresh produces. *Safe Food.* **13**, 24-33 (2018).
12. Yang, C.H., Detection of *Listeria monocytogenes* in enoki mushrooms distributed in Korea. Master Thesis., Korea University., Seoul, Korea (2021).
13. Lee, H.D., Yu, B.K., Seo, D.S., Kim, S.R., Lee, C.J., Kwak, K.S., Efficacy of *Listeria innocua* reduction on enoki mushrooms by utilization of an air sterilization device. *J. Mushrooms,* **19**, 210-215 (2021).
14. Kim, S.R, Kim, W.I., Yoon, J.H., Jeong, D.Y., Choi, S.Y., Hwang, I, Rajalingam, N., Growth survival of *Listeria monocytogenes* in enoki mushroom (*Flammulina velutipes*) at different temperatures and antilisterial effect of organic acids. *J. Food Hyg. Saf.,* **35,** 630~636 (2020).
15. Yeon, J.H., Kim, I.J., Park, K.H., Park, B.K., Park, H.K., Park, D.W., Kim, Y.S., Kim, H.I., Jeon, D.H., Lee, Y.J., Ha, S.D., Treatment and effect of sanitizers and disinfectants in animal food manufacturing plant. *Korean J. Food Sci. Technol.,* **38**, 599-603 (2006).
16. Pertti, P., Pentti, K., Anna-Lisa, P., The effectiveness of some disinfectants and detergents against microbial activity. *Bldg. Environ.,* **32**, 281-287 (1997).
17. Park, E.J., Alexander, E., Taylor, G.A., Costa, R., Kang, D.H., The decontaminative effects of acidic electrolyzed water for *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* Typhimurium, and *Listeria monocytogenes* on green onions and tomatoes with different organic demands. *Food Microbiol.,* **26**, 386-390 (2009).
18. European Committee for Standardization (CEN), Chemical disinfectants and antiseptics (Phase2, step1), CEN, EN 1276, British Standards Institution, Winterthur, Switzaland (1997).
19. Xiong, K., Liu, H., Liu, R. and Li, L., Differences in fungicidal efficiency against *Aspergillus flavus* for neutralized and acidic electrolyzed oxidizing waters. *Int. J. Food Microbiol.,* **137**, 67-75 (2010).
20. Issa-Zacharia, A., Kamitani, Y., Morita, K., Iwasaki, K., Sanitization potency of slightly acidic electrolyzed water against

pure cultures of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*, in comparison with that of other food sanitizers. *Food Control,* **21,** 740-745 (2010).
21. Jeong, K.J., Park, S.G., Sterilization effect of electrolyzed oxidized water by electrochemical methode. *J. Indust. Sci. Technol.,* **12**, 119-123 (2012).
22. John, G., 1997. Essentials of food microbiology, 2nd ed, Arnold Publishers, London, UK, pp. 97-98.
23. Guentzel, J.L., Lam, K.L., Callan, M.A., Emmons, S.A., Dunham, V.L., Reduction of bacteria on spinach, lettuce, and surfaces in food service areas using neutral electrolyzed oxidizing water. *Food Microbiol.*. **25,** 36-41 (2008).
24. Park, E.J., Alexander, E., Taylor, G.A., Costa, R., Kang, D.H., The decontaminative effects of acidic electrolyzed water for *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* Typhimurium, and *Listeria monocytogenes* on green onions and tomatoes with different organic demands. *Food Microbiol*., **26**, 386-390 (2009).
25. Junli, H., Li, W., Nanqi, R., Li, L. X., Fun, S. R., Guanle, Y., Disinfection effect of chlorine dioxide on viruses, algae and animal planktons in water. *Water Res.,* **31**, 455-460 (1997).
26. Park, S.S., Sung, J.M., Jeong, J.W., Park, K.J., Lim, J.H., Efficacy of electrolyzed water and aqueous chlorine dioxide for reducing pathogenic microorganism on Chinese cabbage. *Korean J. Food Sci. Technol.,* **44,** 240-246 (2006).
27. Singh, N., Singh, R.K., Bhunia, A.K., Stroshine, R.L., Efficacy of chlorine dioxide, ozone, and thyme essential oil or a sequential washing in killing *Escherichia coli* O157:H7 on lettuce and baby carrots. *LWT-Food Sci. Technol.,* **35**, 720-729 (2002).
28. Kim, J.Y., Kim, H.J., Lim, G.O., Jang, S.A., Song, K.B., Effect of combined treatment of ultraviolet-C with aqueous chlorine dioxide or fumaric acid on the postharvest quality of strawberry fruit "Flamengo" during storage. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.,* **39**, 138-145 (2010).
29. Kim, H.J., Shin, J,, Kim, J,, Yang, J.Y., Effect of gaseous chlorine dioxide on sterilization in industrial food-holding cabinets. *J. Food Hyg. Saf.,* **34**, 170-177 (2019).
30. Choi, M.R., Lee, S.Y., Inhibitory effects of chlorine dioxide and a commercial chlorine sanitizer against foodborne pathogens on lettuce. *Korean J. Food Cook. Sci.,* **24**, 445-451 (2008).
31. Lee, H.H., Hong, S.I., Kim, D.M., Effect of postharvest treatments on storage quality of buckwheat sprouts. *Korean J. Food Sci. Technol.,* **43**, 98-104 (2011).
32. Fukuzaki, S., Urano, H., Yamada S., Mechanism of the removal of adhered bacterial cells by cleaning with sodium hypochlorite. *Current Adv. Mater. Processes.*, **18**, 1044-1045 (2006).
33. Olmez, H., Kretzschmar, U., Potential alternative disinfection methods for organic fresh-cut industry for minimizing water consumption and environmental impact. *LWT-Food Sci. Technol.,* **42,** 686-693 (2009),
34. Aarnisalo, K., Salo, S., Miettinen, H., Suihko, M., Wirtanen, G., Autio, T., Lunden, J., Korkeala, H., Sjorberg, A., Bactericidal efficiencies of commercial disinfectants against *Listeria monocytogenes* on surfaces. *J. Food Saf.*, **20**, 237-250 (2000).
35. Brinez, W.J., Roig-Sagues, A.X., Hernandez Herrero, M.M., Lopez-Pedemonte, T., Guamis, B., Bactericidal efficacy of peracetic acid in combination with hydrogen peroxide against pathogenic and non pathogenic strains of *Staphylococcus* spp., *Listeria* spp. and *Escherichia coli*. *Food Control,* **17**, 516-521 (2006).