pISSN 1229-1153 / eISSN 2465-9223 *J. Food Hyg. Saf.*
Vol. 35, No. 5, pp. 495~502 (2020)
https://doi.org/10.13103/JFHS.2020.35.5.495

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

신선편의 냉장·냉동 과채류에서 *Listeria monocytogenes*의 예측모델 개발

김근향 · 임주영 · 김연호 · 양소영 · 윤기선*
경희대학교 식품영양학과

Development of Predictive Models of *Listeria monocytogenes* in Fresh-Cut Fruits and Vegetables

Geun Hyang Kim, Ju Young Lim, Yeon Ho Kim, So Young Yang, Ki Sun Yoon*
Department of Food and Nutrition, Kyung Hee University, Seoul, Korea

(Received August 20, 2020/Revised October 3, 2020/Accepted October 12, 2020)

ABSTRACT - Processing fresh produce into fresh-cut products increases the risk of bacterial growth and contamination by breaking the exterior barrier of produce. Our objective in this study was to develop predictive models of *Listeria monocytogenes* in the fresh-cut salad, fresh-cut pineapple, and frozen mango. Predictive growth and survival models were developed to predict the change of *L. monocytogenes* populations in the fresh-cut salad (4, 10, 12, 13, 17, 25, and 36°C), fresh-cut pineapple (4, 10, 17, 25, 30, and 36°C), and frozen mango (-2, -10 and -18°C) as a function of temperature. The growth of *L. monocytogenes* in fresh-cut salad and pineapple was observed at above 13°C and 10°C, respectively. The growth of *L. monocytogenes* in pineapple was faster than in salad. The delta value of *L. monocytogenes* in frozen mango increased as the storage temperature decreased. The results indicate that *L. monocytogenes* behave differently according to the physicochemical properties of fresh-cut fruits and vegetables. Since *L. monocytogenes* grow and survive well in refrigerated and frozen conditions, management programs and preventive controls for the processing of fresh-cut produce should be effectively implemented to enhance the safety of fresh-cut fruits and vegetables at retail markets.

Key words : *Listeria monocytogenes*, Fresh-cut salad, fresh-cut pineapple, Frozen mango, Predictive model

최근 우리나라의 사회구조 변화로 인한 인구의 고령화, 핵가족화의 보편화와 여성의 사회 참여 증가는 소비자들의 식생활에도 많은 변화를 일으켰다. 외식 및 가정 외에서 제조한 식품을 구매하는 소비 형태가 증가하고 있고[1], 건강에 대한 관심이 증가함에 따라 자연 상태의 식품을 섭취하고자 하는 요구가 커지면서 과일, 채소와 같은 신선식품에 편의성이 결합된 신선편이(편의) 등의 최소 가공식품 시장의 규모가 꾸준히 증가하고 있다[2]. 우리나라의 신선편이 농산물 시장 규모는 8,089억 원으로 추산되고 있으며, 그 규모는 점차 증가할 것으로 평가되고 있다[3]. 특히 신선편의 샐러드, 파인애플, 냉동망고와 같은 과채류는 영양적인 기능은 물론, 현대 소비자의 요구에 부합하는 편의성, 경제성까지 갖추고 있어 이들은 신선편이 농산물 및 과채 가공품 소비 시장에서 높은 점유율을 가지고 있다[4]. 그러나 이러한 신선편이 농산물의 경우 자연식품 특성상 대부분이 가열처리 없이 제품화되며 제조 시 교차오염의 위험이 있기 때문에[5] 제조 가공 중 위생 안전 시스템이 확보되지 않을 경우, 심각한 식중독 사고를 유발할 가능성이 매우 높다.

우리나라를 비롯한 국외에서도 과채류에서 식중독균의 검출 및 식중독 사고는 끊임없이 발생하고 있는 추세이다. 미국에서는 1993년-2013년 20년간 보고되는 식중독 건의 절반가량이 과일과 견과류, 녹색 채소 및 기타 식물성 식품에 의해 유발되는 것으로 나타났다[6]. 팽이버섯, 당근, 방울토마토 등의 과채류에서 *Listeria monocytogenes*가 검출되었고[7,8] 2011년 멜론으로 인한 리스테리아 중독증으로 147명이 감염되고 33명이 사망하는 사건이 발생하였다[9].

*Correspondence to: Ki Sun Yoon, Department of Food and Nutrition, College of Human Ecology, Kyung Hee University, Kyungheedae-ro 26, Dongdaemun-gu, Seoul 02447, Korea
Tel.: +82-2-961-0264,
E-mail: ksyoon@khu.ac.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.

유럽에서는 샐러드와 냉동채소에서 *L. monocytogenes*가 검출되거나 식중독을 유발한 사례가 보고되었으며[10,11], 국내에서도 샐러드에서 *Escherichia coli, Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus* 등의 검출이 보고되었다[12]. 이와 같은 병원성 미생물은 채소 및 과일을 세척하는 과정에서도 완벽하게 제거되지 않아 다양한 식중독을 야기할 수 있다[13].

병원성 미생물 중 *L. monocytogenes*의 경우 -0.4–50°C의 광범위한 생육온도를 가지고 있고, 4.2–7.0의 pH 범위에서도 생장이 가능하다[14]. 이처럼 *L. monocytogenes*는 열악한 조건에서도 생존이 가능하고 냉장 및 냉동식품에서 *L. monocytogenes*로 인한 식중독 발생 사례가 보고되고 있어[10,15] 일반적으로 냉장온도로 유통되는 신선편이 농산물의 경우 *L. monocytogenes*에 의한 잠재적 위험이 높다. 국내에서는 훈제 연어[16], 신선채소[17], 돈육[18], 소시지[19]에서 *L. monocytogenes* 성장예측모델에 관한 연구는 보고되었으나 과채류에서의 연구는 매우 부족한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 신선편의 샐러드, 파인애플 및 과채 가공품 중 최근 대형마트 및 백화점 등 소비시장에서 수요량이 높은 냉동망고에서 *L. monocytogenes*의 생장, 사멸을 예측할 수 있는 모델 개발을 통해 냉장 및 냉동 유통되는 신선편의 과채류의 안전관리 기준설정의 적절성 및 *L. monocytogenes* 식중독 발생 가능성을 평가하기 위해 수행되었다.

Materials and Methods

실험 재료

본 실험에서 사용한 시료는 대형마트에서 판매량이 높은 신선편의 샐러드, 파인애플, 냉동망고를 시료로 구입하였으며 식품 공전 시험법을 이용하여 *L. monocytogenes*가 오염이 되지 않았음을 확인 후, 본 연구의 대상 시료로 선정하였다. 각각의 시료들은 무균 작업대(CB200B, Vision Scientific, Daejeon, Korea) 안에서 10 g씩 무균적으로 채취하였다.

시험 균주 및 균액 제조

본 실험에서 사용된 균주는 한국미생물보존센터(KCCM)에서 분양받은 *L. monocytogenes* (ATCC 19111, 15313)와 국내 훈제연어에서 분리된(serotype 1/2a) 균주를 사용하였다. 균주는 각각 20% glycerol이 첨가된 멸균 tryptic soy broth (TSB, MB cell, Seoul, Korea)에 냉동 보관(-80°C)하여 사용하였다. 10 μL의 *L. monocytogenes*는 0.6% yeast extract가 포함된 TSB에 접종하여 24시간 동안 36°C, 140 rpm에서 rotary shaker (VS-8480, Vision Scientific)를 사용하여 전배양 시켰다. 전배양 된 균주 3종을 동일 양을 혼합하여 1 mL를 멸균된 0.1% peptone water (Difco™ Peptone Water, Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ, USA)를 이용하여 10진 희석 후 사용하였다.

균 접종 및 균수 측정

L. monocytogenes 칵테일 균주를 각각의 시료(신선편의 샐러드, 파인애플, 냉동망고) 표면에 100 μL를 접종하여 초기농도가 3-4 log CFU/g이 되도록 한 후 호기포장 하였다. 각각의 시료에서 *L. monocytogenes*의 행동 양상을 고려해서 신선편의 샐러드는 4, 10, 12. 13, 17, 25, 36°C, 파인애플은 4, 10, 17, 25, 30, 36°C 냉동망고는 -2, -10, -18°C 온도에서 유통기한을 고려하여 샐러드와 파인애플은 최대 10일 동안, 냉동망고는 3달간 저장시간에 따른 균수의 변화를 확인하였다. *L. monocytogenes*의 성장, 사멸 변화 측정은 저장온도에 따라 일정 시간대별로 각 시료를 멸균백(Filterbag 400, Jinsung Uni-tech, Goyang, Korea)에 채취하여 0.1% peptone water와 함께 stomacher (Bagmixer 400, Interscience, Saint Nom, France)로 2분간 균질화 한 후, 이 중 시험 원액 1 mL를 9 mL의 0.1% peptone water로 10진 희석하여 사용했다. 적당한 농도의 희석 액을 신선편의 샐러드는 PALCAM agar (PALCAM agar, MB Cell)에 파인애플과 냉동망고는 0.6% yeast extract가 포함된 tryptic soy agar (TSA, Kisan Bio, Seoul, Korea)에 각각 분주하였다. PALCAM agar 및 TSA는 37°C에서 24-48시간 배양하였으며, colony counter (Scan 1200, Interscience)를 사용하여 형성된 집락수를 계수하여 균체 개수를 Colony Forming Unit (CFU)으로 표시하였다.

행동예측 모델 개발

본 실험에서는 각 온도에서 *L. monocytogenes*의 1차 성장 예측모델 개발을 위해서 Modified Gompertz model 공식을 이용하였고[20] Graphpad prism v7.3 (Graph pad software, San Diego, CA, USA) 프로그램을 사용하여 유도기(Lag time, LT), 최대 증식 속도(maximum specific growth rate, SGR), 최대 개체 군밀도(maximum population density, MPD)를 산출하였다. 생존사멸곡선은 Weibull model 식을 이용하였고, Gina Fit V 1.5 program[21]을 사용하여 사멸 모델의 변수인 delta와 p값을 산출하였다.

Modified Gompertz model:

$$Y=N_0+C*\exp(-\exp((2.718*SGR/C)*(LT-X)+1))$$

N_0: log initial number of cells
C: difference between initial and final cell numbers
LT: delay before growth, same units as X
SGR: maximum specific growth rate (log CFU/h)
X: sampling time
Y: log cell number (CFU/mL)

Weibull model: $\text{Log (N)}= \log10(N_0)-(t/\text{delta})^p$
delta: treatment time for the first decimal reduction
N_0: log initial number of cells

t: time
p: shape

온도 변화에 따라 개발된 1차 모델의 유도기(LT)와 최대증식속도(SGR), 최대개체군밀도(MPD)는 Davey model[22], Square root model[23], Polynomial second order model[24] 공식을 이용하여 온도 변화에 따른 2차 예측 모델을 각각 개발하였다.

Davey model : $Y=a+(b/T)+(c/T^2)$
Y: lag time (h)
a, b, c: constant
T: Temperature

Square-root model : $Y= \{b(T-Tmin)\}^2$
Y: maximum specific growth rate (log CFU/h)
b: constant
T: Temperature

Polynomial second order model : $Y=a+(b*T)+(c*T^2)$
Y: maximum population density (log CFU/g)
a, b, c: constant
T: Temperature

예측 모델의 적합성 평가

신선편의 샐러드와 파인애플의 실험값을 통해 얻어진 예측모델이 다른 식품에도 적용 가능한지에 대한 모델 적합성 검증실험(extrapolation)을 진행하였다. 본 연구에서는 모델 개발 실험에 사용하지 않은 동일 식품 그룹 중 소비량이 높은 배와 파프리카가 포함된 샐러드를 모델검증 시료로 활용하여 10, 25°C에서 LT, SGR 값을 산출하였다. LT, SGR 각각에 대하여 bias factor (B_f), accuracy factor (A_f), Root Mean Square Error (RMSE)를 다음 수식을 이용하여 계산하였다[25-27].

$$B_f \text{ for LT } = 10^{\sum \log(\text{predicted}/\text{observed})/n}$$
$$A_f \text{ for LT } = 10^{\sum |\log(\text{predicted}/\text{observed})|/n}$$
$$B_f \text{ for SGR } = 10^{\sum \log(\text{observed}/\text{predicted})/n}$$
$$A_f \text{ for SGR } = 10^{\sum |\log(\text{observed}/\text{predicted})|/n}$$
$$\text{RMSE} = \sqrt{\frac{\sum(observed-predicted)^2}{n}}$$

위의 식에서 n은 실험값(독립된 변수에서 각각 얻어진 값) 또는 예측값(개발된 성장모델에서 얻어진 값)의 총수를 나타낸다. B_f는 실험값과 2차 모델 식에서 산출된 예측값의 상대적 편차를 측정한 지표로 B_f 값이 0.7보다 작거나 1.15보다 큰 경우 개발된 모델이 다른 식품에 적용하기에는 적합하지 않은 것으로 판단한다. 또한, B_f는 개발된 모델이 사용하기에 안전한 모델(fail-safe, B_f<1)인가, 위험한 모델(fail-dangerous, B_f>1)인가를 평가하는 척도로도 사용된다. A_f는 예측 값과 측정된 실험 값 차이의 절대 값을 평가하는 지표로서, 1에 가까울수록 모델 적합성이 높음을 의미하고 A_f 값이 1에서 멀어질수록 개발된 모델의 부정확성을 나타낸다. RMSE는 실험을 통해 얻은 값과 예측 값과의 차이를 통해 얻을 수 있는 수치로 0에 가까울수록 개발된 모델의 적합도가 높아진다.

통계분석

모든 실험은 SAS version 9.3 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) 통계 프로그램을 활용하여 분석하였다. 각각의 그룹 간의 유의적인 차이는 t-test를 이용하였고, 시료별 온도에 따른 LT, SGR, MPD값은 One-Way ANOVA 분석을 실시하였다. 시료 간의 유의성이 있는 경우 Duncan의 다중범위검정(Duncan's multiple range test)을 이용하여 사후검증을 실시하여 P<0.05 수준에서 유의성을 검정하였다.

Results and Discussion

신선편의 샐러드와 파인애플에서 온도에 따른 *L. monocytogenes*의 1차 행동 예측 모델 개발

신선편의 샐러드(pH 6.42)에 접종된 *L. monocytogenes* 균주를 4–36°C 사이에 저장하여 보관 온도에 따른 행동 변화 분석 결과는 Table 1과 같다. 본 연구에서 사용한 신선편의 샐러드의 주요 구성 엽채류는 양배추, 양상추, 적채 등으로 이루어진 샐러드였는데 본 시료에 접종한 *L. monocytogenes*의 경우 12°C 이하의 냉장 온도에서는 증식이 관찰되지 않았으므로 13–36°C의 범위에서 1차 성장 예측 모델을 개발하였다. 이와 같은 결과는 절단 채소에서 *L. monocytogenes*의 성장이 냉장 온도인 4°C에서 이루어지지 않았다는 선행연구 결과와 일치하였고[28] 상추에서 *L. monocytogenes*의 성장이 10°C 이상의 온도에서 확인된 선행연구[29] 결과와 비교했을 때 본 연구에서는 약간 더 높은 온도인 13°C부터 *L. monocytogenes*의 성장이 관찰이 되어 다소 차이를 보였지만, 선행연구 및 본 연구 모두 4°C에 저장된 절단 채소류에서 *L. monocytogenes*의 성장이 관찰되지 않았다.

13, 17, 25, 36°C 각각의 온도에서 개발된 1차 성장 예측 모델에서 유도기(LT), 최대증식속도(SGR) 및 최대개체군밀도(MPD)를 산출하였다. *L. monocytogenes*가 13°C에 저장된 신선편의 샐러드에서 38.95시간의 유도기 이후 증가하기 시작하여 5.38 log CFU/g까지 성장하였으며, 17°C에서는 16.11시간, 25°C에서는 4.45시간, 36°C에서는 1.63시간의 유도기를 거쳐 각각 5.81, 6.10, 5.75 log CFU/g 까

Table 1. Observed values for lag time, specific growth rate and maximum population density of *L. monocytogenes* in fresh-cut salad and pineapple

Temp. (°C)	LT[1)]		SGR[2)]		MPD[3)]	
	Salad	Pineapple	Salad	Pineapple	Salad	Pineapple
4			NG[4)]			
10	NG	48.54±0.98[a]	NG	0.09±0.02[c]	NG	5.63±0.01[c]
13	38.95±2.52[a]	-	0.02±0.00[c]	-	5.38±0.05[c]	-
17	*16.11±1.24[b]	*7.22±0.19[b]	0.05±0.00[c]	0.12±0.04[c]	*5.81±0.08[b]	*7.48±0.15[b]
25	4.45±1.03[c]	2.51±0.07[c]	*0.13±0.01[b]	*0.23±0.01[ab]	*6.10±0.02[a]	*7.46±0.06[b]
30	-	1.18±0.28[c]	-	0.22±0.00[b]	-	8.29±0.07[a]
36	1.63±0.55[c]	0.66±0.06[c]	0.28±0.02[a]	0.30±0.01[a]	*5.75±0.08[b]	*8.29±0.12[a]

[1)] LT: Lag time (hour). [2)] SGR: Specific growth rate (log CFU/hour).
[3)]MPD: Maximum population density (log CFU/g). [4)] NG: No growth.
[a-e] Mean values in a column within different letters are significantly different by Duncan's multiple range test at $P<0.05$.
Mean values marked with* in each row within each parameter are significantly different by t-test at $P<0.05$.

지 성장하였다. 신선편의 샐러드에 오염된 *L. monocytogenes*는 36°C에서 조차도 최대 성장을 보이지 않았다. 최대증식속도(SGR)값은 13, 17, 25, 36°C에서 0.02, 0.05, 0.13, 0.28 log CFU/h로 나타났으며 13°C와 17°C 사이에서 유도기는 2배 이상의 차이가 있어 통계적으로 유의적인 차이를 보였다. 반면, 25°C 이상의 고온에서는 유도기가 유의적인 차이가 나타나지 않은 것에 비해 최대증식속도는 유의적인 차이가 있는 것으로 확인되어(P<0.05) 높은 온도는 신선편의 샐러드에서 *L. monocytogenes* 최대증식속도에 더 큰 영향을 미치는 것으로 확인되었다.

파인애플(pH 4.22)에 접종한 *L. monocytogenes*의 경우 4°C에서는 *L. monocytogenes*의 증식이 관찰되지 않아 10–36°C의 범위에서 1차 성장 예측모델을 개발하였다. 이는 파인애플이 포함된 절단 과일을 4°C에서 보관 시 *L. monocytogenes*의 성장이 제한된다는 선행 연구[30)]의 결과와 일치한다. 10, 17, 25, 30, 36°C 각각의 온도에서 Modified Gompertz model을 이용하여 온도별 성장 곡선을 구축한 결과, 신선편의 샐러드와 마찬가지로 파인애플에서도 *L. monocytogenes*의 LT값은 온도가 높아짐에 따라 반비례적으로 감소하고, SGR값은 증가하여, 저장 온도가 높아질수록 *L. monocytogenes*가 빠르게 증식하였다(Table 1). 파인애플에 접종된 *L. monocytogenes*는 10, 17, 25, 30, 36°C에서는 48.54, 7.22, 2.51, 1.18, 0.66시간의 유도기를 거쳐 각각 5.63, 7.48, 7.46, 8.29, 8.29 log CFU/g 까지 증식하여 평균 MPD는 7.43 log CFU/g로 신선편의 샐러드의 평균 MPD인 5.76 log CFU/g와 2 log CFU/g 차이를 보였다. 최대증식속도(SGR)값은 각각 온도별로 0.09, 0.12, 0.23, 0.22, 0.30 log CFU/h로 나타났다.

본 실험에서 17, 25, 36°C에 저장한 샐러드와 파인애플에서 *L. monocytogenes*의 성장 패턴을 비교한 결과(Table 1), 17°C에 저장한 신선편의 샐러드에서 16.11시간의 LT값을 가지고, 파인애플의 LT값은 7.22로 나타나 신선편의 샐러드에서 *L. monocytogenes*의 유도기가 파인애플에서의 유도기의 2배 이상인 것으로 나타났다. 그러나 17°C에서 SGR값은 두 시료 간 유의적인 차이가 없었다(P<0.05). 25°C에서는 파인애플의 SGR값이 신선편의 샐러드의 SGR값보다 유의적으로 높았다. MPD의 경우 17, 25, 36°C 모든 온도에서 두 시료 간의 유의적인 차이를 보였는데 파인애플에서 *L. monocytogenes*는 최대 8 log CFU/g 까지 증식하는 것을 확인하였다.

신선편의 샐러드와 파인애플에서 온도에 따른 *L. monocytogenes*의 2차 행동 예측 모델 개발

샐러드와 파인애플에서 *L. monocytogenes* 의 1차 성장 예측모델의 LT, SGR 및 MPD에 대한 2차 성장예측모델은 각각 Davey model, Square-root model 및 Polynomial second order model을 이용하여 개발하였다(Fig. 1). 1차 성장예측모델의 LT, SGR 및 MPD값을 이용하여 개발된 2차 성장예측모델의 적합성을 나타내는 R^2 값은 샐러드와 파인애플에서 모두 0.9 이상으로 나타나 개발된 2차 모델이 대상 시료에서 *L. monocytogenes*의 성장을 예측하기에 적합한 것으로 나타났다.

본 실험에서 사용한 신선편의 샐러드의 pH는 6.42로 파인애플의 pH 4.22보다 *L. monocytogenes*의 성장 가능성이 더 크다. 그러나 본 연구의 결과에 따르면 *L. monocytogenes*는 신선편의 샐러드에서 유도기가 더 길고 느리게 성장함을 확인할 수 있었다. 이는 세척소독을 하지 않은 대조군과 비교했을 때 세척, 소독처리를 한 양배추에서 *L. monocytogenes*의 유도기가 증가하고 증식속도는 감소했다는 선행연구의 결과[31)]처럼, 본 연구에서 사용한 신선편의 샐러드는 제품 특성상 위와 같은 세척소독 전처리 과정이 포함되어 있어 *L. monocytogene* 성장에 영향을 준 것으로

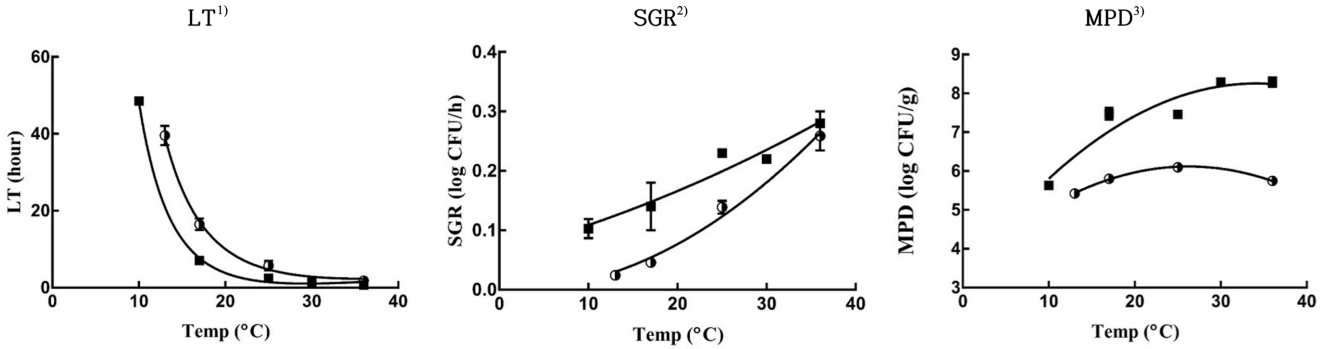

Fig. 1. Secondary models of *L. monocytogenes* in fresh-cut salad and pineapple as a function of temperature.
Salad (◑), Pineapple (■).
[1)] LT: Lag time (hour), [2)] SGR: Specific growth rate (log CFU/hour), [3)] MPD: Maximum population density (log CFU/g).

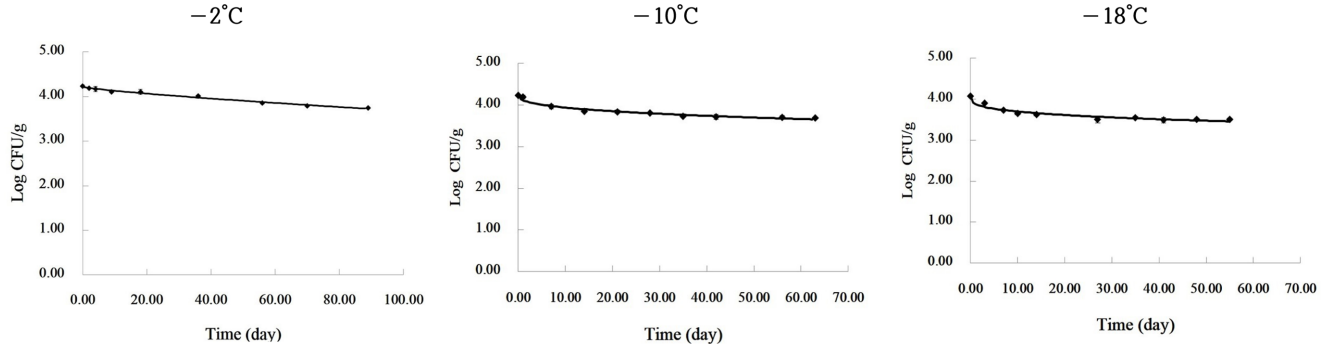

Fig. 2. Survival curves of *L. monocytogenes* in frozen mango as a function of temperature.

사료된다(Fig. 1).

현재 신선편의 샐러드와 파인애플의 유통온도는 10°C 이하의 냉장 온도로 설정되어 있다. 선행 연구[32)]의 보고에 의하면 가정에서의 실측 냉장 온도가 최대 14°C까지 기록되며 일정하게 유지되고 있지 않는 실정이다. 본 연구 결과에 따라 샐러드에서 13°C, 파인애플에서 10°C 이상부터 증식하는 *L. monocytogenes*가 이들 식품에 오염이 된다면 충분히 증식 가능성이 있어 식중독 발생 가능성이 있다. 특히 *L. monocytogenes*는 임산부 등 면역이 저하된 고위험군에게는 매우 치명적일 수 있어 주의가 요망된다. 따라서 두 식품 모두 안전하게 섭취하기 위해서는 법정 유통 온도를 준수하고, 생산과정에서 오염을 예방하고 유통환경에서 보관 가능한 시간 관리를 통해 미생물의 증식을 효과적으로 억제해야 하며 고위험군에 대한 안전한 식품 선택 및 관리에 대한 교육이 필요할 것으로 사료된다.

즉석 섭취 냉동망고에서 냉동온도에 따른 *L. monocytogenes*의 행동 예측 모델 개발

본 실험에서 사용한 *L. monocytogenes* 균주는 즉석섭취 냉동망고에 접종하여 -2, -10, -18°C에 저장하였고 온도에 따른 행동 변화를 분석하였다. 냉동망고에 접종한 *L. monocytogenes*의 경우 -2°C, 냉동식품의 상용 온도인 -10°C, 냉동식품의 법정 보관 온도 기준인 -18°C에서 1차 사멸예측모델을 개발하였다(Fig. 2).

냉동망고에 대한 생존사멸 예측모델을 Weibull model을 이용하여 개발한 결과, 1차식의 적합성을 나타내는 R^2 값이 0.9 이상으로 나타나 냉동망고에서 *L. monocytogenes* 1차 생존모델로 Weibull model 적합함을 확인 할 수 있었다. -2°C, -10°C, -18°C의 저장온도에서 냉동망고의 *L. monocytogenes* delta (d) 값은 각각 219.66일, 265.64일, 284.19일로 나타났다. *p*값은 Weibull model의 그래프 모양을 나타나는 값으로서 1보다 큰 값은 접종 초기에 미생물이 천천히 사멸하는 convex curve를 나타내고, 1보다 작은 값은 접종 초기에 미생물이 급속히 사멸하는 concave curve를 나타낸다. -2, -10, -18°C의 저장 온도에서 *p*값은 1보다 작아 초기에 사멸하는 속도가 빠르고 시간이 지날수록 서서히 사멸하며 냉동온도에서 생존하는 능력이 높은 것으로 나타났다. 본 연구에서 delta 값은 -18°C의 저장 온도에서 284.19일(9.5개월)로 가장 크게 나타났는데, 선행연구에[33,34)] 따르면 아보카도와 과카몰리 펄프에 접종한 *L. monocytogenes*가 -18°C에서 58주 동안 생존하였고, 망고 펄프에 접종한 *L. monocytogenes*를 -20°C에 보관 시

Table 2. Performance of secondary growth models for *L. monocytogenes* in fresh-cut salad and pineapple for extrapolation[1)]

Dataset	Parameter		B_f	A_f	RMSE
Salad	25°C	LT	1.41	1.41	1.81
		SGR	0.87	1.20	0.02
Pineapple	10°C	LT	1.07	1.34	4.71
		SGR	1.14	1.28	0.05

[1)] Fresh-cut salad with different vegetables and pear were used for extension of *L. monocytogenes* growth model for fresh-cut salad and pineapple, respectively.
LT: Lag time, SGR: Specific growth rate
B_f: Bias factor, A_f: Accuracy factor, RMSE: Root Mean Square Error.

8개월 동안 생존함이 보고되었다. 본 연구와 선행연구 결과를 바탕으로 -18°C 이하의 저장 온도에서도 과채식품에 접종된 *L. monocytogenes*가 장시간 생존 가능한 것으로 판단된다. 따라서 냉동온도에서 유통되고 추가 가열처리 없이 소비되는 과채류의 경우 공정과정에서 *L. monocytogenes*에 의한 오염이 일어나지 않도록 위생적인 관리 방법에 대한 교육 및 연구가 필요하다.

L. monocytogenes 모델의 적합성 검증

신선편의 샐러드와 파인애플에서 *L. monocytogenes*를 이용하여 개발된 성장예측모델을 다른 종류의 샐러드와 신선과일에서 *L. monocytogenes* 행동을 예측할 수 있는지에 대해 모델의 적합성 검증을 평가하였다. 검증 식품으로는 모델 개발에 사용하지 않은 동일 식품 그룹 중 소비량이 높은 배와 모델 개발에 사용된 신선편의 샐러드와는 다른 샐러드로 파프리카가 포함된 신선편의 샐러드를 모델 검증을 위한 시료로 선정하였다(extrapolation). 각 시료를 10°C, 25°C에 각각 저장하여 LT, SGR을 산출하였으며, 개발된 예측모델을 통해 예측값과 실험에서 얻어진 실험값을 이용하여 B_f와 A_f, RMSE 값을 산출하여 모델의 적합성을 각각 평가하였다(Table 2).

B_f 값의 경우 신선편의 샐러드의 LT를 제외하고는 모델 적합성 허용 범위(0.70–1.15)에 속하는 것으로 나타났으나 A_f 값의 경우도 신선편의 샐러드 LT 모델에서 1.41로 실험값과 예측 값과의 가장 큰 차이를 보여 본 연구에서 개발된 신선편의 샐러드의 리스테리아 성장 예측 모델은 다른 신선편의 샐러드에 사용하기에는 적합하지 않은 것으로 나타났다. RMSE는 0에 가까울수록 생존 예측 모델의 적합성이 높음을 의미하는데, 본 연구에서는 샐러드의 LT, SGR값에 대한 RMSE 값이 각각 1.81, 0.02 파인애플의 경우 4.71, 0.05로 두 시료 모두 LT값에서는 본 연구에서 개발된 모델이 적합하지 않은 것으로 나타났다. 이는 시료의 pH 차이가 주요 원인으로 작용했을 것이라고 판단되는데, 샐러드의 경우 모델 개발에 사용한 신선편의 샐러드의 주요 구성 재료는 양상추, 양배추, 적채 등으로 pH 값이 6.42이었고, 개발된 모델의 검증을 위해 사용한 샐러드는 주재료가 파프리카, 양상추, 양배추 등으로 구성되어 pH가 5.58로 모델 개발에 사용한 시료와는 차이를 보였다. 이와 같은 결과는 신선편의 샐러드의 경우 어떤 종류의 농산물이 주 구성물인가에 따라 *L. monocytogenes*의 행동은 매우 달라지는 것으로 확인되었다.

파인애플의 경우 pH 값은 4.22이고 검증을 위해 사용한 배의 pH 값은 5.53으로 파인애플의 낮은 pH가 *L. monocytogenes*의 성장에 영향을 끼쳤을 것으로 사료된다. 더불어 파인애플의 중요 구성 성분 중 브로멜라인은 항균성을 지니고 있는 것으로 보고되어 있는데 그람음성균보다 그람양성균에서 그 항균성이 더 뛰어나다는 연구 결과가 보고되었다[35)]. 또한, 항균성과 항진균성을 가지고 있다고 알려진 유기산은 구연산, 사과산, 초산 등이 존재하는데[36)] 파인애플의 경우 이러한 유기산 중 구연산의 함량이 높아[37)] 배와 비교를 했을 때 *L. monocytogenes* 균 성장에 영향을 준 것으로 판단된다. 최근 다양한 신선편의 과일, 샐러드 제품들이 유통되고 있는 점을 고려할 때 이들 각각의 제품에 대한 병원성 미생물의 행동에 미치는 내적, 외적인 요인의 영향을 통해 리스크를 평가하기는 매우 어렵다. 따라서 즉석섭취 유형 제품에 대한 HACCP 적용 의무화 또는 공정 및 유통관리 방안에 대한 추가 연구가 필요할 것으로 사료된다.

Acknowledgement

본 연구는 2019년도 식품의약품안전처 용역연구개발과제의 연구개발비 지원(18162MFDS524)에 의해 수행되었으며 이에 감사드립니다.

국문요약

본 연구에서는 농산물에서 오염 가능성이 있는 병원성 식중독 균 *L. monocytogenes*에 대해 신선편의 샐러드, 파인애플, 냉동망고에서 예측 모델을 개발하고, 본 연구에서

개발된 예측 모델을 다른 제품에서 적용 여부를 검증하였다. 시료에 *L. monocytogenes*를 접종하여 각각의 저장 온도에 보관 시 샐러드는 13°C, 파인애플은 10°C 이상에서 성장하였으며, 두 식품 중 파인애플에서 *L. monocytogenes*가 더 빠르게 성장하는 것으로 확인 되었다. 또한, 냉동망고에 접종한 *L. monocytogenes*는 -2, -10, -18°C의 저장온도에서 온도가 낮아질수록 delta 값이 커지며 생존력이 높아지는 양상을 보였다. 본 실험 검증을 통해 같은 신선편의 과일, 채소 식품 그룹에 속하더라도 식품 각각의 특성에 따라 *L. monocytogenes*의 성장 패턴은 일정하지 않으며 각기 다른 행동 패턴을 보이는 것으로 확인하였다. 신선편의 샐러드 및 절단된 과일류는 냉장유통 되며 추가세척 없이 소비되는 제품 특성상 공정과정에서 *L. monocytogenes*에 의한 오염이 일어나지 않도록 위생관리에 주의하고 유통과정에서 온도 남용이 되지 않도록 유통온도 관리에도 유의해야할 것으로 사료된다.

Conflict of interests

The authors declare no potential conflict of interest.

ORCID

Geun Hyang Kim https://orcid.org/0000-0003-3948-6469
Ju Young Lim https://orcid.org/0000-0002-1704-3715
Yeon Ho Kim https://orcid.org/0000-0002-7885-1927
So Young Yang https://orcid.org/0000-0002-5984-2275
Ki Sun Yoon https://orcid.org/0000-0002-7492-4076

References

1. Park, S.Y., Yeon, J.H., Choi, J.W., Lee, M.J., Lee, D.H., Kim, K.S.,Park, K.H., Ha, S.D., Assessment of contamination levels of foodborne pathogens isolated in major RTE foods marketed in convenience stores. *Korean J. Food Sci. Technol.,* **37(2),** 274-278(2005).
2. Kim, G.H., Bang, H.Y., A survey on consumption patternof minimally processed fruits and vegetables. *Korean J. Food Culture.*, **13(4),** 267-274.(2) (1998).
3. Kim, S.H., Lee, K.I., Heo, S.Y., Lee, W.J., Research on Fresh-cut Fruits and Vegetables. *Korea Rural Economic Institute Report*, 1-307 (2019).
4. Food Information Statistic System, (2017, February 06). Status of processed food segment markets 2016-convenience food market. Retrieved from https://www.atfis.or.kr/article/M001050000/view.do?articleId=2398&page=6&searchKey=&searchString=&searchCategory=
5. Park, H.O., Kim, C.M., Woo, G.J., Park, SH., Lee, D.H., Chang, E.J., Park, K.H., Monitoring and trend analysis of food poisoning outbreaks occurred in recent years in Korea. *J. Food Hyg. Saf.,* **16(4),** 280-294 (2001).
6. Centers for Disease Control and Prevention, (2019, September 12). Foodborne Disease Outbreak Surveillance System. Retrieved from *https://www.cdc.gov/fdoss/annual-reports/index.html*
7. Heaton, J.C., Jones. K., Microbial contamination of fruit and vegetables and the behaviour of enteropathogens in the phyllosphere: A review. *J. Appl. Microbiol.,* **104(3)**, 613-626 (2008).
8. Centers for Disease Control and Prevention, (2020, March 10). *Listeria* Outbreaks. Retrieved from https://www.cdc.gov/listeria/outbreaks
9. Centers for Disease Control and Prevention, (2012, August 27). Multistate outbreak of listeriosis linked to whole cantaloupes from Jensen Farms, Colorado. Retrieved from http://www. cdc. gov/listeria/outbreaks/cantaloupes-jensen-farms/index. html.
10. Lianou, A., Sofos, J.N., A review of the incidence and transmission of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat products in retail and food service environments. *J. Food Prot*., **70(9)**, 2172-2198 (2007).
11. European Food Safety Authority, (2018, July, 3). *Listeria monocytogenes*: update on foodborne outbreak. Retrieved from https://www.efsa.europa.eu/en/press/news/180703
12. Kim, J.S., Bang, O.K., Ghang, H.C., Examination of microbiological contamination of ready-to-eat vegetable salad. *J. Food Hyg. Saf.,* **19**, 60-65 (2004).
13. Beuchat, L.R., Pathogenic microorganisms associatedwith fresh produce. *J. Food Prot*., **59(2)**, 204-216 (1996).
14. Farber, J.M., Peterkin, P.I., *Listeria monocytogenes*, a foodborne pathogen. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.,* **55(3)**, 476-511 (1991).
15. Centers for Disease Control and Prevention, (2016, July 27). Multistate Outbreak of Listeriosis Linked to Frozen Vegetables. Retrieved from https://www.cdc.gov/listeria/outbreaks/frozen-vegetables-05-16/index.html
16. Cho, J.I., Lee, S.H., Lim, J.S., Kwak, H.S., Hwang, I.G., Predictive mathematical model for the growth kinetics of *Listeria monocytogenes* on smoked salmon. *J. Food Hyg. Saf.,* **26(2)**, 120-124 (2011).
17. Cho, J.I., Lee, S.H., Lim, J.S., Kwak, H.S., Hwang, I.G., Development of a predictive model describing the growth of *Listeria monocytogenes* in fresh cut vegetable. *J. Food Hyg. Saf.,* **26(1)**, 25-30 (2011).
18. Hong, C.H., Sim, W.C., Chun, S.J., Kim, Y.S., Oh, D.H., Ha, S.D., Choi W.S., Bahk, G.J., Predictive Growth Model of Native Isolated *Listeria monocytogenes* on raw pork as a Function of Temperature and Time. *Korean J. Food Sci. Technol,* **37(5)**, 850-855 (2005).
19. Han, Y.J., Park, M.S., Bahk, G.J., Development of a predictive model for growth of *Listeria monocytogenes* on cooked sausage in cold storage in the household. *Korean J. Food Preserv.*, **26(2)**, 135-140 (2019).
20. Gibson, A.M., Bratchell, N., Roberts, T.A., The effect of sodium chloride and temperature on the rate and extent of

growth of *Clostridium botulinum* type A in pasteurized pork slurry. *J Appl. Bacteriol.,* **62(6)**, 479-490 (1987).
21. Geeraerd, A.H., Valdramidis, V.P., Van Impe, J.F., GInaFiT, a freeware tool to assess non-log-linear microbial survivor curves. *Int. J. Food Microbiol.,* **102(1)**, 95-105 (2005).
22. Davey, K.R., A predictive model for combined temperature and water activity on microbial growth during the growth phase. *J. Appl. Bacteriol*., **67(5)**, 483-488 (1989).
23. Ratkowsky, D.A., Olley, J., McMeekin, T.A., Ball, A., Relationship between temperature and growth rate of bacterial cultures. *J. Bacteriol.*, **149(1)**, 1-5 (1982).
24. McMeekin, T.A., Olley, J., Ross, T., Ratkowsky, D.A., 1993. Predictive microbiology: theory and application. John Wiley & Sons Ltd., Hoboken, NJ, USA, pp 87-113
25. Ross, T., Indices for performance evaluation of predictive models in food microbiology. *J. Appl. Bacteriol.,* **81(5)**, 501-508 (1996).
26. Abou-Zeid, K.A., Oscar, T.P., Schwarz, J.G., Hashem, F.M., Whiting, R.C., Yoon, K., Development and validation of a predictive model for *Listeria monocytogenes* Scott A as a function of temperature, pH, and commercial mixture of potassium lactate and sodium diacetate. *J. Microbiol. Biotechnol.,* **19(7)**, 718-726 (2009).
27. Baranyi, J., Ross, T., McMeekin, T.A., Roberts, T.A., Effects of parameterization on the performance of empirical models used inpredictive microbiology. *Food Microbiol.,* **13(1)**, 83-91 (1996).
28. Farber, J.M., Wang, S.L., Cai, Y., Zhang, S., Changes in populations of *Listeria monocytogenes* inoculated on packaged fresh-cut vegetables. *J. Food Prot.*, **61(2)**, 192-195 (1998).
29. Ding, T., Jin, Y.G., Oh, D.H., Predictive model for growth of *Listeria monocytogenes* in untreated and treated lettuce with alkaline electrolyzed water. *World J. Microbiol. Biotechnol.,* **26(5)**, 863-869 (2010).
30. Ziegler, M., Rüegg, S., Stephan, R., Guldimann, C., Growth potential of *Listeria monocytogenes* in six different RTE fruit products: impact of food matrix, storage temperature and shelf life. *Ital. J. Food Saf.,* **7(3)**, 7581 (2018).
31. Yoon, J.H., Bae, Y.M., Jung, S.Y., Cha, M.H., Ryu, K., Park, K.H., Lee, S.Y., Predictive modeling for the growth of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* Typhimurium on fresh-cut cabbage at various temperatures. *J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem.,* **57(5)**, 631-638 (2014).
32. Bahk, G.J., Statistical probability analysis of storage temperatures of domestic refrigerator as a risk factor of foodborne illness outbreak. *Korean J. Food Sci. Technol.,* **42(3)**, 373-376 (2010).
33. Iturriaga, M.H., Arvizu-Medrano, S.M., Escartin, E.F., Behavior of *Listeria monocytogenes* in avocado pulp and processed guacamole. *J. Food Prot.*, **65(11)**, 1745-1749 (2002).
34. Penteado, A.L., de Castro, M.F.P., Rezende, A.C., *Salmonella enterica* serovar Enteritidis and *Listeria monocytogenes* in mango (Mangifera indica L.) pulp: growth, survival and cross-contamination. *J. Sci. Food Agric.,* **94(13)**, 2746-2751 (2014).
35. Ali, A.A., Mohammed, A.M., Isa, A.G., Antimicrobial effects of crude bromelain extracted from pineapple fruit (*Ananas comosus* (Linn.) Merr.). *Adv. Biochem.,* **3(1)**, 1-4 (2015).
36. Beuchat, L.R., Golden, D.A., Antimicrobials occurring naturally in foods. *Food Technol*., **43**, 134-142 (1989).
37. Yoon, J.Y., Choi, Y.K., Park, J.S., Jung, H.H., Song, J.H., Jeon, H.H., Lee J.C., Kim, H.J., Effect of various sugar additives on characteristics and sensory. *Food Eng. Prog.*, **19(3)**, 255-262 (2015).