pISSN 1229-1153 / eISSN 2465-9223 *J. Food Hyg. Saf.*
Vol. 39, No. 1, pp. 54~60 (2024)
https://doi.org/10.13103/JFHS.2024.39.1.54

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

Research Note

*Aspergillus ochraceus*와 *Rhodotorula mucilaginosa* 저감을 위한 자외선과 유기산 복합처리 효과 분석

이은선 · 김종희 · 김부민 · 오미화*
농촌진흥청 국립축산과학원 축산물이용과

Analysis of the Reduction Effect of Combined Treatment with UV-C and Organic Acid to Reduce *Aspergillus ochraceus and Rhodotorula mucilaginosa* Contamination

Eun-Seon Lee, Jong-Hui Kim, Bu-Min Kim, Mi-Hwa Oh*
Division of Animal Products Research and Development, National Institute of Animal Science, Wanju, Korea

(Received October 16, 2023/Revised January 3, 2024/Accepted January 8, 2024)

ABSTRACT - This study investigated the effectiveness of using pathogens and aqueous acids to reduce the *Aspergillus ochraceus* and *Rhodotorula mucilaginosa* contamination in livestock production environments. For this study, 1 mL of each bacterial suspension (10^7-10^8 spores/mL) was inoculated on a knife surface, dried at 37°C, and used under each treatment condition. First, to investigate the effect of organic acids, acetic, lactic, and citric acids were used. Subsequently, to select the appropriate concentration, they were prepared at concentrations of 0.5, 1, 2, 3, 4, and 5%, respectively. Accordingly, to further maximize the effect of organic acid treatment, we combined the treatment with ultraviolet light. The two strains showed a significant difference (P<0.05) compared to the initial strain, with a greater than 90% decrease in the concentrations of all organic acids. Consequently, acetic and lactic acids decreased by approximately 5 and 2 log colony forming unit (CFU)/cm^2, respectively, when treated with ultraviolet light (360 mJ/cm^2); however, citric acid decreased by less than 1 log CFU/cm^2. However, when manufactured with 4% acetic acid, a severe malodor was emitted, making it difficult for workers to use it in a production environment. Accordingly, the optimal treatment conditions for organic acid and ultraviolet light for application were selected as follows: immersion in a 4% lactic acid solution for 1 minute and then, sterilization with ultraviolet light at 360 mJ/cm^2. Finally, when a pork meat sample was cut with a knife that was finally washed with lactic acid and treated with ultraviolet light, the low level of inoculum transferred from the cleaned knife to the surface of the sample was not detected. In conclusion, using this established method can prevent cross-contamination of the surface of the meat during processing.

Key words: Organic acid, Ultraviolet-C, Fungi, Combined treatment, Reduction

식품은 생산단계부터 가공되기까지 모든 제품을 전수 검사하지 않는 이상 소비자들이 식품을 섭취하기 전에는 직접적으로 미생물 오염을 확인하기 어려운 실정이다. 따라서 보이지 않는 미생물의 오염 저감을 위해서는 생산단계에서부터 철저한 위생관리가 이루어져야 한다. 특히 도축장과 같은 축산물 생산단계에서는 체표면의 분변 오염, 내장적출 시 내장 파열로 인한 미생물 오염, 세척수의 비산으로 인한 주변 환경 오염 등 다양한 교차오염 가능성이 있다. 이러한 환경적 요인들의 철저한 위생관리가 필요하나 그렇지 못한 열악한 관리로 인해 식육 및 축산 가공품의 오염이 발생할 수 있다[1,2]. 비위생적 관리로 인해 식중독균과 같은 미생물학적 오염 요소들이 소비자의 섭취에 이르게 될 경우 사회·경제적으로 큰 파장을 야기하므로 이에 대한 예방을 위한 다수의 안전관리 기술 개발과 관련

*Correspondence to: Mi-hwa Oh, Division of Animal Products Research and Development, National Institute of Animal Science, 1500, Kongjwipatjwi-Ro, Iseo-Myeon, Wanju, Jeollabuk-do, 55365, Korea
Tel: +82-63-238-7379, Fax: +82-63-238-7397
E-mail: moh@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.

된 연구들이 있다[1,3]. 그러나 물 사용이 많은 도축장 등의 작업시설에서는 언급한 식중독균과 같은 세균 뿐만 아니라 곰팡이, 효모와 같은 진균류의 오염도 상존하고 있다. 특히 유해균 외에 곰팡이도 독소를 형성할 수 있어 곰팡이의 식품 내 혼입을 물리적 오염으로써 식품 생산·제조 중 중요한 위생관리점으로 간주하고 있다[4]. 국내 식품공전 상에서 벌레, 금속, 플라스틱 등 여러 요소들이 이물로 분류되고 있으며 미생물인 곰팡이도 동일하게 취급하여 최종 제품에 반드시 제거되어야 할 위해요소로 규정하고 있다[4]. 2022년 식품의약품안전처의 보고에 따르면 식품 내 이물 신고 중 곰팡이가 발생 원인인 것이 14.7%로 벌레(24.8%) 다음으로 많으며 이에 의한 이물 신고 건수가 증가하고 있는 추세이다[5]. 곰팡이는 주로 보관, 유통 중에 미흡한 위생관리 또는 포장 파손 등의 이유로 발생되나 제조환경에서 오염된 곰팡이 포자들이 식품 포장 시 유입되어 최종 제품으로 이행되는 경우도 있다. 따라서 식품 생단단계에서 미생물학적 오염 요인들 중 널리 알려진 식중독균, 부패세균 외에도 곰팡이나 효모에 대한 오염 가능성도 배제할 수 없다. 특히 식육, 육가공품에서 부패를 발생시키거나 독소를 생성하여 식품 소비에 위험요소로 작용하는 곰팡이들은 *Aspergillus* spp. 등이 있으며 *Penicillium*과 *Aspergillus* 속은 가금육이나 육가공품에서 높은 빈도로 검출되며 심지어 제품 중 70% 이상 분리·동정된 연구결과도 있다[6,7]. 특히 *Aspergillus ochraceus*는 ochratoxin A (OTA)를 생성하며 이들 독소의 축척은 식품을 섭취하는 소비자의 안전을 위협한다[7,8]. 주로 곡물에 오염되는 진균류로 알려진 이 균주는 균 뿐만 아니라 독소 자체로도 식육 및 그 생산단계[9] 또는 육가공품(발효육제품, 소시지 등)[10,11]에서 생장, 생성되어 소비자가 오염된 제품 섭취시 건강에 악영향을 끼친다. 뿐만 아니라 효모는 높은 당을 함유한 식품, 수분활성도가 낮은 식품, 낮은 pH 조건 등 세균에 비해 비교적 열악한 환경에서도 생육이 가능하다[12]. 특히 *Debaryomyces hansenii*, *Yarrowia lipolytica*, *Candida zeylanoides*, *Rhodotorula mucilaginosa* 등은 훈제고기, 염지된 고기 등에서 널리 분포되어 있다[13]. 국외에서는 소·돼지 도체나 가금류, 육가공품 내 오염된 유해 미생물들을 저감하기 위해 유기산을 다양한 방식으로 적용한 연구결과들이 있다[14,15]. 국내에서도 식품공전 상에서 젖산, 구연산과 같은 일부 유기산을 기구 등의 살균·소독제로서 사용하도록 허가되어 있으며[16], 식중독균 등 병원성균에서 유기산을 적용한 결과는 다수 있으나 진균류에 대한 효과를 확인한 예는 거의 없다. 따라서 본 연구에서는 앞서 언급한 부패 유발 효모 및 독소 생성 곰팡이들을 저감할 수 있는 제제로서 유기산을 적용하고자 하였다. 먼저 곰팡이 독소 생성 균주로 소도축장 내 시설에서 *A. ochraceus*를 그리고 돼지 도체 표면에서 *R. mucilaginosa*를 분리하였으며 이들의 오염을 저감하기 위해 유기산 단일처리 및 자외선과의 복합처리 효과를 확인하였다. 또한 최종 선정된 방법으로 세척·살균된 도구를 활용하여 잔류하는 오염 진균류가 돼지고기 표면에 이행되는 정도를 대조구와 비교하여 저감효과를 구명하였다.

Materials and Methods

진균류 분리 및 동정

본 연구에서 사용된 균주는 도축장에서 분리한 *A. ochraceus*와 돼지 도체 표면에서 분리한 *R. mucilaginosa*이다. 이때 초저온냉동고에 보관된 균주를 potato dextrose agar (PDA)에 스트리킹한 후 동정을 위하여 단일 콜로니를 채취하여 25°C에서 3-5일간 배양하였다. 배양된 각각의 콜로니 10 μL를 일회용 loop로 채취하여 900 μL UltraPure distilled water (Invitrogen, Waltham, MA, USA)에 현탁하여 heat block에서 100°C에 1분간 가열처리 하였다. 전처리된 샘플은 솔젠트(Deajeon, Korea)에 분석 의뢰하였다. 곰팡이의 DNA는 internal transcribed spacer 1 (ITS1) (5'-GTA GGT GAA CCT GCG G-3')과 ITS4 (5'-TCC GCT TAT TGA TAT GC-3') primer에 의해 증폭되었으며 PCR product는 sequencer인 ABI PRISM 3730LX DNA analyzer (Applied Biosystems, Waltham, MA, USA)를 통해 분석되었다. 분석된 염기서열은 BLAST를 통하여 GenBank의 유전자 데이터와 비교하여 유사성이 높은 염기서열에 따라 동정하였다.

저감기술 적용 대상 선정 및 균액 접종

유기산 단일 처리 효과 및 유기산과 자외선의 복합처리에 따른 저감효과를 확인하기 위하여 도축장 및 육가공장에서 실제 사용되고 있는 칼을 대상 도구로 선정하였다. 칼은 고온멸균기에서 멸균하여 건조하고, 균액 접종 전 70% 알코올로 소독 후 한번 더 화염 멸균하였다. 균액은 2°C에서 배양된 단일 콜로니를 채취하여 0.03% tween 80 용액에 현탁한 후 글라스울(Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)을 활용하여 균사를 걸러내었다. 이 후 혈구계수기 (Disposable PMMA hemocytometer C-Chip, INCYTO, Cheonan, Korea)를 활용하여 PDA 상에서 초기 균액 농도가 10^7-10^8 spores/mL가 되도록 제조(저농도 실험 시: 10^2-10^3 spores/mL)하고 1 mL 균액을 스테인리스 스틸 재질 표면 또는 칼 표면에 점접종 하였다. 접종된 스테인리스 스틸 칩과 칼은 각각 37°C에서 3시간 건조한 후 실험에 사용하였다.

유기산 단일처리 및 복합처리

단일처리 실험에서 사용된 유기산은 acetic acid (Sigma-Aldrich), lactic acid (Kanto Chemicl Co., Inc, Tokyo, Japan), citric acid anhydrous (Daejung, Siheung, Korea) 총 3

가지를 활용하였다. 현장에서 사용하기 적합한 적정 농도를 선정하기 위하여 0.5, 1, 2, 3, 4, 5%의 농도로 각각 제조하여 사용하였다. 이후에 각각 제조된 유기산 용액에 1분간 스테인리스 스틸 칩을 침지하였다. 처리된 칩에 1 mL phosphate buffered saline (PBS, Gibco, Grand Island, NY, USA)을 분주하고 cell scraper (SPL, Pocheon, Korea)를 활용하여 재질 표면에 처리 후 남아있는 균을 긁어냈다. 회수한 균액은 1 mL씩 채취하여 diluent saline (3M, Saint Paul, MN, USA) 9 mL로 10배씩 희석하여 PDA 배지에 접종하였다. 배지는 25°C에서 3-5일간 배양된 후 형성된 colony 수를 계수하여 1 cm^2 당 colony forming unit (CFU)으로 나타내었다.

복합처리 적용대상으로 현장에서 사용되는 칼을 사용하였으며 단일처리에서 사용된 농도 중 4%의 젖산, 아세트산 용액을 사용하여 1분간 침지 처리하였다. 구연산의 경우 단일 처리시 효과가 매우 저조하여 5%의 용액을 활용하였다. 다음으로 자외선 조사는 15 W low-pressure UV-C lamp (Sankyo Denki, Kanagawa, Japan)가 장착된 실험실 규모의 챔버 HD 11077-4002A (Donghwa Plant, Osan, Korea)에서 수행되었다. 자외선 밀도는 0.3 mW/cm^2으로 일정한 조사량을 유지하기 위해 본 실험이 진행되기 30분 전에 장치를 켜두고 균이 접종된 칩을 챔버에 넣어 9, 18, 54, 90, 180, 360 mJ/cm^2 선량 (30초, 1, 3, 5, 10, 20분)으로 조사하였다.

복합처리 후 돼지고기 표면 오염도 분석

실험실 규모에서 돼지고기 뒷다리를 대상으로 앞서 선정한 방법을 통해 도구를 세척하고 이의 진균 오염 저감효과를 분석하였다. 이의 효과를 실제 도체 작업 환경과 유사한 환경을 조성하기 위하여 도체에서 껍질이 부착된 돼지 뒷다리를 실험에 활용하였다. 또한 극단적인 저감효과를 확인하기 위하여 먼저 고농도(10^7-10^8 spores/mL)로 두 균주를 칼 표면에 접종한 후 37°C에 건조하여 부착시켰다. 이후 젖산처리를 진행하였는데 이 때 아세트산을 제외하고 저감효과가 가장 좋았던 4% 농도의 젖산을 활용하였다. 먼저 각각의 농도별로 제조된 균액이 접종된 칼을 1분간 4% 젖산 용액에 침지하였다. 유기산 처리 후 20분간 자외선(UV-C, 360 mJ/cm^2)을 조사하였다. 다음으로 각각의 처리가 모두 완료된 칼을 활용하여 돼지 뒷다리를 절단하는 작업을 왕복 10회 수행하였다. 이후 고기 표면 및 칼 표면을 멸균 면봉으로 채취하여 고기 표면으로 이행되는 진균류를 분석하였고 칼 표면에 잔류하는 진균류는 1 mL PBS를 표면에 분주하고 cell scraper를 활용하여 표면을 긁어낸 후 잔여물을 채취하였다. 회수한 균액은 1 mL씩 채취하여 diluent saline (3M) 9 mL로 10배씩 희석하여 PDA 배지에 접종하였다. 배지는 25°C에서 3-5일간 배양된 후 형성된 colony 수를 계수하여 CFU/cm^2으로 나타내었다. 추가적으로 축산물 생산단계와 유사한 환경을 조성하기 위하여 칼 표면에 저농도(약 10^2 spores/mL)로 두 균주를 각각 접종한 후 37°C에서 건조하여 칼표면에 접종시킨 후 복합처리 실험과 미생물 분석을 수행하였다.

통계분석

단일처리에 대한 저감효과와 복합처리(유기산×자외선)에 대한 저감효과 확인은 모두 3회 반복 되었으며, SAS v.9.4 software (SAS Institute, Cary, NC, USA)의 ANOVA 분석을 통해 유의성(P<0.05)을 평가하였다. 유의적인 차이가 있는 결과값에 대해서는 Duncan's multiple range test를 통해서 그룹핑을 하여 윗첨자로 표기하였다.

Results and Discussion

곰팡이 동정 결과

본 연구에서 사용된 균주는 앞서 언급한 대로 도축장에서 분리한 균주로 실제적으로 현장에서 상존하고 있는 균주들에 대한 저감 효과를 확인, 검증하고자 현장에서 분리한 균주를 활용하였다. 두 균주는 ITS region 시퀀싱을 진행하여 유전자 염기서열을 분석한 후 GenBank 데이터베이스를 통하여 각각의 상동성을 비교하였다. 또한 동정 결과를 확정하기 위하여 *A. ochraceus*와 *R. mucilaginosa*의 primer를 활용하여 PCR한 결과 두 균주는 각각 GenBank No. KU924149.1, GenBank No. NR073296.1과 99% 이상의 유사성을 보였다.

유기산 단일처리 실험

본 연구에서는 분리된 두 진균류를 저감하기 위하여 농도에 따른 유기산 단일처리 효과를 확인하였다. 유기산은 미생물의 세포막을 통해 세포 내로 유입되는 과정에서 이온화 현상을 발생시키며 더불어 세포 내 pH 유지를 위해 수소이온이 방출됨에 따라 산성화된 세포 내부의 단백질, DNA 구조 등을 변형 또는 파괴시켜 세포외막을 손상시키는 원리를 가지고 있다[15,17]. 이러한 원리를 활용하여 식품업계에서 미생물 오염을 방지하는 살균제로서의 역할을 하고 있다. 그러나 축산물 생산시설 살균 및 세척을 위해 효과가 뛰어난 다양한 화학적 제제들이 상용화되어 있으나 사용 시 비산되는 화학적 위해요소로 인한 도체 오염을 무시하기 어렵고, 생산자 입장에서 경제적 비용을 고려하지 않을 수 없다. 외국에서는 이미 도축장 등의 생산단계에서 미생물 오염 방지를 위하여 유기산(젖산, 아세트산 등) 분무 등 다양한 방식으로 활용하는 것을 허가하고 있다. 유럽 위원회 규정(No. 101/2013)에 따라 젖산의 사용은 소 도체 또는 반도체 표면 등의 미생물학적 오염을 줄이기 위해 사용을 승인하고 있으며 미국 식품안전검사국(USDA Food Safety and Inspection Service)에서도 육류

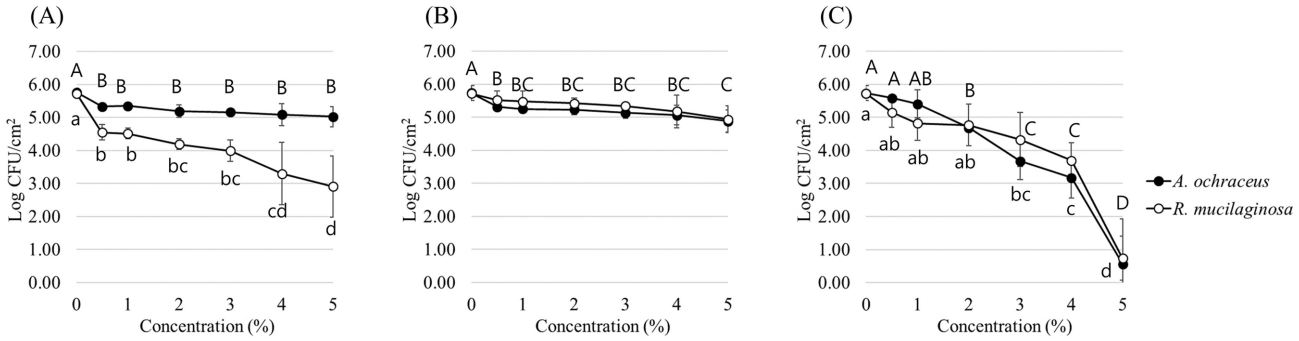


Fig. 1. The reduction of *A. ochraceus and R. mucilaginosa* after immersing in (A) lactic acid, (B) citric acid, and (C) acetic acid solution. In each sample, $^{A\text{-}D}$ and $^{a\text{-}d}$ superscript are significantly different at $P<0.05$ by Duncan's multiple range test. Capital letter of superscript are about *A. ochraceus* results, and superscripts in lowercase letters are results for *R. mucilaginosa*.

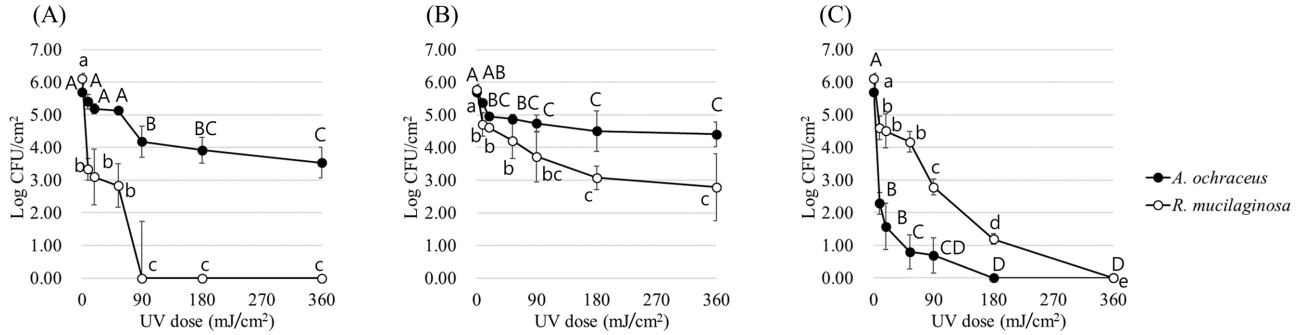


Fig. 2. Inhibitory effect of UV-C and organic acids [(A) lactic acid, (B) citric acid, and (C) acetic acid] combination on the reduction of *A. ochraceus* and *R. mucilaginosa.* In each sample, $^{A\text{-}D}$ and $^{a\text{-}d}$ superscript are significantly different at $P<0.05$ by Duncan's multiple range test. Capital letter of superscript are about *A. ochraceus* results, and superscripts in lowercase letters are results for *R. mucilaginosa*.

의 병원균 감소를 위하여 젖산과 아세트산 두 유기산의 사용을 허용하고 있다[18]. 이에 따라 유기산 중 젖산, 구연산, 아세트산을 활용하여 작업시설·도구의 주요 재질인 스테인리스 스틸을 칩의 형태로 제작하여 세척 및 살균하고 이에 대한 곰팡이 저감 효과를 확인하고자 하였다(Fig. 1). 먼저 접종된 균주는 0.5-5%의 농도로 제조된 유기산 용액에 농도 조건별로 침지 되었다. 그 결과 구연산을 제외한 젖산, 아세트산 용액에 침지 시 두 균주는 유의적으로 감소하였다($P<0.05$). 구연산 처리 시 감소 수준은 1 log (83.4-85.9%)에 미치지 못하였다. 이에 비해 젖산 처리 효과는 두 균주가 대비된 결과를 보였다. *A. ochraceus*는 0.74 log CFU/cm^2 만큼 감소하였으며 대조적으로 *R. mucilaginosa*는 초기 대비 2.89 log CFU/cm^2 만큼 줄어들어 99.8% 이상의 감소 효과를 보였다. 도계장에서 세균에 대한 효과를 검증한 다른 연구에서는 *Salmonella*를 대상으로 예냉 단계에서는 80-100%, 장갑과 절단 도구에서는 64-78%의 수준으로 감소하였다[14]. 이는 본 연구에서 진균류인 *A. ochraceus*와 *R. mucilaginosa*에서 유기산 침지 처리에 따른 저감효과가 더 높은 것을 확인할 수 있었다. 특히 5% 아세트산 용액 처리 시 각각 5.17, 4.99 log CFU/cm^2 감소하여 유기산 중 가장 큰 저감 효과를 보였다. 4, 5% 농도의 젖산 처리구에서 두 결과 값은 유의적인 차이를 확인하기 어려울 뿐만 아니라 희석액 제조를 위해 사용되는 비용 절감을 위해 최적 농도를 4%로 선정하였다. 그러나 구연산의 경우 최대 농도인 5%까지 처리하였음에도 불구하고 모든 균주에서 두 농도 사이의 유의적인 차이가 없었으므로 자외선과의 복합 처리시 구연산은 5% 용액, 나머지 두 유기산은 4% 농도의 용액을 사용하였다.

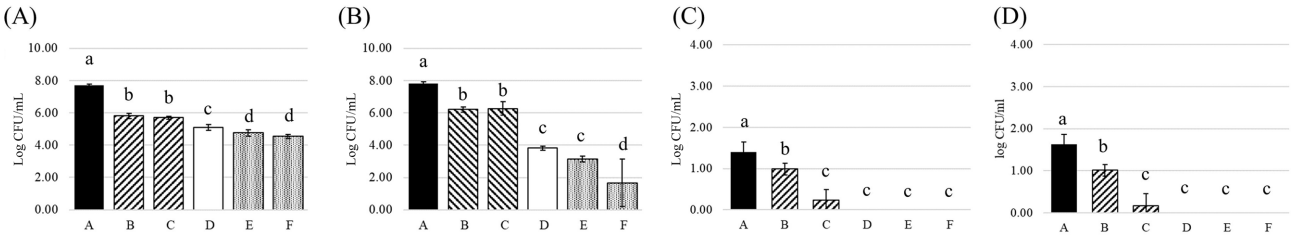
자외선과 유기산 복합처리 실험

분리 곰팡이에 대한 저감 효과를 극대화하기 위해 단일 처리에서 확립된 조건으로 스테인리스 칩 표면에 복합 적용한 결과는 Fig. 2에 제시하였다. 사용된 유기산 중 아세트산과 젖산은 4%, 구연산은 5% 농도로 고정하고 이후에 연속적으로 처리되는 자외선 조사 시간에 따른 차이를 비교하였다. 두 균주는 모든 유기산에서 90% 이상 감소하여 초기 균주와 비교하였을 때 유의적인 차이($P<0.05$)를 보였으며 특히 4%의 젖산, 아세트산은 자외선(360 mJ/cm^2)과 함께 처리하였을 때, 2 log CFU/cm^2 이상 줄어들었다. 젖산과 자외선 복합 처리 중 *R. mucilaginosa*는 자외선 조

사를 5분 이상(≥90 mJ/cm^2) 처리 하였을 때 불검출되었으며 이 결과는 처리구 중에서 가장 적은 자외선 조사량으로 가장 높은 저감 효과를 확인하였다. *A. ochraceus*는 초기 농도인 5.71 log CFU/cm^{2}에서 3.53 log 감소하여 99% 이상의 저감효과를 보였다. 구연산도 젖산과 마찬가지로 *R. mucilaginosa*는 구연산과 자외선 처리시 약 3 log 이상 감소한 반면 *A. ochraceus*는 99% 이하로 감소하여 유기산 중 가장 낮은 저해능을 보였다. 두 유기산에 비하여 상대적으로 높은 농도인 5%의 구연산 용액과 자외선을 복합처리 하였음에도 불구하고 저감효과는 저조하였으며 이는 구연산 단일처리에서도 유사한 경향을 보였다. 그러나 아세트산 용액은 단일 처리와 유사하게 복합 처리에서도 두 균주에서 전반적으로 높은 저감효과를 나타냈다. 다른 유기산들과 다르게 *A. ochraceus*에 대한 저감효과가 특히 높았으며 180 mJ/cm^{2}의 자외선과 함께 처리하였을 때부터 불검출된 것으로 보아 해당 균주는 세 유기산 중 아세트산에 더 예민한 것으로 사료된다. 더불어 360 mJ/cm^{2}의 조사량으로 칩 표면을 처리하였을 때는 두 균주에서 모두 불검출되어 유기산 중에서는 가장 효과가 뛰어나다고 볼 수 있다. 자외선과 유기산을 다양한 식품이나 식품 접촉 재질에 복합적으로 적용하여 유해 미생물에 대한 저감능을 확인한 연구들이 있다. 그러나 축산물의 경우 대부분은 *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp., *Escherichia coli*와 같은 세균에 대한 연구들로 축산 현장에서 이물로서 최종 제품에 이행될 수 있는 곰팡이들에 대한 연구들은 부족한 실정이다. 먼저 *Salmonella* Typhimurium에 대한 젖산(2.0-12.9%)과 자외선(0.10-0.55 J/cm^2) 복합처리 효과를 보면 이들의 저감능은 숙성 등심부위에서 1 log CFU/g 이상 감소하는 경우도 있으나 실제 식품 내 적용 시 식품 기질의 복합성으로 인해 본 연구에서 수행한 균액에 비해 저감효과는 크지 않은 것으로 확인되었다[19]. 이외에도 Seong 등[20]의 연구에서는 아세트산(1%)과 자외선(1000 mJ/cm^2) 복합처리 시 돌나물 내 진균류에서 대조군 대비 최대 4.2 log CFU/g의 저감효과를 보였다. 이는 본 연구보다 자외선 최대 조사량(>360 mJ/cm^2)이 높았음에도 불구하고 상대적으로 감소량이 적었다. 그러나 앞선 연구에서 저농도의 아세트산을 사용했듯, 높은 효과를 위해 본 연구에서 사용한 4% 농도의 아세트산으로 제조할 경우 이취가 매우 심하여 작업자가 생산환경에서 사용하기에 어려움이 있다. 특히 국내 식품공전에서도 기구 등의 살균소독제로 사용하도록 허가되어 있지 않아 현장에서 위생관리를 위해 활용하기에는 부적합하다[16]. 이에 따라서 현장에 적용하기 위한 유기산과 자외선 최적 처리 조건은 4% 젖산 용액에 1분간 침지한 후 자외선(360 mJ/cm^2)을 20분 가량 살균 처리하는 방법으로 선정하였다.

돼지고기 표면 오염도 분석을 통한 살균력 평가

현장 적용에 앞서 대상 균주들이 오염된 칼을 소독이나 살균과정을 거치지 않은 채로 생산 작업 중 사용하였을 때 돼지 도체 표면으로 이행되는 오염도와 살균된 도구 사용 시 이의 오염도를 분석하여 살균력을 비교하고자 하였다. 미국 FDA에서는 육제품의 항균효과를 위해서 주로 사용되는 유기산으로 아세트산, 젖산 등을 제시하고 있으며 이들은 소비자의 안전한 섭취가 가능하다[15]. 먼저 극단적 저감효과 확인을 위해 살균된 칼표면에 고농도(10^7-10^8 spores/mL)의 균을 접종하였으며 이에 대한 효과는 Fig. 3A, 3B에 제시하였다. 살균, 소독하지 않은 칼로 작업을 하였을 때 고기와 칼 표면으로 이행된 진균류 중 *A. ochraceus*는 5.70, 5.80 log CFU/mL, *R. mucilaginosa*는 6.27, 6.21 log CFU/mL으로 검출되었다. 반면에 살균된 칼을 사용한 고기 표면과 잔류한 칼의 표면에서 *A. ochraceus*는 4.76, 4.55 log CFU/mL, *R. mucilaginosa*는 3.18, 2.30 log CFU/mL으로 검출되었다. 살균된 칼 표면을 초기 접종 농도와 비교해보면 *A. ochraceus*와 *R. mucilaginosa*에서 각각 2.62, 4.01 log CFU/mL 수준으로 감소한 데다가 최종적으로 세척된 칼에서 돼지고기 표면으로 이행되는 오염 수준은 그렇지 않은 돼지고기 보다 대비 1.16, 4.61 log CFU/mL 낮은 것으로 확인되었다. 고농도의 균액으로 저감효과를 확인한 것과 더불어 실제로도 효과가 적용 될지 확인하기 위하여 동일한 방법을 실제 모니터링으로 얻은



A: initial inoculation, B: mold residue on knives after working with uncleaned tools, C: mold residue on the pork after working with uncleaned tools, D: mold residue on knives after cleaning, E: mold residue on knives after working with cleaned tools, F: mold residue on the pork after working with cleaned tools.

Fig. 3. Analysis of pork carcass surface cross contamination after UV-C and lactic acid combined treatment on the knife surface. (A) high concentration of *A. ochraceus*, (B) high concentration of *R. mucilaginosa* (C) low concentration of *A. ochraceus,* (D) low concentration of *R. mucilaginosa*. In each sample, $^{a-d}$ superscript are significantly different at P<0.05 by Duncan's multiple range test.

농도와 유사한 수준의 농도(10^1-10^2 spores/mL)로 균액을 제조하여 동일한 방법으로 저해능을 평가하였다(Fig. 3C, 3D). 그 결과 두 균주에서 살균, 소독된 칼로 작업한 후에 소독된 칼의 표면이나 절단된 돼지고기 표면에서 모두 불검출되었다. 실험실 규모에서 젖산과 자외선 처리를 칼 표면에 접종된 균액에 적용하였을 때에도 이를 감소시키는데 효과적인 것과 더불어 최종적으로 살균된 도구를 활용하여 돼지고기 절단 작업시 표면에 이행되는 교차오염을 방지할 수 있는 것을 검증하였다. 또한 본 연구에서 사용된 유기산과 자외선의 경우 영세한 작업장에서도 구매하는데 어렵지 않고 다른 세정제에 비하여 비교적 저렴한 가격으로 활용할 수 있다는 장점이 있다. 특히 젖산은 앞에서 언급한 대로 식품첨가물공전에서도 사용이 허가되어 있으며 자외선은 표면에 잔류성이 없다는 점에서 다른 화학적 제제들과 같이 잔류를 통한 제조 과정 중 2차 오염에 대한 우려를 줄일 수 있다. 따라서 본 연구에서 선정된 방법으로 작업 시 사용되는 도구들을 살균, 소독하여 현장에서 사용한다면 손쉽게 위생적인 관리가 가능할 것으로 사료된다.

Acknowledgement

본 논문은 농촌진흥청 연구사업(세부과제명: 축산물 생산단계 유해 진균류의 물리적 제어기술 개발, 세부과제번호: PJ01423801)에 의해 이루어진 결과이며 지원에 감사드립니다.

국문요약

본 연구는 축산물 생산 환경에서 오염 가능한 *Aspergillus ochraceus*와 *Rhodotorula mucilaginosa*를 저감하기 위하여 자외선과 유기산을 활용하여 그 효과를 구명하였다. 이를 위하여 각각의 균 현탁액(10^7-10^8 spores/mL)을 칼 표면에 1 mL 접종하고 37°C에 건조한 후 각각의 처리 조건에 활용하였다. 먼저 유기산 효과를 구명하기 위하여 아세트산, 젖산, 구연산을 활용하였으며 적정 농도 선정을 위하여 0.5, 1, 2, 3, 4, 5%의 농도로 제조하였다. 그 결과 아세트산의 경우 약 5 log, 젖산은 최대 2 log CFU/cm^2 감소하였으나, 구연산의 경우 1 log 이하로 미미한 수준이었다. 이에 따라 유기산 처리 효과를 더욱 극대화하기 위해 자외선과의 복합처리를 진행하고자 하였다. 두 균주는 모든 유기산에서 90% 이상 감소하여 초기 균주와 비교하였을 때 유의적인 차이(P<0.05)를 보였으며 특히 4%의 젖산은 자외선(360 mJ/cm^2)과 함께 처리하였을 때, 2 log CFU/cm^2 이상 감소하였으며 같은 조건에서 아세트산은 5 log CFU/cm^{2}이상의 저감능을 보였다. 그러나 본 연구에서 사용한 4% 농도의 아세트산으로 제조할 경우 이취가 매우 심하여 작업자가 생산환경에서 사용하기에 어려움이 있다. 이에 따라서 현장에 적용하기 위한 유기산과 자외선 최적 처리 조건은 4% 젖산 용액에 1분간 침지한 후 자외선을 20분 가량(360 mJ/cm^2) 살균 처리하는 방법으로 선정하였다. 최종적으로 유기산 세척 및 자외선 처리가 된 칼로 돼지고기 절단 작업을 수행하였을 때, 현장 오염 수준의 진균류 농도에서 작업 후 돼지고기 표면으로 이행되는 오염량은 모두 불검출 되었다. 본 연구를 통하여 실험실 규모뿐만 아니라 최종적으로 현장에서 살균된 도구를 활용하여 작업 시 고기 표면까지 이행되는 교차오염을 방지할 수 있는 것으로 사료된다.

Conflict of interests

The authors declare no potential conflict of interest.

ORCID

Eun-Seon Lee https://orcid.org/0000-0002-3957-0575
Jong-Hui Kim https://orcid.org/0000-0001-8669-993x
Bu-min Kim https://orcid.org/0000-0001-7836-3360
Mi-Hwa Oh https://orcid.org/0000-0001-7838-5260

References

1. Bakhtiary, F., Sayevand, H.R., Remely, M., Hippe, B., Hosseini, H., Haslberger, A.G., Evaluation of bacterial contamination sources in meat production line. *J. Food Qual.*, **39**, 750-756 (2016).
2. Nkosi, D.V., Bekker, J.L., Hoffman, L.C., The use of organic acids (lactic and acetic) as a microbial decontaminant during the slaughter of meat animal species: A review. *Foods*, **10**, 2293 (2021).
3. Coban, H.B., Organic acids as antimicrobial food agents: Applications and microbial productions. *Bioprocess Biosyst. Eng.*, **43**, 569-591 (2020).
4. Ministry of Food and Drug Safety (MFDS), (2023, July 9). Korean food code. Retreived from https://www.mfds.go.kr/brd/m_99/down.do?brd_id=ntc0021&seq=46529&data_tp=A&file_seq=2
5. Ministry of Food and Drug Safety (MFDS), (2024, January 3). Korean food code. Retreived from https//www.mfds.go.kr/brd/m_99/view.do?seq=46529&srchFr=&srchTo=&srchWord=%EC%9D%B4%EB%AC%BC&srchTp=1&itm_seq_1=0&itm_seq_2=0&multi_itm_seq=0&company_cd=&company_nm=&Data_stts_gubun=C9999&page=1
6. Nasser, L.A., Molecular identification of isolated fungi, microbial and heavy metal contamination of canned meat products sold in Riyadh, Saudi Arabia. *Saudi J. Biol. Sci.*, **22**, 513-520 (2015).
7. Iacumin, L., Milesi, S., Pirani, S., Comi, G., Chiesa, L.M., Ochratoxigenic mold and ochratoxin A in fermented sau-

sages from different areas in northern Italy: Occurrence, reduction or prevention with ozonated air. *J. Food Saf.*, **31**, 538-545 (2011).
8. Wang, Y., Guan, Y., Lin, W., Yan, H., Neng, J., Sun, P., Quantitative proteomic profiling of fungal growth, development, and ochratoxin A production in *Aspergillus ochraceus* on high-and low-NaCl cultures. *Toxins*, **13**, 51 (2021).
9. Perrone, G., Rodriguez, A., Magistà, D., Magan, N., Insights into existing and future fungal and mycotoxin contamination of cured meats. *Curr. Opin. Food Sci.*, **29**, 20-27 (2019).
10. Iacumin, L., Manzano, M., Comi, G., Prevention of *Aspergillus ochraceus* growth on and ochratoxin A contamination of sausages using ozonated air. *Food Microbiol*., **29**, 229-232 (2012).
11. Algammal, A.M., Elsayed, M.E., Hashem, H.R., Ramadan, H., Sheraba, N.S., El-Diasty, E.M., Abbas, S.M., Hetta, H.F., Molecular and HPLC-based approaches for detection of aflatoxin B1 and ochratoxin A released from toxigenic *Aspergillus* species in processed meat. *BMC Microbiol.*, **21**, 1-10 (2021).
12. Odeyemi, O.A., Alegbeleye, O.O., Strateva, M., Stratev, D., Understanding spoilage microbial community and spoilage mechanisms in foods of animal origin. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.*, **19**, 311-331 (2020).
13. Nielsen, D.S., Jacobsen, T., Jespersen, L., Koch, A.G., Arneborg, N., Occurrence and growth of yeasts in processed meat products–Implications for potential spoilage. *Meat Sci.*, **80**, 919-926 (2008).
14. Bai, Y., Ding, X., Zhao, Q., Sun, H., Li, T., Li, Z., Wang, H., Zhang, L., Zhang, C., Xu, S., Development of an organic acid compound disinfectant to control food-borne pathogens and its application in chicken slaughterhouses. *Poult. Sci.*, **101**, 101842. (2022).
15. Mani-López, E., García, H.S., López-Malo, A., Organic acids as antimicrobials to control *Salmonella* in meat and poultry products. *Food Res. Int.*, **45**, 713-721 (2012).
16. Ministry of Food and Drug Safety (MFDS), (2023, August 10). Korean food code. Retreived from https://various.foodsafetykorea.go.kr/fsd/#/ext/Document/FA
17. Xu, X., Lee, J.E., Kim, E.J., Jeong, S.M., Ryu, S.H., Kang, W.S., Kim, S.R., Kim, H.H., Lee, G.H., Ahn, D.H., Effect of organic acid and ultraviolet-C treatment on putrefactive microorganisms and shelf-life of seasoned squid product. *Korean J. Food Preserv.,* **28**, 578-588 (2021).
18. Silano, V., Barat Baviera, J.M., Bolognesi, C., Brüschweiler, B.J., Chesson, A., Cocconcelli, P.S., Crebelli, R., Gott, D.M., Grob, K., Lampi, E., Riviere, G., Steffensen, I.L., Tlustos, C., Loveren, H.V., Vernis, L., Zorn, H., Bolton, D., Bover-Cid, S., Knecht, J.D., Peixe, L, Skandamis, P., Bau, A., Martino, C., Messens, W., Sarno, E., Tomcikova, D., Mortensen, A., Evaluation of the safety and efficacy of the organic acids lactic and acetic acids to reduce microbiological surface contamination on pork carcasses and pork cuts. *EFSA J.*, **16**, e05482 (2018).
19. Rosario, D.K., Mutz, Y.S., Castro, V.S., Bernardes, P.C., Rajkovic, A., Conte-Junior, C.A., Optimization of UV-C light and lactic acid combined treatment in decontamination of sliced Brazilian dry-cured loin: *Salmonella* Typhimurium inactivation and physicochemical quality. *Meat Sci.*, **172**, 108308 (2021).
20. Seong, K.H., Kang, J.H., Song, K.B., Effects of combined acetic acid and UV-C irradiation treatment on the microbial growth and the quality of sedum during its storage. *Korean J. Food Preserv.*, **21**, 581-586 (2014).