

Research note

물리적 제어기술이 *Aspergillus ochraceus* 저감화에 미치는 영향

이은선 · 김종희 · 김부민 · 오미화*
농촌진흥청 국립축산과학원 축산물이용과

Effect of Physical Control Technology on *Aspergillus ochraceus* Reduction

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 August 4, 2021/Revised September 7, 2021/Accepted October 1, 2021)

ABSTRACT - In this study, the effectiveness of physical control technology, a combined light sterilization (LED, UV) and hot water treatment in reducing *Aspergillus ochraceus* for food production environment was investigated. In brief, 1 mL aliquot of *A. ochraceus* spore suspension (10^{7-8} spore/mL) was inoculated onto stainless steel chips, which was then dried at 37°C, and each was subjected to different physical treatment. Treatments were performed for 0.5, 1, 2, 5, 8, and 11 hours to reduce the strains using a light-emitting diode, but no significant difference was confirmed among the treatments. However, a significant reduction was observed on the chips treated with UV-C exposure and hot water immersion. After being treated solely with 360 kJ/m² of UV-C on stainless steel chip, the fungi were significantly reduced to 1.27 log CFU/cm². Concerning the hot water treatment, the initial inoculum amount of 6.49 log CFU/cm² was entirely killed by immersion in 83°C water for 5 minutes. Maintaining a high temperature for 5 minutes at the site is difficult. Thus, considering economic feasibility and usability, we attempted to confirm the appropriate *A. ochraceus* reduction conditions by combining a relatively low temperature of 60°C and UV rays. With the combined treatments, even in lukewarm water, *A. ochraceus* decreased significantly through the increases in the immersion time and the amount of UV-C irradiation, and the yield was below the detection limit. Based on these results, if work tools are immersed in 60°C lukewarm water for 3 minutes and then placed in a UV sterilization device for more than 10 minutes, the possibility of *A. ochraceus* cross-contamination during work is expected to be reduced.

Key words: Hot water, Ultraviolet ray, LED, *Aspergillus ochraceus*, Reduction effect

국내 식품안전 사고들이 지속적으로 발생함에 따라 소비자들의 식품안전에 대한 관심이 높아지고 있다. 세균, 바이러스 등과 같은 미생물 오염에 대한 우려 때문에 식품 내 이물 혼입 등 물리적 오염 역시 식품 생산·제조에 있어서 중요한 위생관리점이 되고 있다. 벌레, 금속, 플라스틱 등 여러 원인들이 이물로 분류되고 있으며 미생물인 곰팡이도 식품공전에서 이물로 분류되어 최종제품에 반드시 제거되어야 할 위해요소로 규정하고 있다¹⁾. 2016년 식품의약

품안전처의 보고에 따르면 식품 내 이물 신고 중 곰팡이가 10.3%로 벌레(34.3%) 다음으로 많다. 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.

특히 *Aspergillus* 종은 곡류 및 사료 작물과 같은 수분 활성도가 낮은 식품($A_w < 0.75$)에도 성장 가능한 오염원 중 하나로 식품 부패를 야기할 뿐만 아니라 ochratoxin과 aflatoxin 같은 독성을 지닌 2차 대사산물을 생산하여 식품안전에 위협 요소로 작용한다^{2,4)}. 특히 *Aspergillus ochraceus*가 생성하는 독소인 ochratoxin은 곡류, 커피, 와인 등에서 주로 검출되며, 종종 소시지와 같은 육제품에서도 생육하여 표면에서 검은 점들을 형성하기도 한다⁵⁾. 곰팡이는 세균 등 다른 미생물과는 달리 균사를 형성하여 증식하는데, 일반적으로 식품 표면의 균열을 통해 침투하여 생장이 가능하다. 이러한 제품은 표면에 오염이 확인되

*Correspondence to: Mi-hwa Oh, Division of Animal Products Research and Development, National Institute of Animal Science, Wanju 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.

지 않은 채로 유통되어 결국 소비자들이 포장을 뜯으면서 확인되거나 모른 채로 섭취할 우려가 있다. *A. ochraceus*가 식품 생산단계에서 널리 분포되는 균주는 아니나 독소를 생성하는 유해균주로서 생산단계 중 식품에 이행되는 것을 사전에 예방해야 한다.

이를 위해 식품제조 환경 및 시설, 도구에서 식품으로 유입될 수 있는 교차오염을 줄이고자 여러 제어기술들에 대한 연구들이 진행되어 오고 있다. 그러나 제조시설·장비들은 규모가 매우 크기 때문에 살균기술들이 적용하기 어려운 측면도 있고, 화학제로 소독한 후 제대로 세척되거나 행귀지지 않아 잔류물질에 대한 우려도 있다. 따라서 현장에서 작업자들이 사용하기 쉬우면서도 잔류성이 없는 물리적 제어기술에 대한 검토가 필요하다. 특히 곰팡이는 포자의 형태로 공기 중에 부유하다가 생육하기 적절한 환경이 되면 표면에 부착하여 생존하기 때문에 공간에 대한 살균 여부도 중요하다. 이러한 장점들을 이용하여 살균하기 위한 물리적 저감기술로는 ultra violet C light (UV), light emitting diode (LED), 광필스처리 기술 등 다양한 것들이 있다. 가장 전통적이면서도 쉬운 방법은 스팀 등 열로서 유해미생물을 저감하는 방법이 있다. 앞서 언급한 광살균 중 UV는 파장에 따라 3가지로 분류하고 있다. UVA (320 nm-400 nm)는 주로 공기 중에 활성산소를 발생시켜 병원균을 억제하며 UVB (280-320 nm), UVC (200-280 nm)는 직접적으로 미생물의 DNA 구조 손상을 야기하여 미생물을 저감시킨다^{6,7)}. 또한 LED는 고춧가루 등 농산물에 적용하여 곰팡이 등 미생물 저감화 및 품질 특성에 대한 연구가 진행된 바가 있으나⁸⁾ 식품 접촉 재질 등 식품 생산 환경의 곰팡이 미생물 오염 저감을 위해 적용 가능한 예는 거의 없다. 따라서 본 연구에서는 식품 제조 환경에서 최종제품으로 *A. ochraceus*가 이행하여 오염되는 것을 방지하고자 열수, LED 등 여러 물리적 제어기술의 단일 처리효과를 확인하고 이들의 병용처리를 통한 저감효과를 구명하고자 한다.

Materials and Methods

Aspergillus ochraceus 분리 및 동정

본 연구에서 사용된 균주는 소 도축장 내 시설에서 분리된 *A. ochraceus* 1개의 균주를 사용하였다. 초저온 냉동고에 저장된 균주는 potato dextrose agar (PDA)에 도말한 후 동정을 위해서 단일 콜로니로 25°C에서 3-5일간 배양되었다. 균사를 포함한 균주를 10 µL 일회용 loop로 채취하여 900 µL UltraPure Distilled water (Invitrogen, Waltham, MA, USA)에 현탁하여 100°C에 1분간 끓인다. 곰팡이의 DNA는 ITS1 (5'-GTA GGT GAA CCT GCG G-3')/ITS4 (5'-TCC GCT TAT TGA TAT GC-3') primer에 의해 증폭되었으며 PCR product는 Sequencer인 ABI PRISM

3730LX DNA Analyzer (Applied Biosystems, Carlsbad, CA, USA)를 통해 분석되었다. 2차적으로 동정결과를 확인하기 위해 Schmidt 등⁹⁾의 논문을 참고하여 *A. ochraceus*의 종 특이 primer로 PCR 분석을 진행하였다. 이 때 OCA-V (5'-ATA CCA CCG GGT CTA ATG CA-3'), OCA-R (5'-TGC CGA CAG ATT-3') primer에 의해 증폭되었다. 분석된 염기서열은 GenBank로부터 얻은 유사성이 높은 염기서열에 따라 동정하였다. 샘플은 Solgent (Daejeon, Korea)에 의뢰하였다.

균액 제조 및 스테인리스 칩 표면 균점종

식품접촉재질 표면에 균주를 점종하여 저감효과를 확인하기 위해서 식품 생산·제조시설 및 작업장 내 가장 많이 사용되는 스테인리스 스틸 재질을 대상으로 설정하고 칩 (grade 304 with 2B finish, 10 × 10 cm)을 제작하여 본 연구에 사용하였다. 스테인리스 스틸 칩은 멸균기에서 멸균하여 건조 후 사용되었다. 균액은 25°C에서 배양된 단일 콜로니를 채취하여 0.03% tween 80 용액에 현탁하여 PDA 상에서 초기 균액 농도가 10⁶⁻⁸ CFU/mL가 되도록 제조하고 1 mL 균액을 칩 표면에 점종 하였다. 점종된 칩은 37°C에서 3시간 건조한 후 실험에 사용하였다.

열수와 UV-C, LED 단일처리

열수 처리는 항온수조에 들어 있는 증류수에 균이 점종된 스테인리스 스틸 칩을 30초, 1, 3, 5, 10분간 침지하였다. 이 때 처리 온도는 60, 65, 75, 83°C 각각 조건에 따라 일정하게 유지하였다. UV 조사는 15W low-pressure UV-C lamp (Sankyo Denki, Kanagawa, Japan)가 장착된 실험실 규모의 챔버 HD 11077-4002A (Donghwa Plant, Osan, Korea)에서 수행 되었다. 자외선 밀도는 0.3 mW/cm²으로 일정한 조사량을 유지하기 위해 본 실험이 진행되기 30분 전에 장치를 켜두고 균이 점종된 칩을 챔버에 넣어 9, 18, 54, 90, 180, and 360 kJ/m² 선량 (30초, 1, 3, 5, 10, 20분)으로 조사하였다. 이때, 샘플과 램프간의 거리는 30cm로 일정하게 유지하였다. LED는 자외선과 동일한 크기의 챔버에 청색광(460 nm), 녹색광(530 nm), 황색광(590 nm), 적색광(632 nm)를 설치하여 30분 1, 2, 5, 8, 11시간 동안 조사하였다. 샘플과 시료간의 간격은 UV와 동일하게 30cm로 유지하였다.

열수와 UV의 복합처리

시료에 열수와 UV의 복합처리를 위해 60°C 증류수에서 1 mL의 균액이 점종된 스테인리스 스틸 칩을 0-10분간 침지한 후 처리된 시료를 각각 UV 장치에 넣어 15, 30, 90, 150, 300, 600 mJ/cm² 선량으로 조사하였다. 이 때 발생하는 복합처리에 의한 상승효과는 복합처리 후 감소 값 - (UV-C 단일처리 후 감소 값 + 열수 처리 후 감소 값)로 계산하였

다^{6,10}). 양의 상승 효과 값은 각각의 단일 처리를 결합하였을 때 발생하는 긍정적인 영향을 의미하며 음의 상승 효과 값은 복합처리 시 발생하는 부정적인 영향을 의미한다.

곰팡이 분석

처리된 스테인리스 스틸 칩에 1 mL phosphate buffered saline (PBS)를 분주하여 cell scraper (SPL)를 활용하여 재질 표면에 처리 후 남아있는 균을 긁어냈다. 회수한 균액은 1 mL씩 채취하여 diluent saline (3M, St. Paul, MN, USA) 9 mL로 10배씩 희석하여 PDA 배지에 접종하였다. 배지는 25°C에서 3-5일간 배양된 후 형성된 colony 수를 계수하여 1 cm² 당 colony forming unit (CFU)으로 나타내었다.

통계분석

단일처리(열수, UV, LED)에 대한 저감효과와 복합처리(열수 × 자외선)에 대한 저감효과 확인은 모두 3회 반복되었으며, 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 균주의 ITS region 시퀀싱을 진행하여 유전자 염기서열을 분석한 후 GeneBank 데이터베이스를 통하여 상동성을 비교하였다. 또한 동정 결과를 확정하기 위하여 *A. ochraceus*의 종 특이 primer를 활용하여 PCR한 결과 *A. ochraceus* (GeneBank No.KU924149.1)와 99% 유사성을 보였다.

Aspergillus ochraceus 저감을 위한 단일처리 실험

유해미생물을 저감하기 위한 물리적 처리는 광살균, 초고압, 방사선 조사 등 다양한 방법들이 있다. 그러나 식품을 제조, 유통하는 현장이나 영세한 식품 제조업체들의 경우 전문성을 요하는 기기, 설비를 설치하고 사용하기 어려운 상황이다. 따라서 본 연구에서는 생산-제조 시설에 주로 사용되는 스테인리스 재질의 칩에 현장에서 작업자가 사용하기 쉬운 기술을 적용하여 곰팡이 저감효과를 구명하였다. Table 1은 균이 접종된 스테인리스 칩을 여러 온도(60, 65, 70, 83°C)에 따라 세척수에 침지하여 저감효과를 비교한 것이다. 스테인리스 칩에 접종한 *A. ochraceus*의 초기 농도는 10^{6.8} log CFU/mL 정도이며 저감효과 구명을 위해 고농도로 접종하였다. 각 조건은 미온수인 60°C부터 일반적인 작업도구 위생관리지침에서 제시하고 있는 적정 온도인 83°C까지 처리하였다¹¹). 모든 온도에서 *A. ochraceus*가 유의적으로 감소하였으며 ($P < 0.05$) 가장 고온인 83°C에서 5분간 처리하였을 때 불검출 되었다. 60°C에 10분간 침지 시에는 초기 접종 농도(6.49 log CFU/cm²)에서 0.30 log CFU/cm²까지 유의적으로 줄어들어 총 6.19 log 감소하였다. 또한 65, 70°C에서 5분간 열수에 침지하였을 때 최대 각 5.22, 5.70 log CFU/cm²가 감소하였으나 두 조건에서 각각 1.27, 0.79 log CFU/cm² 검출되었다. 다른 연구에서는 식중독균인 *Salmonella* Typhimurium을 60°C 챔버에 6분간 방치하였더니 7.24 log CFU/g에서 3.84 log CFU/g 까지 감소하였다¹²). 본 연구와 비교하면 같은 온도에서 5분간 처리 시 *A. ochraceus*는 5.32 log CFU/cm² 감소하였으며, 이는 열처리에 대한 감수성이 세균인 *S. Typhimurium*보다 *A. ochraceus*가 더 높은 것을 시사하였다. 그러나 60°C에서는 최대 10분까지 처리 하였음에도 불구하고 곰팡이가 생존함을 확인하였다. 단일 처리 시 83°C의 열수 처리 효과가 좋으나 현장에서 오랜시간 동일한 온도로 유지하는 것이 어려울 뿐만 아니라 작업도구의 표면이 고온으로 유지되어 제품의 품질에 영향을 주는 등의 문제로 복합처리를 고려하게 되었다.

복합처리를 진행하기 전 열수 단일 처리 외에도 다른

Table 1. Changes of *A. ochraceus* population (log CFU/cm²) on stainless steel chips with hot water

| Time (min) | Temperature (°C) | | | |
|------------|-------------------------|-------------------------|--------------------------|-------------------------|
| | 60 | 65 | 70 | 83 |
| 0 | 6.49±0.42 ^a | 6.49±0.42 ^a | 6.49±0.42 ^a | 6.49±0.42 ^a |
| 0.5 | 5.94±0.04 ^{bx} | 3.53±0.68 ^{by} | 3.11±0.77 ^{by} | 0.10±0.17 ^{bz} |
| 1 | 3.80±0.21 ^{cx} | 3.05±0.48 ^{by} | 2.69±0.13 ^{bcy} | 0.33±0.58 ^{bz} |
| 3 | 2.51±0.14 ^{dx} | 2.27±0.35 ^{cx} | 2.07±0.40 ^{cx} | 0.10±0.17 ^{by} |
| 5 | 1.17±0.15 ^{ex} | 1.27±0.06 ^{dx} | 0.79±0.70 ^{dx} | 0.00±0.00 ^{by} |
| 10 | 0.30±0.52 ^f | 0.00±0.00 ^e | 0.00±0.00 ^d | 0.00±0.00 ^b |

Value are mean±SD (n=3); ^{a-f}Values with different superscripts with in the same column are significantly different by ANOVA with Duncan's multiple range test at $p < 0.05$; ^{x-z}Values with different superscripts with in the same row are significantly different by ANOVA with Duncan's multiple range test at $p < 0.05$.

Table 2. Changes of *A. ochraceus* population (log CFU/cm²) on stainless steel chips with LED

| Time (h) | Green light | Red light | Blue light | Yellow light |
|----------|------------------------|-----------|------------|--------------|
| 0 | 7.72±0.05 ^a | 7.72±0.05 | 7.72±0.05 | 7.72±0.05 |
| 0.5 | 7.23±0.10 ^b | 7.82±0.32 | 7.51±0.30 | 7.32±0.15 |
| 1 | 7.26±0.09 ^b | 7.72±0.30 | 7.66±0.28 | 7.41±0.26 |
| 2 | 6.94±0.13 ^c | 7.82±0.18 | 7.28±0.11 | 7.41±0.22 |
| 5 | 6.93±0.07 ^c | 7.66±0.25 | 7.52±0.23 | 7.35±0.21 |
| 8 | 6.92±0.03 ^c | 7.61±0.18 | 7.59±0.24 | 7.37±0.24 |
| 11 | 6.85±0.07 ^c | 7.50±0.18 | 7.57±0.19 | 7.33±0.13 |

Value are mean±SD (n=3); ^{abc}Values with different superscripts with in the same column are significantly different by ANOVA with Duncan's multiple range test at $p < 0.05$.

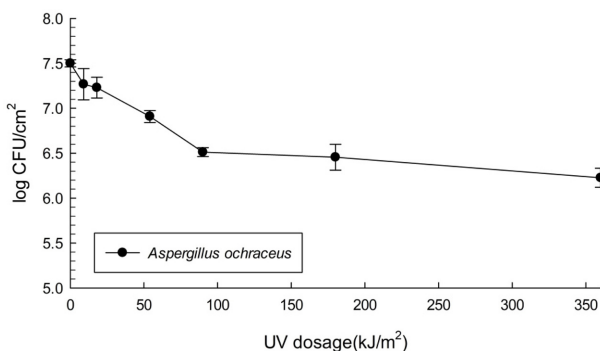


Fig. 1. The reduction of *A. ochraceus* after irradiating UV-C (9, 18, 54, 90, 180, and 360 kJ/m²).

물리적 제어기술 중 비가열 처리 기술인 광살균(LED, UV-C)을 활용하여 곰팡이 저감효과를 구명하였다. Table 2는 *A. ochraceus*를 4가지 광원(적색광, 황색광, 녹색광, 청색광)별로 조사하여 저감효과를 비교한 결과이다. LED 처리는 평균적으로 0.5 log CFU/cm² 감소하였으며, 녹색광에서는 최대 0.9 log CFU/cm² ($P < 0.05$) 까지 유의적으로 감소한 것을 확인하였다. 그러나 녹색광을 제외한 나머지 3가지 광원에서는 유의적인 차이가 없었다. 한편 Kim 등⁸⁾은 고춧가루 표면에 광원별로 240시간 LED를 처리한 결과 효모 및 곰팡이는 0.76-1.76 log 감소한 것을 확인하였다. 이는 본 실험에 비해서 처리시간(240>11시간)이 길어 저감효과가 비교적 큰 것으로 예상된다. 그러나 식품을 생산하는 가공장 등 현장에서는 작업이 지속적으로 이루어지기 때문에 작업대를 10일 이상씩 살균처리를 위해 비워두는 일은 매우 비경제적이며 효과가 크지 않으므로 작업 현장에서 사용하기에는 어려움이 있으며 저장 창고 등 보관을 위한 곳은 일부 적용이 가능할 것으로 보인다.

UV-C를 활용하여 스테인리스칩 표면의 *A. ochraceus*를 저감한 결과는 Fig. 1에 나타났다. 스테인리스 칩에 접종된 *A. ochraceus*에 UV-C를 360 kJ/m²까지 단일 처리한 결과 유의적으로 1.3 log CFU/cm² 만큼 감소한 것을 확인하였다.

Menetrez 등¹³⁾의 결과에 따르면 배지상에 각각 *Staphylococcus epidermidis* (4.38 kJ/m²), *Pseudomonas fluorescens* (13.10 kJ/m²), *Serratia marcescens* (13.10 kJ/m²)를 접종하여 UV 처리한 결과 3 log (99%) 이상의 저감효과를 보였으나 같은 연구에서 곰팡이인 *A. vesicolor*, *A. fumigatus*, *Penicillium chrysogenum*, *Cladosporium cladosporoides*의 경우 더 높은 조사량인 43.80 kJ/m² 에서도 각각 90, 91, 72, 23% 감소하였으며 *P. chrysogenum*의 경우 61.3 kJ/m² 까지 처리해야 97% 감소함을 확인하였다. 또한 Wen, Byun^{14,15)}의 연구에서는 액체배지 상에서 *A. niger*에 UV-C 180 kJ/m²를 조사하였을 때 최대 3.7 log CFU/mL 감소하였으며 *A. flavus*와 *A. parasiticus*는 본 연구의 최대 처리 조건인 360 kJ/m²에서 3.3, 2.1 log CFU/cm² 감소하였다. 이는 균주간의 차이는 있으나 일반적으로 곰팡이가 세균보다 UV에 대한 저항성이 높아 저감효과가 상대적으로 떨어진 것을 확인하였다. 그러나 이를 극복하기 위한 장시간 자외선 처리는 램프의 수명을 단축시킬 뿐만 아니라 식품에 직접 적용하는 경우 식품 지질 부위의 광화학 반응으로 인해 변색, 이미-이취 등 관능적 특성 변화가 생겨 적합하지 않다^{16,17)}. 따라서 저감효과를 더 높이기 위해서는 다른 제어기술과 복합처리를 통해서 식품의 품질에 영향을 미치지 않는 허들장치가 필요하다. 지금까지의 연구를 바탕으로 본 연구에서는 에너지 절약 측면에서 경제성을 고려하여 보다 저온인 미온수(60°C)와 현장 적용이 가능한 UV-C와 함께 복합처리하여 저감 효과를 구명하였다.

A. ochraceus 저감을 위한 물리적 복합처리 실험

식품 가공장, 제조 시설 등에서 작업도구를 위생적으로 관리할 때는 단순히 한 가지 방법보다는 복합적인 방법으로 살균하게 되는데 일반적으로 세척 후 자외선 살균기에 보관해둔다. 다른 연구결과에 따르면 UV 조사량 증가에 따른 영향은 열처리가 선행되고 나서 그 저감효과가 더 크게 나타난다고 한다¹⁸⁾. 국내 도축장 HACCP 평가의 가이드라인으로 제시하고 있는 세척 방법은 1두 마다 칼을

83°C에서 침지하는 것이며, 시설 세척의 기준은 30-40 psi에서 40-50초간 세척하는 것이다. 또한 지육의 오염 방지를 위하여 작업 중에 수시로 칼, 톱날 등의 도구들은 83°C 이상의 뜨거운 물로 세척, 소독하는 것을 제시하고 있다¹⁹⁾. EU (EC 853/2004) 에서는 도축장의 시설 또는 작업도구를 세척하기 위하여 82°C 이상의 물을 사용해야 한다고 규정하고 있다²⁰⁾. 본 연구에서도 83°C의 열수 침지를 5분 이상 처리하면 균주가 사멸하는 것을 확인할 수 있었으나 고온을 5분 이상 생산 현장에서 유지하는 것은 쉽지 않은 일이다. 따라서 현장에 세척수를 대우기 위한 에너지 소모, 경제성, 현장 적용 등을 고려하여 비교적 낮은 온도인 미온수(60°C)를 더 적은 시간 처리하고 이 후에 UV-C 조사를 적용하였을 때 나타나는 저감효과에 대해서 확인해보고자 하였다. 복합처리를 통해 발생하는 저감 효과는 Fig. 2와 Table 3에 나타냈다. 처리의 상승 효과는 60°C에

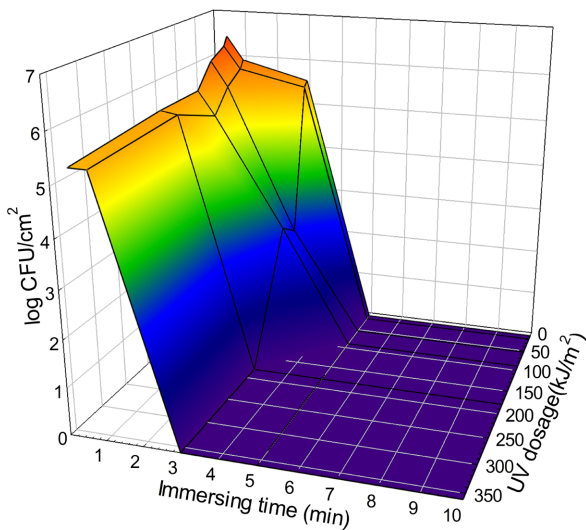


Fig. 2. The reduction of *A. ochraceus* after combined treatment with hot water (60°C) and UV-C.

서 3분 침지 후 UV를 5분간 조사하였을 때, 검출한계 이하에서 균이 검출 되지 않았다(검출한계 10 CFU 이하). 이 조건에서 초기 접종균이 모두 사멸하여 최종적으로 5.76 log 감소하였다. 다른 연구에서는 60°C에서 UV를 30분간 조사하였을 때 *S. Typhimurium*이 7 log CFU/g 이상 감소하였으며, 이는 본 연구보다 처리시간이 더 긴 것을 고려하였을 때 비슷한 수준으로 균주가 감소한 것으로 볼 수 있다¹²⁾. 처리방법에서 UV-C 처리 시간을 늘리는 것보다 열수에 침지하는 시간이 클수록 효과가 극대화된다는 것을 상승 효과 분석을 통해 확인할 수 있었다(Table 3). 예를 들어 60°C의 열수를 단독으로 처리하였을 때 최종적으로 3.43 log CFU/cm² 감소한 반면 열수 처리 후 UV-C를 단 30초만 처리하여도 5.16 log CFU/cm² 감소한 것을 확인하였다. 이에 따라 열수 1, 3분 처리 시, UV-C 처리 시간이 늘어남에 따라 발생하는 상승효과에 대한 큰 차이는 없으나, 1분에서 3분으로 열수 침지시간을 올리면 그에 따른 상승 효과가 증가하는 것을 확인할 수 있다. 같은 UV-C 조사량에서 저감효과를 비교해보면 3분간 열수 침지 처리한 것이 30초간 침지한 것에 비해 4.4-4.7 log CFU/cm² 만큼 저감효과가 큰 것을 확인할 수 있다. Gayan 등²¹⁾에 따르면 자외선과 열 복합처리의 상승 효과가 발생하는 이유는 열이 DNA 복구 매커니즘을 방해하거나 또는 DNA 자체에 손상을 주어 UV의 효과를 증진시키기 때문이라고 한다.

본 연구에서는 도축장 환경에서 분리한 *A. ochraceus*가 도축 과정 외에도 식품 가공 과정 중 식품 내부로 이행되는 것을 방지하기 위하여 생산단계에서 주로 제작되는 스테인리스를 주요 식품 접촉 표면재질로 선정하여 이 균주를 저감하기 위해 물리적 제거기술을 적용하였다. 현장 적용 시 작업자들이 가장 사용하기 편리하고 경제적인 열수(60°C, 3분), UV-C (90 kJ/m²)의 복합처리를 통하여 사멸시킬 수 있었다. 이는 스테인리스 재질로 제작된 시설 및 도구들을 사용하는 여러 식품 생산단계에서도 충분히 적

Table 3. Synergistic and antagonistic of UV-C and hot water combination on the reduction of *A. ochraceus*

| UV irradiation time (kJ/m ²) | Immersing time (min) | | | | |
|--|----------------------|------------|-----------|------------|------------|
| | 0.5 | 1 | 3 | 5 | 10 |
| 9 | -0.05±0.22 | -0.45±0.22 | 0.94±1.15 | 0.94±0.00 | 0.07±0.00 |
| 18 | -0.01±0.37 | -0.25±0.37 | 1.65±1.03 | 0.90±0.00 | 0.03±0.00 |
| 54 | -0.20±0.37 | -0.20±0.37 | 1.38±0.92 | 0.58±0.00 | -0.29±0.00 |
| 90 | -0.29±0.83 | -0.38±0.83 | 1.52±0.00 | 0.18±0.00 | -0.69±0.00 |
| 180 | -0.39±0.61 | -0.36±0.61 | 1.46±0.00 | 0.12±0.00 | -0.74±0.00 |
| 360 | -0.04±0.14 | -0.17±0.14 | 1.23±0.00 | -0.11±0.00 | -0.97±0.00 |

^a Synergistic effects indicated as +: reduction achieved with the UV-C treatment and hot water treatment)-(reduction achieved by the UV-C + hot water treatment).

^b Antagonistic effects indicated as -: reduction achieved with the UV-C treatment and hot water treatment)-(reduction achieved by the UV-C + hot water treatment).

용가능한 적절한 조건들을 제시하였으며, 생산되는 제품의 교차오염을 예방할 수 있을 것으로 기대한다.

Acknowledgement

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

국문요약

본 연구는 식품 생산 환경에서 *A. ochraceus*를 저감하기 위하여 물리적 제어기술인 광살균(LED, UV), 열수 처리를 통하여 그 효과를 확인하고자 하였다. 이를 위하여 *A. ochraceus* 포자 현탁액(10^{7-8} spore/mL)를 스테인리스 칩에 1 mL 접종하고 37°C에 건조한 후 각각의 물리적 처리에 적용하였다. LED를 활용하여 30분, 1, 2, 5, 8, 11시간 처리하였으나 균수에서 유의적인 차이를 확인하지 못하였으나 UV-C와 열수침지에서는 모두 *A. ochraceus*가 유의적으로 감소하였다. UV-C를 단독으로 스테인리스 칩에 360 kJ/m²까지 조사한 결과 *A. ochraceus*가 1.27 log CFU/cm² 까지 유의적으로 감소한 것을 확인하였다. 열수 처리에서는 가장 고온인 83°C에서 5분간 침지할 경우 *A. ochraceus* 초기 접종농도인 6.49 log CFU/cm²를 모두 사멸 시켰다. 그러나 고온의 열에너지를 5분간 현장에서 유지하는 것이 쉽지 않으므로 경제성과 사용 적합성 등을 고려하여 비교적 저온인 60°C와 자외선을 복합처리 하여 적절한 저감 조건을 확인하고자 하였다. 복합처리 결과 미온수에서도 침지시간 증가와 UV-C 조사량 증가에 따라 유의적으로 감소하여 불검출되었다. 이러한 결과들을 바탕으로 미온수인 60°C 물에 작업도구 등을 침지하여 3분간 침지한 후 10분 이상 UV 살균처리 장치에 비치하여 둔다면 작업 중 *A. ochraceus*가 식품으로 교차오염되는 가능성을 줄일 수 있을 것으로 예상된다.

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. Ministry of Food and Drug Safety, (2021, August 4). Retrieved from https://www.mfds.go.kr/brd/m_218/view.do?seq=33374&srchFr=&srchTo=&srchWord=&srchTp=&itm_seq_1=0&itm_seq_2=0&multi_itm_seq=0&company_cd=&company_nm=&page=24
2. Hua, H., Xing, F., Selvaraj, J.N., Wang, Y., Zhao, Y., Zhou, L., Liu, X., Liu, Y., Inhibitory effect of essential oils on *Aspergillus ochraceus* growth and ochratoxin A production. *PLoS One*, **9**, e108285 (2014).
3. Kim, D.H., Jang, H.S., Kim, Y.M., Ahn, J.S., Survey for contamination and study for reduction of ochratoxin A and aflatoxin in red pepper. *J. Food Hyg. Saf.*, **24**, 299-306 (2009).
4. Nam, B.R., Kim, K.Y., Ryu, H.J., Nam, M.J., Shim, W.B., Yoon, Y.H., Kim, J.H., Lee, J.W., Byun, M.W., Chung, D.H., Influence of gamma-irradiation on the growth of *Aspergillus* spp. on feeds for ensuring feed safety. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **42**, 317-322 (2010).
5. 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).
6. Lu, Y., Yang, B., Zhang, H., Lai, A.C.K., Inactivation of foodborne pathogenic and spoilage bacteria by single and dual wavelength UV-LEDs: Synergistic effect and pulsed operation. *Food Control*, **125**, 107999 (2021).
7. Dai, T., Vrahas, M.S., Murray, C.K., Hamblin, M.R., Ultraviolet C irradiation: an alternative antimicrobial approach to localized infections?. *Expert Rev. Anti-infect. Ther.*, **10**, 185-195 (2012).
8. Yun, H.J., Park, K.H., Ryu, K.Y., Kim, S.R., Yun, J.C., Kim B.S., Effects of LED treatment on microbial reduction and quality characteristics of red pepper powder. *J. Food Hyg. Saf.*, **27**, 442-448 (2012).
9. Schmidt, H., Ehrmann, M., Vogel, R.F., Taniwaki, M.H., Niessen, L., Molecular typing of *Aspergillus ochraceus* and construction of species specific SCAR-primers based on AFLP. *Syst. Appl. Microbiol.*, **26**, 138-146 (2003)
10. Kim, M., Park, S.Y., Ha, S.D., Synergistic effect of a combination of ultraviolet-C irradiation and sodium hypochlorite to reduce *Listeria monocytogenes* biofilms on stainless steel and eggshell surfaces. *Food Control*, **70**, 103-109 (2016).
11. Animal and Plant Quarantine Agency, (2021, August 4). <https://www.qia.go.kr/downloadwebQiaCom.do?id=25560>
12. Park, M.J., Kim, J.H., Oh, S.W., Inactivation effect of UV-C and mild heat treatment against *Salmonella* Typhimurium and *Escherichia coli* O157: H7 on black pepper powder. *Food Sci. Biotechnol.*, **28**, 599-607 (2019).
13. Menetrez, M.Y., Foad, K.K., Dean, T.R., Betancourt, D. A. The effectiveness of UV irradiation on vegetative bacteria and fungi surface contamination. *Chem. Eng. J.*, **157**, 443-450 (2010).
14. Wen, G., Deng, X., Wan, Q., Xu, X., Huang, T., Photoreactivation of fungal spores in water following UV disinfection

- and their control using UV-based advanced oxidation processes. *Water Res.*, **148**, 1-9 (2019).
15. Byun, K.H., Park, S.Y., Lee, D.U., Chun, H.S., Ha, S.D., Effect of UV-C irradiation on inactivation of *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus* and quality parameters of roasted coffee bean (*Coffea arabica* L.). *Food Addit. Contam. Part A*, **37**, 507-518 (2020).
 16. Yang, S., Sadekuzzaman, M., Ha, S.D., Reduction of *Listeria monocytogenes* on chicken breasts by combined treatment with UV-C light and bacteriophage ListShield. *LWT*, **86**, 193-200 (2017).
 17. McLeod, A., Liland, K.H., Haugen, J.E., Sørheim, O., Myhrer, K.S., Holck, A.L., Chicken fillets subjected to UV-C and pulsed UV light: Reduction of pathogenic and spoilage bacteria, and changes in sensory quality. *J. Food Saf.*, **38**, e12421 (2018).
 18. Marquenie, D., Lammertyn, J., Geeraerd, A.H., Soontjens, C., Van Impe, J.F., Nicolai, B.M., Michiels, C.W., Inactivation of conidia of *Botrytis cinerea* and *Monilinia fructigena* using UV-C and heat treatment. *Int. J. Food Microbiol.*, **74**, 27-35 (2002).
 19. Animal and Plant Quarantine Agency, (2021, September 24). https://www.qia.go.kr/viewwebQiaCom.do?id=36220&type=1_31HACCPsystems
 20. European Union law, (2021, September 24). <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/HTML/?uri=CELEX:02004R0853-20210909&from=EN>
 21. Gayán, E., Mañas, P., Álvarez, I., Condón, S., Mechanism of the synergistic inactivation of *Escherichia coli* by UV-C light at mild temperatures. *Appl. Environ. Microbiol.*, **79**, 4465-4473 (2013).