

생딸기 주스 제조 환경에서의 미생물학적 오염도 조사

김세리 · 심원보 · 박선자¹ · 하광수² · 윤혜숙³ · 하상도⁴ · 김근성⁴
이규호⁵ · 김민곤⁶ · 김광엽⁷ · 김철호⁸ · 정덕화*

경상대학교 응용생명과학부, ¹경상대학교 의과대학 해부학교실, ²국립수산물과학원 양식환경연구소,
³경상남도 농업기술원, ⁴중앙대학교 식품공학과, ⁵한국외국어대학교 환경학과,
⁶한국생명공학연구원, ⁷충북대학교 식품공학과, ⁸동국대학교 한의과대학

Investigation of the Level of Microbial Contamination in the Environment for Juice Production

Se-Ri Kim, Won-Bo Shim, Seon-Ja Park¹, Kwang-Soo Ha², Hae-Suk Yoon³,
Sang-Do Ha⁴, Keun-Sung Kim⁴, Kyu-Ho Lee⁵, Min-Gon Kim⁶,
Kwang-Yup Kim⁷, Cheol-Ho Lim⁸, and Duck-Hwa Chung*

Division of Applied Life Science, Gyeongsang National University

¹Department of Anatomy, College of Medicine, Gyeongsang National University

²Aquaculture Environment Institute, National Fisheries Research and Development Institute

³Gyeongnam Agricultural Research and Extension Service

⁴Department of Food Science and Technology, Chung-Ang University

⁵Department of Environmental Engineering and Biotechnology, Hankuk Univ. of Foreign Studies

⁶Laboratory of Integrative Biotechnology, Korea research Institute of Bioscience and Biotechnology

⁷Department of Food Science and Technology, Chungbuk University

⁸Department of Biochemistry and Molecular Biology, College of Oriental Medicine, Dongguk University

Microbial contamination levels in commercial strawberry juices were examined for sanitary indication bacteria, such as aerobic plate count (APC), coliforms, and *Escherchia coli*, and pathogenic bacteria such as *E. coli* O157:H7, *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus*, and *Listeria monocytogenes*. APC and coliform count ranged 0-5.2 and 0-2.8 log₁₀ CFU/(mL, g, 100 cm², hand), respectively, and 80% strawberry juices were contaminated with *E. coli* and *S. aureus*, detected at 19%, was found in employee's hands, strawberries, and strawberry juices, whereas *E. coli* O157: H7, *Salmonella* spp, and *L. monocytogenes* were not detected. These results will provide microbiological information for introduction of Hazard Analysis Critical Control Point (HACCP) system in juice shops.

Key words: strawberry juice, HACCP (Hazard Analysis Critical Control Point), sanitary indication bacteria, pathogenic bacteria

서 론

생과일주스는 그 신선함 때문에 전 세계적으로 널리 판매되고 있다. 하지만 생과일주스의 생산은 전통적인 주스 생산방식과는 달리 과일의 향과 신선함을 유지하기 위하여 미생물을 사멸하거나 효소를 불활성화 시킬 수 있는 가열공정이 없다. 따라서 생과일주스의 안전성은 원료에서부터 제품생산에 이르는 전 단계에서 결정된다고 할 수 있다(1). 그러나 최근 생과일주스의 부적절한 취급으로 인하여 미국을 비롯한 여러 국가에서

주스에 의한 식중독 사례가 보고되고 있으며 최근 몇 년 동안 병원성 미생물로 오염된 주스가 식중독의 원인이 된 사례로는 1996년 사과주스에 의한 식중독 발생이 있다. 이 사건의 원인균은 *E. coli* O157:H7이었으며 이 사건으로 1명의 어린이가 사망하였으며 전체 환자 수는 70명에 이르렀다. 또한 1999년과 2000년에는 *Salmonella*가 오염된 오렌지주스에 의한 식중독이 발생한 바 있으며 환자 수는 각각 88명과 423명으로 집계되었다. FDA에서 발표한 자료에 따르면 주스와 관계된 식중독의 발생건수가 48,000건에 이를 것이라 추정하고 있다(2,3).

그리고 주로 식중독의 원인이 되었던 주스는 사과주스, 오렌지주스, 토마토주스였으며 실제 딸기 주스에 의한 식중독은 보고된 사례가 드물지만 딸기는 조직이 무르고 상처가 나기 쉬우며 병원균의 침입을 받기는 쉬우나 단순한 세척만으로 표면에 부착된 병원성 미생물을 제거하기 어렵다는 Knudsen 등(4,5)의 연구와 비위생적인 제조환경 및 개인위생에 대한 의식 결

*Corresponding author: Duck-Hwa Chung, Division of Applied Life Science, Graduate School of Gyeongsang National University, Jinju, Gyeongnam 660-701, Korea
Tel: 82-55-751-5480
Fax: 82-55-757-5485
E-mail: dhchung@gsnu.ac.kr

여 등으로 인한 딸기주스에 의한 식중독 사례가 우려된다.

따라서 딸기주스를 비롯한 주스에 의한 식중독을 예방할 수 있는 제도의 도입이 요구되고 있으며 이러한 시대적 요구에 따라 미국에서는 2002년 1월부터 주스 산업에 의무적으로 Hazard Analysis Critical Control Point (HACCP)를 도입할 것을 법으로 규제해 놓고 있는 실정이다(6). HACCP system은 예방적인 차원으로서 산지에서 식탁까지("from farm to table")의 모든 식품, 모든 생산과정에서 적용할 수 있으며 문제점이 발생되기 전 미연에 방지함으로써 보다 효율적이고 안전한 위생관리 제도라고 할 수 있다(7). 이 시스템을 도입하기 위해서는 우선 주스와 원료를 생산하는 각 단계에서 발생할 수 있는 위험을 찾고 이해하는 것이 선행되어야 하며 아울러 대중적인 홍보와 주스 상점을 운영하는 경영주가 안전한 생과일주스 대한 의지와 실천이 필요할 것으로 사료된다.

따라서 본 연구는 서부경남 지역 딸기 주스 상점 5곳을 선정하여 미생물학적 오염도를 조사하고, 그 평가 결과를 HACCP 제도의 도입에 필요한 미생물학적 정보를 제공하고자 본 연구를 수행하였다.

재료 및 방법

장소 선정 및 시료 채취

본 연구를 위하여 2004년 5월부터 6월 사이 서부경남지역 딸기 주스 상점 5곳을 선정하여 제조 기구 및 기구, 작업자, 원료와 주스에 대한 미생물학적 위해평가를 실시하였다. 선정된 장소는 take-out 방식으로 판매하는 주스 상점이었다.

미생물 검사를 위한 시료 채취는 먼저 상점의 수도수는 얼음 제조와 딸기세척 및 기구 세척에 이용되고 있는 물로 수도에서 직접 1L를 채수병에 채취하였다. 또한 제조도구 및 기구는 사용 중인 것을 채취하였으며 주스 용기는 사용 전의 것을 검체의 형태에 따라 10×10 cm 혹은 10×4 cm 크기의 면적대를 사용하여 100 cm² 혹은 40 cm²의 면적을 swab하였다(8). 작업자의 손에 대해서는 작업 전 또는 작업 중일 경우에 물로 씻은 후 glove juice법에 준하여 채취하였다(9).

그리고 딸기의 경우는 100 g을 딸기 주스의 경우는 250 mL를 멸균된 시료채취용 팩에 담았으며 얼음의 경우는 주스 상점의 제빙기내에 담긴 얼음을 약 100 g 정도 멸균된 시료 채취용 팩에 채취하였다. 이렇게 채취된 모든 시료는 얼음을 채운 ice box에 담고 실험실로 냉장 운반한 후 사용하였다.

본 연구에 사용된 총 75개의 시료는 Table 1과 같다.

표준균주

병원성 미생물의 분리에 positive control로 사용된 표준 균주는 *Escherichia coli* O157:H7(*E. coli* O157:H7) ATCC 43894, *Listeria monocytogenes*(*L. monocytogenes*) ATCC 15313, *Salmonella typhimurium*(*S. typhimurium*) ATCC 13311, *Staphylococcus aureus*(*S. aureus*) ATCC 25923 이며 이들 균주는 식품 의약품안전청으로부터 분양받아 본 연구에 사용하였다.

시료의 전처리

모든 시료는 clean bench에서 무균적으로 처리하였으며, 일반 세균수를 비롯한 각종 위생지표세균의 분석을 위한 전처리 과정은 다음과 같다. 수도수는 별다른 전처리 과정 없이 사용하였으며 기구와 기기, 주변 환경에서 swab된 시료 및 glove juice 법에 의하여 채취된 손 시료의 경우는 강하게 진탕한 후 본 실험

험에 사용하였다. 또한, 딸기와 주스는 멸균된 시약 스푼 혹은 10 mL 피펫을 이용하여 10 g 혹은 10 mL을 취하여 0.85% 생리식염수 90 mL과 혼합하고 균질화 시켰다.

병원성 미생물 측정을 위하여 수도수는 멸균된 감압 여과 장치를 이용하여 시료 250 mL을 여과지(Advantec MFS, Inc. 0.45 µm)에 막 여과한 후 각종 선택 배지에 접종 하였고, 각종 기구와 기구 및 환경에서 채취된 시료와 손 시료는 각각 1 mL을 취하여 적절한 증균 배지에 접종하였다. 또한 딸기와 주스는 멸균된 시약 스푼 혹은 10 mL 피펫을 이용하여 10 g 혹은 10 mL을 취하여 특정 증균배지 90 mL과 혼합하고 균질화 시켰다. *E. coli* O157:H7을 EC broth(Difco Lab., Detroit, MI, USA)에, *Salmonella* spp.는 Rappaport Vassilida R-10 broth(Difco Lab., Detroit, MI, USA)에, *S. aureus*는 10% trypticase soy broth(Difco Lab., Detroit, MI, USA)에, *L. monocytogenes*는 *Listeria* enrichment broth(Difco Lab., Detroit, MI, USA)를 사용하였다(10).

위생지표세균의 측정

딸기주스 제조 환경의 전반적인 위생 상태를 평가하기 위하여 위생지표세균으로 일컬어지고 있는 일반세균수, coliform, *E. coli*를 측정하였다. 먼저 일반세균수와 대장균의 측정을 위하여, 전 처리된 각종 시료를 1 mL 취하여 9 mL의 멸균된 생리식염수에 넣고 단계별로 희석한 후 각 희석농도에 대하여 2배의 petridish에 접종하였다(11). 그 후 일반세균수 측정을 위하여 Plate Count agar(PCA, Difco Lab., Detroit, MI, USA)를, coliform 측정을 위하여 Deoxycholate Lactose agar(DLA, Difco Lab., Detroit, MI, USA)를 15 mL 정도 분주하고 혼합하여 균했다. 고형화된 배지는 확산집락을 방지하기 위하여 각각의 배지 5 mL 씩 중층하여 35°C, 24시간 배양한 후 계수하였다. 또한 *E. coli*의 측정은 3M사의 Petrifilm™(3M, St. Paul, MN, USA)을 이용하여 37°C에서 24시간 배양 후 기포를 가진 blue colony만을 *E. coli*로 인정하였으며 표면검체에 대해서는 100 cm²에 대한 수치로 환산하였다.

병원성 미생물 측정

Escherichia coli O157:H7: *E. coli* O 157:H7의 증균을 위해 EC broth에 접종된 시료는 37°C에서 24시간의 증균 과정을 거친 다음 증균된 균액 1백금을 취하여 *E. coli* O-157:H7의 선택배지인 Sorbitol Mac Conkey agar(Difco Lab., Detroit, MI, USA)에 도말한 후 37°C에서 24시간 배양하였다. Sorbitol Mac-Conkey agar 상에서 무색의 단일 집락을 취하여 생화학적 확인시험을 실시하였다. *E. coli* O-157:H7의 생화학적 확인 실험으로는 gram staining을 비롯하여 IMViC(Indol, Methyl red, Voges proskauer, Citrate utilization) test, TSI test, lysine decarboxylase test, motility test, urease test, lactose utilization test 그리고 혈청학적 검사로서 *E. coli* O-157 specific latex agglutination test를 통해 *E. coli* O-157에 민감하게 반응하는 blue latex particle에 따라 응집반응이 나타나는 것을 양성으로 판단하였으며 이러한 생화학적 성상을 *E. coli* O-157:H7 표준 균주 ATCC 43894와 비교하여 최종 판단하였다(11).

Salmonella spp.: *Salmonella* 균주의 증균을 위해 채취된 시료는 AOAC법(12)에 따라 Rappaport Vassiliadis R10 Broth(Difco Lab., Detroit, MI, USA)에 접종하여 37°C, 24시간 증균한 후 균액 1백금을 취하여 선택배지인 Hektoen enteric agar(Difco Lab., Detroit, MI, USA)에 도말한 다음 37°C에서 24시

간 배양하여 청록색 단일 집락을 취하여 생화학적 확인실험에 사용하였다. *Salmonella* spp.의 생화학적 확인시험으로는 gram staining, IMViC(Indol, Methyl red, Voges proskauer, Citrate utilization) test, urease test, lysine decarboxylase test, motility test, TSI test 그리고 API 20E kit를 통해 여러 가지 생화학적 성상을 표준균주인 *S. typhimurum*(ATCC 13311)과 비교하여 최종 판단하였다.

Listeria monocytogenes: *L. monocytogenes*균주의 분리를 위해 채취된 시료 중 1 mL을 취하여 *Listeria* enrichment broth(Difco Lab., Detroit, MI, USA) 10 mL에 접종 후 저온세균의 특성상 30°C에서 48시간 증균 배양하였다. 그리고 증균된 균액을 100 μ l 취하여 다시 2차 증균 배지인 Fraser broth(Difco Lab., Detroit, MI, USA) 30°C, 24시간 증균한 후 선택배지인 Oxford agar(Difco Lab., Detroit, MI, USA)에 멸균된 면봉으로 획선 도 말하여 30°C, 24시간 배양한 다음 black halo에 brown-green의 특이성을 보인 집락을 취하여 다시 0.6% yeast extract가 첨가된 trypticase soy agar(TSA, Difco Lab., Detroit, MI, USA)에 30°C, 24시간 분리 배양한 집락을 생화학적 방법으로 확인하였다. 생화학적 확인 실험은 Gram staining, TSI test, indol test, motility test, catalase test, carbohydrate(1% Mannitol, 1% Rhamnose, 1% Xylose each) utilization test, urease test, methyl-red test, Voges Proskauer test, β -hemolysis test 등을 한 생화학적 성상을 *L. monocytogenes* 표준 균주 ATCC 15313과 비교하여 최종 판단하였다(12).

Staphylococcus aureus: *S. aureus* 균주의 분리를 위해 10% NaCl이 첨가된 tryptic soy broth(Difco Lab., Detroit, MI, USA)를 37°C에서 24시간 증균 배양하였다. 증균된 균액을 mannitol salt agar(Difco Lab., Detroit, MI, USA)에 37°C, 24시간 획선 배양한 후 mannitol 분해능이 있는 황색불투명 집락을 선택하여 다시 2차 선택 배지로서 egg-yolk tellurite emulsion을 첨가한 Baird-Parker agar(BPA, Difco Lab., Detroit, MI, USA)에 37°C, 24시간 획선 배양한 다음 tellurite 저해효과에 의해 검은색 침전을 형성하며 단백질 분해(proteolysis) 작용으로 집락주위에 밝은 환(clear zone)이 나타나는 단일 집락을 취하여 생화학적 확인실험에 사용하였다. 생화학적 확인 실험으로는 분리 배양된 단일 집락에서 gram positive와 포도상의 배열을 갖는 구균(cocci)임을 확인하였고 *Streptococcus* spp.와의 구분을 위해 catalase test를 실시하였으며 deoxyribonuclease 생성능 확인을 위하여 DNase test, β -용혈을 확인하기 위하여 sheep blood agar, 그리고 혈액 응고성 균주 판별을 위해 coagulase test를 실시하였다. Coagulase 실험에 사용한 방법은 tube coagulase test(표준방법)로서 37°C, 16시간 동안 BHI broth에서 배양한 균액 500 μ L와 동량의 rabbit plasma를 서로 혼합한 후 37°C, 16-18시간 반응 시킨 후 최종 관찰하여 응집반응이 나타나는 것을 양성으로 판단하였다. 이러한 여러 가지 생화학적 성상들을 *S. aureus* 표준 균주 ATCC 25923과 비교하여 실험하였으며 API staph kit를 사용하여 재확인하였다(12).

공중 부유균 측정

공기에 의한 딸기 주스의 교차 오염 여부를 판단하기 위하여 공중 부유균을 측정하였으며 측정된 공중 부유균으로는 일반세균, 진균류, *S. aureus*가 측정되었다. 측정방법으로는 일반세균수 측정을 위한 PCA, 진균류 측정을 위한 Rose Bengal

Table 1. The kinds and number of samples collected for the microbial assessment from 5 shops

Sources	Type of sample	The number of samples
Utensils	Knife	5
	Chopping board	5
	Dish cloth	5
	Juice container	5
Machinery	Refrigerator	5
	Ice maker	5
	Ice grinder	5
	Blender	5
Employees	Hands	5
	Clothes	5
Raw materials & Juice	Water	5
	Ice	5
	Strawberry	5
	Strawberry juice	5
Air	Working area	5
Total		75

agar(Difco Lab., Detroit, MI, USA), *S. aureus* 측정을 위한 BPA를 작업장 내의 적절한 장소에 놓고 배지의 뚜껑을 연 후 15분간 방치하였다. 15분이 경과하면 배지의 뚜껑을 닫고 PCA, BPA는 37°C에서 2일간 배양하였으며, RBA는 28°C, 3-4일간 배양하였다. 배양이 끝난 후 일반세균수와 진균류의 경우는 생성된 colony 수를 계수 하였고 *S. aureus*의 경우는 생성된 집락이 *S. aureus*에 관한 보다 정확한 판정을 위하여 앞서 설명한 *S. aureus*에 대한 생화학적 검사를 실시하였으며 생화학적 검사를 통해 확인된 *S. aureus*에 대해서만 계수하였다(13).

통계 처리

미생물 균수는 log₁₀ colony forming unit(CFU)/100cm², g, hand으로 나타내었으며, SAS 통계처리 프로그램 version 8.01(14)을 사용하여 ANOVA와 Duncan's multiple range test를 $\alpha=0.05$ 에서 유의성을 검증하였다.

결과 및 고찰

위생지표세균의 분석

제조 기구(Utensils): 제조기구에 대한 미생물 오염정도를 실험한 결과는 Table 2에 나타난 바와 같이 일반세균수는 각 항목 당 평균 1.5-4.7 log₁₀ CFU/100 cm² 수준이었고, coliform은 1.0-3.6 log₁₀ CFU/100 cm² 수준으로 나타났다. 또한 *E. coli*의 경우는 0.5-2.4 log₁₀ CFU/100 cm²였으며 이들 시료 중 주스 용기를 제외한 나머지 시료에서 일반세균수 수치가 3.0 log₁₀ CFU/100 cm²를 초과하였을 뿐만 아니라 coliform과 *E. coli*가 빈번하게 검출되었다.

Harrign과 MacCance(15)는 기구 및 설비에 대한 일반세균수의 만족할만한 수준은 표면 200 cm²당 1,000 CFU값 미만이라고 보고하였으나 주스의 원료가 되는 딸기와의 접촉 빈도가 높은 도마와 칼 그리고 행주에서 이 기준에 훨씬 초과되었으므로, 이는 위해도가 상당히 높음을 시사한다.

또한 제조 기구에 대한 병원성 미생물 검사결과(Table 7) C 상점의 칼에서 *S. aureus*가 검출되어 병원균에 오염된 제조 기

Table 2. Estimation of sanitary indication bacteria on utensils

Samples	Microorganisms	Microbial counts (\log_{10} CFU/100 cm^2) in shops					Average microbial counts (\log_{10} CFU/100 $\text{cm}^2 \pm \text{SD}^2$)
		A ¹⁾	B ¹⁾	C ¹⁾	D ¹⁾	E ¹⁾	
Knife	APC	3.2	3.0	4.2	4.8	3.2	3.7 \pm 0.7
	Coliform	2.3	1.5	4.1	2.9	1.0	2.4 \pm 1.2
	<i>E. coli</i>	ND ³⁾	ND	3.4	1.6	ND	1.0 \pm 1.5
Chopping board	APC	3.7	5.7	3.1	5.5	5.4	4.7 \pm 1.2
	Coliform	3.0	4.0	3.5	5.2	2.5	3.6 \pm 1.0
	<i>E. coli</i>	2.5	2.9	1.0	4.5	1.0	2.4 \pm 1.5
Dish cloth	APC	4.3	3.0	4.1	3.0	5.2	3.9 \pm 0.9
	Coliform	4.0	ND	2.8	2.4	4.9	2.8 \pm 1.9
	<i>E. coli</i>	3.0	ND	2.1	2.3	2.0	1.9 \pm 1.1
Juice container	APC	ND	ND	1.6	2.4	3.5	1.5 \pm 1.5
	Coliform	1.0	ND	ND	1.6	2.5	1.0 \pm 1.1
	<i>E. coli</i>	ND	ND	ND	ND	2.3	0.5 \pm 1.0

¹⁾A, B, C, D, E: Strawberry juice shop.

²⁾SD: Standard deviation.

³⁾ND: Not detected (limit: <10 CFU/100 cm^2).

Table 3. Estimation of sanitary indication bacteria on machinery

Samples	Microorganisms	Microbial counts (\log_{10} CFU/100 cm^2) in shops					Average microbial counts (\log_{10} CFU/100 $\text{cm}^2 \pm \text{SD}$)
		A	B	C	D	E	
Refrigerator	APC	4.0	2.0	2.5	1.5	3.6	2.7 \pm 1.1
	Coliform	3.4	1.0	1.5	ND	1.6	1.5 \pm 1.2
	<i>E. coli</i>	ND	ND	ND	ND	1.3	0.3 \pm 0.6
Ice maker	APC	2.8	2.7	1.3	4.5	3.5	3.0 \pm 1.2
	Coliform	2.2	ND	ND	1.6	2.0	1.2 \pm 1.1
	<i>E. coli</i>	1.6	ND	ND	ND	ND	0.3 \pm 0.7
Ice grinder	APC	2.2	ND	ND	4.2	5.2	2.3 \pm 2.4
	Coliform	1.0	ND	ND	2.9	4.7	1.7 \pm 2.0
	<i>E. coli</i>	ND	ND	ND	2.3	3.8	1.2 \pm 1.8
Blender	APC	1.6	ND	5.7	2.0	4.4	2.7 \pm 2.3
	Coliform	1.5	ND	4.7	1.3	3.5	2.2 \pm 1.9
	<i>E. coli</i>	1.3	ND	3.4	ND	3.4	1.6 \pm 1.7

ND: Not detected (limit: <10 CFU/100 cm^2)

구에 의한 교차오염이 우려된다.

따라서 이를 개선하기 위하여 Ha(16) 등과 Jeong(17) 등은 세척한 후 소독제에 담가 일정시간 동안 소독한 후 말려 재사용하여 교차오염을 미연에 방지할 수 있는 중점적인 위생관리가 필요하다고 제시한 바 있으므로 제조도구를 위생적으로 관리하는 체계적인 프로그램의 개발과 실천이 요구된다.

제조 기기(Machinery)

제조기기에 대한 미생물 검사결과는 Table 3에 나타난 바와 같다. 제조기기에 대한 일반세균수는 평균 2.3-3.0 \log_{10} CFU/100 cm^2 이었고 SD(표준오차)가 1.1-2.4까지 측정되었는데, 이는 각 주스 상점의 위생관리 정도에 따라 일반세균수 수치에 많은 차이를 보임을 반영한 것이다. 또한, coliform은 평균 1.2-2.2 \log_{10} CFU/100 cm^2 , *E. coli*은 평균 0.3-1.6 \log_{10} CFU/100 cm^2 으로 나타났다. 특히, D, E 상점의 아이스 글라인더와 C, E 상점의 믹서기에서 일반세균수가 4.0 \log_{10} CFU/100 cm^2 로 높게 검출되었을 뿐만 아니라 coliform과 *E. coli*도 다소 높게 검출

되어 이에 대한 개선책이 요구된다. 그리고 본 실험을 위하여 직접 주스상점을 방문했을 때 각 사업장의 냉장고 내부는 육안으로도 매우 지저분함을 확인할 수 있었으며 주스 원료를 비롯한 여러 가지 식자재들의 포장에 뜯어진 채 보관되어 냉장고 내부에서 주스원료의 심각한 오염이 우려되었다. 이는 냉장고에 대한 안전 불감증과 청소 불량 등이 원인으로 판단된다.

이를 개선하기 위하여 Ha(16) 등은 주기적인 냉장고 내부의 청소, 온도 체크리스트를 만들어 꾸준한 온도관리, 용량에 맞게 적정량의 보관, 그리고 각 원료의 교차오염을 막기 위하여 적절하게 포장하여 보관할 것을 권장하였다. 또한 믹서기를 비롯한 여러 제조기기 또한 별다른 세척과 소독 과정이 없이 연속적 사용되고 있었으며 이로 인하여 높은 위생지표세균수치가 측정되었던 것으로 판단된다. 따라서 주스를 제조하기 전, 후에 제조기기 대한 세척이 요구되며 세척한 후 소독제에 담가 일정 시간 소독한 후 소독기에서 건조시켜 재사용하는 방법이 적용되어야 할 것이다.

Table 4. Estimation of sanitary indication bacteria on employees

Samples	Shops	Microbial counts (\log_{10} CFU/hand or 100 cm^2)					Average (\log_{10} CFU/hand or 100 $\text{cm}^2 \pm$ SD)
		A	B	C	D	E	
Hands (\log_{10} CFU/hand)	APC	5.1	5.5	5.7	4.9	4.2	5.1 \pm 0.6
	Coliform	3.0	2.9	2.7	1.0	2.4	2.4 \pm 0.8
	<i>E. coli</i>	2.6	ND	2.0	ND	1.9	1.3 \pm 1.2
Clothes (\log_{10} CFU/100 cm^2)	APC	4.2	3.7	2.9	2.9	4.5	3.6 \pm 0.7
	Coliform	3.3	2.4	2.0	1.7	3.3	2.5 \pm 0.7
	<i>E. coli</i>	1.0	ND	ND	ND	1.7	0.5 \pm 0.8

ND: Not detected (limit: <10 CFU/hand, 100 cm^2).

Table 5. Estimation of sanitary indication bacteria on raw material and strawberry juices

Samples	Shops	Microbial counts (\log_{10} CFU/mL or g)					Average (\log_{10} CFU/mL or g \pm SD)
		A	B	C	D	E	
Water	APC	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	Coliform	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	<i>E. coli</i>	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Ice	APC	ND	ND	ND	3.0	4.0	1.4 \pm 1.9
	Coliform	ND	ND	ND	1.0	2.1	0.6 \pm 0.9
	<i>E. coli</i>	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Strawberry	APC	4.5	2.0	2.0	5.0	4.2	3.5 \pm 1.4
	Coliform	4.0	ND	ND	3.0	2.0	1.8 \pm 1.8
	<i>E. coli</i>	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Strawberry juice	APC	5.3	4.3	6.1	5.5	4.7	5.2 \pm 0.7
	Coliform	4.0	1.0	1.7	4.0	3.3	2.8 \pm 1.4
	<i>E. coli</i>	2.0	ND	1.0	2.3	2.1	1.5 \pm 1.0

ND: Not detected (limit-water and ice: <1 CFU/mL, limit-strawberry and strawberry juice: <10 CFU/g, mL).

Table 6. Estimation of air-borne microorganisms in 5 shops

Shops Microorganisms	Microbial counts (\log_{10} CFU/65 cm^2)					Average (\log_{10} CFU/65 $\text{cm}^2 \pm$ SD)
	A	B	C	D	E	
APC	1.3	1.6	ND	1.0	1.1	1.0 \pm 0.6
Fungi	1.0	1.4	1.6	1.3	1.4	1.3 \pm 0.2
<i>S. aureus</i>	ND	ND	ND	ND	ND	ND

ND: Not detected (limit: <1 CFU/65 cm^2).

작업자(Employees)

각 주스 상점의 주스 제조자에 대한 미생물 검사에 대한 결과(Table 4)에서는, 다른 항목들에 비하여 높은 위생지표세균수 수치를 나타내었다. 특히 손의 경우 일반세균수가 평균 5.0 \log_{10} CFU/hands를 초과하였고 coliform은 2.4 \log_{10} CFU/hand로 검출되었다. 뿐만 아니라 D상점을 제외한 4곳의 상점의 작업자의 손에서 *S. aureus*가 검출되었으며 손에서 빈번한 *S. aureus*의 검출은 Hatakka(18-19) 등을 비롯한 많은 학자들의 연구결과 일치한다. 이는 대부분의 상점의 경우 장갑을 착용하지 않은 채 작업하고 있었으며 심지어 손에 상처가 난 작업자가 주스 제조를 하는데서 기인한 것이라 추정된다. 실제 작업자로 인하여 미네소타의 양로원에서 살모넬라 식중독사례가 보고된 바 있어 이를 개선할 수 있는 대안을 마련해야 할 것으로 사료된다(20).

따라서 작업자의 개인위생을 향상시키기 위하여 먼저 주기적인 위생교육으로 작업자 스스로 개인위생의 중요성에 대한 인식의 전환이 이루어져야 한다. 또한 딸기 주스를 제조하는

작업에 장갑을 착용하지 않는 경우가 많기 때문에 손은 직접적인 오염원으로 작용할 수 있어 작업 전 후로 손을 씻고 소독하는 작업은 필수적이다. 이를 위하여 올바른 손 씻기와 작업습관 개선 그리고 상점내의 별도의 세척과 소독을 위한 시설 설치와 운영이 이루어져야 할 것으로 보인다(21).

원료와 딸기주스(Raw materials and strawberry juices)

딸기 주스의 원료와 딸기주스에 대한 위생지표세균분석 결과(Table 5)에 따르면, 얼음의 원료가 되는 물의 경우 일반세균수를 비롯한 위생지표세균이 검출되지 않아 물의 미생물학적 안전성은 확보된 것으로 판단된다. 그러나 D, E상점의 얼음에서 일반세균수가 3.0-4.0 \log_{10} CFU/g으로 높게 검출되었는데 이는 아이스메이커에서 위생지표세균이 높게 검출된 것으로 미루어 볼 때 오염된 아이스메이커에 의한 것으로 추정된다. 한편 여러 단계를 거쳐 온 딸기주스는 일반세균수가 평균 5.2 \log_{10} CFU/mL 으로 높게 검출되었으며 딸기와 딸기주스에서 *S.*

Table 7. Detection of *S. aureus* in 5 shops

Items Shops	Utensils	Machinery	Employee	Raw-material & Juice
A	-	-	Hands	Strawberry Strawberry juice
B	-	-	Hands	Strawberry Strawberry juice
C	Knife	-	Hands	Strawberry Strawberry juice
D	-	-	-	Strawberry
E	-	-	Hands	Strawberry Strawberry juice

*aureus*가 빈번하게 검출되어(Table 7) 원료의 오염과 주변 환경의 오염은 곧 주스의 오염으로 직결됨을 알 수 있다. 특히 딸기 주스와 같은 생과일주스는 그 원료가 되는 과일에서 빈번한 병원균의 검출이 Mukherjee 등(22)의 연구에서도 보고된 바 있다. 또한 Laura 등(23)의 연구에서 *S. aureus*는 *Salmonella* spp.와 더불어 야채류에 부착력이 강하여 세척으로 제거되기 어려울 뿐만 아니라 환경에 대한 저항성이 강한 세균으로 나타나 원료가 *S. aureus*를 비롯한 병원성 세균에 오염되는 것을 예방하는 것이 대단히 중요한 것으로 사료된다. 한편, 본 연구의 결과에서 알 수 있듯이 원료인 딸기에서보다 최종 생산물인 딸기 주스에서 위생지표세균수 수치가 증가한 것은 주스 제조 시 원료와 직접 접촉하는 제조기구 및 기기 등의 오염, 그리고 작업자 위생에 대한 의식 결여에 의한 것으로 판단된다. Bisbini 등(24)도 확인되어진 가장 중요한 위험 요인은 음식물과 준비기구 표면과의 교차오염이라고 보고한 바 있어 안전한 주스의 생산은 주스에 사용되는 원료에서부터 제조에 이르는 전 과정이 위생적으로 이루어져야 할 것으로 사료된다.

공중 부유균 검색(Air-borne microorganisms)

딸기주스 상점 5곳의 공중 부유균을 검색한 결과는 Table 6과 같다. 공기 중의 일반세균수 측정 결과 한 페트리디쉬 면적(65 cm²)당 평균 1.0 log₁₀ CFU/65 cm² 검출되었으며 진균류의 경우는 1.3 log₁₀ CFU/65 cm² 검출되었다. 그러나 *S. aureus*는 검출되지 않았다. Kang(13)의 연구에 따르면 15분당 1.5 log₁₀ CFU/65 cm² 수준 이하로 검출되었을 때 안전하다고 보고하고 있어 공기의 안전성은 확보된 것으로 판단된다.

요 약

본 연구는 서부경남 진주지역 생딸기 주스 상점에서 미생물학적 오염도를 조사하고 그 결과를 주스 HACCP 도입을 위한 미생물학적 정보를 제공하기 위하여 수행하였다. 본 연구를 위하여 총 75점의 시료를 5곳의 상점으로부터 채취하였으며, 일반세균수, coliforms, 그리고 *E. coli*와 같은 위생지표세균을 평가하였다. 아울러 *E. coli* O157:H7, *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes*와 같은 병원성 미생물을 검사하였다. 위생지표세균 검사결과 일반세균수는 0-5.2 log₁₀ CFU/(mL, g, 100 cm², hand), coliform은 0-2.8 log₁₀ CFU/(mL, g, 100 cm², hand) 수준으로 검출되었다. 또한 4곳의 상점에서 판매되고 있는 딸기 주스에서 *E. coli*가 검출되었다. 한편, 병원성 미생물의 경우는 *S. aureus*가 19% 검출되었으며 특히

가장 빈번하게 검출된 시료는 작업자의 손, 딸기, 딸기 주스였다. 그러나 *E. coli* O157:H7, *Salmonella* spp.와 *L. monocytogenes*는 검출되지 않았다. 이상의 결과로 미루어 볼 때 안전한 주스의 생산을 위해서는 모든 생산단계에서 미생물학적 위험을 감소시킬 수 있는 HACCP 제도가 도입되어야 하며 주스 HACCP 도입을 위해서는 작업자가 HACCP의 원리를 이해하고 적용할 수 있는 교육이 선행되어야 할 것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구는 보건복지부 보건의료기술진흥사업의 지원에 의하여 이루어진 것임(03-PJ1-PG1-CH11-0003).

문 헌

- Schmidt RH, Sims CA, Parish ME, Pao S, Ismail NA. A model HACCP plan for small-scale, fresh-squeezed (not pasteurized) citrus juice operations. Available from: <http://hammock.ifas.ufl.edu>. Accessed March, 1997.
- Schmidt RH, Sims CA, Parish ME, Pao S, Ismail NA. Fresh juice processing GMPs. Available from: <http://hammock.ifas.ufl.edu>. Accessed April, 1997.
- Food and Drug Administration. FDA publishes final rule to increase safety of fruit and vegetable juices. Available from: <http://www.cfsan.fda.gov/~Ird/hhsuic4.html>. Accessed Jan. 18, 2001.
- Kundsen, DM, Yamamoto SA, Harris LJ. Survival of *Salmonella* spp. and *E. coli* O157:H7 on fresh and frozen strawberries. J. Food Prot. 64: 1453-1488 (2001)
- Yu. KM, Newman C, Archbold DD, Hamilton-Kemp TR. Survival of *Escherichia coli* O157:H7 on strawberry fruit and reduction of the pathogen population by chemical agents. J. Food Prot. 64: 1334-1340 (2001)
- Food and Drug Administration. Hazard analysis and critical control point (HACCP); procedures for the safe and sanitary processing and importing of juice. Fed. Regist. 63: 20450-20486 (2001)
- Motajemi Y, Fritz K. Hazard analysis and critical control point and the increase in food borne disease: a paradox?. Food control 10: 325-333 (1998)
- Sveum WH, Moberg LJ, Rude RA, Frank JF. Microbiological monitoring of the food processing environment. 3rd ed. American Public Health Association, Washington, DC, USA. pp. 51-74 (1992)
- Anonymous. Guidelines for effectiveness testing of surgical hand scrub (glove juice test). Fed. Regist. 43: 1242-1243 (1978)
- Korea Food and Drug Administration. Food code. Korea Food and Drug Administration, Seoul, Korea. pp.75-105 (2002)
- Padhye NV, Doyle MP. Rapid procedure for detecting enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 in food. Appl. Environ. Microbiol. 57: 2696-3698 (1991)
- AOAC. Official Method of Analysis of AOAC Intl. 17th ed. Association of Official Analytical Communities, Arlington, VA, USA (2000)
- Kang YJ. Measurement and characteristics of biological aerosols in dairy processing plant environment. PhD thesis, University of Georgia, Athens, GA, USA (1989)
- SAS Institute, Inc. SAS User's Guide, Statistical Analysis System Institute, Washington, DC, USA (2002)
- Harrigan WF, McCance ME. Laboratory method in food and dairy microbiology. Academic Press Inc. Ltd. New York, NY, USA (1976)
- Ha KS, Park SJ, Shim WB, Chung DH. Screening of MRSA (Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus*) and seb gene in producing strains isolated from food service environment of elementary schools. J. Fd. Hyg. Safety 18: 79-86 (2003)
- Jeong DK, Lyu ES. The microbiological evaluation of environments and facilities at food service operations in elementary school. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 31: 216-220 (2002)

18. Hatakka M, Bjorkoth KJ, Asplund K, Maki-Petays N, Korkeala HJ. Genotypes and enterotoxicity of *Staphylococcus aureus* isolated from the hands and nasal cavities of flight-catering employees. *J. Food Prot.* 63: 1487-1491 (2000)
 19. Inikura Y, Ikejima S, Hirata I, Arai T, Kusunoki K, Jin M, Ohta K. The incidence of *Staphylococcus aureus* in food handler, and coagulase type and enterotoxin producibility of the isolates. *Tokyo Metropolitan Res. Lab. Public Health Annual Rep.* 38: 145-149 (1987)
 20. FDA. Guidance for industry, Guide to minimize microbial food safety hazard for fresh fruits and vegetables. Available from: <http://csan.fda.gov>. Accessed Oct. 26, 1998.
 21. Park SJ, Ha KS, Shim WB, Park MK, Chung DH. Environmental microbial assessment of food services at elementary schools in Western Gyeongnam province. *J. Fd Hyg. Safety.* 18: 14-24 (2003)
 22. Mukherjee A, Dorinda S, Elizabeth D, Francisco DG. Preharvest evaluation of coliforms, *Escherichia coli*, *Salmonella*, and *Escherichia coli* O157:H7 in organic and conventional produce grown by Minnesota farmers. *J. Food Prot.* 67: 894-900 (2004)
 23. Laura DR, Henry PF, Frederick Breidt JR. Bacterial contamination of cucumber fruit through adhesion. *J. Food Prot.* 65: 1881-1887 (2002)
 24. Bisbini P, Leoni E, Nanetti A. An outbreak of *Salmonella* harbor associated with roast rabbit in a restaurant. *European J. Epidemiol.* 16: 613-618 (2000)
-
- (2005년 1월 29일 접수; 2005년 3월 28일 채택)