

## 신선 채소류의 부패에 따른 세균의 다양성 변화 및 세균에 의한 채소 부패 조사

이동환<sup>1,2</sup> · 유정일<sup>3</sup> · 박소연<sup>1</sup> · 노은정<sup>1</sup> · 오창식<sup>1</sup> · 정규석<sup>1</sup> · 윤종철<sup>1</sup> · 허성기<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>농촌진흥청 국립농업과학원 농산물안전성부 유해생물과, <sup>2</sup>서울대학교 농업생명과학연구원,

<sup>3</sup>중앙대학교부속고등학교

## Changes of Bacterial Diversity Depend on the Spoilage of Fresh Vegetables

Dong Hwan Lee<sup>1,2</sup>, Jungel Ryu<sup>3</sup>, So Yeon Park<sup>1</sup>, Eunjung Roh<sup>1</sup>, Chang-sik Oh<sup>1</sup>,  
Kyu Suk Jung<sup>1</sup>, Jongchul Yoon<sup>1</sup> and Sunggi Heu<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Microbial Safety Division, National Academy of Agricultural Science, RDA, Suwon 441-707, Korea

<sup>2</sup>Research Institute for Agriculture and Life Sciences, Seoul National University, Seoul 151-921, Korea

<sup>3</sup>Highschool Attached to College of Education, Chung-Ang University, Seoul 135-505, Korea

(Received on December 8, 2010; Accepted on February 9, 2011)

Almost 10~30% of vegetables were discarded by the spoilage from farms to tables. After harvest, vegetables are often spoiled by a wide variety of microorganisms including many bacterial and fungal species. This investigation was conducted to extent the knowledge of relationship the spoilage of vegetables and the diversity of microbes. The total aerobic bacterial numbers in fresh lettuce, perilla leaf, and chicory were  $2.6\sim 2.7\times 10^6$ ,  $4.6\times 10^5$ ,  $1.2\times 10^6$  CFU/g of fresh weight, respectively. The most common bacterial species were *Pseudomonas* spp., *Alysiella* spp., and *Burkholderia* spp., and other 18 more genera were involved in. After one week of incubation of those vegetables at 28°C, the microbial diversity had been changed. The total aerobic bacterial numbers increased to  $1.1\sim 4.6\times 10^8$ ,  $4.9\times 10^7$ , and  $7.6\times 10^8$  CFU/g of fresh weight for lettuce, perilla leaf, and chicory that is about  $10^2$  times increased bacterial numbers than that before spoilage. However, the diversity of microbes isolated had been simplified and fewer bacterial species had been isolated. The most bacterial population (~48%) was taken up by *Pseudomonas* spp., and followed by *Arthrobacter* spp. and *Bacillus* spp. The spoilage activity of individual bacterial isolates had been tested using axenic lettuce plants. Among tested isolates, *Pseudomonas fluorescens* and *Pantoea agglomerans* caused severe spoilage on lettuce.

**Keywords** : Bacterial diversity, Fresh vegetables, Microbial spoilage, Spoilage bacteria

농산물 표면에는 많은 미생물이 서식하고 있다. 대부분의 미생물은 농산물 생육과정 중 토양에서 유래되며, 일부는 수확 후 전 유통과정에서 생존하며 농산물 부패를 유발한다. 특히 상추 등 채소류는 조직이 부드럽고, 수분 함량이 높으며, 수확 시 절단면이나 상처와 같은 손상이 가해진 식물세포를 가지게 되어 미생물이 서식하기 좋은 환경을 제공하게 되므로, 소비에 이르기까지의 과정에서

세균의 침입과 번식이 쉽게 이루어질 수 있다(Kim, 2002; Nguyen-the와 Carlin, 1994).

대부분의 식물은 polysaccharide cellulose, hemicellulose, pectin 등으로 세포벽이 이루어져 있으며 전분의 형태로 영양분을 저장한다. 채소에 부패를 일으키는 많은 미생물은 다양한 분해효소를 생성, 분비하며 이러한 polymer를 분해하여 미생물 생장에 필요한 영양분이나 수분으로 사용한다(Miedes와 Lorences, 2004). 분해 과정에서 신선채소의 원래의 형태가 변형되고 불쾌한 냄새를 동반하여 상품의 가치를 떨어뜨리며 무름병을 유발하거나 품질저하를 야기하여 수확 후 농산물에 큰 손실을 발생시킨다

\*Corresponding author

(Phone) +82-31-290-0455, (Fax) +82-31-290-0407

(Email) heu@rda.go.kr

(Whitehead 등, 2002).

다양한 효소를 이용하여 식물세포를 분해하여 배추나 상추 등의 신선채소류의 부패에 관여하는 세균에는 다양한 종류가 연구되어 있는데 일반적으로 잘 알려진 세균으로는 *Erwinia(Pectobacterium)* 속에 속하는 균주들이 있으며, 이외에도 *Pseudomonas chicorii*, *Ps. marginalis*, *Ps. syringa* 등을 포함하는 *Pseudomonas spp.*나, *Xanthomonas spp.* 등이 연구되어져 있다(Tournas, 2005).

부패균의 심각성은 재배 시기를 비롯한 수확, 유통, 가공, 저장을 포함한 모든 단계에서 신선채소의 부패를 유발하여 막대한 경제적인 손실을 야기하고, 또한 식품의 부패와 안전성은 밀접한 관련을 가지는 점에 있다. 신선농산물이 농장에서 소비자에 이르기까지 총 생산량의 12%의 손실이 발생하는 것으로 보고되어 있으며(Pariser, 1978), 국내에서도 10~30%의 채소류가 부패에 의해 버려지고 있다.

세균에 의한 수확 후의 농산물의 부패에 관한 관심이 고조됨에 따라 신선편이 농산물과 즉석섭취식품(ready-to-eat food) 등을 포함한 신선 채소류의 세균상이나 미생물 오염도에 관한 연구가 꾸준히 이루어지고 있다(Choi 등, 2005; Jung 등, 2006; Kim 등, 2004; Lee 등, 1999; Magnuson 등, 1990; Seo 등, 2006; Seo 등, 2007). 또한 식품유래 병원성균에 대한 검증도 지속적으로 연구되고 있다 (Abadias 등, 2008; Viswanathan와 Kaur, 2001). 그러나 부패에 따른 세균 다양성의 변화 및 밀도에 관한 연구는 많이 이루어지지 않고 있는 실정이다.

따라서 본 연구는 수확 후 판매되고 있는 신선채소 및 부패채소에 존재하는 세균의 다양성을 조사하고, 채소류의 부패에 따른 세균 종류와 밀도의 변화를 알아보고자 한다. 더 나아가 신선채소류를 부패시키는 세균을 동정하여, 신선채소의 부패를 예방 및 방지하기 위한 기초 자료로 활용되도록 하는데 목적이 있다.

## 재료 및 방법

**실험재료.** 본 실험에 사용된 재료는 2009년 2월부터 3월까지 서울과 경기도 남부 지역의 대형할인점, 농산물 시장에서 부패가 이루어지지 않은 최종 판매 형태의 신선채소류를 구입하였다. 신선채소류의 미생물상을 보기 위해서는 재료구매 후 즉시 실험실로 운반하여 8시간 이내에 실험에 사용하였으며, 부패가 일어난 후의 분석을 위해서는 멸균된 비닐팩에 각각의 시료를 넣은 후 상온에서 7일간 보관한 후 부패가 일어난 시료를 사용하였다.

**총호기성균의 정량적 분석.** 식품공전에 제시되어 있는 시험법에 근거하여 다음과 같이 실시하였다. 검체를 각각

25 g씩 225 ml의 멸균된 peptone water(Oxoid, England)와 섞어서 스토마커 봉지에 넣은 후 스토마커를 이용하여 1분간 균질화하였다. 균질화된 용액 25 ml을 4,000 rpm에서 15분간 원심분리한 후 상층액을 제거하고 멸균된 peptone water 1 ml로 현탁하였다. 얻어진 현탁액을  $10^0$ 에서  $10^{-8}$ 까지 농도 단계별로 희석한 후 nutrient agar(NA; Becton, Dickinson and Co., USA) 배지에 도말하여 28°C 항온배양기에서 48시간 배양하였다. 각각의 배지에 형성된 콜로니를 계수하여 colony forming unit(CFU)/g of fresh weight으로 측정하였다.

**세균의 분리 및 선발.** 총호기성균의 분석에서와 같은 방법으로 얻은 콜로니들을 무작위로 플레이트당 약 300여 개씩 선별하여 96-well 플레이트에 접종한 후 다음 연구를 위해  $-80^{\circ}\text{C}$  냉동고에 저장하였다. 각각의 균들은 15종류의 선택 배지에 접종하여 전형적인 반응 및 패턴을 확인하였으며, 비슷한 결과를 보이는 균주들을 묶어 여러 개의 그룹으로 나누었다. 각각의 그룹당 10개체씩 대표균으로 선별한 후 Biolog와 16S rRNA 염기서열 분석을 이용하여 동정하였다(Macrogen, Korea).

**Biolog를 이용한 분리균의 동정.** 분리된 세균을 tryptic soy agar(TSA; Becton, Dickinson and Co., USA) 배지에 접종하여 28°C에서 24~48시간 배양한 후, 신선한 균총을 면봉으로 채취하여 GN/GP-IF(0.4% sodium chloride, 0.03% pluronic F-68, 0.01% gallan gum) 용액에  $5 \times 10^8$  CFU/ml 농도로 현탁한 후, 각각 GN2 microplate(BIOLOG, USA) 150  $\mu\text{l}$ 씩 분주하여 배양하였다. 24~48시간 배양 후 Biolog 시스템을 이용하여 분석 및 동정하였다.

**16S rRNA 서열 분석을 이용한 분리균의 동정.** TSA 배지에서 키운 세균을 이용하여 Macrogen(Korea)에 16S rRNA 서열 분석을 의뢰하였다. 각각의 균주로부터 얻어진 16S rRNA 염기서열을 National Center for Biotechnology Information(NCBI) 서버에서 제공하는 BLAST 프로그램을 이용하여 GenBank database에 등록되어 있는 염기서열과 비교, 분석하여 동정하였다(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>).

**분리한 세균의 병원성 검증.** 부패한 채소류에서 분리한 대표 세균 18종의 병원성을 검증하였다. 각각의 세균을 TSA 배지에 접종하여 28°C에서 24~48시간 배양한 후, 신선한 균총을 면봉으로 채취하여 희석용액(10 mM  $\text{MgCl}_2$ , 0.01% Tween20)에  $5 \times 10^8$  CFU/ml 농도로 현탁하였다. 현탁액을 무균 배양한 상추에 분무기를 이용하여 3회 분무 접종한 후 상추의 부패 변화를 관찰하였으며, 대조구로 희석용액만을 동일한 방법으로 접종 후 관찰하였다.

## 결과 및 고찰

**부패 전후의 총 호기성 균 변화.** 채소별 부패가 일어나기 전과 일어난 후의 총 호기성균 수의 평균값은 Table 1에 나타내었다. 부패가 일어나기 전인 신선한 채소류에서의 평균 총 호기성 균 수는 상추( $2.6\sim 2.7\times 10^6$  CFU/g), 치커리( $1.2\times 10^6$  CFU/g), 깻잎( $4.6\times 10^5$  CFU/g) 순으로 높았다. 부패가 일어난 후의 총 호기성 균 수도, 신선 채소류에서와 마찬가지로, 상추( $1.1\sim 4.6\times 10^8$  CFU/g), 치커리( $7.6\times 10^7$  CFU/g), 깻잎( $4.9\times 10^7$  CFU/g) 순으로 높았다. 실험재료로 사용된 상추, 깻잎, 치커리 모두에서 부패가 일어나기 전에 비해 부패가 일어난 후에 총 호기성 균 수가 약  $10^2$  CFU/g 정도 증가하였다. 이는 부패균이 채소를 부패시키며 증식하였거나 또는 부패균에 의해 물러진 채소로부터 용출된 영양분을 이용하여 다른 부생 세균들이 증식한 것으로 예상된다.

**Table 1.** Total aerobic bacterial number changes according to spoilage of vegetables

Vegetables	Number of total bacteria (CFU/g of fresh weight)	
	Before spoilage	After spoilage
Red lettuce	$2.6\times 10^6$	$1.1\times 10^8$
Green lettuce	$2.7\times 10^6$	$4.6\times 10^8$
Perilla leaf	$4.6\times 10^5$	$4.9\times 10^7$
Chicory	$1.2\times 10^6$	$7.6\times 10^7$

**Table 2.** Bacterial diversity isolated from fresh or spoiled green lettuce

Fresh Green Lettuce		Spoiled Green Lettuce	
Strain	No. of Isolates (%)	Strain	No. of Isolates (%)
<i>Actinomyces canis</i>	0.3	<i>Agrobacterium</i> sp.	3
<i>Alysiella</i> sp.	15.5	<i>Arthrobacter</i> sp.	12
<i>Bacillus licheniformis</i>	0.3	<i>Bacillus</i> sp.	5
<i>Brevibacterium</i> sp.	0.3	<i>Brachybacterium</i> sp.	3
<i>Brevundimonas</i> sp.	3.8	<i>Chryseobacterium</i> sp.	2
<i>Corynebacterium</i> sp.	0.3	<i>Pantoea agglomerans</i>	2
<i>Curtobacterium</i> sp.	0.3	<i>Pseudomonas</i> sp.	45
<i>Gemella</i> sp.	0.3	<i>Psychrobacter</i> sp.	5
<i>Pantoea agglomerans</i>	2	<i>Rahnella</i> sp.	4
<i>Pseudomonas</i> sp.	29.5	<i>Sanguibacter</i> sp.	5
<i>Ralstonia</i> sp.	6	<i>Sphingobacterium</i> sp.	5
<i>Rhodococcus</i> sp.	0.3	<i>Staphylococcus</i> sp.	5
<i>Staphylococcus schleiferi</i>	0.3	Others	4
Others	41.3		
Total	100	Total	100

**부패 전후의 세균의 종류.** 각종 채소류의 부패 전후의 동정된 세균은 Table 2~5에 정리하였다. 신선채소에서는 총 21개 속 27종의 세균이, 부패한 채소에서는 총 14개 속 14종이 동정되었으며, 명확한 동정이 이루어지지 않은 균주는 기타(others)로 분류하였다. 채소류에 따른 부패균의 종류와 밀도는, 청상추의 경우 부패 전에는 *Pseudomonas* sp.(29.5%) > *Alysiella* sp. (15.5%) > *Ralstonia* sp. (6%) 순으로 동정되었으나, 부패 후에는 *Pseudomonas* sp. (45%) > *Arthrobacter* sp. (12%) > *Bacillus* sp. (5%) 순으로 동정되었다. 적상추의 경우는 부패 전에는 *Pseudomonas* sp. (26.9%) > *Burkholderia* sp. (10.8%) > *Brevundimonas* sp. (8%) 순으로, 부패 후에는 *Pseudomonas* sp. (36%) > *Arthrobacter* sp. (12%) > *Bacillus* sp. (8%) 순으로 동정되었다. 깻잎은 부패 전에는 *Pseudomonas* sp. (27.5%) > *Ralstonia* sp. (10.8%) > *Alysiella* sp. (9%), 부패 후에는 *Pseudomonas* sp. (48%) >

**Table 3.** Bacterial diversity isolated from fresh or spoiled red lettuce

Fresh Red Lettuce		Spoiled Red Lettuce	
Strain	No. of Isolates (%)	Strain	No. of Isolates (%)
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	1.5	<i>Arthrobacter</i> sp.	12
<i>Actinomyces canis</i>	0.3	<i>Bacillus</i> sp.	8
<i>Alysiella</i> sp.	1.5	<i>Brachybacterium</i> sp.	3
<i>Bacillus licheniformis</i>	0.3	<i>Chryseobacterium</i> sp.	4
<i>Bacillus mycoides</i>	0.3	<i>Pseudomonas</i> sp.	36
<i>Brevibacterium</i> sp.	1.0	<i>Psychrobacter</i> sp.	8
<i>Brevundimonas</i> sp.	8.0	<i>Sanguibacter</i> sp.	8
<i>Brevundimonas vesicularis</i>	1.8	<i>Serratia</i> sp.	3
<i>Burkholderia</i> sp.	10.8	<i>Sphingobacterium</i> sp.	6
<i>Burkholderia glumae</i>	1.3	<i>Staphylococcus</i> sp.	8
<i>Chromobacterium violaceum</i>	2.3	Others	4
<i>Corynebacterium</i> sp.	0.3		
<i>Curtobacterium</i> sp.	0.3		
<i>Dermacoccus</i> sp.	0.3		
<i>Enterobacter</i> sp.	1.5		
<i>Gemella</i> sp.	0.3		
<i>Pantoea agglomerans</i>	0.8		
<i>Pseudomonas</i> sp.	26.8		
<i>Ralstonia</i> sp.	3.0		
<i>Rhodococcus</i> sp.	0.3		
<i>Salmonella</i> sp.	0.5		
<i>Sphingomonas</i> sp.	0.5		
<i>Staphylococcus schleiferi</i>	0.3		
<i>Staphylococcus xylosum</i>	0.3		
Others	36.5		
Total	100	Total	100

**Table 4.** Bacterial diversity isolated from fresh or spoiled perilla leaf

Fresh Perilla Leaf		Spoiled Perilla Leaf	
Strain	No. of Isolates (%)	Strain	No. of Isolates (%)
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	3.3	<i>Agrobacterium</i> sp.	4
<i>Alysiella</i> sp.	9.0	<i>Arthrobacter</i> sp.	12
<i>Brevibacterium</i> sp.	0.3	<i>Bacillus</i> sp.	2
<i>Brevundimonas</i> sp.	2.3	<i>Brachybacterium</i> sp.	3
<i>Burkholderia glumae</i>	1.8	<i>Chryseobacterium</i> sp.	2
<i>Corynebacterium</i> sp.	0.3	<i>Pantoea agglomerans</i>	2
<i>Curvobacterium</i> sp.	0.3	<i>Pseudomonas</i> sp.	48
<i>Dermacoccus</i> sp.	0.3	Others	27
<i>Gemella</i> sp.	0.3		
<i>Klebsiella</i> sp.	0.5		
<i>Pantoea agglomerans</i>	0.8		
<i>Pseudomonas</i> sp.	27.5		
<i>Pseudomonas synxantha</i>	1.0		
<i>Ralstonia</i> sp.	10.8		
<i>Rhodococcus</i> sp.	0.3		
<i>Sphingomonas</i> sp.	4.5		
<i>Staphylococcus schleiferi</i>	0.3		
Others	37.0		
Total	100	Total	100

**Table 5.** Bacterial diversity isolated from fresh or spoiled chicory

Fresh chicory		Spoiled chicory	
Strain	No. of Isolates (%)	Strain	No. of Isolates (%)
<i>Acinetobacter</i> sp.	1	<i>Acinetobacter</i> sp.	5
<i>Alysiella</i> sp.	3	<i>Agrobacterium</i> sp.	3
<i>Brevundimonas</i> sp.	3.75	<i>Arthrobacter</i> sp.	15
<i>Burkholderia</i> sp.	3.5	<i>Bacillus</i> sp.	7
<i>Enterobacter</i> sp.	0.75	<i>Pseudomonas</i> sp.	36
<i>Pseudomonas</i> sp.	18.75	<i>Rahnella</i> sp.	9
<i>Ralstonia</i> sp.	2	<i>Sphingobacterium</i> sp.	3
<i>Salmonella</i> sp.	0.5	<i>Staphylococcus</i> sp.	5
Others	66.75	Others	17
Total	100	Total	100

*Arthrobacter* sp. (12%) > *Agrobacterium* sp. (4%)가 동정되었다. 치커리에서는 부패 전에는 *Pseudomonas* sp. (18.75%) > *Brevundimonas* sp. (3.75%) > *Burkholderia* sp. (3.5%), 부패 후에는 *Pseudomonas* sp. (36%) > *Arthrobacter* sp. (15%) > *Rahnella* sp. (9%) 순이었다.

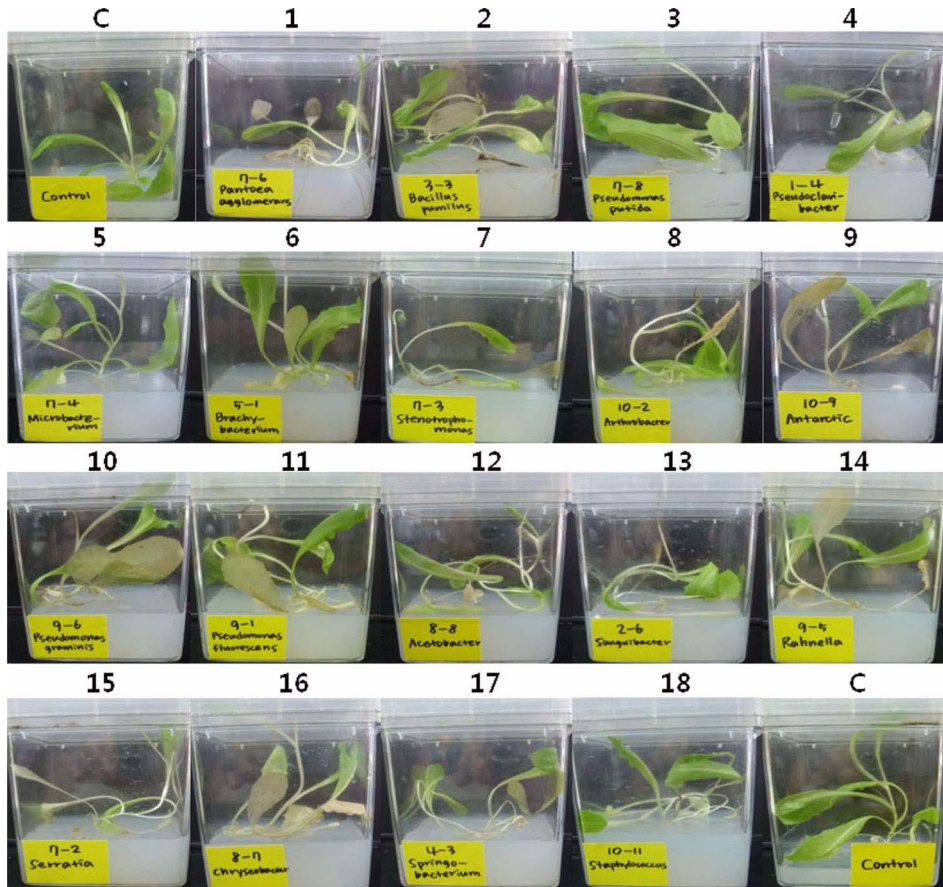
부패 전과 후 모두에서 *Pseudomonas* spp.가 가장 많이

동정되었다. 부패 검정 실험에서도 상추를 부패시키는 능력이 강하고(Fig. 1) 부패가 일어난 후에 밀도도 증가한 것으로 보아, *Pseudomonas* spp.는 신선채소류의 부패를 야기하는 주요 세균으로 판단된다. *Arthrobacter* sp.는 토양에 널리 존재하는 세균으로, 신선채소에서는 검출되지 않았으나 부패 후에는 4종의 채소 모두에서 12~15%에 이르는 *Pseudomonas* sp. 다음의 높은 밀도로 검출되었다. 따라서 부생 세균으로서 부패된 채소류에서 용출된 유기물을 이용하여 증식한 것으로 추정된다.

일반적으로 병원성을 가진 것으로 알려진 *Burkholderia* sp.가 부패 전의 적상추, 깻잎, 치커리에서 12.1%, 1.8%, 3.5%의 밀도로 발견되었고, *Klebsiella* sp.도 깻잎에서 검출되었으며, 특히 치커리에서는 식중독균 지표세균인 *Salmonella* sp.가 동정되었다. 이미 다른 여러 연구에서도 일부의 신선채소류가 식중독균과 같은 병원균에 오염이 되어 있다는 사실이 밝혀져 있다(Abadias 등, 2008; Nguyen-the와 Carlin, 1994; Wells와 Butterfield, 1990). 하지만 부패가 일어난 이후에는 앞의 병원성균이 모두 동정되지 않았다. 이는 다른 세균과의 생존 경쟁에서 도태되었거나, 또는 식물을 영양원으로 직접 이용하지 못한 결과가 아닌가 예상된다.

**부패 전후의 세균의 밀도 변화.** 각종 채소류에서의 부패 전후의 세균의 밀도는 Table 2~5와 같다. 부패 전에는 어떠한 속의 세균도 30%를 넘지 않는 밀도를 가졌으며, 청상추와 적상추, 깻잎, 치커리에서 각각 69%(13속 중 9속), 75%(20속 중 15속), 63%(16속 중 10속), 50%(8속 중 4속)에 해당하는 대다수의 속들이 2% 이하의 낮은 밀도를 보였다. 하지만 부패가 진행된 이후에는 동정된 모든 속의 세균이 2% 이상의 밀도를 차지하는 경향을 보였다. 특히 *Pseudomonas* spp.의 우점화가 강하게 나타났는데, 부패가 일어나기 이전의 신선채소에서는 18.75%에서부터 28.5%에 이르는 밀도를 보였으나, 부패가 진행된 이후에는 적게는 36%에서 많게는 48%에 이르는 높은 밀도를 가지는 양상을 보였다.

**부패 전후의 세균의 다양성 변화.** 대체적으로 부패가 일어나기 전의 신선채소류에서 부패 이후에 비해 다양한 세균의 종류를 보였다. 신선한 적상추와 깻잎에서는 각각 20개 속, 16개 속의 세균이 동정되었으나, 부패가 발생한 이후에는 10개 속과 7개 속이 동정되었다. 청상추와 치커리에서는 동정된 속의 수에서는 부패 전후에 큰 차이를 보이지는 않았으나, 명확하게 동정이 이루어지지 않은 기타(others) 분류에 속한 균의 밀도가 부패 전후에 걸쳐 각각 41.3%에서 4%로, 66.75%에서 17%로 매우 낮은 수준으로 줄어들었다. 이는 적상추와 깻잎에서도 각각 36.5%



**Fig. 1.** Disease symptoms on axenic cultured lettuce by inoculation of 18 isolated bacteria. C, control; 1, *Pantoea agglomerans*; 2, *Bacillus pumilus*; 3, *Pseudomonas putida*; 4, *Pseudoclavibacter* sp.; 5, *Microbacterium* sp.; 6, *Brachybacterium* sp.; 7, *Stenotrophomonas* sp.; 8, *Arthrobacter* sp.; 9, *Psychrobacter* sp.; 10, *Pseudomonas graminis*; 11, *Pseudomonas fluorescens*; 12, *Acinetobacter* sp.; 13, *Sanguibacter* sp.; 14, *Rahnella* sp.; 15, *Serratia* sp.; 16, *Chryseobacterium* sp.; 17, *Sphingobacterium* sp.; 18, *Staphylococcus* sp..

에서 4%로, 37%에서 27%로 부패 이후 현저하게 줄어들었다. 이러한 결과로부터 신선채소에 비해 부패한 채소에 존재하는 세균의 종류가 적은 것을 알 수 있다. 또한 앞서 분석한 세균 밀도 변화에서도 각 세균의 밀도가 부패 전보다 부패 후에 상대적으로 높은 수치를 가지는 것으로 나타났으며, 이와 같이 각각의 세균이 높은 밀도를 가지게 되면 세균의 다양성을 단순화하는 데에 기여하게 된다. 따라서 부패 전후의 동정된 속의 수의 변화와 각 세균의 밀도 차이를 종합하여 보았을 때, 신선채소의 부패가 발생한 이후에는 세균의 다양성이 매우 단순하게 바뀐다는 사실을 알 수 있다.

**분리한 세균의 상추에의 부패 검정.** 총 18종의 세균을 선별하여 이들의 부패력을 무균배양한 상추에 대하여 검정하였다(Fig. 1). 18종의 세균은 이번 실험에서 부패한 채소류에서 동정한 세균 중 *Agrobacterium* sp.를 제외한 15종과, 이전 연구에서 부패한 쌈채소에서 동정한 3종(*Microbacterium* sp., *Pseudoclavibacter* sp., *Stenotrophomonas*

sp.) (미발표 자료)를 사용하였다. 부패한 채소류에서 가장 높은 밀도를 보인 *Pseudomonas* spp.에 대해서는 동정 결과를 바탕으로 3개의 다른 종인 *Ps. fluorescens*, *Ps. putida*, *Ps. graminis*를 선택하여 보다 세부적으로 부패 검정을 실시하였다. 상추에 접종한 세균 중 *Ps. fluorescens*가 가장 먼저 상추의 잎을 무르게 하였으며, 이어서 *P. agglomerans*도 심각한 부패증상을 유발하였다. 또한 *Ps. graminis*, *B. pumilus*, *Serratia* sp.를 접종한 상추의 잎도 물러지는 현상을 보였다. 그러나 *Arthrobacter* sp., *Microbacterium* sp., *Ps. putida*, *Sanguibacter* sp., *Staphylococcus* sp., *Stenotrophomonas* sp.는 부패증상을 유발하지 않았다. 나머지 세균들도 약하게 병을 일으키긴 했으나, 앞서 잎을 무르게 하는 세균들과는 달리 배지에 닿은 상추줄기부터 물러지는 차이를 보이는 것으로 보아, 이들이 직접적으로 상추의 부패에 관여하는 부패균인지 판별하기 위해서는 보다 심도있는 연구가 필요하다고 판단된다.

## 요 약

채소류가 소비되기까지 약 10~30%에 이르는 양이 부패에 의해 버려지고 있다. 채소류는 수확 후 수많은 세균이나 곰팡이와 같은 다양한 미생물들에 의해 부패가 이루어진다. 채소류의 부패와 세균과의 관계를 알아보고자 세균의 다양성에 관한 조사를 하였다. 신선한 상추와 깻잎, 치커리에서의 총 호기성 균 수는 각각  $2.6\sim 2.7\times 10^6$ ,  $4.6\times 10^5$ ,  $1.2\times 10^6$  CFU/g of fresh weight이었으며, *Pseudomonas* spp., *Alsiella* spp., *Burkholderia* spp.와 그 외의 18개의 다양한 속들이 확인되었다. 신선한 채소류를 28°C에서 일주일 동안 배양하였을 때 세균 다양성에 변화가 생겼다. 총 호기성 균의 수는 상추와 깻잎, 치커리에 대하여 각각  $1.1\sim 4.6\times 10^8$ ,  $4.9\times 10^7$ ,  $7.6\times 10^8$  CFU/g of fresh weight로 나타났으며, 이는 약  $10^2$ 배 정도 증가한 수치이다. 하지만 세균 다양성은 단순해져서 보다 적은 수의 세균이 분리, 동정되었다. *Pseudomonas* spp.가 대부분을 차지하였으며(~48%), *Arthrobacter* sp., *Bacillus* sp.가 그 뒤를 이었다. 동정된 세균 각각의 부패능을 검정하고자 무균배양한 상추에 접종하였으며, 그 결과 *Pseudomonas fluorescence*와 *Pantoea agglomerans*가 상당한 부패를 야기하였다.

## Acknowledgements

This work was supported by the Rural Development Administration fund PJ006911.

## 참고문헌

- Abadias, M., Usall, J., Anguera, M., Solsona, C. and Viòas, I. 2008. Microbiological quality of fresh, minimally-processed fruit and vegetables, and sprouts from retail establishments. *Int. J. Food Microbiol.* 123: 121-129.
- Choi, J.-W., Park, S. Y., Yeon, J.-H., Lee, M. J., Chung, D. H., Lee, K.-H., Kim, M.-G., Lee, D.-H., Kim, K.-S. and Ha, S.-D. 2005. Microbial contamination levels of fresh vegetables distributed in markets. *J. Food Hyg. Safety* 20: 43-47.
- Jung, S., Hur, M. J., Ju, J. H., Kim, K.-A., Oh, S. S., Go, J. M., Kim, Y. H. and Im, J. 2006. Microbiological evaluation of raw vegetables. *J. Food Hyg. Safety* 21: 250-257.
- Kim, J. S., Bang, O.-K. and Chang, H. C. 2004. Examination of microbiological contamination of ready-to-eat vegetable salad. *J. Food Hyg. Safety* 19: 60-65.
- Kim, Y. K. 2002. Postharvest diseases. In : Postharvest Technology of Fresh Produce for ASEAN Countries, ed. by Korea Food Research Institute, pp. 419-441. Seoul, Korea.
- Lee, E. J., Han, K. S., Shim, M. Y. and Choi, J. E. 1999. Population density changes of bacteria causing soybean sprout rot on soybean pods. *Plant Dis. Agric.* 5: 41-45.
- Magnuson, J. A., King Jr., A. D. and Török, T. 1990. Microflora of partially processed lettuce. *Appl. Environ. Microbiol.* 56: 3851-3854.
- Miedes, E. and Lorences, E. P. 2004. Apple (*malus domestica*) and tomato (*lycopersicum*) fruits cell-wall hemicelluloses and xyloglucan degradation during *Penicillium expansum* infection. *J. Agric. Food Chem.* 52: 7957-7963.
- Nguyen-the, C. and Carlin, F. 1994. The microbiology of minimally processed fresh fruits and vegetables. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 34: 371-401.
- Pariser, E. R. 1978. Postharvest food losses in developing countries. National Academy of Sciences. Washington. p. 206.
- Seo, J.-E., Lee, J.-K., Oh, S.-W., Koo, M., Kim, Y.-H. and Kim, Y.-J. 2007. Changes of microorganisms during fresh-cut cabbage processing: focusing on the changes of air-borne microorganisms. *J. Food Hyg. Safety* 22: 288-293.
- Seo, K.-Y., Lee, M.-J., Yeon, J.-H., Kim, I.-J., Ha, J.-H. and Ha, S.-D. 2006. Microbiological contamination levels of in salad and side dishes distributed in markets. *J. Food Hyg. Safety* 21: 263-268.
- Tournas, V. H. 2005. Spoilage of vegetable crops by bacteria and fungi and related health hazards. *Crit. Rev. Microbiol.* 31: 33-44.
- Viswanathan, P. and Kaur, R. 2001. Prevalence and growth of pathogens on salad vegetables, fruits and sprouts. *Int. J. Hyg. Environ. Health* 203: 205-213.
- Wells, J. M. and Butterfield, J. E. 1990. *Salmonella* contamination associated with bacterial soft rot of fresh fruits and vegetables in the marketplace. *Plant Dis.* 81: 867-872.
- Whitehead, N. A., Byers, J. T., Commander, P., Corbett, M. J., Coulthurst, S. J., Everson, L., Harris, A. K., Pemberton, C. L., Simpson, N. J., Slater, H., Smith, D. S., Welch, M., Williamson, N. and Salmond, G. P. 2002. The regulation of virulence in phytopathogenic *Erwinia* species: quorum sensing, antibiotics and ecological considerations. *Antonie Van Leeuwenhoek* 81: 223-231.