

한국에 유통중인 신선편이 채소류의 미생물 품질 및 병원성 세균의 오염도 조사

배영민 · 홍유진 · 강동현¹ · 허성기² · 이선영*

중앙대학교 자연과학대학 식품공학부, ¹서울대학교 농업생명과학대학 식품동물생명공학부,

²농촌진흥청 국립농업과학원 농산물안전성부 유해생물과

Microbial and Pathogenic Contamination of Ready-to-eat Fresh Vegetables in Korea

Young-Min Bae, Yu-Jin Hong, Dong-Hyun Kang¹, Sunggi Heu², and Sun-Young Lee*

School of Food Science and Technology, Chung-Ang University

¹Department of Food and Animal Biotechnology, Seoul National University

²Microbial Safety Division, Department of Agro-food Safety, National Academy of Agricultural Science,
Rural Development Administration

Abstract The purpose of this study was to evaluate microbiological contamination of fresh vegetables in Korea. Twenty types of vegetables were tested for total aerobic bacteria, coliforms, *Escherichia coli*, yeast and mold, and pathogenic bacteria such as *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus*, *Salmonella*, *E. coli* O157:H7, *Cronobacter sakazakii*, *Shigella*, and *Campylobacter*. Levels of total aerobic bacteria and coliform on 20 vegetables were between 3.74 and 8.04 log CFU/g, and 0.16 and 5.02 log CFU/g, respectively. The highest contamination levels of total aerobic bacteria were observed on water dropwort, sprouts, mungbean sprout, and ballflower root. There was no significant difference ($p>0.05$) in microbial contamination levels of total aerobic count, coliform, *E. coli*, yeast and mold between organic and nonorganic vegetables. When isolation methods using selective agars were applied, *L. monocytogenes*, *B. cereus*, *Salmonella* and *Campylobacter* were isolated from some fresh vegetable samples. Results of API kit tests showed that *L. monocytogenes* was identified on Chinese cabbage, cucumber, soybean sprouts, and iceberg lettuce while *Salmonella* was identified on Korean leek. Furthermore, *Campylobacter jejuni* was also identified in more than 50 of the 100 samples. However, when positive samples from API kit were tested for real-time PCR or 16S rRNA sequencing method, only *B. cereus* from perilla leaf, carrot, water dropwort, and sprouts showed positive results. These results indicate that selective agar and API kit detection methods might result in false positive results for some pathogens. Therefore, studies need to improve isolation or confirmation methods for such pathogens.

Keywords: vegetable, microbial contamination, foodborne pathogen, isolation, identification

서 론

최근 식품산업의 발전으로 인하여 국민들의 건강에 대한 관심이 높아지면서 가공식품보다 자연식품을 선호하는 추세로 변화하고 있다(1,2). 이러한 변화에 따라 신선 농식품에 대한 수요가 증가하게 되었으며, 특히, 익히지 않고 직접 섭취하는 비가열 즉 석설편(ready-to-eat) 신선 과채류의 수요가 증가하고 있다(2,3). 이런 신선 과채류는 간편하게 섭취할 수 있는 장점이 있지만, 일반적으로 가열하지 않고 직접 신선한 상태로 섭취되기 때문에 병원성 미생물이 오염되어 있을 경우 식품 안전성에 위협이 될 수

있다(4-7). 한국의 최근 식중독 발생 통계에 따르면, 급식과 외식의 생활화로 인해 5년 전보다 식중독 발생 건수가 3.8배 증가하였고, 환자 수는 20% 증가하였으며, 2009년에도 228건으로 많은 수의 식중독이 보고되었다(8). 그리고 건강에 대한 관심의 증가로 샐러드 등 여러 종류의 채소를 생식하는 일이 많아지면서 새싹 및 양상추 등의 신선 채소와 관련된 식중독 사고가 최근 식중독 발생 통계에서 적지 않은 부분을 차지하게 되었다(6,9,10). 2008년 통계에 의하면, 자연계 및 곡류, 채소류에 널리 존재하는 *Bacillus cereus*에 의한 식중독 건수가 식자재의 오염, 식품 간의 교차 오염 등으로 인하여 증가하고 있으며(11), 그 외 다른 병원성 세균에 의한 식중독도 조리 종사자의 손이나 기구의 혼용에 의해 신선 채소 음식으로 교차 오염이 일어나면서 발생하고 있는 것으로 밝혀졌다(12). 병원성 미생물은 과일과 채소를 씻는 과정에서도 제거되지 않아 식중독사고에 관여되는 것으로 알려져 있으며(9), 다양한 종류의 병원성 미생물이 식중독을 야기할 수 있다. 이중 *Shigella* spp., *Salmonella*, *Escherichia coli* O157:H7, *Campylobacter* spp., *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Yersinia enterocolitica*, *B. cereus*, *Clostridium botulinum*,

*Corresponding author: Sun-Young Lee, School of Food Science and Technology, Chung-Ang University, Anseong, Gyeonggi 456-756, Korea

Tel: 82-31-670-4587

Fax: 82-31-676-8741

E-mail: nina6026@cau.ac.kr

Received July 28, 2010; revised November 16, 2010;

accepted December 12, 2010

viruses 등이 과일과 채소와 같은 신선 농식품과 관련하여 식중독 사고 및 국민의 건강상의 문제에 크게 상관성이 있는 것으로 보고되었다(13). CDC 자료 중 미국에서 2005-2007년 사이 신선 농식품과 관련된 식중독 사고의 원인 식품으로는 콩, 양배추, 사과, 바나나, 숙주, 콩나물, 시금치, 당근, 딸기, 수박, 메론, 양파 등이 나타났으며, 그 외에도 여러 채소나 과일을 혼합시킨 샐러드 종류가 원인 식품으로 확인되었다(14). 가장 많이 오염된 병원성 세균으로는 *Salmonella* spp., *E. coli* O157:H7로 나타났으며, 이외에도 포자를 형성하는 균인 *B. cereus*, *Clostridium* spp.와 드물게 *Campylobacter jejuni*, *Shigella sonnei*가 원인 균으로 확인되었다(14).

병원성 미생물이 과일과 채소 등의 신선 농식품에 오염되었을 때 병원성 미생물은 세척 시 물에 뒹기 어려운 틈새에 주로 오염되어 있으며, 표면에 biofilm을 형성하여 세척 및 살균과정에 저항성을 지닌다(15-17). 최근 신선 농식품에 오염된 병원성 미생물을 효과적으로 살균하기 위한 연구가 증가하고 있으며, 이러한 신선 농식품에 오염된 병원성 세균을 효과적으로 살균소독하기 위한 기술의 개발을 위하여 한국에 유통되고 있는 신선 농식품의 미생물 품질, 오염된 병원성 세균의 종류 및 오염 수준 등에 대한 기초적인 연구가 수반되어야 할 것으로 사료된다. 이에 본 연구에서는 한국에 유통되는 신선 채소의 미생물 품질 및 병원성 세균의 오염도를 확인하기 위하여 총 20종의 채소류를 5회에 걸쳐 수거하여 각각의 채소에 오염된 총균수, 대장균군, 대장균, 효모 및 곰팡이의 수준을 조사하였고, 또한 병원성 세균의 오염도를 관찰하기 위하여 총 8종의 병원성 세균(*S. aureus*, *L. monocytogenes*, *B. cereus*, *Salmonella*, *E. coli* O157:H7, *Cronobacter sakazakii*, *Shigella*, *Campylobacter*)을 대상으로 오염 여부를 관찰하였다. 깻잎과 상추의 경우 유기농과 비유기농의 제품을 선정하여 유기농과 비유기농의 일반 미생물 분포를 비교 평가하였다. 본 연구 결과는 한국에 유통중인 채소류의 오염된 병원성 세균의 종류와 미생물학적 안전성 등에 대한 유용한 정보를 제공하며 관련 제품의 살균기술 개발 연구를 위한 기초자료로써 활용될 수 있다.

재료 및 방법

실험재료

미생물 분포에 대한 조사를 위한 신선 채소류는 2009년 9월부터 10월까지 경기도 안성시 소재의 대형마트 및 일반마트에서 구입하여 사용하였다. 제품은 가열과정이 없이 섭취하는 채소샐러드를 중심으로 20종을 5회에 걸쳐 총 100개의 제품을 구입하여 사용하였으며(동일 20종의 상품을 5회 구입), 구입 후에는 냉장 상자로 운반하여 총균수(total aerobic bacteria), 대장균군(coliform), 대장균(*E. coli*), 효모 및 곰팡이(yeast & molds), *S. aureus*, *L. monocytogenes*, *B. cereus*, *Salmonella*, *E. coli* O157:H7, *C. sakazakii*, *Shigella*, *Campylobacter*의 검출 및 분리 실험에 이용하였다. 실험에 이용된 20종의 채소는 다음과 같다: 상추(romain lettuce), 유기농 상추(organic romain lettuce), 깻잎(perilla leaf) 유기농 깻잎(organic perilla leaf), 배추(Chinese cabbage), 부추(Korean leek), 당근(carrot), 미나리(water dropwort), 양배추(cabbage), 양상추(iceberg lettuce), 적채(red cabbage), 오이(cucumber), 파프리카(paprika), 새싹(sprouts), 양파(onion), 마늘쫑(garlic flower stalk), 콩나물(soybean sprout), 숙주나물(mungbean sprout), 도라지(bellflower root), 고추(red pepper). 각 제품은 냉장온도에서 보관하면서 구입 후 1일 이내에 실험에 사용되었다.

일반미생물의 정량적 분석

시료의 일반 미생물의 정량적 분석은 식품공전법(18)을 바탕으로 수행되었다. 시료 25 g을 정량한 후 buffered pepton water (BPW, Difco Laboratories, Detroit, MI, USA) 225 mL이 담긴 멀균 stomacher bag에 넣어 10배 회석한 후 stomacher(BagMixer® 400, Interscience, Bretèche, France)를 이용하여 2분간 균질화 하였다. 균질화 된 시료는 9 mL의 buffered peptone water(Difco)를 이용하여 10배씩 연속 회석하였다. 총균수의 측정을 위해서 각각의 회석된 시료 1 mL을 petrifilm aerobic count plate(3M, Seoul, Korea)위에 분주하여 30°C에서 24-48시간 배양하였으며, 배양 후 petrifilm위에 형성된 균체(colony)를 계수하여 colony-forming unit(CFU)/g으로 나타내었다. 또한 대장균군 및 대장균의 정량적 분석을 위해서는 petrifilm *E. coli*/coliform count plate(3M)에 위에서 준비한 시료 1 mL을 분주하여 37°C에서 24-48시간 배양하였다. 배양 후 기포를 가진 파란색 균체를 대장균양성으로, 기포를 가진 붉은색 균체와 기포를 가진 파란색 균체를 대장균군 양성으로 간주하여 계수하였다. 효모 및 곰팡이의 정량적 분석을 위해서는 petrifilm yeast/molds count plate(3M)에 위에서 준비한 시료 1 mL을 분주하여 37°C에서 24-48시간 배양하였다. 배양 후 녹색의 균체를 효모 및 곰팡이의 양성으로 간주하여 계수하였다.

유해세균 오염도 분석 및 동정

각각의 병원성 미생물은 총 8종(*S. aureus*, *L. monocytogenes*, *B. cereus*, *Salmonella*, *E. coli* O157:H7, *C. sakazakii*, *Shigella*, *Campylobacter*)에 대하여 조사되었으며, 신선 농식품에서 병원성 미생물을 분리하는 방법은 *E. coli* O157:H7 의 경우 식품공전법(18)을 이용하였고, 나머지 균은 FDA BAM방법(19)을 이용하여 조사하였다. 동정은 각각의 선택배지에 전형적인 균체를 선택하여 API kit(BioMérieux, Marcy l'Etoile, France)를 사용하여 동정하였다. Table 1은 각각의 병원성 세균의 분리 및 동정에 이용한 배지 및 kit를 보여주고 있다. 각각의 병원성 세균의 선택배지는 호기성 환경에서 배양되었으며, *Campylobacter*의 경우 혼기 배양 용기(Difco)와 가스팩(CampyGen™, Oxoid, Ogdensburg, NY, USA)을 이용하여 미호기적 환경에서 배양하였다.

Real-time PCR 분석

API kit의 방법에서 병원성세균으로 동정된 균주는 Chromo4™ Real-time PCR system(Bio-RAD, Richmond, CA, USA)로 확인하였다. Template를 얻기 위해서 분리된 병원성세균을 tryptic soy agar(TSA, Difco)에 37°C에서 24시간 배양한 뒤 배양된 균체는 300 µL의 멀균증류수가 담긴 마이크로 튜브에 넣었다. 준비된 튜브는 10분 동안 끓인 후 12,000×g의 조건으로 5분간 원심분리하여 상등액인 DNA 농축액을 수거하였다. Real-time PCR를 위해 real-time PCR kit(Kogenbiotech Co., Seoul, Korea)를 선택하여 사용하였으며(Table 1), 각각 kit의 primer 4 µL, probe mixture 10 µL, 그리고 준비된 각각의 template 6 µL을 96-well에 넣어 총 20 µL가 되게 준비한 후 원심분리하여 real-time PCR 분석을 하였다. 분석 후 Opticon Monitor2™ Software(Bio-RAD, Richmond, CA, USA)를 이용하여 확인하였다.

16S rRNA Sequencing 분석

Real-time PCR 분석에서 확실하게 확인되지 않은 *Campylobacter* 양성으로 나온 3가지 균주는 16S rRNA sequencing을 이용하여 최종 확인하였으며, 16S rRNA sequencing은 Macrogen Inc. (Seoul, Korea)에 의뢰하여 분석하였다.

Table 1. Culture media¹⁾ and identification methods for pathogenic bacteria isolated from fresh vegetables in this study

Strain	Enrichment broth	Selective agar	API kit	Real-time PCR ²⁾	Identification method
<i>Staphylococcus aureus</i>	Tryptic soy broth (Difco Laboratories, Detroit, MI, USA) in 10% NaCl	Mannitol salt agar (Difco) in Egg York Emulsion (Difco)	API Staphy (BioMérieux, Marcy l'Étoile, France)	-	16S rRNA sequencing ³⁾
<i>Listeria monocytogenes</i>	Listeria Enrichment broth (Difco)	Oxford agar base (Difco) in Listeria selective supplement (Oxoid)	API Listeria (BioMérieux)	PowerChek™ <i>Listeria monocytogenes</i> Real-time PCR kit (R0106, Kogenbiotech, Seoul, Korea)	
<i>Bacillus cereus</i>	Butterfield's phosphate-buffered dilution water (Difco)	Bacillus cereus agar base (Oxoid) in Polymyxin B Supplement (Oxoid), Egg York Emulsion (Difco)	API 50CHB (BioMérieux)	PowerChek™ <i>Bacillus cereus</i> Real-time PCR kit (R0104, Kogenbiotech)	
<i>Salmonella</i>	Rappaport-Vassiliadis R10 broth (Difco) Tetrathionate broth (Difco) Buffered pepton water (Difco)	Xylose lysine desoxycholate agar (Difco)	API 20E (BioMérieux)	PowerChek™ <i>Salmonella</i> spp. Real-time PCR kit (R0108, Kogenbiotech)	
<i>Escherichia coli</i> O157:H7	E.C. broth (Oxoid, Hampshire, UK)	Sorbitol MacConkey agar (Difco)	API 20E (BioMérieux)	-	
<i>Cronobacter sakazakii</i>	E.E. broth (Oxoid)	Chromogenic Enterobacter sakazakii medium (Oxoid)	API 20E (BioMérieux)	-	
<i>Shigella</i>	Buffered pepton water (Difco) in novobiocin 0.5 µg/mL	MacConkey agar (Difco)	API 20E (BioMérieux)	-	
<i>Campylobacter</i>	Bolton broth (Oxoid)	mCCDA agar (Oxoid)	API campy (BioMérieux)	PowerChek™ <i>Campylobacter jejuni</i> Real-time PCR kit (R0101, Kogenbiotech)	Macrogen Inc., (Seoul, Korea)

¹⁾Culture media for *E. coli* O157:H7 and other pathogens quote from KFDA Food Code and FDA Bacteriological Analytical Manual (BAM), respectively.²⁾Samples showing positive results on tests using API kit were subsequently subjected for real-time PCR method.³⁾The only 3 samples showing slightly positive results on real-time PCR methods for *Campylobacter* were identified using 16S rRNA sequencing method.

통계처리

관찰된 실험결과는 SAS통계프로그램(version 9.1, SAS Institute, Cary, NC, USA)의 ANOVA procedure을 이용하여 분석되었다. 각각의 처리군이 통계적인 유의차를 나타내는 경우에($p\leq 0.05$) 각각의 5반복 실험에 의한 평균값은 Duncan's multiple range test를 이용하여 산출하였다.

결과 및 고찰

일반미생물 오염수준

신선 농식품의 총균수와 대장균군, 대장균, 효모 및 곰팡이수에 대한 검사 결과는 Table 2과 같다. 총균수의 경우 3.74-8.04 log CFU/g로 높은 수준의 균이 검출되었다. 특히, 미나리, 새싹,

Table 2. Averages and ranges (Log₁₀ CFU/g)¹⁾ of bacterial count isolated from 20 different fresh vegetables in Korea

Product	Total aerobic bacteria	Coliform	<i>E. coli</i>	Yeast/Molds
Romain lettuce	Average 6.95±0.35 ^{bac²⁾}	3.28±1.79 ^{bda}	1.06±1.46 ^a	0.34±0.76 ^b
	Range 6.32-7.17	0.30-5.14	0-2.84	0-1.70
Organic romain lettuce	Average 6.84±0.63 ^{bda}	2.77±1.99 ^{ebdacf}	0.00±0.00 ^b	0.00±0.00 ^b
	Range 6.05-7.70	0.60-4.99	0	0
Perilla leaf ^f	Average 6.21±0.57 ^{ebdgc}	1.57±1.75 ^{ebdef}	0.00±0.00 ^b	0.00±0.00 ^b
	Range 5.60-7.11	0-3.50	0	0
Organic perilla leaf	Average 6.31±1.29 ^{ebdagcf}	2.95±2.21 ^{ebdac}	0.62±1.00 ^{ba}	0.00±0.00 ^b
	Range 5-7.81	0.69-6.03	0-2.30	0
Chinese cabbage	Average 6.77±0.78 ^{ebdac}	0.97±1.23 ^{edf}	0.00±0.00 ^b	0.14±0.31 ^b
	Range 5.53-7.54	0-2.90	0	0-0.69
Korean leek	Average 6.35±1.50 ^{ebdagcf}	2.15±2.13 ^{ebdef}	0.00±0.00 ^b	0.54±1.21 ^b
	Range 4.15-7.91	0-5.63	0	0-2.68
Carrot	Average 5.00±0.72 ^{hgf}	1.34±1.52 ^{edf}	0.00±0.00 ^b	0.00±0.00 ^b
	Range 4.13-5.75	0-3.43	0	0
Water dropwort	Average 7.34±0.82 ^{bac}	3.95±1.08 ^{ba}	0.52±0.71 ^{ba}	0.96±0.88 ^{ba}
	Range 6.39-8.32	3.07-5.77	0-1.30	0-2.04
Cabbage	Average 4.82±1.99 ^{edhgf}	1.78±1.66 ^{ebdef}	0.40±0.89 ^b	0.00±0.00 ^b
	Range 2.84-7.25	0-3.46	0-2	0
Iceberg lettuce	Average 5.69±1.32 ^{edgcf}	0.66±1.17 ^{edf}	0.00±0.00 ^b	0.00±0.00 ^b
	Range 4.2-7.30	0-2.60	0	0-1.85
Red cabbage	Average 5.05±1.35 ^{ehgf}	1.16±1.09 ^{edf}	0.00±0.00 ^b	0.00±0.00 ^b
	Range 4.02-7.27	0-2.30	0	0
Cucumber	Average 5.14±0.75 ^{edhgf}	0.94±1.64 ^{edf}	0.00±0.00 ^b	0.00±0.00 ^b
	Range 3.99-5.81	0-3.78	0	0
Paprika	Average 4.81±2.20 ^{hg}	1.22±1.23 ^{edf}	0.00±0.00 ^b	0.37±0.83 ^b
	Range 3.04-8.48	0-2.60	0	0-1.85
Sprouts	Average 7.78±1.00 ^{ba}	3.80±2.20 ^{bac}	0.00±0.00 ^b	1.77±1.01 ^a
	Range 6.17-8.67	1.87-6.19	0	0-2.37
Onion	Average 3.74±1.52 ^h	0.16±0.35 ^f	0.00±0.00 ^b	0.00±0.00 ^b
	Range 1.68-5.46	0-0.77	0	0
Garlic flower stalk	Average 6.07±0.75 ^{ebdgc}	0.59±0.68 ^{ef}	0.00±0.00 ^b	0.00±0.00 ^b
	Range 5.34-7.30	0-1.41	0	0
Soybean sprout	Average 6.61±2.06 ^{ebdacf}	2.87±2.69 ^{ebdac}	0.00±0.00 ^b	0.10±0.21 ^b
	Range 3.04-8.13	0-5.38	0	0-0.477
Mungbean sprout	Average 7.97±0.35 ^a	5.02±2.8 ^a	0.00±0.00 ^b	1.74±1.47 ^a
	Range 7.61-8.43	0-6.35	0	0-3.38
Bellflower root	Average 8.04±0.33 ^a	2.96±2.13 ^{ebdac}	0.00±0.00 ^b	0.95±1.35 ^{ba}
	Range 7.67-8.41	0-5.64	0	0-2.90
Red pepper	Average 4.93±0.29 ^{hgf}	0.42±2.03 ^{ef}	0.00±0.00 ^b	0.00±0.00 ^b
	Range 4.50-5.27	0-2.10	0	0

¹⁾Data represent means±standard deviations of five measurements.²⁾Means with the same letter within a column are not significant different ($p>0.05$).

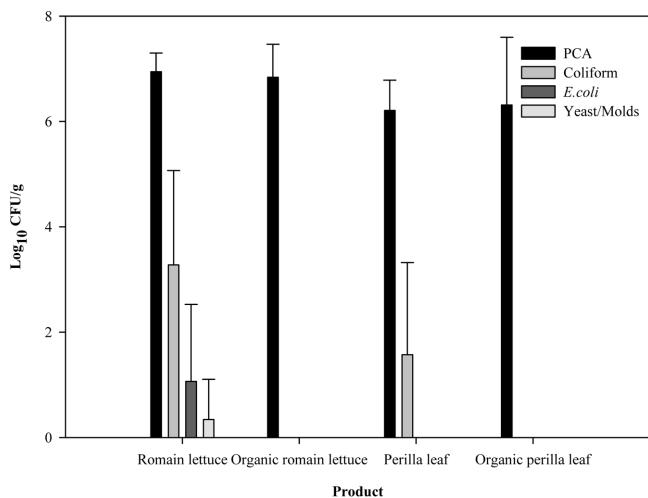


Fig. 1. Levels (\log_{10} CFU/g) of microbial contamination of non-organic and organic romain lettuce and perilla leaves. There was no significant difference on levels of total aerobic count, coliform, *E. coli*, and yeast & mold between conventional product and organic products ($n=5$, $p>0.05$).

숙주, 도라지에서 7 log CFU/g 이상의 균이 검출되었으며, 도라지의 경우 8.04 log CFU/g로 가장 높은 균이 검출되었다. 상추, 유기농 상추, 깻잎, 유기농 깻잎, 배추, 부추, 마늘쫑, 콩나물의 경우 6 log CFU/g 이상의 균이 검출되었다. 양파의 경우 총 20종의 채소 중 가장 적은 양인 3.74 log CFU/g가 검출되었다. 대장균은 0.16-5.02 log CFU/g 수준으로 검출되었으며, 상추, 유기농 상추, 유기농 깻잎, 부추, 미나리, 새싹, 콩나물, 숙주, 도라지에서 2 log CFU/g 이상의 균이 검출되었다. 미나리의 경우 3.95 log CFU/g, 새싹은 3.80 log CFU/g가 검출되었으며, 숙주의 경우 5.02 log CFU/g의 높은 균이 검출되었다. 대장균의 경우 0.40-1.06 log CFU/g 수준이 검출되었으며, 상추, 유기농 깻잎, 미나리, 양배추에서 균이 검출되었다. 효모 및 곰팡이의 경우 0.00-2.68 log CFU/g 수준으로 검출되었으며, 효모 및 곰팡이는 상추, 배추, 부추, 미나리, 파프리카, 새싹, 콩나물, 숙주, 도라지에서 검출되었다. 새싹의 경우 1.77 log CFU/g, 숙주는 1.74 log CFU/g의 수준으로 검출되어 상대적으 높은 수준이 검출되었다.

상추, 깻잎과 유기농 상추와 유기농 깻잎의 비교 결과는 Fig. 1과 같다. 일반 농산물과 유기농 농산물의 미생물 수준은 총균수가 6 log CFU/g 수준이며, 대장균은 1.57-3.28 log CFU/g 수준을 나타났다. 대장균은 일반상추에서 1.06 log CFU/g, 유기농 깻잎에서 0.62 log CFU/g가 검출되었으며, 효모 및 곰팡이는 일반상추에서 0.34 log CFU/g가 검출되었다. 하지만 전 네 가지 미생물 군에서 일반 농산물과 유기농 농산물의 유의적 차이는 나타나지 않아 일반 농산물과 유기농 농산물의 일반 미생물적 품질에는 크게 차이가 없음이 나타났다($p>0.05$).

본 연구는 한국에서 유통되는 신선품의 일반 미생물 분포를 조사하였다. 총 20종의 신선품의 총균수 및 대장균군의 분포는 비교적 높은 수준으로 나타났으며, 이는 기존의 몇몇 연구결과와 유사성을 보여주고 있다. Choi 등(21)의 신선품의 호기성 세균의 조사 연구에서 상추는 평균 7.01-7.10 log CFU/g, 벼위 6.04-8.01 log CFU/g로 관찰되었으며, 깻잎은 평균 6.44-6.69 log CFU/g, 벼위는 4.86-7.79 log CFU/g이고, 오이는 평균 5.27-5.37 log CFU/g, 벼위는 3.48-6.57 log CFU/g로 확인되었다. 또한 Kim 등(22)의 채소샐러드의 미생물 오염조사에서는 즉석 섭

취용 샐러드 제품에서 60.8%의 대장균군이 검출되었으며, *E. coli*가 17건, *S. aureus*가 3건, *Salmonella* spp.가 1건 검출되었다. Kim과 Shin(23)의 연구에서는 전처리 채소 8종에서 대하여 대장균군의 오염도를 조사한 결과, 채를 썬 양배추에서 6.9 log CFU/g, 전처리 상추에서 6.0 log CFU/g, 채를 썬 당근에서 6.6 log CFU/g, 얇게 썬 당근에서 3.4 log CFU/g, 채를 썬 양파에서 6.4 log CFU/g, 반달 썰기 호박에서 5.4 log CFU/g, 채를 썬 오이에서 6.1 log CFU/g로 각각 대장균군이 오염되어 있는 것이 확인되었다. 반면 Cho 등(24)의 유통중인 양배추의 미생물 수준을 분석한 결과에서는 총균수가 9.21 log CFU/g, 대장균군이 6.60 log CFU/g 수준으로 분포되어 있는 것을 확인하였다. 다른 유기농 채소의 미생물 오염도를 조사한 연구결과에서는 당근, 감자, 상추, 오이 등의 유기농 채소에서 총 호기성세균수는 4.6 log CFU/g 수준을 보였으며 대장균은 82.1%의 검출률을 보였다(24). Solberg 등(20)은 급식업소에서 음식의 미생물적 안전기준치를 총균수 5.0 log CFU/g 이하, 대장균수 3.0 log CFU/g 이하로 제시하고 있으며, 몇몇 신선 채소는 본 기준을 초과하는 것으로 나타났다.

유해세균 오염도 분석 및 동정결과

Table 3은 총 20종의 신선품에서 분리된 병원성미생물에 대한 선택배지 및 API kit, real-time PCR, 16S rRNA sequencing 법을 이용한 동정 결과를 보여주고 있다. 총 8종의 병원성 미생물을 선택배지로 분리했을 때, *L. monocytogenes*는 배추, 양상추, 오이, 콩나물 등의 시료에서 총 100개중 5개의 시료에서 검출되었다. *B. cereus*는 상추, 깻잎, 당근, 미나리, 새싹에서 각각 1 개씩의 시료에서 발견되어 5건의 시료에서 발견되었으며, *Campylobacter*의 경우는 20종 모두에서 한번 이상 검출되었으며 총 100 개의 시료 중 38건에서 확인되어 선택배지를 이용한 분리법으로 분리하였을 때 가장 높은 검출율을 보였다. *Salmonella*는 부추 1 시료에서 확인되었으며, 그 외 *S. aureus*, *E. coli* O157:H7, *C. sakazakii*, *Shigella*의 경우는 전체 100개의 시료에서 검출되지 않았다. 이렇게 분리된 병원성 세균을 1차 동정으로 APT kit를 이용하여 동정하였을 때, *S. aureus*의 경우 같은 *Staphylococcus*종은 많이 검출되었으나 위험성이 높은 *S. aureus*는 검출되지 않았으며, *S. sciuri*가 90% 이상의 높은 확률로 많이 분리되었다. *Campylobacter*의 경우 *Campylobacter jejuni*가 60%이상의 확률로 많이 검출되었으며, 많은 종류의 채소 시료에서 분리된 *Campylobacter*가 *C. jejuni*, *C. fetus*, *C. coli*로 확인되었다. *Listeria*의 경우 병원성이 높은 *L. monocytogenes*가 낮은 확률이지만 배추, 오이, 콩나물, 양상추에서 검출되었으며, *Salmonella*의 경우 *Salmonella choleraesuis* ssp *arizona*가 부추에서 검출되었다. 결과적으로 API kit를 이용하여 신선품에서 분리된 병원성미생물을 동정한 결과 *Campylobacter*, *L. monocytogenes*, *B. cereus*의 균이 양성으로 확인되었으며, 이때 양성으로 확인된 총 48개의 시료를 대상으로 다음 real-time PCR법을 활용하여 2차 동정에 이용하였다. 그 결과 새싹, 미나리, 당근, 깻잎에 분리된 *B. cereus*는 양성의 결과가 나타났으며, 반면 *L. monocytogenes*, *Salmonella* spp., *Campylobacter*의 경우 *C. jejuni*의 3개의 시료를 제외하고는 모두 음성의 결과가 나타나 API kit를 이용한 동정에서 잘못된 양성의 결과가 나타났음을 알 수 있었다. Real-time PCR법에서 음성과 양성의 결과가 불확실했던 *C. jejuni*의 3개의 시료를 16S rRNA sequencing법을 이용하여 확인한 결과, 희미한 양성의 결과를 나타냈던 3개의 시료마저 모두 음성의 결과가 나타나, 앞선 API kit, real-time PCR법에서 부정확한 양성 결과가 나타남을 확인하였다. 각각 세 가지 시료의 16S rRNA sequencing의 확인 결과, 깻잎은

Table 3. Numbers of positive samples for pathogenic contamination of raw vegetables

Product	Numbers of positive samples										
	<i>S. aureus</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>B. cereus</i>	<i>Salmonella</i>			<i>E. coli</i> O157:H7	<i>C. sakazakii</i>	<i>Campylobacter</i>	<i>Shigella</i>	
SA ¹⁾ (API)	PCR ²⁾ (16S)	SA (API)	PCR (16S)	SA (API)	PCR (16S)	SA (API)	PCR (16S)	SA (API)	PCR (16S)	SA (API)	
Romain lettuce	4(0)	- ³⁾ (-)	2(0)	-(-)	4(1)	0(-)	-(-)	3(0)	-(-)	4(4)	0(-)
Organic romain lettuce	5(0)	-(-)	5(0)	-(-)	4(0)	1(0)	-(-)	4(0)	-(-)	4(2)	0(-)
Perilla leaf	3(0)	-(-)	5(0)	-(-)	3(1)	1(-)	2(0)	-(-)	1(0)	-(-)	1(0)
Organic perilla leaf	4(0)	-(-)	5(0)	-(-)	3(0)	0(-)	0(-)	1(0)	-(-)	1(0)	-(-)
Chinese cabbage	4(0)	-(-)	1(1)	0(-)	3(0)	-(-)	0(-)	3(0)	-(-)	2(2)	0(-)
Korean leek	5(0)	-(-)	5(0)	-(-)	4(0)	-(-)	1(1)	0(-)	3(0)	1(0)	0(-)
Carrot	1(0)	-(-)	0(-)	-(-)	2(1)	1(-)	0(-)	3(0)	-(-)	3(3)	1(0)
Water dropwort	2(0)	-(-)	3(0)	-(-)	2(1)	1(-)	0(-)	1(0)	-(-)	2(2)	0(-)
Cabbage	5(0)	-(-)	0(-)	-(-)	2(0)	-(-)	0(-)	2(0)	-(-)	2(1)	0(-)
Iceberg lettuce	4(0)	-(-)	2(1)	0(-)	1(0)	-(-)	0(-)	2(0)	-(-)	1(1)	0(-)
Red cabbage	5(0)	-(-)	0(-)	-(-)	1(0)	-(-)	0(-)	1(0)	-(-)	3(2)	0(-)
Cucumber	5(0)	-(-)	4(2)	0(-)	2(0)	-(-)	0(-)	2(0)	-(-)	1(0)	-(-)
Paprika	4(0)	-(-)	1(0)	-(-)	1(0)	-(-)	0(-)	2(0)	-(-)	1(1)	0(-)
Spinach	3(0)	-(-)	5(0)	-(-)	3(1)	1(-)	1(0)	-(-)	0(-)	0(-)	-(-)
Onion	3(0)	-(-)	0(-)	-(-)	1(0)	-(-)	0(-)	1(0)	-(-)	2(2)	0(-)
Garlic flower stalk	2(0)	-(-)	2(0)	-(-)	1(0)	-(-)	0(-)	4(0)	-(-)	3(1)	0(-)
Soybean sprout	5(0)	-(-)	4(1)	0(-)	1(0)	-(-)	1(0)	-(-)	2(0)	-(-)	1(1)
Mungbean sprout	5(0)	-(-)	3(0)	-(-)	1(0)	-(-)	3(0)	-(-)	1(0)	-(-)	0(-)
Bellflower root	1(0)	-(-)	3(0)	-(-)	1(0)	-(-)	2(0)	-(-)	2(0)	-(-)	0(-)
Red pepper	4(0)	-(-)	1(0)	-(-)	0(-)	-(-)	1(0)	-(-)	2(0)	-(-)	1(0)
Total%	74(0)	-(-)	51(5)	0(-)	40(5)	4(-)	12(1)	0(-)	40(0)	-(-)	50(38)
							23(0)	-(-)			3(0)
											8(0)
											-(-)

¹⁾SA, isolation methods using selective agar; API, identification methods using API kit. Numbers of positive sample in selective agar method among each 5 samples (numbers of positive sample in API kit methods among positive samples in selective agar method).

²⁾PCR, identification methods using real-time PCR method; 16S, identification methods using 16S rRNA sequencing method. Numbers of positive sample in real-time PCR method among positive samples in API kit methods (numbers of positive sample in 16S rRNA sequencing method among positive samples in real-time PCR method).

³⁾Not tested.

Acinetobacter baumannii, 배추는 *Acinetobacter genomosp. 3*, 새싹은 *Escherichia coli* IAI 1로 각각 확인되었다.

기준의 다른 타 연구자에 의한 신선 채소에 오염된 병원성 세균을 조사한 연구결과를 보면, Kim과 Shin(23)의 연구에서 비 전처리 채소 및 전처리 채소에서 *B. cereus*가 검출되어 본 연구와 유사한 연구결과를 나타내었으며 *B. cereus* 오염도는 당근 3.6 log CFU/g, 무 2.9 log CFU/g, 부추 2.5 log CFU/g 수준으로 조사되었다. 반면 이 연구에서는 *C. jejuni*가 비전처리 채소인 무와 채를 썬 양배추, 오이 채, 당근 채에서 검출되었고, *S. aureus*는 비전처리 부추에서 검출되었다. 비가열 채소류의 병원성 오염도를 관찰한 다른 연구의 경우 치커리에서 *S. aureus*와 *B. cereus*가 22%로 가장 많이 검출되었으며, *B. cereus*는 쑥갓에서도 많이 검출되었다(26). 또한 Kim 등(22)의 즉석 섹취 채소 샐러드의 미생물 오염 조사연구에서는 *S. aureus*가 채소 샐러드 4건 검출되었으며, *Salmonella arizona*가 1건의 채소에서 검출되었다. 하지만 본 연구 결과 분리 후 동정에 이용되는 방법에 따라서 병원성 세균의 검사 결과에 차이가 있음을 알 수 있다.

본 연구는 한국에서 유통되는 신선 채소의 미생물적 품질 및 병원성 세균의 오염도를 조사하여 신선 농식품의 미생물적 안전성을 평가하고자 수행되었다. 그 결과 전체적으로 한국에서 유통되고 있는 신선 채소에 총균수 및 대장균군이 비교적 높은 수준으로 존재하고, 몇몇 신선 채소는 병원성 세균인 *B. cereus*가 오염되어 있는 것을 확인할 수 있었다. 한국에 유통중인 신선 채소의 미생물적 품질 관리를 위하여 지속적인 관련 제품의 미생물적 품질 평가가 이루어져야 할 것으로 사료되며, 관련 제품의 미생물적 안전성을 증진시킬 수 있는 상용화가 가능한 살균소독 및 저감화 기술의 개발이 이루어져야 할 것으로 생각한다.

요 약

신선 농식품은 일반적으로 가열하지 않고 직접 신선한 상태로 섭취하기 때문에 병원성 미생물에 오염되어 있을 경우 식중독을 일으킬 수 있다. 이에 본 연구는 한국에 유통되는 총 20종의 채소에서 총균수, 대장균군, 대장균, 효모, 곰팡이 및 병원성 세균 (*S. aureus*, *L. monocytogenes*, *B. cereus*, *Salmonella*, *E. coli* O157:H7, *C. sakazakii*, *Shigella*, *Campylobacter*)을 측정하여 신선 농식품의 미생물 오염실태를 조사하였다. 채소의 총균수와 대장균군의 분포는 각각 3.74-8.04 log CFU/g, 0.16-5.02 log CFU/g 수준이었으며 이중에서 미나리, 새싹, 숙주, 도라지에서 가장 높은 수준의 미생물이 관찰되었다. 유기농과 비유기농의 상추와 깻잎의 오염도를 관찰했을 때, 두 군의 일반 미생물 수준에는 유의적 차이가 나타나지 않았다. 신선 농식품에 오염된 병원성 세균을 조사하였을 때, 선택배지를 이용한 분리법에서 *L. monocytogenes*가 배추, 양상추, 오이, 콩나물에서 검출되었고, *B. cereus*는 상추, 깻잎, 당근, 미나리, 새싹에서 검출되었으며, *Campylobacter*의 경우는 20종 모두에서 한번 이상 검출되었다. 이중 API kit로 동정한 결과 총 48개의 시료가 양성으로 판명되었으며 마지막으로 real-time PCR법과 16S rRNA sequencing법을 이용하여 확인한 결과 깻잎, 당근, 미나리, 새싹에서 발견된 *B. cereus*만이 양성으로 확인되었다. 따라서 본 연구결과로부터 몇몇 신선 농식품에서 *B. cereus*가 검출되었으며 비교적 높은 총균수와 대장균군의 수준을 확인할 수 있었다. 또한 본 연구결과 분리방법에서 선택배지나 API kit를 이용하였을 때 몇몇 병원성 세균에 대해서는 맞지 않는 양성결과가 확인되었으므로 이에 신선 농식품에서 보다 정확하게 분리할 수 있는 방법의 개발이 필요할 것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구는 농촌진흥청 공동연구사업(과제번호: PJ006599)의 지원에 의해 이루어진 것이며 이에 감사드립니다.

문 헌

1. Bari ML, Nei D, Enomoto K, Todoriki S, Kawamoto S. Combination treatments for killing *Escherichia coli* 0157:H7 on alfalfa, radish, broccolli, and mung bean seeds. *J. Food Prot.* 72: 631-636 (2009)
2. Samara A, Koutsoumanis KP. Effect of treating lettuce surfaces with acidulants on the behavior of *Listeria monocytogenes* during storage at 5 and 20°C and subsequent exposure to simulated gastric fluid. *Int. J. Food Microbiol.* 129: 1-7 (2009)
3. Alegre I, Abadias M, Anguera M, Oliverira M, Viñas I. Factors affecting growth of foodborne pathogens on minimally processed apples. *Food Microbiol.* 27: 70-76 (2010)
4. Kroupitski Y, Pinto R, Brandi MT, Belausov E, Sela S. Interactions of *Salmonella enterica* with lettuce leaves. *J. Appl. Microbiol.* 106: 1879-1885 (2009)
5. Akbas MY, Ölmez H. Inactivation of *Escherichia coli* 0157:H7 and *Listeria monocytogenes* on iceberg lettuce by dip wash treatments with organic acids. *J. Appl. Microbiol.* 44: 619-624 (2007)
6. Gleeson E, O'Beirne D. Effects of process severity on survival and growth of *Escherichia coli* and *Listeria innocua* on minimally processed vegetables. *Food Control* 16: 677-685 (2005)
7. Flessa S, Lusk DM, Harris LJ. Survival of *Listeria monocytogenes* on fresh and frozen strawberries. *Int. J. Food Microbiol.* 101: 255-262 (2005)
8. Korea Food & Drug Administration. Available from: <http://www.kfda.go.kr>. Accessed Oct. 20. 2010.
9. Beuchat LR. Pathogenic microorganisms associated with fresh produce. *J. Food Prot.* 59: 204-216 (1996)
10. De Roever C. Microbiological safety evaluations and recommendations on fresh produce. *Food Control* 9: 321-347 (1998)
11. Korea Food and Drug Administration. Available from: <http://www.kfda.go.kr>. Accessed July 20, 2008.
12. Park HO, Kim CM, Woo GJ, Park SH, Lee DH, Chang EJ, Park KH. Monitoring and trends analysis of food poisoning outbreaks occurred in recent years in Korea. *J. Fd. Hyg. Safety* 16: 280-294 (2001)
13. Burnett SL, Beuchat LR. Human pathogens associated with raw produce and unpasteurized juices, and difficulties in decontamination. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 27: 104-110 (2001)
14. Centers for Disease Control and Prevention. The United States annual listing of foodborne disease outbreaks. Available from: <http://www.cdc.gov/foodborne outbreaks/outbreak data.htm>. Accessed Aug. 1, 2008.
15. Seo KH, Frank JF. Attachment of *Escherichia coli* 0157:H7 to lettuce leaf surfaces and bacterial viability in response to bacterial viability in response to chlorine treatment as demonstrated by using confocal scanning laser microscopy. *J. Food Prot.* 62: 3-9 (1999)
16. Burnett SL, Chen J, Beuchat LR. Attachment of *Escherichia coli* 0157:H7 to the surface and internal structures of apples as demonstrated by confocal scanning laser microscopy. *Appl. Environ. Microbiol.* 66: 4679-4687 (2000)
17. Lee SY, Costello M, Kang DH. Efficacy of chlorine dioxide gas as a sanitizer of lettuce leaves. *J. Food Prot.* 67: 1371-1476 (2004)
18. Korea Food and Drug Administration. Food code. Available from: <http://www.kfda.go.kr>. Accessed Sep. 10, 2009.
19. U.S. Food and Drug Administration. Bacteriological analytical manual. Available from: <http://www.fda.gov>. Accessed Sep. 13, 2009.
20. Solberg M, Bucklew JJ, Chen CM, Schaffner DW, O'Neil K, McDowell J, Post LS, Boderck M. Microbiological safety assurance system for foodservice facilities. *Food Technol.* 44: 68-73 (1990)

21. Choi JW, Park SY, Yeon JH, Lee MJ, Chung DH, Lee KH, Kim MG, Lee DH, Kim KS, Ha SD. Microbial contamination levels of fresh vegetables distributed in markets. *J. Fd. Hyg. Safety* 20: 43-47 (2005)
22. Kim JS, Bang OK, Chang HC. Examination of microbiological contamination of ready-to-eat vegetable salad. *J. Fd. Hyg. Safety* 19: 60-65 (2004)
23. Kim MH, Shin WS. Microbiological quality of raw and cooked foods in middle and high school food service establishments. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 37: 1343-1356 (2008)
24. Cho JI, Kim KS, Bahk GJ, Ha SD. Microbial assessment of wild cabbage and its control. *Korean J. Food Sci. Technol.* 36: 162-167 (2004)
25. Won YJ, Yoon CY, Seo IW, Nam HS, Lee DM, Park DH, Lee HM, Kim SS, Lee KY. The study for the occurrence of food poisoning bacteria in organic vegetables. *Annu. Rep. KFDA. Korea* 6: 521 (2002)
26. Jung SH, Hur MJ, Ju JH, Kim KA, Oh SS, Go JM, Kim YH, Im JS. Microbiological evaluation of raw vegetables. *J. Fd. Hyg. Safety* 21: 250-257 (2006)