

들깨잎과 생산환경의 미생물 분포

김세리¹ · 이지영¹ · 이서현¹ · 고현석² · 윤요한³ · 권세혁⁴ · 류경열¹ ·
윤혜정¹ · 김원일¹ · 윤종철¹ · 김두호⁵ · 정덕화^{6*}

¹농촌진흥청 국립농업과학원 농산물안전성부 유해생물과, ²농촌진흥청 기획조정관 지식정보화담당관실,
³숙명여자대학교 생활과학부 식품영양학과, ⁴한남대학교 통계학과, ⁵농촌진흥청 청장실, ⁶경상대학교 응용생명과학부

Distribution of Microorganisms in Perilla Leaf and Cultivation Area

Se-Ri Kim¹, Ji-Young Lee¹, Seo-Hyun Lee¹, Hyeon-Seok Ko², Yo-Han Yoon³, Se-Hyeok Kwon⁴, Kyoung-Yul Ryu¹,
Hye-Jeong Yun¹, Won-Il Kim¹, Jong-Chul Yun¹, Doo-Ho Kim⁵, and Duck-Hwa Chung^{6*}

¹Microbial Safety Division, Department of Agro-Food Safety, NAAS, RDA

²Knowledge & Information Office, RDA

³Department of Food & Nutrition, Sookmyung Women's University

⁴Department of Statistics, Hannam University

⁵Administrator Office, RDA

⁶Division of Applied Life Science, Gyeongsang National University

Abstract The prevalence and distribution of hazardous microorganisms were investigated from the major perilla cultivation area at Milyang, Gyeongnam province, Korea. Aerobic plate count (APC) and coliform count of perilla leaves were 4.82 log CFU/g and 3.85 log CFU/g, respectively. *E. coli*, *S. aureus* and *B. cereus* were detected in 3.0% (4/114), 7.9% (9/114) and 46.5% (53/114) of examined perilla leaves. However, *E. coli* O157:H7, *Salmonella* spp, and *L. monocytogenes* were not detected. The distribution of hazardous microorganisms in perilla leaf cultivation environment were compared and the concentration of APC and coliform counts were more than 3.0 log CFU/(mL, g, 100 cm², hand) from most of the samples. *S. aureus* were detected from irrigation water, packing table, packing vinyl, hand, and clothes. Also, *B. cereus* was frequently detected from the examined samples. Especially, packing table and collection container were contaminated with maximum 5.5 log CFU/100 cm² of *B. cereus*. Good Agricultural Practice (GAP) system should be introduced to farms to enhance the safety of perilla leaves.

Keywords: perilla leaf, Good Agricultural Practice, microorganisms

서 론

최근 국민들의 생활수준향상과 건강에 대한 관심 증대로 육식 보다는 채식, 가공품보다는 자연식품을 선호하고 샐러드밥, 새싹 비빔밥 등의 신선채소류의 소비가 증가하는 추세이다(1). 조리하지 않고 바로 섭취하는 농산물의 소비가 대폭 증가하면서 신선 농산물이 원인이 된 식중독발생보고 건수가 증가하고 있다(2). 국내의 원인식품별 식중독 발생통계자료에 의하면 곡류와 채소류로 인한 식중독 발생 건수는 8.4%로 다른 식품보다 상대적으로 낮지만 연차적으로 보면 2001년에 1건에 불과하던 것이 2007년에는 11건으로 증가하는 추세에 있다(3). 미국의 경우도 농산물과 관련된 식중독이 1970년대 1.0%에서 1990년부터 2004년 사이에 21%로 발생빈도가 증가하고 있다(4). 특히 2006년에 *Escherichia*

coli O157:H7(*E. coli* O157:H7)에 오염된 시금치가 원인이 되어 발생한 식중독 사고로 205명 이상의 환자가 발생하였고 3명이 사망하여 신선 농산물 안전관리의 중요성을 시사한다(5,6).

식중독원인균들은 토양이나 주변 환경으로부터 옮겨와 과일 및 채소의 일부를 오염시키거나, 오염된 관개수 이용이나 비위생적인 취급을 통해 농산물에 전파되기도 한다. 그리고 대부분의 신선 농산물이 일반적으로 병원체를 사멸시키거나 또는 그 수를 감소시키는 가공공정의 과정을 거치지 않기 때문에 병원성 미생물에 의한 농산물의 오염은 농산물 안전에 영향을 끼칠 수 있다(7,8). 따라서 농산물의 생산, 포장 및 유통단계에서 발생할 수 있는 위해를 분석하고 사전 관리하는 것이 식중독사고의 위험을 감소시킬 수 있는 최선의 방법이다.

최근 미생물 등 위해요소를 관리하기 위한 노력의 일환으로 식품의 원료가 되는 농축산물을 안전하고 위생적으로 공급할 수 있도록 농산물의 생산부터 수확 후 포장단계까지 농산물에 잔류할 수 있는 농약·중금속 또는 미생물 등의 위해요소를 사전에 관리하여 안전성을 확보하는 제도인 Good Agricultural Practice (GAP) 제도 도입을 권장하고 있다(9). 그러나 이러한 제도의 도입을 위해서는 먼저 농산물을 생산하는 각 단계에서 발생할 수 있는 위해를 검색하고 이해하는 것이 이루어져야 하지만 농산물과 관련된 연구는 소비단계에 국한되어 있어 아직도 농산물 재

*Corresponding author: Duck-Hwa Chung, Division of Applied Life Science, Gyeongsang National University, Jinju, Gyeongnam 660-701, Korea

Tel: 82-55-772-1903

Fax: 82-55-757-5485

E-mail: dhchung@gnu.ac.kr

Received September 27, 2010; revised December 13, 2010;

accepted December 17, 2010

배단계의 위해요소 분석에 필요한 기초자료가 대단히 미흡한 실정이다. 따라서 본 연구는 위해요소분석에 필요한 기초 자료를 제공하고자 국내 일일 평균 섭취량이 많은 들깨잎을 중심으로 미생물에 대한 오염도를 조사하였고, 검출빈도가 높은 *Staphylococcus aureus*(*S. aureus*)와 *Bacillus cereus*(*B. cereus*)의 오염원을 조사하였다.

재료 및 방법

장소 선정 및 시료 채취

본 연구를 위하여 2009년 4월부터 6월 사이 들깨잎의 주생산지인 밀양지역 38곳의 농가에서 들깨잎을 수집하여 위생지표세균(일반세균, 대장균군, *E. coli*)과 병원성미생물(*E. coli* O157:H7, *Salmonella* spp, *S. aureus*, *L. monocytogenes*, *B. cereus*)을 분리하였다. 이후 들깨잎의 유해미생물 오염실태조사 결과, 식품공전에 제시된 신선편이 식품의 유해미생물 기준을 초과하는 농가 5곳을 대상으로 들깨잎이 접촉 가능한 토양, 관개용수, 작업자 및 수확, 수확 후 환경(수확용기, 포장대, 포장비닐, 분무기 속 물)에서 각 시료 당 3개씩 시료를 채취하여 주요 오염균인 *B. cereus*와 *S. aureus*를 분리하였다. 들깨잎의 오염도 조사를 위한 시료채취는 수확·포장과정을 거쳐 박스에 담긴 들깨잎을 시료채취용팩에 담아와 본 연구에 사용하였다. 또한 들깨잎의 생산 환경에서의 *B. cereus*와 *S. aureus*분포를 조사하기 위한 시료 채취 과정은 다음과 같다. 토양의 경우, 하우스 내의 토양을 약 100 g씩을 취하여 시료채취용 팩에 채취하였다. 들깨잎에 사용되는 관개용수의 채취는 하우스 내에 있는 관개용수 파이프에 고여 있는 물을 채취하였고, 지하수나 지표수는 수원(水源)으로부터 바로 펌프에서 퍼올린 물을 1L씩 채수병에 채취하였다. 또한 들깨잎 포장 작업 시에는 들깨잎의 시들을 방지하기 위해서 분무기에 물을 담아 분사하는데 이 물은 들깨잎으로 직접 뿌려지기 때문에 중요한 오염원이 될 수 있다. 이 물의 채취는 분무기에 담긴 물 약 500 mL 정도를 1L 채수병에 채취하였다. 들깨잎 농장의 수확용기와 작업도구는 사용 중인 것을 채취하였고 포장 비닐은 사용전의 것을 대상으로 하였다. 작업자의 복장은 농장에서 일하는 작업자의 상의를 대상으로 하였으며 수확용기, 작업도구 및 작업자 복장은 10 cm×10 cm 크기의 면적대를 사용하여 100 cm²의 면적을 면봉으로 문질러 채취하였다(10). 또한 작업자의 손은 glove juice법으로 채취하였다(11). Glove juice법은 0.85% 생리식염수 50 mL을 멸균 팩에 붓고 손을 넣어 30초간 씻어서 손에 있는 미생물을 채취하는 방법이다. 들깨잎은 수확 전 하우스에 심겨진 들깨잎과 수확·포장이 끝나 박스에 담긴 들깨잎을 대상으로 채취하였으며 채취량은 수확 전의 것은 36장, 수확 후의 것은 3개 묶음(1묶음=12장)을 멸균된 시료채취용 팩에 채취하였으며 이렇게 채취된 모든 시료는 얼음을 채운 아이스박스에 담고 실험실로 냉장 운반한 후 사용하였다. 각 농가별로 시료 당 3반복씩 분석하였다(Table 1).

위생지표세균의 측정

일반세균수를 비롯한 각종 위생지표세균의 분석을 위하여 들깨잎 25 g을 취하여 0.85% 생리식염수 225 mL과 혼합하고 stomacher에서 2분간 균질화시켰다. 그 중 1 mL을 취하여 9 mL의 멸균된 생리식염수와 혼합하여 단계별로 희석한 후 petri dish에 접종하였다. 그 후 일반세균수 측정을 위하여 plate count agar (PCA, Difco Lab., Detroit, MI, USA), coliform 측정을 위하여

Table 1. Samples for investigation of distribution of microorganisms in perilla leaves cultivation area

Source	Unit of sample	No. of sample
Soil	100 g	15
Ground water	1 L	15
Irrigation water	1 L	12
Collection container	100 cm ²	15
Packing table	100 cm ²	15
Water in spray	500 mL	15
Packing vinyl	100 cm ²	15
Hands	1 hand	15
Clothes	100 cm ²	15
Perilla leaves (Green house)	36 leaves	15
Perilla leaves (Packed)	36 leaves	129
Total		276

deoxycholate lactose agar(DLA, Difco Lab.)를 15 mL 정도 분주하고 혼합하여 굳혔다. 고형화 된 배지는 확산집락을 방지하기 위하여 각각의 배지 5 mL씩 증층하여 35°C, 24시간 배양한 후 계수하였다(12). 또한 *E. coli*의 측정은 정량과 정성을 동시에 수행하였다. 정량분석은 3M사의 Petrifilm™(3M, St. Paul, MN, USA)을 이용하였으며 각 농도별로 1 mL씩 취하여 film에 접종하고 37°C에서 24시간 배양 후 기포를 가진 blue colony만을 *E. coli*로 인정하였다. 최종균수는 전형적인 집락을 보이는 균주×희석배수로 계산하였다. 또한 정성분석은 시료 25 g을 취하여 225 mL의 EC broth에서 37°C에서 24시간 증균 배양하고 배양액 1 loop를 취하여 EMB agar에 재접종하였다. 이 후 37°C, 24시간 배양 후 금속광택을 나타내는 집락을 VITEK(VITEK-2 compact, Biomerieux, France)으로 최종 동정하였다(12).

병원성 미생물 분리·동정

E. coli O157:H7

E. coli O157:H7의 증균을 위해 시료 25 g을 취하여 225 mL의 mEC broth에서 37°C에서 24시간의 배양하였다. 배양액 1 loop를 취하여 *E. coli* O157:H7의 선택배지인 sorbitol MacConkey agar (Difco Lab.)에 도말한 후 37°C에서 24시간 배양하였다. 이후 sorbitol MacConkey agar 상에서 무색의 단일 집락을 취하여 EMB agar에 재접종하고 37°C, 24시간 배양 후 금속광택을 나타내는 집락을 PCR kit(Power check PCR kit, Kogene, Seoul, Korea)와 VITEK(VITEK-2 compact)으로 최종 동정하였다(12). 대조균으로 *E. coli* O157:H7 ATCC 43894를 사용하였다.

Salmonella spp.

Salmonella spp. 분리를 위하여 KFDA 공전(12)에 의하여 들깨잎 25 g을 225 mL의 buffered peptone water에서 1차 증균을 한 후 10 mL의 Rappaport Vassiliadis R10 Broth(Difco Lab.)에 1차 증균액 100 µL를 접종하여 37°C, 24시간 증균한 후 균액 1 loop를 취하여 선택배지인 XLD(Difco Lab.)에 도말하였다. 이 후 37°C에서 24시간 배양하여 전형적인 *Salmonella* spp. 의심집락을 취하여 PCR kit(Power check PCR kit, Kogene)와 VITEK(VITEK-2 compact)으로 동정하였다. 또한 대조균으로 *S. Typhimurium* ATCC 13314를 사용하였다.

L. monocytogenes

L. monocytogenes 균주의 분리를 위해 시료 25 g을 225 mL의 *Listeria* enrichment broth(Difco Lab.)에 접종 후 30°C에서 48시간 배양하였다. 배양된 균액을 100 µL 취하여 다시 2차 증균 배지인 fraser broth(Difco Lab.)에 넣고 30°C, 24시간 증균하였다. 이후 선택배지인 oxford agar(Difco Lab.)에 희석 도말하고 30°C, 24시간 배양한 다음 black halo에 brown-green의 특이성을 보인 집락을 취하여 다시 0.6% yeast extract가 첨가된 trypticase soy agar에 접종하고 30°C, 24시간 배양하였다. 최종 동정은 PCR kit(Power check PCR kit, Kogene)와 VITEK(VITEK-2 compact)으로 하였으며 대조균으로 *L. monocytogenes* ATCC 15313를 사용하였다(12).

S. aureus

*S. aureus*는 정성과 정량 검사를 실시하였으며 정성검사의 경우 들깨잎 25 g을 225 mL의 10% NaCl이 첨가된 tryptic soy broth(Difco Lab.)에 넣고 2분간 stomacher에서 균질한 후 37°C, 16시간 증균하고 배양액을 Baird-Parker agar(Difco Lab.)에 37°C, 24-48시간 희석 배양한 후 검고 lethicinase 작용으로 집락주위에 밝은 환(clear zone)이 나타나는 단일 집락을 취하여 확인실험에 사용하였다. 또한 정량시험은 위생지표세균을 위해 전 처리된 검액을 단계희석 한 후 각 희석농도에 대하여 250 µL씩 Baird-Parker agar 4 plate에 접종한 후 37°C, 48시간 배양한 후 전형적인 형태를 나타내는 집락을 계수하였다. 계수한 평판에서 5개 이상의 전형적인 집락을 선발하여 NA배지에 접종하고 37°C에서 24시간 배양한 후 확인 동정하였다. 최종균수는 *S. aureus*의 수치는 전형적인 집락을 보이는 균주×(양성균주수/5주의 test균주)×희석배수로 계산하였다. 정성 및 정량검사의 확인실험은 PCR kit(Powercheck kit, Kogene)와 VITEK(VITEK-2 compact)을 사용하였고 대조균으로 *S. aureus* 표준 균주 ATCC 25923을 사용하였다(12).

B. cereus

*B. cereus*도 *S. aureus*와 같이 정성 검사와 정량 검사를 실시하였고, 정성 검사는 들깨잎 25 g을 225 mL의 phosphate buffered dilution water에 넣고 2분간 stomacher에서 균질한 후 37°C, 16시간 전 배양하고 증균된 균액을 MYP agar(Difco Lab.)에 37°C, 24-48시간 희석 배양한 후 분홍색에 lethicinase 작용으로 집락주위에 밝은 환(clear zone)이 나타나는 단일 집락을 취하여 확인실험에 사용하였다. 정량검사의 경우 들깨잎 25 g을 취하여 225 mL의 phosphate buffered dilution water을 가하여 2분간 stomacher에서 균질화하였다. 균질화한 검액을 단계희석 한 후 각 희석농도에 대하여 250 µL씩 MYP agar 4 plate에 접종한 후 37°C, 48시간 배양한 후 전형적인 형태를 나타내는 집락을 계수하였다. 계수한 평판에서 5개 이상의 전형적인 집락을 선발하여 NA배지에 접종하고 37°C에서 24시간 배양한 후 PCR법에 의하여 확인하였다. 최종균수는 전형적인 집락을 보이는 균주×(양성균주수/5주의 test균주)×희석배수로 계산하였다. *B. cereus*를 검출하기 위한 PCR 조건은 Choo 등(13)의 방법으로 수행하였고 대조균으로는 *B. cereus* ATCC 10876와 *B. thuringensis* ATCC 29730을 사용하였다.

결과 및 고찰

들깨잎 미생물 오염실태조사

38곳 농가의 들깨잎에 대한 위생지표세균의 검사결과는 Fig. 1 및 Fig. 2와 같다. 들깨잎의 일반세균수 수준은 평균 4.82 log CFU/g이었으며, 대상농가의 89%(34/38)는 4.06 log CFU/g이상의

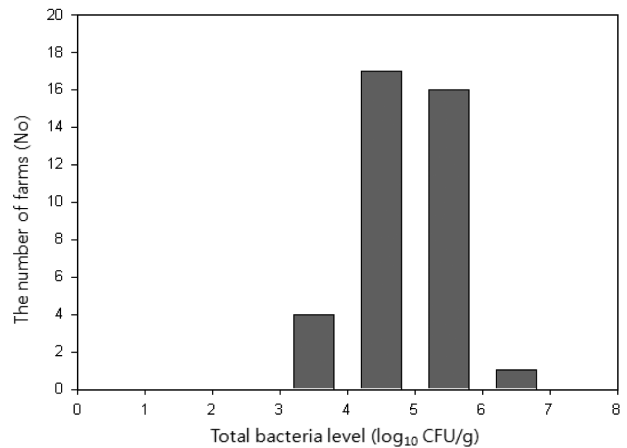


Fig. 1. Distribution of aerobic plate count on perilla leaves from 38 farms. Detection limit: <10 CFU/g

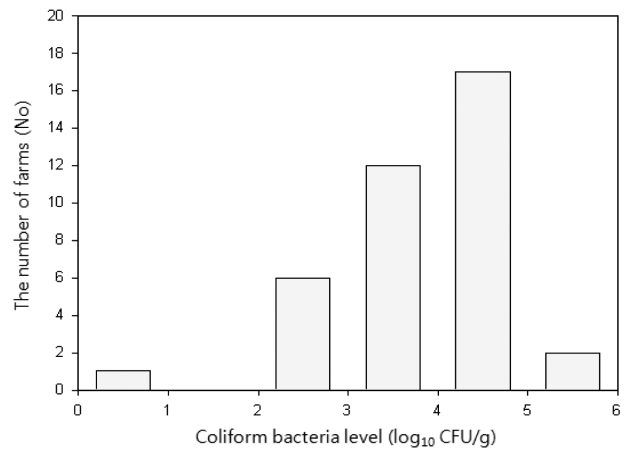


Fig. 2. Distribution of coliform bacteria on perilla leaves from 38 farms. Detection limit: <10 CFU/g

수준으로 나타났다. 이 결과는 그동안 국내에서 수행된 판매단계에 있는 들깨잎의 일반세균수농도 6.0 log CFU/g에 비하여 (2,14,15) 약 1.0 log CFU/g정도 낮게 검출되었다. 그러나 들깨잎과 같은 농산물은 일반 식품과는 달리 자연환경에서 생육하기 때문에 일반세균수만으로 안전성을 언급하기는 어렵다. 따라서 분변오염의 지표로 사용하는 대장균군을 일반세균과 같이 조사하였으며 그 결과 대장균군은 38곳의 농가 모두 검출되었다. 오염수준은 0.83-5.33 log CFU/g으로 농가 간 차이가 크게 나타났으며 대상농가의 50%(19/38)가 4.10 log CFU/g 이상의 수준을 보였다. Jung 등(15)이 수행한 시판 중인 들깨잎의 대장균균수는 5.97 log CFU/g, Choi 등(2)의 연구에서는 4.19-7.05 log CFU/g로 이들 연구에서 나타난 결과보다는 다소 낮은 수준이지만 대장균군의 오염은 생산단계부터 시작되고 있다는 것을 본 연구를 통하여 확인 할 수 있었다. 한편 *E. coli*는 3%(4/114)의 들깨잎에서 1.0 log CFU/g이하로 검출되었는데 Choi 등(2)이 시판 중인 농산물에 대하여 *E. coli*를 조사한 결과 들깨잎은 33-53%가 오염되어 있었고, Jung 등(15)의 연구에서는 들깨잎 35.0%에서 *E. coli*가 검출되었다. 본 연구의 시료 채취 단계는 농가에서 출하하기 직전으로 유통단계보다는 상대적으로 검출률이 낮았다. 이는 생산단계 이후 유통 중에 이차감염이나 증식 등으로 인하여 오염수준이 차이가 나는 것으로 판단된다. 출하전 들깨잎에서 병원성 미

생물을 조사한 결과 *E. coli* O157:H7, *Salmonella* spp, 그리고 *L. monocytogenes*는 모두 검출을 되었다.

*S. aureus*의 경우 0-2.92 log CFU/g 수준이었으며 검출빈도는 7.9%(9/114)였고, 2곳의 농가에서 *S. aureus*가 2.00 log CFU/g 이상으로 다소 높게 검출되었다. 이는 Kim 등(14)이 수행한 즉석섭취 야채샐러드의 미생물 오염조사에서 총 120건 중 4건(3%) 보다는 높은 빈도를 보였고 Jung 등(15)이 수행한 비가열 섭취 채소류의 미생물 오염도 조사결과 깻잎 10.0%에서 *S. aureus*가 검출되었다고 보고하고 있어 본 연구에서 보다 2%정도 높게 검출되었다. 또한 *B. cereus*의 경우는 0-3.81 log CFU/g 수준이었으며 검출빈도는 46.5%(53/114)였으며, 2곳의 농가에서 3.00 log CFU/g 이상으로 높게 검출되었다. 국내에서 수행한 농산물과 식품 중 *B. cereus* 오염도를 조사한 결과, Kim 등(14)이 수행한 비가공 농수산 식품소재의 들깻잎 48.6%에서 검출되었고, 일부 시료에서 5 log CFU/g까지 검출되었다. 농산물에서 *B. cereus*의 오염 수준과 빈도가 높은데 그 이유는 농산물은 토양과 접촉이 가능하기 때문에 토양에서 빈번하게 검출되는 *B. cereus*나 *Clostridium* spp.에 오염되기 쉽다고 Brackett과 Splittsoesser(16)는 보고하고 있다.

이렇게 들깻잎을 비롯한 채소류에 부착된 병원성세균들은 단순 세척으로는 완벽하게 제거될 수 없고 표면에서 조직 속으로 침투할 수 있을 뿐만 아니라 약산성에서 내산성을 획득하여 조직 속에서 생존이 가능하다(17). 따라서 비가열 상태로 섭취되는 농산물이 미생물에 오염될 경우 식중독을 야기할 수 있는 잠재적 가능성을 배제할 수 없다. 들깻잎의 안전성을 확보하기 위해서는 생산에서 소비까지 이어지는 과정에 발생할 수 있는 오염원을 구명하고 이를 제어할 수 있는 방법을 모색하는 것이 중요하다 생각된다.

들깻잎 생산과정 중 미생물 분포

들깻잎 생산과정 중 미생물 분포를 조사하고자 들깻잎 생산환경에 대하여 위생지표세균과 유해미생물을 분석하였으며 그 결과는 Table 2, 3 및 4와 같다. 재배단계에서 가장 기본이 되는 토양과 물에서 미생물을 조사하였다. 먼저 지하수와 관개용수의 경우, 일반세균수는 각각 2.10 log CFU/mL, 4.67 log CFU/mL 수준이었고 대장균군은 0.84 log CFU/mL, 2.40 log CFU/mL으로

각각 나타났다. *B. cereus*와 *S. aureus*의 경우는, E 농장의 관개용수에서 *S. aureus*가 검출되었고(Data was not shown), 4곳의 농장 관개용수에서 *B. cereus*도 검출되었으며 그 수준은 1.00 log CFU/mL 이하였다. 또한 토양에서는 일반세균수가 6.62 log CFU/g, 대장균군은 4.53 log CFU/g으로 각각 나타났으며 *B. cereus*는 0-3.80 log CFU/g으로 농가간의 다소 차이가 있었다. 이렇게 토양과 물에서 위해미생물 검출을 우려하는 이유는 이들 시료를 통하여 작물로 이행가능하기 때문이다. Solomon 등(17)의 연구에서 토양을 인위적으로 *E. coli*로 오염시키고 상추를 심었을 때 *E. coli*는 root system을 통해 작물로 들어와서 가식부위까지 이동한다고 보고하였고 실험실에서 인위적으로 관개용수를 *E. coli* O157:H7을 오염시킨 후 상추에 살포하였다니 세척 후에도 *E. coli* O157:H7이 발견되었다(18). Norman과 Wang(19)의 연구에서도 오염된 관개용수의 사용은 수확된 농산물에서 병원성 미생물의 검출률을 증가시킨다고 보고하고 있어 토양과 관개용수는 들깻잎의 안전에 영향을 미칠 수 있음을 시사한다.

수확 후 환경에 대한 미생물학적 오염도 조사 결과, 일반세균수가 대부분의 시료에서 3.00 log CFU/100 cm² 이상으로 검출되었고 대장균군의 경우 2개의 시료를 제외한 시료에서 모두 검출되었다. 포장대와 수확용기의 일반세균수는 약 5.00 log CFU/100 cm²였고 대장균군은 각각 2.52 log CFU/100 cm², 3.22 log CFU/100 cm²로 타 시료에 비해 높았다. 또한 5곳의 농가에서 모두 수확용기와 포장대에서 *B. cereus*가 검출되었으며 그 수준은 농가에 따라 다소 차이가 있었으나 최고 5.50 log CFU/100 cm² 수준까지 검출되었다. *S. aureus*는 A 농가 포장대에서 검출되었으며 그 수준은 1.07 log CFU/100 cm²이었다(Data not shown). 포장대 위는 비닐, 왕골, 장판 등 다양한 재질로 이루어져 있었으며 이들 재료는 세척이 용이하지 않고 수분 또한 쉽게 증발하지 않는 특성이 있는 재질들이었다. 뿐만 아니라 수확용기와 포장대는 작업 후에 청소작업이 거의 이루어지고 있지 않고 있어 미생물을 비롯한 여러 가지 오염요소에 노출되어 있음을 직접 확인할 수 있었다. 들깻잎은 수분이 부족할 시 쉽게 시들어버리는 경향이 있어 수확 후에 들깻잎의 품질 유지를 위해서 물을 살포하는데 이 때 사용되는 물에서 대장균군이 검출되어 들깻잎으로의 미생물 전이가 우려된다. 그리고 대부분의 포장재에서 일반세균수가 2.86-4.03 log CFU/100 cm² 수준으로 검출되었고 D 농가의 포장

Table 2. Number of aerobic plate count from different samples collected from 5 perilla leaves farms

(Unit : log CFU/mL, g, 100 cm², hand)

Stage	Sample	Perilla leaves farm					Average±S.D. ¹⁾
		A	B	C	D	E	
Cultivation	Ground water	N.D. ²⁾	3.04±0.44	2.22±0.08	2.27±0.70	2.98±0.03	2.10±1.19
	Irrigation water	5.57±0.09	4.81±0.19	N.S. ³⁾	4.67±0.16	3.65±0.03	4.67±0.72
	Soil	6.67±0.05	6.21±0.66	7.03±0.40	6.28±0.29	6.90±0.34	6.62±0.48
Harvest & Packing	Collection container	5.95±0.38	5.95±0.46	4.37±0.80	3.51±0.38	4.91±0.39	4.94±1.06
	Packing table	6.33±0.06	5.95±0.22	4.38±0.45	4.54±0.23	4.94±0.85	5.23±0.89
	Packing vinyl	3.27±1.20	4.03±0.44	2.86±2.08	3.31±0.10	2.89±0.45	3.27±1.03
	Water in spray	1.85±0.39	4.27±0.07	4.29±0.96	3.62±1.14	3.34±0.27	3.48±1.10
Employees	Hands	4.62±0.50	6.06±0.41	7.29±0.21	3.75±0.29	6.27±0.65	5.73±1.30
	Clothes	5.85±0.17	4.76±0.81	3.55±0.18	3.20±1.13	4.01±0.72	4.27±1.14
Perilla leaves	Perilla leaves (Green house)	3.87±0.44	5.46±0.20	4.73±0.90	4.60±0.17	4.45±0.87	4.62±0.73
	Perilla leaves (Packed)	4.80±0.69	6.41±0.35	5.36±0.40	5.33±0.20	5.14±0.11	5.41±0.65

¹⁾S.D.: Standard deviation

²⁾N.D.: Not detected (Detection limit: ground water and irrigation water: <1 CFU/mL, other samples: <10 CFU/g, 100 cm², hand)

³⁾N.S.: Not sampled

Table 3. Number of coliform bacteria from different samples collected from 5 perilla leaves farms

(Unit : log CFU/mL, g, 100 cm², hand)

Stage	Sample	Perilla leaves farm					Average±S.D. ¹⁾
		A	B	C	D	E	
Cultivation	Ground water	N.D. ²⁾	0.77±0.69	0.64±0.19	0.85±0.74	1.95±0.80	0.84±0.82
	Irrigation water	0.70±0.61	1.99±0.67	N.S. ³⁾	3.41±0.38	3.49±0.02	2.40±1.27
	Soil	5.46±0.63	4.64±0.65	4.18±0.35	4.03±0.14	4.36±0.43	4.53±0.66
Harvest & Packing	Collection container	N.D. ²⁾	3.42±0.38	2.59±0.84	2.09±1.83	4.49±0.02	2.52±1.73
	Packing table	N.D. ²⁾	5.37±0.35	3.42±0.19	2.67±0.79	4.64±1.11	3.22±2.00
	Packing vinyl	1.22±2.12	3.16±0.93	1.38±1.34	1.51±0.89	2.50±0.71	1.95±1.35
	Water in spray	1.13±1.95	3.87±0.10	3.24±1.17	0.30±0.52	1.15±0.58	1.94±1.68
Employees	Hands	4.37±0.33	5.29±0.23	3.56±0.11	2.65±0.86	4.90±0.29	4.26±0.97
	Clothes	N.D. ²⁾	3.64±0.04	3.23±0.40	N.D. ²⁾	2.49±0.67	1.87±1.65
Perilla leaves	Perilla leaves (Green house)	3.36±0.06	4.44±0.84	3.79±1.47	2.61±0.72	2.77±0.47	3.39±1.00
	Perilla leaves (Packed)	4.00±0.61	5.41±0.30	4.22±0.77	3.23±0.25	4.28±0.15	4.23±0.83

¹⁾S.D.: Standard deviation

²⁾N.D.: Not detected (Detection limit: ground water and irrigation water: <1 CFU/mL, other samples: <10 CFU/g, 100 cm², hand)

³⁾N.S.: Not sampled

Table 4. Detection of *B. cereus* strains from different samples collected from 5 perilla leaves farms

(Unit : log CFU/mL, g, 100 cm², hand)

Farm	Irrigation water	Soil	Collection container	Packing table	Packing vinyl	Hand	Clothes	Perilla leaves (house)	Perilla leaves (packed)
A	0.20±0.17	N.D. ²⁾	5.50±0.10	2.94±2.56	N.D. ²⁾	0.57±0.99	3.93±0.90	0.74±1.05	1.52±1.38
B	0.26±0.45	1.73±1.61	2.84±0.61	1.72±1.49	N.D. ²⁾	0.33±0.58	0.90±1.56	N.D. ²⁾	0.49±0.85
C	N.S. ¹⁾	1.64±2.85	2.57±0.39	1.70±1.49	N.D. ²⁾	N.D. ²⁾	0.83±1.43	0.77±0.68	0.77±0.68
D	0.63±0.55	2.38±0.33	1.74±0.18	2.92±0.28	2.18±0.66	N.D. ²⁾	0.87±0.81	N.D. ²⁾	1.28±1.44
E	0.33±0.58	3.80±0.23	1.98±1.72	0.53±0.92	N.D. ²⁾	N.D. ²⁾	2.34±2.02	N.D. ²⁾	1.49±0.50

¹⁾N.S.: Not sampled

²⁾N.D.: Not detected (Detection limit: ground water and irrigation water: <1 CFU/mL, other samples: <10 CFU/g, 100 cm², hand)

재에서는 *B. cereus*와 *S. aureus*도 검출되어 포장재의 관리가 시급함을 확인할 수 있었다. 이러한 포장재의 오염은 FDA자료에서 추정하고 있는 바대로 무질서하고 비위생적인 보관에서 기인한 것으로 생각된다(7).

식중독 발생원인의 큰 부분을 차지하고 있어 오랫동안 관심의 대상이 되어 온 개인위생에 관한 평가 결과, 작업자의 손에서 일반세균수가 5.73 log CFU/hand의 수준으로 나타났고, 최고 7.29 log CFU/hand까지 검출되었다. 대장균군은 복장과 손의 80%에서 2.49 log CFU/hand, 100 cm² 이상으로 검출되었으며 D 농가의 작업자의 손에서 *S. aureus*가 1.0 log CFU/hand가 검출되었다. 5곳 농가의 작업자 복장에서 0.83-3.93 log CFU/100 cm² 수준의 *B. cereus*도 검출되었다. 특히 들깨잎의 생산농가에서는 하우스에서 일하는 작업자와 포장시설에서 일하는 작업자가 동일하며 이들 작업자들이 맨손으로 일하는 경우가 많아 작업자 손의 오염은 들깨잎으로 직접 오염이 가능하므로 이에 대한 개선이 필요하다.

재배-수확·포장 후 과정을 거치는 동안 들깨잎의 미생물 오염수준의 변화를 조사하기 위하여 하우스에 재배중인 들깨잎과 수확 후 처리 과정이 끝난 들깨잎을 대상으로 미생물 수준을 조사하였다. 재배중인 들깨잎과 포장 후의 들깨잎에 오염된 일반세균수는 각각 4.62 log CFU/g, 5.41 log CFU/g였고 대장균군은 3.39 log CFU/g, 4.23 log CFU/g로 각각 나타나 수확 전에 비하여 수확 후 처리 과정이 끝난 들깨잎에서 위생지표세균의 농도가 증가하는 경향을 보였다. 뿐만 아니라 *B. cereus*도 수확 전에

0-0.77 log CFU/g 수준이었던 것이 수확 후에는 0.49-1.52 log CFU/g 으로 약간 증가하는 경향을 보였다. 이러한 결과는 Johnston 등(20)과 Ailes 등(21)의 연구결과와 일치하는 경향을 보였는데 그들의 연구에서도 수확 당시보다 수확후 처리 절차를 마친 농산물에서 일반세균수와 대장균군의 농도가 유의하게 증가하는 것으로 나타났다. 이는 재배에서 수확, 선별 포장과정을 거치면서 오염된 기구나 작업자에 의한 교차오염으로 판단되며 오염된 환경은 들깨잎의 오염으로 직접 연결될 수 있음을 확인할 수 있는 결과이다.

따라서 안전한 들깨잎을 생산하기 위해서는 재배-수확후 단계에 이르는 전 단계의 위생관리가 필요하다. 먼저 재배단계에서는 부적절한 퇴비사용은 금해야하며 비닐 멀칭을 하여 되도록 들깨잎이 토양에 닿는 것을 최소화해야 할 것으로 생각된다. 또한 수원에 동물이 침입하는 것과 화장실 설치를 제한함으로써 분변이 수원으로 흘러들어오는 것을 방지하는 것이 필요하다. 수확·포장 후 과정에서 미생물학적 교차오염을 예방하기 위해서는 우선 각종 용기나 기기를 위생적으로 보관하기 위한 공간이 마련되어야 하고 포장대는 스테인리스나 플라스틱 등 세척이 용이한 재질로 교체한다. 각종 포장재는 외부로부터 기인한 먼지나 공중낙하균에 오염되지 않게 적절하게 보관하는 것이 필요하다. 그리고 매일 작업이 끝난 후에는 실내를 청소하고 해충과 쥐의 침입을 막아야 할 것으로 사료된다. 또한 작업자에 의한 교차오염을 예방하기 위해서는 작업자를 대상으로 한 주기적인 위생교육으로

‘개인의 위생관리가 왜 필요한 것인가’와 작업 전 후로 손을 씻고 소독하는 행위와 장갑의 착용이 필수적이라는 것을 느낄 수 있도록 교육이 되어야 할 것이다. 아울러 농장주는 손을 씻는 시설과 화장실과 같은 개인위생을 향상시킬 수 있는 시설을 설치하고 포스터와 같은 안내물을 부착하여 이를 제대로 실천할 수 있도록 노력할 것이다.

요 약

본 연구는 국내 일일 평균 섭취량이 많은 들깨잎을 대상으로 미생물 안전성을 평가하고 미생물에 대한 오염도를 조사하였고, 검출빈도가 높은 *S. aureus*와 *B. cereus*의 오염원을 조사하였다. 들깨잎의 미생물 오염도 조사 결과 일반세균수 수준은 4.82 log CFU/g이었다. 대장균군의 오염수준은 0.83-5.33 log CFU/g으로 농가 간 차이가 크게 나타났으며 50% 농가의 들깨잎에서 4.00 log CFU/g 이상 검출되었다. 또한 병원성미생물 분석결과, *E. coli*는 3%(4/114)의 들깨잎에서 1.00 log CFU/g 이하로 검출되었으며 *S. aureus*의 경우 검출빈도는 7.9%(9/114)였고 1.6%(2/114)의 들깨잎에서 *S. aureus*가 2.00 log CFU/g 이상으로 다소 높게 검출되었다. *B. cereus*는 0-3.81 logCFU/g 수준이었고 검출빈도는 46.5%(53/114)였으며 2곳의 농가에서 3.00 log CFU/g 이상으로 높게 검출되었다. 한편 *E. coli* O157:H7, *Salmonella* spp, 그리고 *L. monocytogenes*는 모두 검출되지 않았다. 또한 들깨잎 생산환경(토양, 수질, 작업자 및 포장대 등)에서 위생지표세균과 *S. aureus*와 *B. cereus*를 조사한 결과 일반세균수와 대장균군이 대부분의 시료에서 3.00 log CFU/100 cm² 이상 검출되었고 일부 손, 수확용기 및 포장대에서 대장균군이 4.00 log CFU/100 cm², hand 이상으로 높게 검출되었다. *S. aureus*는 관개용수, 포장대, 포장비닐, 작업자의 손과 복장에서 검출되었고 검출 수준은 0.33-1.31 log CFU/100 cm²이었다. *B. cereus*의 경우는 다양한 시료에서 빈번하게 검출되었고 특히 앞서 위생지표세균결과에서 오염도가 높았던 수확용기와 포장대에서 최고 5.50 log CFU/100 cm²까지 검출되었으며 수확 전 들깨잎보다 수확 후 들깨잎에서 *B. cereus* 수준이 증가되는 경향을 보였다. 이상의 결과를 통하여 들깨잎의 유해미생물 오염은 생산단계부터 발생되고 있으므로 이러한 유해미생물의 오염을 사전에 관리하는 GAP제도를 도입해야 할 것이다.

문 헌

- Sevell AM, Farber JM. Foodborne outbreaks in Canada linked to produce. *J. Food Protect.* 64: 1863-1877 (2001)
- 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. *Korean J. Fd. Hyg. Safety* 20: 43-47 (2005)
- Korea Food & Drug Administration. Analysis on the trend of food-poisoning over the last 5 years. Available from: <http://www.foodnara.go.kr/portal/site/kfdaportal/template>. Accessed Aug. 25, 2010.
- Sivapalasingam S, Fridman CR, Cohen L, Tauxe RV. Fresh produce: A growing cause of outbreaks of food-borne illness in the United States, 1973 through 1997. *J. Food Protect.* 67: 2342-2353 (2004)
- California Department of Food and Agriculture. Bill Number: AB 1735 legislative counsel's digest. Available from: http://info.sen.ca.gov/pub/07-08/asm/ab_1701-1750/ab_1753_bill_20070904_enrolled.html. Accessed Jan. 8, 2008.
- Monterey County Agricultural Commissioner. Monterey County crop report 2006. Available from: <http://www.co.monterey.ca.us/ag/pdfs/croproport2006.pdf>. Accessed Jan. 7, 2008.
- Food and Drug Administration. Guidance for industry, Guide to minimize microbial food safety hazard for fresh fruits and vegetables. Available From: <http://csan.fda.gov>. Accessed Oct. 26, 2005.
- Burnett SL, Beuchat LR. Human pathogens associated with raw produce and unpasteurized juices and difficulties in decontamination. *J. Ind. Microbiol. Biot.* 27: 104-110 (2001)
- Kim SY. Indication system for the verification in agricultural food safety. pp. 23-42. In: Symposium on GAP Application Strategy for the Safety Agricultural Production. July 29, Gyeongsang National University, Jinju, Korea. The Center of Agri-Food Safty. Jinju, Korea (2004)
- 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)
- KFDA. Korean Food Code. Korea Food & Drug Administration, Cheongwon, Korea. pp. 75-105 (2002)
- Choo EY, Jang SS, Kim KS, Lee KG, Heu SG, Ryu SR. Prevalence and genetic diversity of *Bacillus cereus* in dried red pepper in Korea. *J. Food Protect.* 70: 917-922 (2007)
- Kim SH, Kim JS, Choi JP, Park JH. Prevalence and frequency of food-borne pathogens on unprocessed agricultural and marine products. *Korean J. Food Sci. Technol.* 38: 594-598 (2006)
- Jung SH, Hur MJ, Ju JH, Kim KA, Oh SS, Go JM, Kim YH, Im JS. Microbiological evaluation of raw vegetables. *Korean J. Fd. Hyg. Safety* 21: 250-257 (2006)
- Brackett RE, Splittsoesser DF. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 4th ed. American Public Health Association, Washington, DC, USA. pp. 515-552 (2001)
- Solomon EB, Yaron S, Matthews KR. Transmission of *Escherichia coli* O157:H7 from contaminated manure and irrigation water to lettuce plant tissue and its subsequent internalization. *Appl. Environ. Microb.* 68: 397-400 (2002)
- Solomon EB, Potenski CJ, Matthews KR. Effect of irrigation method on transmission to and persistence of *Escherichia coli* O157:H7 on lettuce. *J. Food Protect.* 65: 673-676 (2002)
- Norman NN, Wang LL. Studies on the use of sewage effluent for irrigation of truck crops. *J. Milk Food Technol.* 24: 44-47 (1961)
- Johnston LM, Jaykus LA, Moll D, Martinez MC, Anciso J, Mora B, Moe CL. A field study of the microbiological quality of fresh produce. *J. Food Protect.* 68: 1840-1847 (2005)
- Ailes EC, Leon JS, Jaykus LA, Johnston LM, Clayton HA, Blanding S, Kleinbaum DG, Backer LC, Moe CL. Microbial concentrations on fresh produce are affected by postharvest processing, importation, and season. *J. Food Protect.* 71: 2389-2397 (2008)