

## Application of ATP Bioluminescence Assay for Measurement of Microbial Contamination in Fresh-cut Produce Processing Lines

Ji Weon Choi<sup>1\*</sup>, Hye Eun Lee<sup>1</sup>, Chang Kug Kim<sup>2</sup>, Won Bae Kim<sup>1</sup> and Ji Kang Kim<sup>1</sup>

<sup>1</sup>National Institute of Horticultural and Herbal Science, RDA, Suwon 441-706, Korea

<sup>2</sup>National Academy of Agricultural Science, RDA, Suwon 441-707, Korea

### 신선편이 농식품 생산라인의 환경미생물 오염도 측정을 위한 ATP 검사법의 이용

최지원<sup>1\*</sup> · 이해은<sup>1</sup> · 김창국<sup>2</sup> · 김원배<sup>1</sup> · 김지강<sup>1</sup>

<sup>1</sup>농촌진흥청 국립원예특작과학원, <sup>2</sup>농촌진흥청 국립농업과학원

#### Abstract

With the rapid growth of fresh-cut produce market, the South Korean fresh-cut industry is facing the challenge of ensuring food safety. As the estimation of the microbial numbers in fresh-cut produce processing lines (tools, and equipment) using the conventional microbiological techniques takes days, so there is a need for faster and easier monitoring methods. This study was conducted to investigate the use of ATP bioluminescence assay to measure the degree of microbial contamination from three actual fresh-cut processing lines. The samples collected from fresh-cut vegetables, and fresh-cut fruits processing plants were tested for the estimation of the bacterial number, using the ATP bioluminescence and microbiological methods. The result of former was transferred to log RLU/100 cm<sup>2</sup>, and that of the latter was transferred to log CFU/100 cm<sup>2</sup>. A positive linear correlation between the ATP bioluminescence assay value and aerobic-plate count was found for fresh-cut processing lines, with a correlation coefficient of 0.8772 (n=50). The results of this study indicate that ATP bioluminescence assay can be used to monitor microbial contamination in fresh-cut produce processing plants, and can help improve the hygiene therein.

Key words : ATP bioluminescence, Aerobic plate count, Fresh-cut, contamination

#### 서 론

국내 신선편이 농식품 시장은 1990년 후반 이후 패스트푸드, 패밀리레스토랑 등의 외식업체 및 학교 등 단체급식 시장에서 수요가 크게 증가하기 시작하였고, 품목도 샐러드, 쌈채소, 조리용, 조미용 등 다양해지고 있으며 앞으로도 신선편이 농식품에 대한 수요는 더욱 크게 증가할 것으로 전망되었다(1). 그러나 신선편이 농식품에 대한 안전관리 기준이 시행되면서 미생물 규격 위반 사례발생으로 소매 수요가 정체 또는 감소됨에 따라 샐러드, 새싹채소 등의 신선편이 농식품 산업은 어려움에 처하였다(2). 따라서 신선편이 농식품이 위생적으로 안전함을 보증할 수 있는 미생

물 제어기술 보급이 필요하게 되었다.

신선편이 농식품의 생산에는 원료로부터 시작되어 세척, 절단, 살균, 포장, 그리고 출하에 이르기까지 제조하는 품목에 따라 다소 달라질 수는 있지만 생산 라인을 항상 청결하게 유지해야 하는 것은 어느 품목이나 공통이라고 할 수 있으며, 안전성 확보를 위하여 자체적인 위생 관리를 실시하고자 하는 요구가 높아지고 있다. HACCP지정 사후관리 매뉴얼의 세척·소독 기준에 따르면 기구·용기·시설·설비 등의 표면오염도 검사 모니터링에는 배지 및 건조필름 배지를 이용한 미생물 배양법 및 ATP (adenosine triphosphate: 아데노신 3인산) 효소측정기 사용이 인정되고 있다(3). 표준환천배지 및 건조필름배지를 이용한 미생물 배양법은 결과를 얻는데 일반적으로 24시간 이상의 시간이 소요되며 미생물 실험장비 구비, 전문지식과 기술이 요구되어 작업을 시작하기 전에 제조 라인이 오염되어 있는지

\*Corresponding author. E-mail : jwcnpri@korea.kr  
Phone : 82-31-240-3651, Fax : 82-31-240-3669

아닌지 판단해야하므로 산업체에서 활용하기에는 실용적이지 못하다(4). ATP법은 그 이름과 같이 동물, 식물, 미생물 등 모든 생명체의 기초대사 에너지원으로 세포에 존재하는 ATP 양을 파악하는 것으로 종합적인 오염도를 신속하게 평가하는 방법이다(5). 여러 가지 ATP검사 키트가 판매되고 있는데 그 측정원리는 반딧불이 곤충의 발광기에서 일어나는 효소 반응을 이용한다. ATP는 루시페린과 산소가 존재하면 루시페라제 효소 반응에 의해 AMP로 변화하면서 빛 에너지를 방출한다. ATP량과 발광량은 비례 관계에 있으므로 이 효소 반응에 의한 발광량을 측정함으로써 ATP를 정량할 수 있다. 핸드 타입의 ATP측정기는 휴대가 편리하며, 검사 표면을 면봉으로 닦아낸 후에 발광에 필요한 시약이 모두 포함된 하나의 튜브에 넣어 반응시키는 윈스텝 반응에 의해 측정결과가 수치로 표시되어진다. 이와 같은 판정은 수십 초에 얻을 수 있어 단시간에 누구라도 간단하게 검사할 수 있다. ATP bioluminescence assay법은 특별한 기술을 필요로 하지 않고 객관적인 오염 판정이 가능하다는 점에서 활용 가치가 높은 방법이라고 말할 수 있다. ATP 효소측정기를 이용하여 다양한 식품이나 식품이 접촉하는 표면에 대한 미생물수를 예측하는 데 흔히 이용되고 있으나(6,7), 국내 신선편이 농식품 생산업체 위생관리에 활용된 연구는 아직까지 미흡하다.

따라서 본 연구는 국내 신선편이 농식품 생산업체의 채소, 과일 가공 환경으로부터 시료를 채취하여 ATP bioluminescence방법에 의한 ATP값과 건조필름법에 의한 일반세균수와 상관계수를 조사하여 신선편이 가공라인의 오염관리 수단으로서 적용 가능성을 증명하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 연구 대상 및 기간

본 실험은 신선편이 농식품 생산업체 3개소를 대상으로 2009년 9월 25일부터 10월 19일까지 방문 조사하였다.

### 시료 채취

ATP와 미생물수 시료 채취 장소는 세척이 곤란한 곳이나 생산 기기와 신선편이 농식품이 접촉하는 부위, 생산에 이용되는 도구인 절단기의 칼날, 바구니, 부엌칼·도마 등의 표면을 대상으로 하였다. 조사단계는 생산 라인이 세척된 후 상태인 「작업전」, 생산 라인을 이용하고 있는 「작업중」 2가지 종류의 시간대에 대해 검사를 실시하였다. 신선편이 가공 시설 및 사용하는 장비, 도구 등에 대하여 ATP측정 전용 시료 채취 면봉과 튜브에 담긴 멸균인산완충용액 10 mL에 적신 멸균 면봉으로 격자틀(10×10 cm<sup>2</sup>)을 이용하여 측정하고자 하는 표면을 닦아 내는 swab방법으로

시료를 취하였다. 모든 실험은 2반복 수행하였다.

### ATP bioluminescence assay

ATP bioluminescence 측정장치는 Hygiena사의 system SUREII (Hygiena, Camarillo, CA, USA)를 사용하여 ATP측정 전용 시료 채취 면봉인 Ultrasnap ATP sample device를 이용하여 제조회사의 안내사항에 따라 실험을 수행하였으며, RLU (relative light units) 값으로 측정하고 log RLU/100 cm<sup>2</sup>로 표기하였다.

### 미생물수 검사

미생물수 검사는 ATP bioluminescence 검사와 같이 표면을 닦아낸 phosphate buffed saline (pH 7.2)으로 습한 멸균 면봉을 10 mL PBS액에 넣어 세계 진탕하여 부착균의 현탁액을 조제하여 시험용액으로 사용하였다. 10배씩 연속적으로 희석하여 일반세균수는 aerobic count plates petrifilm (3M Microbiology, USA)에 접종하여 35℃에서 48시간, 대장균군은 coliform count plates petrifilm (3M Microbiology, USA)에 접종하여 35℃, 24시간 배양한 후 petrifilm plate reader (3M Microbiology, USA)로 균수를 CFU (colony forming units) 값으로 측정하고 log CFU/100 cm<sup>2</sup>로 표기하였다.

### 통계처리

수집된 자료는 유의성을 검정하기 위하여 SAS 통계 프로그램(version 9.2, SAS Institute, Cary, NC, USA)을 이용하여 회귀식을 도출하고 피어슨 상관계수를 구하는 상관분석을 실시하였다.

## 결과 및 고찰

### 신선편이 농식품 가공 시설장비의 ATP bioluminescence assay 값과 미생물수

신선편이 농식품 생산업체 3개소를 대상으로 최종적으로 총 50개 시료에 대하여 실시한 ATP 방법과 미생물수 검사 결과는 Table 1에 제시하였다. 신선편이 농식품 생산업체 A에서는 신선편이 양상추 및 토마토를 세척하는 생산 라인에 대하여 ‘작업 중’ 단계에서 14개 시료를 채취하였고, 신선편이 농식품 생산업체 B에서는 멜론과 파인애플을 조각과일로 제조하는 공정에 따라 원료 세척, 탈피, 정선, 절단, 살균세척, 용기충진 가공단계에 대하여 ‘작업 중’ 단계에서 14개 시료를 채취하였다. 신선편이 농식품 생산업체 C에서는 주로 신선편이 양배추 및 조리용으로 이용되는 무, 당근, 대파 등을 세척하고 절단하고 포장하는 다양한 품목의 생산 공정에 대하여 사용기기가 세척된 후 상태인 ‘작업 전’ 단계에서 7개, ‘작업 중’ 단계에서 15개, 총 22개

**Table 1. The results of the hygienic evaluation in three fresh-cut processing plants by ATP bioluminescence assay and microbial count determination**

Processing line	Sampling time	Sampling area (swab area)	ATP assay (log RLU/100 cm <sup>2</sup> )	Aerobic plate count (log CFU/100 cm <sup>2</sup> )	Coliform count (log CFU/100 cm <sup>2</sup> )
plant A	DO <sup>1)</sup>	sort table	0.6±0.00	1.3±0.00	ND <sup>3)</sup>
	DO	weighing table	0.3±0.00	1.0±0.00	ND
	DO	conveyer belt	1.4±0.03	1.4±0.30	ND
	DO	dehydrate basket	3.4±0.02	3.8±0.00	1.3±0.24
	DO	raw material box	3.8±0.11	4.2±0.00	ND
	DO	cutting board	3.1±0.04	3.3±0.02	ND
	DO	conveyer belt of raw material	2.5±0.04	3.7±0.06	ND
	DO	knife of raw material	3.0±0.02	4.9±0.01	2.0±0.04
	DO	conveyer belt	2.6±0.03	4.3±0.48	ND
	DO	dehydrate brush	2.7±0.08	4.0±0.01	1.3±0.24
	DO	1° washing machine	0.7±0.04	1.3±0.00	ND
	DO	3° washing machine	1.3±0.05	1.9±0.05	ND
	DO	conveyer belt for raw material	3.0±0.01	4.5±0.01	3.1±0.10
	DO	wall	0.6±0.11	1.0±0.00	ND
plant B	DO	cutting board	3.5±0.03	3.9±0.08	3.0±0.02
	DO	knife	3.6±0.06	3.4±0.01	1.4±0.09
	DO	conveyer belt for raw material	3.5±0.17	3.5±0.01	2.0±0.04
	DO	conveyer belt for raw material	3.5±0.02	3.4±0.03	1.2±0.15
	DO	washing machine	0.0±0.00	1.0±0.00	ND
	DO	conveyer belt	3.2±0.13	2.5±0.06	ND
	DO	cutting board	1.6±0.10	2.5±0.01	ND
	DO	table for cut	3.3±0.03	2.7±0.06	1.5±0.39
	DO	washing tank for raw material	3.7±0.09	3.4±0.06	1.9±0.22
	DO	table for washed material	3.3±0.02	3.5±0.02	1.0±0.00
	DO	washing tank	0.0±0.00	1.8±0.15	ND
	DO	conveyer belt for washed fruit	2.8±0.05	3.1±0.01	ND
	DO	carrier for raw material	1.0±0.07	2.0±0.24	ND
	DO	packaging film	0.0±0.00	< 1.0	ND
plant C	BO <sup>2)</sup>	cutting board	1.3±0.05	< 1.0	ND
	DO	cutting board	4.0±0.00	4.1±0.01	ND
	DO	slice machine blade of carrot	3.4±0.08	3.3±0.01	ND
	BO	glove of worker	0.5±0.15	< 1.0	ND
	DO	glove of worker	3.8±0.07	3.9±0.03	1.3±0.20
	DO	basket	2.8±0.03	3.2±0.02	1.6±0.10
	DO	balance	3.4±0.09	4.1±0.01	2.0±0.09
	BO	slice machine blade	2.9±0.02	3.6±0.02	ND
	DO	slice machine blade	3.3±0.26	4.4±0.07	1.4± 0.17
	DO	wrapping table	2.3±0.04	2.7±0.05	ND
	DO	cutting board	2.1±0.02	2.5±0.03	ND
	BO	cutting table	1.2±0.06	2.0±0.01	ND
	DO	cutting table	3.2±0.04	4.3±0.07	ND
	DO	conveyer belt of slice machine	3.8±0.11	3.3±0.01	1.6±0.14
	DO	scale spoon	2.6±0.05	3.3±0.01	1.4±0.17
	DO	container	2.5±0.28	3.6±0.02	1.5±0.20
	BO	spin dryer basket	1.7±0.00	2.1±0.04	ND
	DO	spin dryer basket	2.8±0.03	3.7±0.01	1.4±0.20
	BO	spin dryer	1.2±0.16	1.5±0.04	ND
	DO	spin dryer	2.5±0.05	3.3±0.04	1.2±0.10
BO	packaging table	1.2±0.06	2.0±0.11	ND	
DO	packaging table	4.0±0.01	4.7±0.01	1.0±0.00	

<sup>1)</sup>DO : during operation<sup>2)</sup>BO : before operation<sup>3)</sup>ND : not detected

시료를 채취하였다.

신선편이 생산업체 A와 B의 경우, 원물 수송 컨베이어벨트의 일반세균수는 평균 4.5 log CFU/100 cm<sup>2</sup>, ATP bioluminescence assay 값은 3.0 log RLU/100 cm<sup>2</sup>였고, 원물 절단 칼날의 일반세균수는 평균 4.9 log CFU/100 cm<sup>2</sup>, ATP bioluminescence assay 값은 3.0 log RLU/100 cm<sup>2</sup>로 미생물수와 ATP값이 비교적 높게 나타나는 것은 농산물의 특성상 불가피하며 이러한 원물에 대한 가공과정은 일반구역에서 행해지고 있는 작업과정이었다. 신선편이의 가공 재료가 되는 채소와 과일은 재배와 수확과정 동안 토양, 곤충, 동물, 인간과 접촉하게 되고, 신선편이 가공을 위해 업체에 도달했을 때는 신선한 농산물은 대개 4.0~6.0 log CFU/g의 일반세균수를 갖고 있다(8). 따라서, 농산물의 표면에 존재하는 자연발생적인 미생물상이 신선편이 가공 후에도 영향을 줄 수 있으므로(9) 원물의 세척과 탈피과정은 신선편이 생산을 위한 세척, 절단 과정과 엄밀히 분리되어 수행되는 것이 필요함을 알 수 있었다.

신선편이 생산업체 C의 경우, 작업 전 양배추 절단 작업대나 무채 포장대의 일반세균수는 평균 2.0 log CFU/100 cm<sup>2</sup>, ATP bioluminescence assay 값은 1.2 log RLU/100 cm<sup>2</sup>였고 작업 중에는 평균 4.5 log CFU/100 cm<sup>2</sup>, ATP bioluminescence assay 값은 3.6 log RLU/100 cm<sup>2</sup>로 증가하였다. 작업 전 가공에 사용되는 도구의 위생관리는 비교적 양호하였으나 작업 도중 미생물수가 증가하였다. 준청결구역이나 청결구역에서 이루어지는 작업 중에서 특히, 절단 작업과 관련되는 절단기 작업대를 비롯한 칼날, 절단도마

부분에 일반세균수와 대장균수가 높게 나타났다. 따라서, 작업 중이라도 일정 시간 간격으로 절단기 작업대, 칼날, 도마에 대한 살균세척을 수행하여 2차 오염을 막는 것이 절대적으로 요구되어진다.

**ATP bioluminescence assay 값을 이용한 미생물 오염 예측**

신선편이 농식품 가공시설, 장비에서 채취한 시료에 대하여 ATP bioluminescence assay 값과 일반세균수간 관계를 조사하였다. 신선편이 생산업체 A와 B의 가공 시설, 장비에서 채취한 각각 14개 시료와 신선편이 생산업체 C의 가공 시설, 장비에서 채취한 22개 시료의 각 생산업체 현장에서 선형의 상관관계를 나타냈으며, 상관계수는 0.9254, 0.9243, 0.9145로 높은 양의 상관이 있으며, 고도로 유의하였다 (p<0.001). 신선편이 농식품 생산업체 3개소의 신선편이 가공 시설, 장비에서 채취된 총 50개 시료의 ATP bioluminescence assay 값과 일반세균수와의 상관계수(r)은 0.8772로 나타났고 역시 고도로 유의하였다(p<0.001). 육류, 가공육, 유가공 공장의 생산라인의 표면을 닦아 표준평판법과 ATP bioluminescence법을 병행하여 나타난 결과치를 비교한 결과에서도 상관계수 0.93으로 높은 결과를 보였으며(10), 서울시 소재 호텔의 위생관리 실태조사를 위해 개인위생, 조리기구 위생관리, 시설·설비 위생관리에 대하여 위생실태 조사 결과 점수와 ATP 값을 비교한 결과 음의 상관관계를 가지며 상관계수(r)은 0.65~0.95의 높은 상관성을 보였다고 하였다(11). 신선편이 생산 라인에 대해

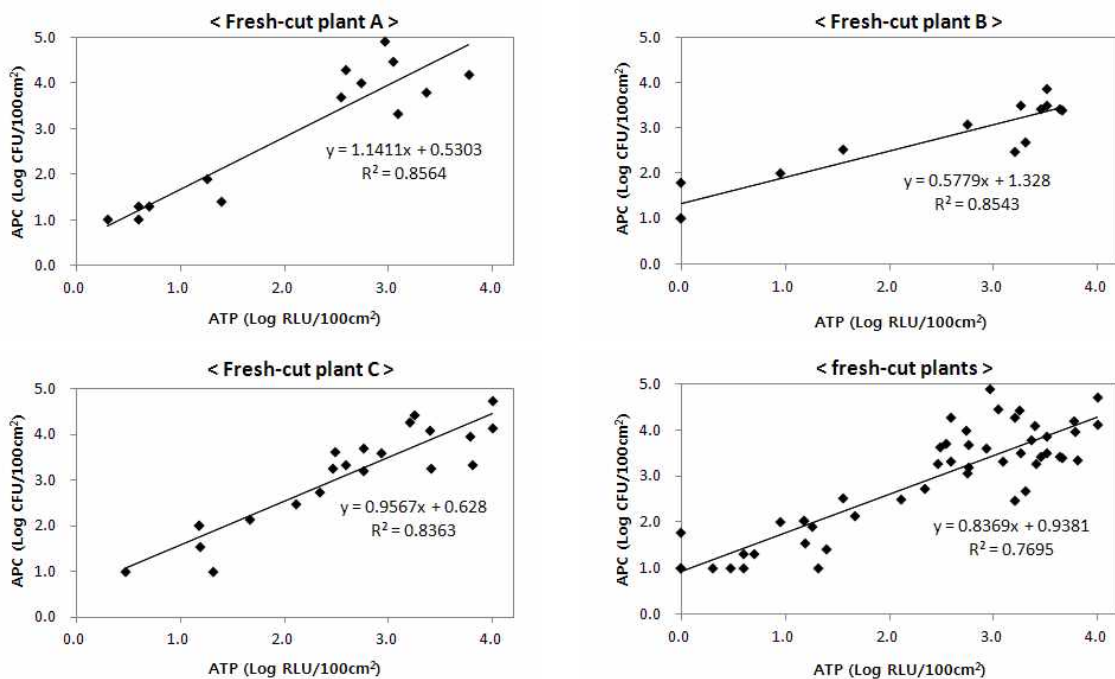


Fig. 1. Correlation between aerobic plate counts (APC) and ATP values from processing lines of three fresh-cut produce plants.

서도 ATP bioluminescence assay 값과 일반세균수간에는 양의 상관성이 있으므로 미생물오염의 지표로 충분히 유효성이 있음을 확인할 수 있었다. 특히, 세척이 불량한 부분에 대한 ATP 검사결과를 피드백해 대처할 수 있으며, 미생물 검사를 충분히 실시할 수 없는 소규모 회사에서 생산 라인에 대하여 세척이 어렵거나 오염이 일어나기 쉬운 부분 혹은 간과하기 쉬운 부분을 찾아낼 수 있기 때문에 정기적인 검사를 통하여 위생 환경의 향상을 효과적으로 도모할 수 있다. 만약, 최초로 ATP bioluminescence assay법을 활용하고자 한다면 생산 과정에 있어 미생물 증식에 적절한 장소를 선택하는 것이 바람직할 것이다. 예를 들면, 살균이나 세척 처리가 어렵거나 식물 찌꺼기가 부착하기 쉽고 제품과 직접 접촉이 많은 장소, 이후 살균공정이 없는 장소를 결정하여 활용하는 것이 효과적일 것이다. ATP 측정 시점은 세척 후 살균 전이 바람직하다. 살균 효과를 충분히 발휘시키기 위해서는 세척 단계에서 오염물질을 떨어뜨리는 것이 중요하며, 살균 후에 검사하는 경우는 살균제가 검사 시약의 반응을 방해 혹은 촉진하는 등의 영향을 미치는 경우가 있으므로 수치의 평가에 주의가 필요하다(12). 목표 수준은 절대적인 기준치보다는 각 산업체 현장에 맞는 기준치를 정하는 것이 바람직하지만, 본 실험결과에 의하면 세척 후 표면오염도 검사기준 일반세균수 3 log CFU/100 cm<sup>2</sup> 이하를 기준으로 산정하여 가공시설, 장비, 기구에 대한 측정수치는 315 RLU이하를 합격치로 한다. ATP bioluminescence assay법은 현장에서 1분 정도로 누구라도 간단하게 미생물 오염도를 신속하게 수치로 확인할 수 있으므로 작업 환경의 미생물 변화를 측정하여 교차오염의 가능성을 방지하기 위한 방법으로 제조 현장에서 유용하게 쓰일 수 있을 것이라고 생각된다.

## 요 약

신선편이 농식품 시장의 빠른 성장과 함께 안전관리기준도 강화되고 있어 제조 시설 현장에서 신속하고 간편하게 위생상태를 판단할 수 있는 모니터링기법이 필요하게 되었다. 본 연구는 신선편이 농식품 생산업체 3개소를 대상으로 생산에 사용되는 도구와 기구에 대한 미생물수를 조사하였고 그에 대한 검증법인 ATP 검사법의 상관관계를 도출하고자 하였다. 신선편이 농식품 생산업체 3개소의 신선편이 가공 시설, 장비에서 채취된 총 50개 시료의 ATP bioluminescence assay 값과 일반세균수와의 상관계수 (r)은 0.8772로 나타났다. ATP 검사법은 신속, 간편, 일관성을 바탕으로 신선편이 농식품 산업체에서 미생물 배양법을 대체하여 위생 환경 개선에 유용하게 쓸 수 있는 것으로 판단된다.

## 참고문헌

1. Lee YS, Kim SH, Kim DH (2009) Current Status of Fresh-Cut Market in Korea and Stimulus Measures. KREI R-602
2. KFDA (2007) Reform on standard and specification of food. KFDA Notification No 2007-63
3. KFDA (2006) Manual of HACCP Application and Management. Korea Food & Drug Administration, Seoul, Korea, p 42-66
4. Park YH, Seo KS, Ahn JS, Yoo HS, Kim SP (2001) Evaluation of the petrifilm plate method for the enumeration of aerobic microorganism and coliforms in retailed meat samples. J Food Prot, 64, 1841-1843
5. Goldschmidt MC, Fung DYC (1979) Automated instrumentation for microbiological analysis. Food Technol, 3, 63-70
6. Ukuku DO, Sapers GM, Fett WF (2005) ATP bioluminescence assay for estimation of microbial populations of fresh-cut melon. J Food Prot, 68, 2427-2432
7. Griffiths MW (1996) The role of ATP bioluminescence in the food industry: new light on old problems. Food Technol, 50, 63-72
8. Beuchat LR (1995) Pathogenic microorganisms associated with fresh produce. J Food Prot, 59, 204-216
9. Ukuku DO, Fett WF (2002) Effectiveness of chlorine and nisin-EDTA treatments of whole melons and fresh-cut pieces for reducing native microflora and extending shelf-life. J Food Saf, 22, 231-253
10. Kang HM, Eom YS, An HS, Kim CJ, Choi KH, Chung CI (2000) Application of ATP Bioluminescence method for measurement of microbial contamination in raw meat, meat and dairy processing line. J Fd Hyg Safety, 15, 252-255
11. Kim BY, Song HY, Park IS, Kim YS, Lee YS, Ha SD (2009) A correlation study of surveillance data and ATP bioluminescence assay for verification of hygienic status in major hotels in Seoul. J Fd Hyg Safety, 24, 277-284
12. Velazquez M, Feirtag JM (1997) Quenching and enhancement effects of ATP extractants, cleansers, and sanitizers on the detection of the ATP bioluminescence signal. J Food Prot, 60, 799-803

(접수 2011년 8월 1일 수정 2011년 12월 8일 채택 2011년 12월 16일)