

## Bacillus cereus의 농산물 접촉 표면 재질별 생존력 및 상추로의 교차오염도 조사

김세리<sup>1\*</sup> · 서민경<sup>2</sup> · 김원일<sup>1</sup> · 류경열<sup>3</sup> · 김병석<sup>4</sup> · 류재기<sup>1</sup> · 김황용<sup>1</sup>

<sup>1</sup>농촌진흥청 국립농업과학원 농산물안전성부 유해생물팀, <sup>2</sup>중앙대학교 식품공학과  
<sup>3</sup>농촌진흥청 연구정책국 연구성과관리과, <sup>4</sup>농촌진흥청 국립농업과학원 기획조정과

### Survival of *Bacillus cereus* and Its Transfer from Agricultural Product-Contact Surfaces to Lettuce

Se-Ri Kim<sup>1\*</sup>, Min-Kyoung Seo<sup>2</sup>, Won-Il Kim<sup>1</sup>, Kyoung Yul Ryu<sup>3</sup>,  
Byung-Seok Kim<sup>4</sup>, Jae-Gee Ryu<sup>1</sup>, and Hwang-Yong Kim<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Microbial Safety Team Department of Crop-Life Safety, NAAS, RDA

<sup>2</sup>Department of Food Science and Technology, Chung-Ang University

<sup>3</sup>R&D Evaluation Division, Research Policy Bureau, RDA

<sup>4</sup>Planning & Coordination Division, NAAS, RDA

(Received July 4, 2014/Revised August 18, 2014/Accepted September 29, 2014)

**ABSTRACT** - This study was conducted to investigate survival of *Bacillus cereus* (*B. cereus*) on stainless steel and polyvinyl chloride (PVC) and its transfer from two material to lettuce. The stainless steel and PVC were innoculated with *B. cereus* and stored at 6 combination conditions (temperature : 20°C and 30°C, relative humidity (RH) : 43%, 69%, and 100%). Although the total numbers of *B. cereus* at RH 43% and RH 69% were reduced by 3.53-4.00 log CFU/coupon within 24 h regardless of material type, the spore numbers of *B. cereus* was lasted at 3.0 log CFU/coupon. When two materials were stored at 30°C, RH 100%, the spore numbers of *B. cereus* was rapidly increased by 3.0 log CFU/coupon. In addition, the reduction rate of *B. cereus* was decreased in the presence of organic matter. Transfer rate of *B. cereus* from surface of stainless steel and PVC to lettuce was increased by 10 times in the presence of water on the lettuce surface. As a result of this study, the presence of *B. cereus* on produce contact surfaces can increase the risk of cross-contamination. Thus, it is important that the packing table and conveyer belt in post harvest facility should be properly washed and sanitized after working to prevent cross-contamination.

**Key words** : survival, cross-contamination, *Bacillus cereus*, product-contact surfaces

최근 국민들의 생활수준 향상과 건강에 대한 관심 증대로 육식보다 채식, 그리고 가공식품보다 자연 식품을 선호하고 있다. 과거의 식중독 발생은 고기류와 생선 등 단백질이 풍부한 식품에 의한 식중독이 대부분을 차지하고 있었으나 최근에는 과일과 채소 등에서 비롯된 식중독 사례가 국내외적으로 보고되고 있다<sup>1-4</sup>). 미국의 경우 1996년부터 2008년까지 농산물과 관련된 식중독이 82건 발생하였으며 그 중 엽채류와 관련된 사고는 28건 이었다<sup>3</sup>). 엽채류에 의한 식중독사고의 예로는 2006년에 *Escherichia*

*coli* O157:H7에 오염된 시금치가 원인이 되어 발생한 식중독 사고를 들 수 있으며 이 사고로 199명 이상의 환자가 발생하였고 3명이 사망하였다<sup>4</sup>). 그 외에도 영국에서 발생한 *Salmonella* Thompson에 오염된 상추로 인한 식중독과 덴마크에서 발생한 *Salmonella* Anatum에 의해 오염된 바질에 의한 식중독 등이 있다<sup>5</sup>). 이러한 식중독 사고들로 인하여 과거에는 소비자들이 농산물을 고를 때 품질을 최우선으로 고려하였으나 최근에는 안전을 우선으로 고려한다고 보고되고 있다<sup>6</sup>).

식중독 원인균으로는 *Salmonella* spp., *Escherichia coli* O157:H7, *Camphylobacter* spp., *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Yersinia enterocolitica*, *Bacillus cereus* 등이 있다<sup>7</sup>). 그 중 토양 유래세균인 *B. cereus*는 농산물에서 빈번하게 검출된다고 보고되고 있다<sup>8-10</sup>).

*B. cereus*는 구토 혹은 설사를 일으키는 독소형 식중독

\*Correspondence to: Se-Ri Kim, Microbial Safety Team, Department of Crop-Life Safety, National Academy of Agricultural Science, Rural Development Administration, 166, Nongsaeongmyeong-ro, Iseo-myeon, Wanju-gun, Jeollabuk-do 565-851, Korea  
Tel: 82-63-328-3395, Fax: 82-63-328-3340  
E-mail: seri81@korea.kr

세균으로 알려져 있다. *B. cereus*에 의한 설사형 식중독은 *B. cereus*가 소장에서 증식하는 동안 생성되는 장독소 (enterotoxin)에 의해 유발된다. 설사형 식중독을 유발하는 독소는 haemolysin BL (HBL), non-haemolytic enterotoxin (NHE), cytotoxin K (CytK) 이 밖에도 enterotoxin T (BceT) 와 enterotoxin FM (EntFM)이 있다<sup>11-13</sup>). 이들 독소는 트립신에 의해 분해되고 60°C, 20분간의 가열로 파괴되며 pH 변화에도 민감하다. 한편 구토형식중독은 농산물 중에 *B. cereus*가 생성한 emetic toxin (EM)을 섭취하면서 유발되는 식중독이며 구토를 유발하는 독소는 저분자 펩타이드로 126°C로 90분간 가열하여도 파괴되지 않는 열저항성과 산, 알칼리, 단백질 가수분해효소에도 저항성을 가지고 있다. 또한 이 세균은 열, 광선, 화학물질에 안정한 포자를 생성하여 생장이 불리한 조건에서도 생존 가능하기 때문에 제어가 어렵다<sup>14</sup>).

농산물이 *B. cereus*를 비롯한 식중독세균에 오염되는 경로는 재배, 수확, 수확후처리, 저장, 유통에 이르기까지 다양하다. 특히 수확 후 처리 과정에서는 농산물과 직접 접촉 가능한 작업대, 저울 등에 의해 오염될 수 있다<sup>15</sup>). Chai<sup>16</sup>) 등은 식중독균으로 오염된 stainless steel 표면에 오이를 접촉시키고 오이에 식중독균이 전이된 정도를 실험한 결과 작업대 표면에 오염된 세균 농도의 34.8%~42.5%가 오이에 전이 되었다고 보고하였다. 또한 Ailes<sup>17</sup>) 등의 연구에서도 수확 후 처리 후 농산물에서 수확 후 처리 전의 농산물보다 일반세균수와 대장균군의 농도가 유의하게 증가하는 것으로 나타나 오염된 수확 후 처리 환경은 농산물의 안전성에 직접적인 영향을 끼칠 수 있다고 보고하였다.

특히 작업대, 저울, 컨베이어벨트 등이 *B. cereus*를 비롯한 식중독세균으로 오염되면 식중독 세균이 작업대 표면에서 exopolysaccharide (EPS)를 생성하여 여러 가지 스트레스에 내성을 갖는 바이오필름을 형성한다<sup>18</sup>). 세균 주위에 형성된 바이오필름은 세균과 포자를 보호하여 환경저항성을 높이고, 살균, 소독제 처리에도 생존할 수 있도록 하기 때문에 농산물안전에 중요한 영향을 미친다<sup>18</sup>). 세균의 부착, 바이오필름 형성에 미치는 인자는 영양원, 상대습도, 온도, 부착하는 표면의 재질 등이 있으며 이들 인자들에 따라 농산물과 접촉하는 표면에서 *B. cereus*의 부착, 생존, 바이오필름형성 등을 이해하는 것은 농산물의 위생관리 전략을 수립하는데 있어 대단히 중요하다<sup>19</sup>).

따라서 본 연구는 수확 후 처리시설 내에서 가장 널리 사용되는 표면의 재질인 polyvinyl chloride (PVC)와 stainless steel 표면에서 *B. cereus*의 부착, 바이오필름형성, 온·습도에 따른 생존을 조사하였다. 또한, *B. cereus*이 오염된 작업대 표면에서 상추로의 교차오염도 조사를 통하여 *B. cereus*에 오염된 작업대가 상추의 미생물학적 안전성에 미치는 영향을 평가하고자 수행하였다.

## 재료 및 방법

### 균주 준비

농산물 중 *B. cereus*의 오염원은 토양이라고 보고되고 있다. 본 연구에서는 토양에서 분리된 *B. cereus* KACC 13066을 시험균주로 활용하였다. 각 균주는 시료 중 존재하는 microflora의 생육을 억제하고자 대상 균주를 rifampicin 저항성을 유도하였다. Rifampicin 저항성 유도는 tryptic soy agar (TSA; Oxoid, Basingstoke, England)에서 배양 균주 1 loop 취하여 50 µg/ml의 rifampicin (R; Biosesang, Sungnam, Korea)이 함유된 7 ml의 Luria bertani broth (LB, Oxoid, Basingstoke, England)에 접종하고 37°C, 24시간 진탕·배양하였다. 이후 50 µg/ml의 rifampicin이 함유된 Luria bertani agar (LA; Oxoid, Basingstoke, England)에 접종하고 37°C, 24시간 배양하여 얻었다. Rifampicin 저항성균은 20% glycerol과 50 µg/ml의 rifampicin을 함유하는 TSB에 현탁하여 -70°C에서 보관하였다. 사용 시에는 상온에서 해동한 후 10 µl를 취하여 7 ml의 TSB-R에 넣은 후 37에서 18시간 동안 배양하였다. 이후 4,500 × g, 15분간 원심분리 한 후 5 ml의 0.1% peptone water에 2번 세정한 후, 최종 *B. cereus*의 농도를 O.D<sub>600</sub> 2.0이 되게 phosphate buffered saline (PBS; Difco Laboratories, Detroit, MI, USA)에 현탁하였다. 이후 10배 희석하여 생균수가 10<sup>8</sup> CFU/ml이 되게 조정하였다.

### 작업대 표면에 따른 *B. cereus*의 생존력 평가

작업대 표면에서 *B. cereus*의 온·습도에 따른 생존력을 평가하기 위하여, 2 cm × 4 cm stainless steel coupon과 PVC coupon위에 *B. cereus* 균 현탁액(10<sup>8</sup> CFU/ml) 100 µl씩을 접종하고 습도 43, 69, 100%, 온도 20°C, 30°C에서 각각 노출시켰다. 습도조절은 포화 염용액이 들어있는 chamber를 이용하였다. 습도 43%는 K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (Duksan, Ansan, Korea)을, 69%는 KI (Duksan, Ansan, Korea)를, 100%는 멸균증류수를 사용하였다. 접종된 각종 쿠폰은 각 조건별로 3, 6, 12, 18, 24시간, 1일, 2일, 3일, 4일, 5일 동안 노출시켰다. 이후 stainless steel coupon과 PVC coupon은 30 ml의 D/E broth가 든 tube에 넣고 28 kHz에서 4분 동안 초음파 처리 후 30초간 vortex하였다. D/E broth 1 ml을 취하여 9 ml의 0.1% peptone water로 희석하고 각 희석농도에 대하여 200 µl씩 TSA-R agar에 접종하였다. 또한 *B. cereus*는 포자 형성균이므로 포자도 동시에 조사하였으며 포자 농도의 결정은 앞서 균질화 된 시료 1 ml을 취하여 e-tube에 넣고 80°C, 15분간 가열하고 10배 단계 희석한 후 200 µl씩 brain heart infusion agar (BHIA; Oxoid, Basingstoke, England)에 접종하였다. 접종된 플레이트는 30°C에서 24-48시간 배양하고 집락을 계수하였다. 총세균수와 포자수는 전형적인 집락을 보이는 균주 × 희석배수로 계산하였고, *B.*

*cereus*의 총세포수는 영양세포와 포자수를 의미한다.

#### 유기물 존재에 따른 표면에서 *B. cereus* 생존력 평가

농산물을 취급하는 수확후 처리시설은 흙, 먼지, 농산물 부스러기 등의 물질로 오염되기 쉽다. 따라서 이와 같은 유기물의 존재가 작업대 표면에서 *B. cereus*의 생존에 미치는 영향을 평가하였다. 본 연구에서 사용된 유기물로는 Park<sup>20)</sup> 등의 연구에서와 같이 1% bovine serum albumin (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)을 사용하였다. 균주는 앞서 언급한 바와 같이 배양하고, PBS로 세척한 후 유기물 처리구는 1% bovine serum albumin이 함유된 PBS에, 유기물 무처리구는 PBS에 현탁하여 최종 10<sup>8</sup> CFU/ml이 되도록 조정하였다. 준비된 균액은 stainless steel coupon과 PVC coupon위에 100 µl씩 접종하고 온도 20°C, 습도 43, 69, 100%에 각각 3, 6, 12, 18, 24시간, 1일, 2일, 3일, 4일, 5일간 노출시켰다. 이후 30 ml의 D/E broth가 든 tube에 넣고 28 kHz에서 4분 동안 초음파처리 후 30초간 vortex하여 균을 회수하였다. D/E broth 1 mL을 취하여 9 ml의 0.1% peptone water로 희석하고 각 희석농도에 대하여 200 µl씩 TSA-R agar에 접종하였다. 또한 *B. cereus* 포자농도의 결정은 앞서 균질화 된 시료 1 ml을 취하여 e-tube에 넣고 80°C, 15분간 가열하고 10배 단계 희석한 후 200 µl씩 brain heart infusion agar (BHIA; Oxoid, Basingstoke, England)에 접종하였다. 접종된 플레이트는 30°C에서 24-48시간 배양하고 집락을 계수하였다. 총세포수와 포자수는 전형적인 집락을 보이는 균주 × 희석배수로 계산하였고, *B. cereus*의 총세포수는 영양세포와 포자수를 의미한다.

#### *B. cereus*에 오염된 작업대가 상추의 안전성에 미치는 영향

*B. cereus*에 오염된 작업대가 상추의 미생물안전성에 미치는 영향을 조사하기 위하여 stainless steel coupon과 PVC coupon을 *B. cereus*로 오염시키고 이후에 상추를 각종 쿠폰과 접촉시킨 후 상추의 미생물 오염도를 조사하였다. 이를 위해, 먼저 상추는 200 ppm sodium hypochlorite (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)에 1분간 침지하고 증류수로 2번 세척한 후 4 × 4 cm로 절단하였다. 상추는 물기를 종이타월(Yuhan Kimberly, Ltd., Seoul, Korea)로 제거한 것과 분무기로 10초간 분사하여 표면에 물기가 많은 것 두 가지로 준비하였다. 또한 각종 coupon (4 × 4 cm)은 10<sup>8</sup> CFU/ml, 10<sup>6</sup> CFU/ml농도의 균액 100 µl로 접종하고 실온에서 1시간 노출시켰다. 이후 상추 표면위로 *B. cereus*이 접종된 PVC coupon, stainless steel coupon을 각각 올려 놓고 상추에 가해지는 힘을 동일하게 하기 위하여 PVC coupon을 올린 상추 위에는 stainless steel coupon을, stainless steel coupon을 올린 판에는 PVC coupon을 올려 1분간 접촉시켰다. 접촉시킨 후에 상추를 20 ml의 PBS가 든 conical tube에 넣고 30초간 vortex하였다. PBS 1 ml을 취하여 9 ml

의 0.1% peptone water로 희석하고 각 희석농도에 대하여 200 µl씩 TSA-R agar에 접종하였다. 접종된 TSA-R agar는 37°C에서 24-48시간 배양하고 집락수를 계수하였다.

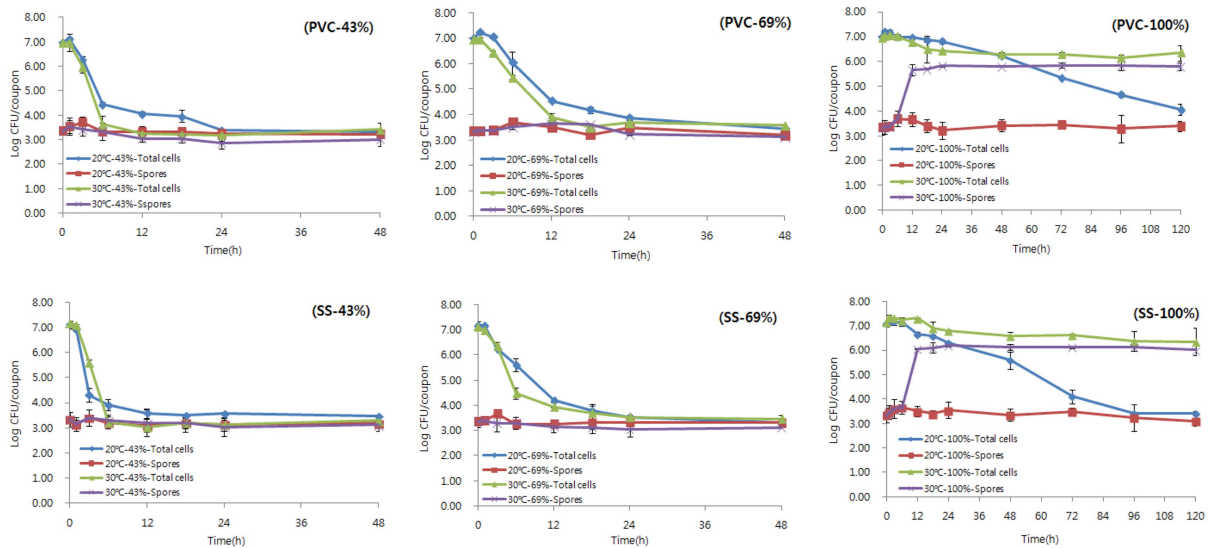
#### 통계처리

실험은 5반복으로 수행하였으며, 온도, 습도, 재질에 대해 각각 요소에 대해 2수준의 실험을 하였다 통계처리는 통계 패키지 R.2.12.2을 이용하여 분산분석을 하였다. P값이 0.05 미만일 경우에 통계학적으로 유의성이 있다고 판정하였다.

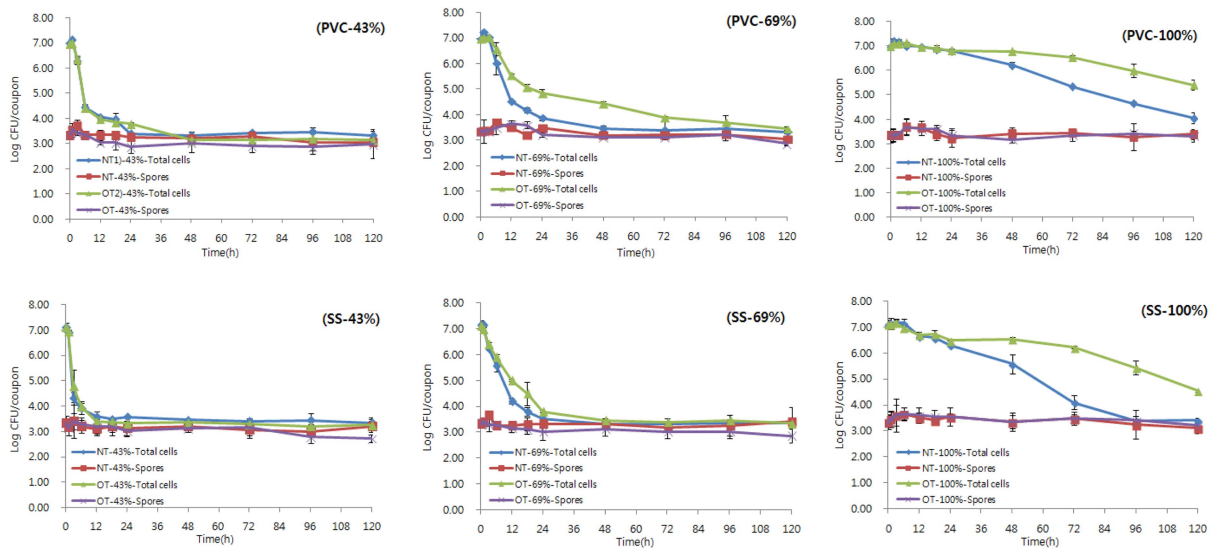
## 결과 및 고찰

#### 온·습도에 따른 작업대 표면에서 *B. cereus*의 생존력 평가

Fig. 1은 온·습도에 따른 stainless steel과 PVC 상에서 *B. cereus*의 생존력을 조사한 결과이다. Fig 1에서 보는 바와 같이, 습도 43%, 69%에서는 온도, 재질에 따른 전체 세포수, 포자수가 노출 24시간 이내에 3.53~4.04 log CFU/coupon정도 급속하게 감소하였고, 포자수는 3.0 log CFU/coupon정도로 일정하게 유지되고 있었으며 처리간의 유의적 차이가 없었다. 한편 습도 100%에서는 온도 및 재질에 따른 전체 세포수와 포자수의 유의적인 차이가 관찰되었는데, 20°C에서 48시간 노출 후 PVC, stainless steel 표면에서는 전체 세포수가 각각 0.75, 1.53 log CFU/coupon 감소하였고, 포자수는 3.0 log CFU/coupon 내외로 일정하게 유지되었다. 또한 30°C에서는 48시간 노출 후 PVC, stainless steel 표면에서 전체 세포수가 각각 0.67, 0.56 log CFU/coupon감소하여 20°C에서 보다 감소속도가 완만하였다. 습도 100%, 온도 30°C에서 포자수는 12시간 후에 PVC, stainless steel 표면에서 2.29, 2.59 log CFU/coupon정도 급격하게 증가하였다. Ryu<sup>19)</sup> 등은 *B. cereus*를 stainless steel에 부착시키고 온도 12°C, 22°C, 상대습도 85%, 93%, 97%, 100%에 노출시키고 생존을 조사한 결과, 온도에 관계없이 상대습도 85, 93%에서는 48시간 후에 2.8~3.1 log CFU/coupon정도 감소하였고 포자수는 일정하게 유지되었다. 이에 반해 온도 22°C, 상대습도 97%, 100%에 노출했을 때는 전체 세포수의 변화가 없고 48시간 후에 포자수가 2.8 log CFU/coupon가 증가하여 포자의 생성은 *B. cereus*가 잘 증식할 수 있는 조건에서 생성된다고 보고하였다. Eugenie<sup>21)</sup> 등 연구결과에 따르면 *Bacillus* spp.는 성장 한계는 최저 온도 5°C, 최고온도 37°C, pH 4.9, 수분활성도 0.95이고 포자 생성한계는 최저온도 5°C, 최고온도 35°C, pH 5.2, 수분활성도 0.96로 생장이 가능한 환경이 포자 생성이 가능한 것으로 나타났다. 또한 최적의 포자 생성조건은 온도 30°C, pH 7.2로 *Bacillus* spp.가 가장 활발하게 성장할 수 있는 조건이었다. 따라서 본 연구의 결과로 미루어 볼 때, 작업대에서 *B. cereus*의 생존과 포자에는 온도와 습도



**Fig. 1.** Survival populations of *B. cereus* on the surfaces of polyvinyl chloride (PVC) and stainless steel (SS) at 20°C and 30°C, RH 43%, 69%, and 100%. Error bars indicate standard deviation.



**Fig. 2.** Survival populations of *B. cereus* on the surfaces of polyvinyl chloride (PVC) and stainless steel (SS) in the presence of organic matter. Error bars indicate standard deviation. <sup>1</sup>NT : Non treatment, <sup>2</sup>OT : Organic material treatment.

가 중요한 요소로 판단되며 작업대를 위생관리 측면에서 사용 후에는 반드시 건조한 상태로 유지해야 할 것으로 보인다.

**유기물의 존재에 따른 작업대 표면에서 *B. cereus*의 생존력 평가**

수확 후 처리시설로 흡과 같은 유기물이 유입은 유해미생물의 생존에 영향을 미칠 수 있다. 이들 유기물이 존재할 때 유해미생물의 생존에 어떤 영향을 미치는지를 조사하였다. 유기물이 존재할 시와 존재하지 않을 때 *B. cereus*

의 생존을 비교한 결과 Fig. 2에서 보는 바와 같이 유기물이 존재할 경우, PVC와 stainless steel 표면에서 사멸속도가 감소하는 것을 알 수 있었다. 습도 69%에서 24시간 노출시켰을 때, stainless steel과 PVC에 유기물이 존재하지 않을 때는 각각 3.28, 3.20 log CFU/coupon가 감소하였으나, 유기물이 존재할 때는 각각 2.27, 1.97 log CFU/coupon이 감소하였다. 또한 습도 100%에서도 120시간 노출시켰을 때, stainless steel과 PVC표면에서 유기물이 존재하지 않을 때는 각각 3.30, 2.92 log CFU/coupon가 감소하였으나, 유기물이 존재할 때는 각각 2.16, 1.28 log CFU/

**Table 1.** Transmission of *B. cereus* from contaminated surface to lettuce

Initial level (log CFU/coupon)	Moisture condition	Polyvinyl chloride (log CFU/coupon)	Stainless steel (log CFU/coupon)
2.5	Dry	N. D.	N. D.
	Moisture	1.5 ± 0.2 (10.0%)	1.3 ± 0.4 (6.3%)
4.5	Dry	2.3 ± 0.3 (0.6%)	2.6 ± 0.4 (1.3%)
	Moisture	3.7 ± 0.2 (15.8%)	3.5 ± 0.3 (10.0%)

Data are presented as means ± standard deviations (SD).

**Table 2.** ANOVA table of results on transmission of *B. cereus* from surface to lettuce

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr (> F)
Initial level	1	46.58	46.58	452.07	< 2.2e-16
Moisture	1	14.38	14.38	139.5	3.30E-13
Surface	1	0.36	0.36	3.52	0.069
Initial level*moisture	1	0.02	0.02	0.25	0.619
Initial level*surface	1	0.18	0.18	1.74	0.196
Moisture*surface	1	0.08	0.08	0.86	0.358
Initial level*moisture*surface	1	0.22	0.22	2.14	0.153
Residuals	32	3.29	0.10		

8 cm<sup>2</sup>가 감소하여 유기물의 존재는 *B. cereus*의 생존력을 보다 오랫동안 지속시켜주는 것으로 확인되었다. Takahashi<sup>22)</sup> 등은 stainless steel 표면에 양배추, 참치, 돼지고기즙액을 코팅시킨 후, *L. monocytogenes*를 접종했을 때 식품의 종류에 따라 차이는 있었지만 *L. monocytogenes* 단독으로 접종했을 때보다 감소속도가 느려 본 연구의 결과와 같은 경향을 보였다. 이는 흙이나 식품 잔여물 등은 세균 주위를 둘러싼 보호막을 형성시켜 건조 등 외부 환경으로부터 미생물을 보호하여 작업대 표면에서 이 세균의 생존을 보다 오래 지속시키기 때문이다<sup>23)</sup>. 또한, Park<sup>20)</sup> 등은 이러한 유기물들이 작업대 표면이나 농산물 표면에 존재할 때 소독제의 효과를 감소시킨다고 보고하여 농산물을 수확 후 처리시설에서 세척, 선별, 포장 등의 작업이 끝난 후에는 반드시 작업대 표면을 세척하여 흙을 비롯한 유기물들이 작업대표면에 누적되지 않게 관리하는 것이 필요하다.

### *B. cereus*에 오염된 작업대 표면이 상추의 미생물 오염에 미치는 영향

*B. cereus*에 오염된 작업대 표면이 상추의 미생물 오염에 미치는 영향을 조사하기 위하여 각 표면에 초기오염수준을 각각 2.5와 4.5 log CFU/coupon로 오염시켜놓고 표면에 수분을 완전히 제거한 상추와 수분을 흠뻑 가한 상추를 접촉시켰다. 그 결과, Table 1과 Table 2에서 보는 바와 같이, 상추의 수분상태에 따른 오염 정도는 유의적인 차이가 있었으나 재질에 따른 상추의 오염도는 차이가 없었다. 상추 표면의 수분을 완전히 제거했을 경우에는 작업대 오염 농도의 0.63~1.0%, 상추 표면에 수분이 존재할 시에는 6.3~15.8%정도로 검출되어 상추의 표면에 수분이 존재할 시에 10배 이상 오염도가 높아짐을 알 수 있었다. Chai<sup>16)</sup>

등의 연구에서는 *Camphylobacter*에 오염된 도마에서 농산물로 전이율은 22.6% ~ 73.3%이었고, Kusumaningrum<sup>24)</sup> 등의 연구에서도 *Salmonella* spp.와 *Campylobacter* spp.에 오염된 stainless steel에서 오이 slice로의 전이율이 각각 34.8%와 42.5%였다고 보고하여, 병원성 미생물에 오염된 작업환경이 농산물의 안전성에 얼마나 중요한 영향을 미치는지를 보여주었다. 또한, Silagyi<sup>25)</sup> 등의 연구에서는 *E. coli* O157:H7로 오염된 stainless steel에 다양한 채소를 접촉시키고 채소로 전이된 정도를 조사한 결과, cantaloupe, 상추, 당근, 시금치, green bean에서 각각 4.5, 3.5, 3.2, 3.2, 2.3 log CFU/cm<sup>2</sup>가 검출되었는데, 이러한 검출수준의 차이는 각 채소가 가진 수분활성도에 따라 달라지며 수분이 많은 채소에서 전이율이 높다고 보고하였다. 식품의 수분함량은 농산물 생산 환경에서 농산물로의 교차오염에 중요한 요소로 판단된다. 특히, 농산물 중 엽채류의 시들음을 방지하고 신선도를 높이기 위하여 수분을 가하는 경우가 많기 때문에 작업대의 철저한 위생관리가 필요하다.

### 요 약

본 연구는 polyvinyl chloride (PVC)와 stainless steel 표면에서 *B. cereus*의 온·습도에 따른 생존율을 조사하고, *B. cereus*이 오염된 작업대 표면에서 상추로의 교차오염도 조사를 통하여 *B. cereus*에 오염된 작업대가 상추의 미생물학적 안전성에 미치는 영향을 평가하고자 수행하였다. 작업대 재질별 *B. cereus*의 생존은 온도 20°C, 30°C, 습도 43%, 69%, 100%에서 각각 노출시켰을 때, 습도 43%, 69% 조건에서 24시간 이내에 전체 세포수는 약 3.53~4.00 log CFU/coupon이 감소한데 반해 포자수는 약 3.00 log CFU/coupon

수준을 일정하게 유지하였다. 한편 온도 30°C, 상대습도 100%에서는 노출 12시간 후에 포자수가 2.29~2.59 log CFU/coupon 정도 증가하였다. 유기물이 작업대 표면에 존재 시, *B. cereus*의 감소 속도가 느렸다. *B. cereus*에 오염된 작업대에 상추를 접촉시키고 상추의 오염도를 조사한 결과, 상추 표면에 수분이 존재할 때 *B. cereus* 오염된 작업대 표면에서 *B. cereus*의 이동수준이 상추에 수분이 없을 때 보다 10배 이상 증가하는 것으로 나타났다. 따라서 *B. cereus*에 오염된 작업대는 상추의 안전성에 직접적인 영향을 미칠 수 있어 작업 후에 세척, 소독을 통하여 작업대를 위생적으로 관리하는 것이 필요하다.

### 감사의 말씀

본 연구는 농촌진흥청 국립농업과학원 농업과학기술 연구개발사업인 농식품 중 유해미생물 안전관리기반기술 개발 (과제번호: PJ009460)의 지원에 의해 이루어진 것임.

### 참고문헌

- Kim, G.H., Bang, H.Y.: A survey on consumption pattern of minimally fruits and vegetables. *Korean J. Food Culture*, **13**, 267-274 (1998).
- 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., Ha, S.D.: Microbial contamination levels of fresh vegetables distributed in markets. *Korean J. Fd. Hyg. Safety*, **20**, 43-47 (2005).
- Food and Drug Administration: Guidance for Industry: Guide to Minimize Microbial Food Safety Hazards of Leafy Greens; Draft Guidance. Available from: <http://www.fda.gov>. Accessed Oct. 26, 2012 (2005).
- Centers for Disease Control and Prevention: Update on Multi-State Outbreak of *E. coli* O157:H7 Infections from Fresh Spinach, October 6, 2006. Available from: <http://www.cdc.gov/ecoli/2006/september/updates/100606.html>. Accessed February 20, 2010 (2006).
- Patel, J., Sharma, M.: Differences in attachment of *Salmonella* enteric serovars to cabbage and lettuce leaves. *Int. J. Food Microbiol.*, **139**, 41-47 (2010).
- Nam S.W. 2010. Industrial efforts for enhancing food safety and suggestion to improve policy, p. 9. Prime Minister's Office. Workshop for food safety policy committee. Prime Minister's Office, Seoul, Korea.
- Burnett, S.L., Beuchat, L.R.: Human pathogens associated with raw produce and unpasteurized juices and difficulties in decontamination. *J. Ind. Microbiol Biotechnol.*, **27**, 104-110 (2001).
- Kim, S.H., Kim, J.S., Choi, J.P., Park, J.H.: Prevalence and frequency of food-borne pathogens on unprocessed agricultural and marine products. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **38**, 594-598 (2006).
- Choo, E.Y, Jang, S.S. Kim, K.S., Lee, K.G., Heu, S., Ryu, S.R.: Prevalence and genetic diversity of *Bacillus cereus* in dried red pepper in Korea. *J. Food Prot.* **70**, 917-922 (2007).
- Kim, H.J., Lee, D.S., Paik, H.D.: Characterization of *Bacillus cereus* isolated from raw soybean sprouts. *J. Food Prot.*, **67**, 1031-1035 (2004).
- Hansen, B.M., Laser, T.D., Hendriksen, N.B.: Polymerase chain reaction assay for the detection of *Bacillus cereus* group cells. *FEMS Microbiol. Lett.*, **202**, 209-213 (2001).
- Anderson Borge G.I., Skeie, M., Sorhaug, T., Langsrud, T., Granum, P.E.: Growth and toxin profiles of *Bacillus cereus* isolated from different food sources. *Int. J. Food Microbiol.*, **69**, 237-246 (2001).
- Phelps, R.J., McKillip, J.L.: Enterotoxin production in natural isolates of Bacillaceae outside the *Bacillus cereus* group. *Appl. Environ. Microbiol.*, **68**, 3147-3151 (2002).
- Kramer, J.M., Gillbert R.J.: *Bacillus cereus* and other *Bacillus* species. p. 21-70. In: Doyle(ed). Food-borne bacterial pathogens. MP. Marcel Dekker, New York, NY, USA. (1989).
- Kim S.R., Lee, J.Y., Lee, S.H., Kim, W.I., Park, K.H., Yun, H.J., Kim, B.S., Chung, D.H., Yun, J.C. and Ryu, K.Y.: Evaluation of microbiological safety of lettuce and cultivation area. *Korean J. Fd. Hyg. Safety*, **26**, 289-295 (2011).
- Chai, L.C., Lee, H.Y., Ghazali, F.M., Bakar, F.A., Malakar, P.K., Nishibuchi, M., Nakaguchi, Y., Radu, S.: Simulation of cross-contamination and decontamination of *Campylobacter jejuni* during handling of contaminated raw vegetables in a domestic kitchen. *J. Food Prot.*, **71**, 2448-2452 (2008).
- Ailes, E.C., Leon, J.S., Jaykus, L.A., Johnston, L.M., Clayton, H.A., Blanding, S., Kleinbaum, D.G. Backer, L.C., Moe, C.L.: Microbial concentrations on fresh produce are affected by postharvest processing, importation, and season. *J. Food Prot.*, **71**, 2389-2397 (2008).
- Bae, Y.M., Heu, S., Lee, S.Y.: Inhibitory effect of dry-heat treatment and chemical sanitizers against foodborne pathogens contaminated on the surfaces of materials. *J. Korean Soc Food Sci. Nutr.*, **38**, 1265-1270 (2009).
- Ryu, J.H., Kim, H., Beuchat, L.R.: Biofilm formation and sporulation by *Bacillus cereus* on stainless steel surface and subsequent resistance of vegetative cells and spores to chlorine, chlorine dioxide, and a peroxyacetic acid-based sanitizer. *J. Food Prot.*, **68**, 2614-2622 (2005).
- Park, E.J., Alexander, E., Taylor, G.A., Costa, R., Kang, D.H.: The decontaminative effects of acidic electrolyzed water for *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella typhimurium*, and *Listeria monocytogenes* on green onions and tomatoes with different organic demands. *Food Microbiol.*, **26**, 386-390 (2009).
- Eugénie, B., Louis C., Olivier, C., Mohammed, E.J., Ivan, L., Florence, P. Christophe, B., Frédéric, C., Pierre, M.: Sporulation boundaries and spore formation kinetics of *Bacillus* spp. as a function of temperature, pH and aw. *Food Microbiol.*, **32**, 79-86 (2012).
- Takahashi, H., Kuramoto, S., Miya, S., Kimura, B.: Desiccation survival of *Listeria monocytogenes* and other potential foodborne pathogens on stainless steel surface is affected by different food soils. *Food Control*, **22**, 633-637 (2011).

23. Kusumaningrum H.D., Riboldi G., Hazeleger, W.C., Beumer, R.R.: Survival of foodborne pathogens on stainless steel surfaces and cross-contamination to foods. *Int. J. Food Microbiol.*, **85**, 227-236 (2003).
24. Kusumaningrum, H.D., van Asselt, E.D., Beumer, R.R., Zwietering, M.H.: A quantitative analysis of cross-contamination of *Salmonella* and *Campylobacter* spp. via Domestic kitchen surfaces. *J. Food Prot.*, **67**, 1892-1903 (2004).
25. Silagyi, K., Kim, S.H., Lo, Y.M, Wei. C.: Production of bio-film and quorum sensing by *Escherichia coli* O157:H7 and its transfer from contact surface to meat, poultry, ready-to-eat deli, and produce products. *Food Microbiol.*, **26**, 514-519 (2009).