

꽃감의 미생물 및 aflatoxin에 대한 안전성 평가

서민경 · 최송이¹ · 이경아 · 김정숙² · 정덕화² · 이수형 · 박기환³ · 김원일 · 류재기 · 김황용 · 김세리*
농촌진흥청 국립농업과학원 농산물안전성부, ¹농촌진흥청 국립농업과학원 농식품자원부 가공이용과
²경상대학교 응용생명과학부, ³중앙대학교 식품공학과

Safety Evaluation of Microbiological and Aflatoxin of Traditional Dried Persimmon

Min-Kyoung Seo, Song-Yi Choi², Kyoung Ah Lee, Jung-Sook Kim³, Duck-Hwa Chung³, Soo-Hyung Lee,
Ki-Hwan Park¹, Won-Il Kim, Jae-Gee Ryu, Hwang-Yong Kim, and Se-Ri Kim*

Microbial Safety Team, Department of Crop Life Safety, NAAS, RDA

¹Agro-food Utilization Division, Department of Agro-food Resources, NAAS, RDA

²Division of Applied Life Science, Gyeongsang National University

³Department of Food Science and Technology, Chung-Ang University

(Received September 12, 2014/Revised October 10, 2014/Accepted November 7, 2014)

ABSTRACT - To evaluate microbiological and aflatoxin safety on traditional dried persimmon, a total of 315 samples were collected from 105 farms. The collected samples were assessed on aflatoxin and microorganisms (Aerobic plate count, coliform count, *Escherichia coli*, *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus*). The the APC of sliced dried persimmon, dried persimmon, and semi dried persimmon were 3.93 ± 0.96 , 2.12 ± 0.93 , and 1.50 ± 1.08 log CFU/g, respectively. *S. aureus* was detected in 40.0% of sliced dried persimmon, 29.5% of dried persimmon, and 23.5% of semi dried persimmon. *E. coli* recovered from dried persimmon and semi dried persimmon was 6.6%, and 2.9%, respectively. However, *E. coli* O157:H7, *Salmonella* spp., and *L. monocytogenes* were not detected. According to the result of aflatoxin by ELISA and UPLC, aflatoxin was not detected in any sample. These data suggested that safety management system should be introduce to the farms producing traditional dried persimmon to enhance the safety of traditional dried persimmon.

Key words : Safety, microbiological, aflatoxin, traditional dried persimmon

감(*Diospyros kakit*)은 당류와 비타민, 무기염류 등이 풍부하고 고혈압이나 숙취제거, 설사, 이뇨 등에 효과가 있다고 알려져 있다¹⁾. 감은 크게 단감과 뽕은감으로 구분하며 단감은 주로 생식으로 이용되나 뽕은감은 연시나 탈삼시, 꽃감 등으로 이용된다. 연시나 탈삼시는 장기저장, 대량생산, 대량수출에 적절하지 못한 단점이 있다²⁾. 따라서 가을에 일시적으로 다량 출하되는 감과실의 장기 저장을 위하여 주로 꽃감으로 제조하여 소비하고 있다²⁾. 국내 유통되는 제품은 수분함량에 따라 반건시, 건시, 감말랭이로 구별하고 있으며 반건시의 경우 저장 및 유통기간이 짧아

대부분 건시로 유통되고 있는 실정이다³⁾.

꽃감은 박피~포장까지 대부분이 수작업으로 이루어지고 있어 개인위생 관리가 소홀할 경우 꽃감이 병원성미생물에 오염될 우려가 있다³⁾. 건조과정도 천일건조로 제조되고 있어 건조 중 기후가 따뜻하고 습할 시 과육이 허물어져 손실량이 증가하거나, 감에 존재하는 폴리페놀성 물질의 산화에 의해 흑변하는 문제가 발생하기도 한다⁴⁾. 뿐만 아니라 습한 날씨가 지속되는 등 기후조건이 좋지 않을 경우 곰팡이가 대량으로 발생하여 꽃감 농가가 피해를 입는 사례가 발생한다고 보고된 바 있다⁵⁾. 건조가 완료된 이후 저장 및 유통 중에 온도관리가 부적절할 경우 미생물에 의한 오염과 증식 등의 우려도 있다³⁾. 이러한 이유로 꽃감 등 건조과실에서 aflatoxin이 보고된 바 있다⁶⁾. Kang⁶⁾ 등이 수행한 건조과실 중 aflatoxin 모니터링 자료에 따르면 분석된 시료 중 19.7%에서 aflatoxin이 검출되었으며 꽃감

*Correspondence to: Se-Ri Kim, Microbial Safety Team, Department of Crop-Life Safety, National Academy of Agricultural Science, Rural Development Administration, 166, Nongsaeengmyeong-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

은 15건 중 3건에서 aflatoxin G₁이 최고 0.880 ppb가 검출되었다고 보고하였다. 또한 꾀감과 유사한 건조무화과에서 *Escherichia coli*, *Bacillus cereus* 등 병원성 미생물, 곤충, aflatoxin B₁이 검출된 바 있다⁷⁾. 2007 RASFF (Rapid Alert for Food and Feed)에서도 aflatoxin이 가장 빈번하게 검출(53%)되는 제품이 터키산 건조무화과였다고 발표해 건조과실에 대한 위생관리 실태 조사가 필요한 시점이다⁸⁾.

하지만 국내에서 가장 많이 생산되는 건조과실인 꾀감에 관한 연구는 주로 건조조건⁴⁾, 이화학적특성⁹⁾, 포장에 따른 저장성 연구¹⁰⁾ 등으로 안전성과 관련된 연구는 매우 드문 실정이다. 따라서 본 연구는 국내산 꾀감의 미생물 및 aflatoxin 오염 실태를 조사하여 꾀감의 안전관리의 기초자료로 활용하고자 수행하였다.

재료 및 방법

시료 수집

꾀감 중 미생물 및 aflatoxin 분석을 한 시료는 반건시, 건시, 감말랭이를 대상으로 하였다. 반건시는 A지역 10농가, B지역 11농가, C지역 10농가, D지역 3농가에서 생산된 제품을 수집하였다. 건시는 A지역 10농가, B지역 15농가, C지역 10농가, E지역 16농가, F지역 10농가에서 생산된 제품을 수집하였다. 또한 감말랭이는 D지역의 10농가에서 생산된 제품을 수집하여 본 연구에 활용하였다. 시료 수집은 꾀감 생산 직후인 2013년 1월에 꾀감 생산농가로부터 직접 구입하였으며 구입 후 5°C로 보관하면서 시료로 사용하였다.

품질 분석

꾀감 중 미생물 생육 및 aflatoxin 생성조건을 구명하기 위하여 당도와 수분활성도를 분석하였다. 당도 분석은 꾀감 40 g에 증류수 360 ml을 넣고 마쇄한 후 굴절당도계 (RX-5000CX, ATAGO, JAPAN)를 사용하여 측정하였다. 또한 수분활성도는 7 g씩 절단한 후 수분활성도계 (Lab-Master-aW, novasina, Switzerland)를 사용하여 측정하였다.

위생지표세균

위생지표세균의 분석을 위하여 꾀감 40 g을 취하여 0.1% peptone water (Oxoid, UK) 160 ml과 혼합하고 stomacher (Bagmiser, Interscience, France)에서 2분간 균질화 시켰다. 균질화 된 시료는 그 중 1 ml을 취하여 10배 단계희석한 후 일반세균 및 coliform 측정용 petrifilm (3M, St. Paul, MN, USA)에 접종하고 37°C 24시간 배양하였다. 또한 *E. coli*의 측정은 정량과 정성을 동시에 수행하였다. 정량분석은 3M사의 petrifilm을 이용하였으며 각 농도별로 1 ml씩 취하여 film에 접종하고 37°C에서 24시간 배양 후 기포를 가진 blue colony만을 *E. coli*로 인정하였다. 최종균

수는 전형적인 집락을 보이는 균주 × 희석배수로 계산하였다. 또한 정성분석은 꾀감 40 g을 취하여 160 ml의 EC broth (Oxoid, Hampshire, UK)에서 37°C에서 24시간 증균 배양하였다. 이후 배양액 1 loop를 취하여 EMB agar (Oxoid, Hampshire, UK)에 재접종하였다. 이 후 37°C, 24시간 배양 후 금속광택을 나타내는 집락을 VITEK (VITEK-2 compact, Biomerieux, Marcy-I'Etoile, France)으로 최종 동정하였다¹¹⁾.

병원성 미생물

Escherichia coli O157:H7 (*E. coli* O157:H7)

E. coli O157:H7의 증균을 위해 꾀감 40 g을 취하여 160 ml의 mEC broth (Oxoid, Hampshire, UK)에서 37°C에서 24시간의 배양하였고, 배양액 1 loop를 취하여 *E. coli* O157:H7의 선택배지인 sorbitol MacConkey agar (SMA, Oxoid, Hampshire, UK)에 도말한 후 37°C에서 24시간 배양하였다. 이후 sorbitol MacConkey agar 상에서 무색의 단일 집락을 취하여 EMB agar에 접종하고 37°C, 24시간 배양하였다. EMB agar상에서 금속광택을 나타내는 집락을 취하여 Nutrient agar (NA, Oxoid, Hampshire, UK)에 접종한 후 37°C, 24시간 재배양하였다. *E. coli* O157:H7의 동정은 PowerCheck™ *E. coli* O157:H7 Detection Kit (Power check PCR kit, Kogen, Gyeonggi, Korea)를 이용하여 PCR로 1차 확인을 거친 후, 양성으로 의심되는 시료는 VITEK으로 최종 동정하였다. 대조균으로 *E. coli* O157:H7 ATCC 43894를 사용하였다¹¹⁾.

Salmonella spp.

Salmonella spp. 분리는 식품공전에 준하여 실험하였다. 꾀감 40 g을 160 ml의 buffered peptone water (Oxoid, Hampshire, UK)에서 증균하였다. 1차 증균한 후 10 ml의 Rappaport Vassiliadis R10 Broth (Difco, MD, USA)에 1차 증균액 100 µl를 접종하여 37°C, 24시간 배양한 후 균액 1 loop를 취하여 선택배지인 XLD (Oxoid, Hampshire, UK)에 도말하였다. 이후 37°C에서 24시간 배양하여 전형적인 *Salmonella* spp. 의심집락을 취하여 NA (Oxoid, Hampshire, UK)에 접종한 후 37°C, 24시간 재배양하였다. 동정은 PowerCheck™ *Salmonella* spp. Detection Kit (Powercheck PCR kit, Kogen, Gyeonggi, Korea)를 이용하여 PCR로 1차 확인을 거친 후, 양성으로 의심되는 시료는 VITEK으로 최종 동정하였다. 또한 대조균으로 *Salmonella*. Typhimurium ATCC 13314를 사용하였다¹¹⁾.

Listeria monocytogenes (*L. monocytogenes*)

*L. monocytogenes*균주의 분리를 위해 꾀감 40 g을 160 ml의 *Listeria* enrichment broth (Oxoid, Hampshire, UK)에

접종 후 30°C에서 24시간 배양하였다. 배양된 균액을 100 µl 취하여 다시 2차 증균 배지인 fraser broth (Difco, MD, USA)에 넣고 30°C, 24시간 증균하였다. 이후 선택배지인 oxford agar (Oxoid, Hampshire, UK)에 희석 도말하고 30°C, 24~48시간 배양한 다음 black halo에 brown-green의 특이성을 보인 집락을 취하여 다시 0.6% yeast extract가 첨가된 trypticase soy agar (Oxoid, Hampshire, UK)에 접종하고 30°C, 24시간 배양하였다. 최종 동정은 PowerCheck™ *Listeria monocytogenes* Detection Kit (Powercheck PCR kit, Kogen, Gyeonggi, Korea)를 이용하여 PCR로 1차 확인을 거친 후, 양성으로 의심되는 시료는 VITEK으로 최종 동정하였으며 대조균으로 *L. monocytogenes* ATCC 15313를 사용하였다¹¹⁾.

Staphylococcus aureus (*S. aureus*)

*S. aureus*는 정량, 정성검사를 하였으며 정량검사는 곳감 40 g을 취하여 0.1% peptone water (Oxoid, Hampshire, UK) 160 ml과 혼합하고 stomacher (Bagmixer, Interscience, France)에서 2분간 균질화 시켰다. 균질화한 검액은 단계 희석 한 후 250 µl씩 Baird-parker agar 4 plate에 접종한 후 37°C, 24~48시간 배양한 후 전형적인 형태를 나타내는 집락을 계수하였다. 계수한 평판에서 5개 이상의 전형적인 집락을 선별하여 NA배지에 접종하고 37°C에서 24시간 배양한 후 PCR법과 VITEK을 사용한 생화학법에 의하여 확인하였다. 최종균수는 전형적인 집락을 보이는 균주 × (양성균주수/5주의 test균주) × 희석배수로 계산하였다.

정성분석은 곳감 40 g을 160 ml의 10% NaCl이 첨가된 tryptic soy broth (Oxoid, UK)에 넣고 2분간 stomacher에서 균질하였고, 이후 37°C 16시간 증균하고 배양액을 CHROMagar Staph (CHROM, France)에 37°C, 24~48시간 배양한 후 분홍색 집락을 나타내는 단일 집락을 취하여 확인실험에 사용하였다. 확인실험은 PowerCheck™ *Staphylococcus aureus* Detection Kit (Powercheck kit, Kogen, Korea)를 이용한 PCR법과 VITEK을 사용한 생화학법으로 수행하였고 대조균으로 *S. aureus* 표준 균주 ATCC 25923을 사용하였다¹¹⁾.

Bacillus cereus (*B. cereus*)

*B. cereus*의 오염도를 조사하기 위하여 곳감 40 g을 취하여 160 ml의 phosphate buffered dilution water (Difco, USA)을 가하여 2분간 stomacher에서 균질화하였다. 균질화한 검액은 단계희석 한 후 250 µl씩 MYP agar 4 plate에 접종한 후 30°C, 24~48시간 배양한 후 전형적인 형태를 나타내는 집락을 계수하였다. 계수한 평판에서 5개 이상의 전형적인 집락을 선별하여 NA배지에 접종하고 30°C에서 24시간 배양한 후 PCR법에 의하여 확인하였다. 최종균수는 전형적인 집락을 보이는 균주 × (양성균주수/5주의 test

균주) × 희석배수로 계산하였다. *B. cereus*의 동정은 PCR법으로 확인하였다. *B. cereus*를 검출하기 위한 PCR 조건은 Choo¹²⁾등의 방법으로 *gryB*유전자 *cry*유전자를 대상으로 multiplex PCR을 수행하였다. PCR 반응은 intron사의 i-star Taq PCR kit을 사용하였으며 DNA 5 µl primer는 10 pM 농도로 2쌍 첨가하고 3차 멸균 증류수로 최종 반응용액을 20 µl로 조절하였다. 또한 PCR thermal cycler의 반응 조건은 94°C에서 5분간 pre-denaturation을 실시한 후, 94°C에서 30초간 denaturation, 55°C에서 2분간 primer annealing, 72°C에서 1.5분간 extension의 조건으로 30cycle을 수행하고, final extension을 72°C에서 7분간 실시하였다. PCR에 의한 증폭생성물은 1.0% agarose gel 전기영동에 의해 확인하였다. 대조균으로는 *Bacillus cereus* ATCC 10876와 *Bacillus thuringensis* ATCC 29730을 사용하였다¹¹⁾.

ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay)법에 의한 aflatoxin 분석

Aflatoxin 추출

시료 5 g을 50 ml 코니컬 튜브에 넣고 5% NaCl (Junsei, Japan)이 함유된 60% methanol (Merck, Germany)을 가한 후 1시간 동안 교반하였다. 이후 4°C에서 3000 rpm, 10분 동안 원심분리한 후 Whatman No.1 를 사용하여 여과하고 PBST로 5배 희석한 후에 ELISA법으로 aflatoxin을 분석하였다¹³⁾.

ELISA 분석

확립된 시료 추출방법을 이용하여 시료 속에 존재하는 aflatoxin을 분석하기에 앞서 분석법의 실제 시료에 적용가능 여부를 확인하였다. Aflatoxin 음성 시료 각 5 g에 aflatoxin 표준물질(Sigma, USA)을 최종 농도가 5, 50, 100, 200 ppb가 되도록 오염시켜 60°C에서 1시간 동안 건조하여 앞서 확립된 추출방법을 이용하여 시료에서 aflatoxin을 추출한 후 ELISA법으로 분석을 실시하였다. ELISA 분석은 먼저 aflatoxin에 특이적인 항체를 phosphate buffer saline (PBS, pH 7.4)으로 1,000배로 희석하여 96 well plate에 100 µl씩 첨가한 후 4°C에서 16시간 반응시켰다. 반응이 끝난 96 plate well은 PBST용액으로 3회 세척한 후 PBS로 1,000배로 희석된 AFB₁-oxime-HRP용액과 앞서 시료에서 aflatoxin을 추출한 검액을 각 well에 100 µl씩 분주 후 37°C에 30분간 반응시켰다. 반응이 끝난 96 plate well을 세척용액으로 6회 세척하고 반응기질용액(ABTS)을 100 µl씩 분주하여 37°C에 30분간 반응 후 반응정지액(2M H₂SO₄) 50 µl씩을 첨가하여 ELISA reader (Biorad, USA)로 측정하였다. 또한 수집된 곳감은 앞서와 같은 방법으로 aflatoxin을 추출한 후 확립된 ELISA법 조건을 이용하여 aflatoxin을 분석하였다¹³⁾.

UPLC법에 의한 aflatoxin 분석

Aflatoxin 추출

꽃감시료 5 g을 1% NaCl이 함유된 70% methanol (HPLC grade, B&J, Muskegon, MI, USA) 20 ml를 첨가하여 균질기를 사용하여 고속으로 혼합하였다. 균질한 시료는 원심분리(3000 rpm, 20 min)를 하여 상등액을 Whatman No. 4로 여과하였다. 여과한 여액 10 ml와 1% Tween 20 용액 30 ml를 가하여 희석하고, 희석액은 혼합한 후 Whatman GF/A로 여과한 것을 추출액으로 사용하였다. 추출액 16 ml을 aflatoxin에 특이적으로 결합하는 단클론성 항체를 고정상인 gel에 결합시킨 면역친화성 칼럼(AflaTest, Vicam Co., Watertown, MA, USA)에 주입하여 초당 1 방울의 속도로 통과시켰다. 이어서 물 10 ml를 같은 유속으로 완전히 유출하여 세척하고 acetonitril (HPLC grade, B&J, Muskegon, MI, USA) 3 ml로 용출하였다. 용출액은 질소가스로 농축한 후 이동상 1 ml에 용해시켜 0.2 µm 시린지 필터로 여과하여 UPLC분석 시료로 사용하였다.

UPLC 분석

Aflatoxin 정량분석을 위하여 형광검출기가 부착된 UPLC (Waters, USA)를 사용하였고 분석컬럼은 Acquity UPLC BEH C18 (2.1 × 50 mm, 1.7 µm)을 사용하였다. 아플라톡신 분석에 사용한 이동상은 water, methanol 및 acetonitrile을 사용하였으며(3:1:1, v/v), 총 아플라톡신 분석을 위한 UPLC조건은 Table 1과 같다. 아플라톡신 B₁, B₂, G₁, G₂ 표준물질은 Romer사 (Tulin, Austria) 제품을 구입하여 사용하였으며, 검량선 작성을 위해 acetonitrile로 0.5~20 ng/ml 농도로 희석한 것을 표준용액으로 UPLC로 분석하여 검량선을 작성하였다. 검량선은 농도에 따른 피크의 면적으로 단순 선형회귀 곡선을 작성하였으며, 작성된 검량선의 r²의 값을 통하여 직선성을 판단하였다. 회수율을 검토하기 위해 aflatoxin 혼합표준용액의 최종농도가 20 ng/g이 되도록 시료에 첨가한 후 확립된 분석법을 이용하여 회수율을 검토하였다.

Table 1. Operation condition of UPLC for total aflatoxin analysis in dried persimmon

Instrument	UPLC (Waters, USA)
Detector	Fluorescence detector
Column	Acquity UPLC BEH C18 (2.1 × 50 mm, 1.7 µm)
Wavelength	Ex: 360 nm, Em: 440 nm
Mobile phase	Water:Methanol:Acetonitrile = 3:1:1 (v/v)
Flow rate	0.4 ml/min

결과 및 고찰

꽃감의 수분활성도와 당도

꽃감은 건조일수와 형태에 따라 반건시, 건시, 감말랭이로 구분할 수 있으며 반건시와 건시는 비닐하우스나 노지의 처마 밑에 매달아 건조하는 방식으로 생산되고 있다. 반건시는 30~45일, 건시는 55~60일정도 건조하여 판매되고 있으며 감말랭이는 감을 절단해서 건조기에서 3~4일 건조하여 판매되고 있다.

꽃감 중에서 식중독균이나 인체 유해한 곰팡이의 생육가능성을 타진하고자 꽃감의 유형별 수분활성도와 당도를 조사하였으며 그 결과 Table 2와 같다. 감말랭이, 건시, 반건시의 수분활성도는 각각 0.81, 0.86, 0.91이었다. 또한 당도는 감말랭이 54.9%, 건시 49.5%, 반건시 40.5%로 수분활성도가 낮을수록 당도는 증가하는 것으로 나타났다. 꽃감의 수분활성도와 미생물 생육가능성과 연계해 보면 *S. aureus*, *L. monocytogenes*, *B. cereus*, *E. coli* O157:H7, *S. Typhimurium*의 생존과 증식이 가능한 수분활성도는 0.86, 0.92, 0.93, 0.95, 0.95로 대부분의 병원성미생물은 꽃감에서 생존과 증식하기 어려운 상태이다¹⁴⁻¹⁷). 하지만 *S. aureus*의 경우는 생존가능한 수분활성도가 0.86으로 건시와 반건시를 실온에서 부적절하게 보관하면 충분히 성장 가능할 것으로 판단된다. 또한 aflatoxin 생성주인 *Aspergillus flavus* (*A. flavus*)는 온도에 따라 생육 가능한 수분활성도는 차이가 있지만 0.78~0.80의 수분활성도에서 생육가능하며 수분활성도 0.82이상 (온도 13~37°C)에서 독소생성이 가능하기 때문에¹⁸) *A. flavus*에 오염된 건시와 반건시를 실온에 보관하게 되면 aflatoxin 생성은 가능하리라 판단된다.

Table 2. Water activity (Aw) and sugar contents of three kinds of traditional dried persimmons from various regions

Types	Regions	Water activity (Aw)	Sugar contents (° Brix)
Semi-dried persimmon	A	0.89	45.1
	B	0.91	42.5
	C	0.93	34.1
	D	0.92	38.8
	Average	0.91	40.5
Dried persimmon	A	0.86	49.4
	B	0.87	48.6
	C	0.86	48.6
	E	0.86	49.6
	F	0.85	51.6
	Average	0.86	49.5
Sliced dried persimmon	D	0.81	54.9
	Average	0.81	54.9

꽃감의 미생물 오염도

꽃감 유형별 일반세균수는 Table 3과 같다. 감말랭이 3.93 ± 0.96 log CFU/g, 건시 2.12 ± 0.93 log CFU/g, 반건시 1.50 ± 1.08 log CFU/g로 감말랭이에서 일반세균수가 반건시에 비하여 약 2.43 log CFU/g정도 높게 검출되었다. 수분활성도가 낮은 감말랭이, 건시에서 수분활성도가 높은 반건시보다 일반세균수가 높게 검출된 본 연구결과는 Hong³⁾등의 결과와는 상이한 결과이다. Hong³⁾등은 박피 후부터 1주일 단위로 7주간 세균, 곰팡이, 효모, 초산균의 변화양상을 조사하였다. 그 결과 박피 후 1주일 후에는 일반세균수 5.04 log CFU/g, 초산균 3.27 log CFU/g, 효모 4.5 log CFU/g, 곰팡이의 경우는 1.0 CFU/g이었으나, 7주

후에는 1.0 log CFU/g 내외로 일반세균수와 초산균이 유지된데 반해 곰팡이는 4주째부터 증가하여 7주째는 3.0 log CFU/g수준으로 증가하였다고 보고하였다. 이는 건조가 진행됨에 따라 수분함량이 감소하며 이에 따라 상대적으로 당함량의 증가하여 수분활성도가 낮아지며 이로 인하여 수분활성도가 높은 상태에서 증식하는 세균은 감소하고 수분활성도가 낮은 상태에서도 증식 가능한 효모와 곰팡이는 증가하였다고 보고하였다. 본 연구 결과와 Hong³⁾등의 결과가 상이한 것은 건시와 감말랭이를 생산하는 과정에서 건조 후에 작업자나 주변환경에 의해 꽃감 미생물에 오염된 것으로 추정된다.

또한 꽃감 종류에 따른 지역별 오염도를 비교해 보면

Table 3. Aerobic plate counts of three kinds of traditional dried persimmons from various regions

Types	Regions	Number of farms	Minimum (log CFU/g)	Average (log CFU/g)	Maximum (log CFU/g)
Semi-dried persimmon	A	10	0.57	1.73 ± 0.98	2.33
	B	11	0.57	2.12 ± 0.93	3.21
	C	10	0.57	0.79 ± 0.86	1.31
	D	3	0.23	0.79 ± 0.98	1.09
	Average	34	0.23	1.50 ± 1.08	3.21
Dried persimmon	A	10	0.67	1.82 ± 0.81	2.59
	B	15	0.83	2.42 ± 0.82	3.91
	C	10	0.78	1.68 ± 0.85	2.38
	E	16	1.21	2.32 ± 0.80	3.41
	F	10	0.67	2.08 ± 1.19	3.09
Average	61	0.67	2.12 ± 0.93	3.91	
Sliced dried persimmon	D	10	2.66	3.93 ± 0.96	4.66
	Average	10	2.66	3.93 ± 0.96	4.66

Table 4. Detection of pathogenic bacteria of three kinds of traditional dried persimmons from various regions

Types	Regions	Number of farms	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>B. cereus</i>	
					Frequency	Level (log CFU/g)
Semi-dried persimmon	A	10	3(30.0%)	1(10.0%)	2(20.0%)	0.7-1.7
	B	11	2(18.2%)	0(0.0%)	4(36.4%)	0.7-1.7
	C	10	1(10.0%)	0(0.0%)	1(10.0%)	1.7
	D	3	2(66.7%)	0(0.0%)	0(0.0%)	-
	Total	34	8(23.5%)	1(2.9%)	7(20.6%)	0.7-1.7
Dried persimmon	A	10	4(40.0%)	0(0.0%)	2(20.0%)	0.7
	B	15	5(33.3%)	2(13.3%)	6(40.0%)	1.7-2.3
	C	10	0(0.0%)	1(10.0%)	1(10.0%)	0.7
	E	16	6(37.5%)	0(0.0%)	11(68.8%)	0.7-1.7
	F	10	3(30.0%)	1(10.0%)	4(40.0%)	0.7-1.7
Total	61	18(29.5%)	4(6.6%)	24(39.3%)	0.7-2.3	
Sliced dried persimmon	D	10	4(40.0%)	0(0.0%)	0(0.0%)	-
	Total	10	4(40.0%)	0(0.0%)	0(0.0%)	-
Total		105	30(28.6%)	5(4.8%)	31(29.5%)	0.7-2.3

먼저 반건시의 경우 지역별 일반세균수는 A지역 1.73 ± 0.98 log CFU/g, B지역 2.12 ± 0.93 log CFU/g, C지역 0.79 ± 0.86 log CFU/g, D지역 0.79 ± 0.98 log CFU/g로 지역에 따른 차이가 확인되었다. 건시는 A지역 1.82 ± 0.81 log CFU/g, B지역 2.42 ± 0.82 log CFU/g, C지역 1.68 ± 0.85 log CFU/g, E지역 2.32 ± 0.80 log CFU/g, F지역 2.08 ± 1.19 log CFU/g였다. 한편 coliform은 감말랭이, 반건시는 검출되지 않았으나 B 지역 1농가에서 생산된 건시에서 0.93 ± 1.61 log CFU/g가 검출되었다(data not shown).

꽃감 유형별 *S. aureus*의 검출율은 감말랭이 40%, 건시 29.5%, 반건시 23.5%였으나 오염수준은 정량검사에서 검출되지 않을 정도(1.0 log CFU/g 이하)로 매우 낮은 수준이었다(Table 4). 지역별 *S. aureus* 검출율을 비교해보면 건시는 A지역 40%, B지역 33.3%, C지역 0%, E지역 37.5%, F지역 30%로 A지역에서 검출율이 높고 C지역에서 가장 낮았다. 반건시는 A지역 30.0%, B지역 18.2%, C지역 10%, D지역 66.7%였다. 이렇게 미생물오염도가 지역적으로 차이가 있는 이유는 작업장의 위생상태와 관리정도에 따른 것이라 판단된다. 또한 다른 농산물에 비하여 꽃감에서 *S. aureus*의 오염율이 비교적 높은 것은 박피~포장 작업에 이르는 전 과정이 수작업으로 이루어지고 있는 꽃감 생산의 특성을 반영하는 결과로 판단된다. *S. aureus*는 사람과 동물의 피부 등에 존재하고 있어 식품에 쉽게 오염되기 쉽다¹⁹⁾. Kim^{20, 21)}등이 수행한 들깨잎과 토마토의 생산 환경에서 미생물오염도를 조사한 결과에서도 작업자의 손이나 장갑에서 일반세균수가 타 시료에 비하여 높게 검출되었고 *S. aureus*도 검출되었다고 보고하였다. 따라서 꽃감이 *S. aureus*에 오염되는 것을 예방하기 위해서는 작업 전 후

로 손을 씻고 장갑이 착용이 필수적이다. 또한 장갑은 자주 교체하는 것도 작업자에 의한 오염을 예방하는 중요한 방법이라 생각된다.

*E. coli*는 감말랭이 0%, 건시 6.6%, 반건시 2.9%의 시료에서 검출되었다(Table 4). 지역별로는 반건시는 A지역의 10% 시료에서 *E. coli*가 검출되었고 건시는 B지역 13.3%, C지역 10%, F지역 10%의 시료에서 검출되었다. 또한 *B. cereus*는 감말랭이 0%, 건시 39.3%, 반건시 20.6%의 시료에서 검출되었고 검출 수준은 0.7~2.3 log CFU/g 수준이었다. 반건시 중 *B. cereus*는 A지역 20.0%, B지역 36.4%, C지역 10.0%, D지역 0.0%, 었으며 오염농도는 0.7~1.7 log CFU/g 수준으로 나타났다(Table 4). 건시의 경우 A지역 20.0%, B지역 40.0%, C지역 10.0%, E지역 68.8%, F지역 40.0%에서 검출되었으며 오염농도는 0.7~2.3 log CFU/g 수준이었다(Table 4). 건조기에서 주로 건조하는 감말랭이에서는 *B. cereus*가 검출되지 않은데 반해 천일 건조하는 건시, 반건시에서는 빈번하게 검출되었다. *B. cereus*는 토양, 먼지 등에서 검출되는 세균²²⁾으로 박피, 건조 과정 중에 비위생적인 취급으로 인해 오염될 가능성이 있어 박피과정에 사용되는 작업도구의 주기적인 세척과 건조실의 청결관리가 필요하다고 판단된다. 따라서 본 연구의 결과로 미루어 볼 때 안전한 꽃감 생산을 위한 위생관리기술의 개발과 꽃감생산 농가의 지속적인 위생교육이 시급하다고 사료된다.

꽃감 중 aflatoxin 분석결과

꽃감 중 aflatoxin 분석은 ELISA법으로 1차 스크리닝하였으며 ELISA에서 양성을 보인 시료는 UPLC로 확정하

Table 5. Detection and range of aflatoxin levels in three kinds of traditional dried persimmons from various regions

Types	Regions	Number of farms	ELISA		UPLC	
			Frequency (%)	Level (ppb)	Frequency (%)	Level (ppb)
Semi-dried persimmon	A	10	0(0.0%)	-	0(0.0%)	-
	B	11	1(9.1%)	1.1	0(0.0%)	-
	C	10	0(0.0%)	-	0(0.0%)	-
	D	3	0(0.0%)	-	0(0.0%)	-
	Total	34	1(2.9%)	1.1	0(0.0%)	-
Dried persimmon	A	10	0(0.0%)	-	0(0.0%)	-
	B	15	2(13.3%)	1.0-1.1	0(0.0%)	-
	C	10	0(0.0%)	-	0(0.0%)	-
	E	16	0(0.0%)	-	0(0.0%)	-
	F	10	1(10.0%)	1.0	0(0.0%)	-
	Total	61	3(4.9%)	1.0-1.1	0(0.0%)	-
Sliced dried persimmon	D	10	3(30.0%)	1.0-1.1	0(0.0%)	-
	Total	10	3(30.0%)	1.0-1.1	0(0.0%)	-
Total		105	7(6.7%)	1.0-1.1	0(0.0%)	-

는 과정으로 수행하였다. 먼저 ELISA법으로 꽃감 중 aflatoxin을 분석하기에 앞서 ELISA법으로 aflatoxin 분석이 가능한지 타진하기 위하여 회수율을 측정하였다. 그 결과 5, 50, 10, 200 ppb를 꽃감에 오염시킨 꽃감에서 각각 75%, 70%, 89%, 92%의 회수율을 보여 확립된 방법으로 꽃감의 aflatoxin을 분석하는 것은 적합한 것으로 확인되었다. 감말랭이, 건시, 반건시의 aflatoxin 검출률은 각각 30%, 4.9%, 2.9%였다(Table 5). 검출농도는 1.0 ppb 정도였다. aflatoxin 양성시료를 대상으로 UPLC로 재분석한 결과 aflatoxin은 검출되지 않았다. Kang⁶⁾ 등의 연구결과에 따르면 건조과실 9종 137건 중 27건(19.7%)에서 aflatoxin이 검출되었고 품목별로는 건망고, 건딸기, 건키위, 건과파야에서는 aflatoxin이 불검출 되었으나 건살구, 건자두, 건포도에서 최고 0.184, 1.053, 0.156 ppb가 검출되었다고 보고하였다. 또한 꽃감에서는 15건 중 3건에서 aflatoxin G₁이 최고 0.880 ppb가 검출되었다고 보고하였다. 이는 본 연구결과와 상의한 결과로 본 연구에 사용된 꽃감은 늦가을~겨울에 생산하여 냉장 혹은 냉동된 꽃감으로 aflatoxin이 생성되는 데 필요한 온도 조건인 13~37°C보다 낮은 곳에서 생산하여¹⁸⁾ 보관된 시료를 본 연구에 사용하였기 때문에 aflatoxin이 검출되지 않은 것으로 추정된다.

한편, 꽃감과 유사한 건조과실 중 건조무화과의 경우 aflatoxin에 대한 검출사례가 빈번하게 보고되고 있다. 2007 RASFF (Rapid Alert for Food and Feed)자료에 따르면 aflatoxin이 검출된 제품 257건 중 156건(53%)가 건조무화과였고 대부분 터키산이었다고 보고하였다⁸⁾. 또한 Senyuva²³⁾ 등은 4년간 수출용 터키산 무화과에서 aflatoxin을 조사한 결과, 2.6%, 3.0%, 5.1%, 2.7%의 시료에서 유럽의 aflatoxin 허용치인 4 ppb를 초과한 사례가 발견되었다고 보고하였다. Heperkan²⁴⁾ 등은 건무화과를 대상으로 곰팡이를 분리하고 분리된 곰팡이가 독소를 생성하는지를 조사하였다. 그 결과 독소생성 *Aspergillus section Flavi*가 41.7%, *Aspergillus section Nigri*가 65.2%, *Fusarium*이 70.4%, *Penicillium*이 2.6%였는데 분리된 *Aspergillus section Flavi*는 *A. flavus*, *Aspergillus parasiticus*, *Aspergillus tamarii*였다. 분리된 *Aspergillus flavus* 98%, *Aspergillus parasiticus* 100%가 aflatoxin 생성주였다고 보고하였다. 또한 수집된 건조 무화과 115 샘플 중 10%에서 aflatoxin이 검출되었고 그 농도 범위는 0.1~763 ppb였으며 그 중 4.3%에서 허용 기준을 초과한다고 보고하였다. 이에 반해 Kang⁹⁾ 등이 꽃감에서 곰팡이를 분석한 결과에 의하면 꽃감에서는 *Penicillium spp.*, *Cladosporium spp.*, *Aspergillus spp.* 순으로 검출되었다고 보고하여 무화과에서 *Aspergillus spp.*가 우점종이나 꽃감에서는 *Penicillium spp.*가 우점종으로 나타났다^{5,24)}. 이는 무화과와 꽃감이 생산시기에 따른 차이라 생각된다. 무화과는 주로 더운 여름철에 생산, 건조하는 과정을 거치기 때문에 최적의 생육온도가 33°C, aflatoxin

생성온도가 16~31°C인 *A. flavus*가 빈번하게 검출된다¹⁸⁾. 이에 반해 꽃감의 경우는 주로 겨울에 생산되기 때문에 -6°C에서도 생육 가능한 *Penicillium spp.*가 주로 검출된다고 보고되고 있다¹⁸⁾. 따라서 꽃감은 겨울에 생산되기 때문에 무화과에 비해 aflatoxin에 대한 위해성은 상대적으로 낮은 것으로 판단된다. 하지만 생산 이후 13°C 이상의 실온에서 보관, 유통할 시에는 꽃감 중에 오염된 *Aspergillus spp.*가 생육하게 되고 이에 의해 aflatoxin을 생성할 가능성이 있으므로 반드시 생산자와 소비자는 꽃감을 냉장 혹은 냉동 보관하여 곰팡이가 생장하여 독소 생성되는 것을 예방하여야 할 것으로 사료된다.

요 약

본 연구는 국내산 꽃감의 미생물 및 aflatoxin에 대한 안전성을 평가하여 꽃감의 안전관리의 기초자료로 활용하고자 수행하였다. 본 연구를 위하여 반건시 34농가, 건시 61농가, 감말랭이 10 농가에서 수집하여 수분활성도와 당도, 위생지표세균 (일반세균수, 대장균군, *E. coli*)과 병원성미생물(*Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella spp.*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus*), aflatoxin을 조사하였다. 감말랭이, 건시, 반건시의 수분활성도는 각각 0.81, 0.86, 0.91 였으며 당도는 감말랭이 54.9%, 건시 49.5%, 반건시 40.5%로 당도와 수분활성도는 반비례 하였다. 꽃감의 일반세균수는 감말랭이 3.93 ± 0.96 log CFU/g, 건시 2.12 ± 0.93 log CFU/g, 반건시 1.50 ± 1.08 log CFU/g로 감말랭이의 오염도가 가장 높았다. 또한 *S. aureus*는 감말랭이 40.0%, 건시 29.5%, 반건시 23.5%의 시료에서 검출되었고, *E. coli*는 건시 6.6%, 반건시 2.9%의 시료에서 검출되었다. *B. cereus*는 건시 39.3%, 반건시 20.6%의 시료에서 검출되었고 검출 수준은 0.7~2.3 log CFU/g이었다. Aflatoxin의 경우는 ELISA법으로 분석했을 때 감말랭이, 건시, 반건시에서 각각 30%, 4.9%, 2.9%가 검출되었고 검출농도는 1.0~1.1 ppb 이었다. ELISA법에서 양성시료를 대상으로 UPLC로 재분석한 결과 aflatoxin은 검출되지 않았다. 본 연구의 결과로 미루어 볼 때 안전한 꽃감 생산을 위한 위생관리기술의 개발과 꽃감생산 농가의 지속적인 위생교육이 필요하다고 사료된다.

감사의 말씀

본 연구는 농촌진흥청 공동연구사업 (과제번호: PJ009272)의 지원에 의해 이루어진 것이다.

참고문헌

1. Hur S.S., Kang B.H., Lee D.S., Lee S.H., Lee J.M.: Quality

- characteristics of domestic dried persimmon and imported dried persimmon. *Korean J. Food Preserv.*, **21(1)**, 140-145 (2014).
2. Lee M.H., Lee S.H., Park S.D., Choi B.S.: The effect of package material and moisture content on storage of dried persimmons at room temperature. *Korean J. Food Preserv.*, **2(2)**, 285-291 (1995).
 3. Hong E.Y., Kim Y.C., Rhe, C.H., Kang W.W., Choi J.U., Chung S.K.: Changes of microflora in processing and preservation of dried persimmon. *Korean J. Food Preserv.*, **8(4)**, 374-378 (2001).
 4. Lee Y.R., Chung H.S., Moon K.D.: Change in the polyphenol content of Cheongdobansi persimmon fruit during development. *Korean J Food Preserv.*, **18**, 13-17 (2011).
 5. Kang B.H., Jo M.Y., Hur S.S., Shin K.S., Lee D.S., Lee S.H., Lee J.M.: Isolation and Identification of Contaminated Organisms on Dried Persimmon. *Korean J Food Preserv.*, **19**, 939-945 (2012).
 6. Kang Y.W., Cho T.Y., Park H.R., Oh K.S., Kim D.S.: Analysis of Total Aflatoxins in Spices and Dried Fruits. *J. Fd Hyg. Safety*, **25(1)**, 65-72 (2010).
 7. Akbas, M.Y., Ozdemir, M.: Application of gaseous ozone to control populations of *Escherichia coli*, *Bacillus cereus* and *Bacillus cereus* spores in dried figs. *Food Microbiol.*, **25**, 386-391 (2008).
 8. European Commission : The Rapid Alert System for Food and Feed (RASFF) Annual Report, p25 (2007).
 9. Kang W.W., Kim J.K., Oh S.L., Kim J.H., Han J.H., Yang J.M., Choi J.U.: Physicochemical characteristics of Sangju traditional dried persimmons during drying process. *J. Korean Soc. Food Sci Nutr.*, **33**, 386-391 (2004).
 10. Park H.W., Cha H.S., Kim S.H., Park H.R., Lee S.A., Kim Y.H.: Effects of grapefruit seed extract pretreatment and packaging materials on quality of dried persimmons. *Korean J Food Preserv.*, **13**, 168-173 (2006).
 11. KFDA: *Korean Food code*. Korea Food and Drug Administration, Seoul, Korea. pp.75-105 (2002).
 12. Choo E.Y., Jang S.S., Kim K.S., Lee K.G., Heu S.G., Ryu S.R.: Prevalence and genetic diversity of *Bacillus cereus* in dried red pepper in Korea. *J. Food Prot.*, **70**, 917-922 (2007).
 13. Park, J.H., Kang, S.J., Oh, S.S. Chung, D.H.: The screening of aflatoxin producing fungi from commercial meju and soybean paste in Western Gyeongnam by immunoassay. *J. Fd Hyg. Safety*, **16(4)**, 274-279 (2001).
 14. Gibson, A.M., Roberts T.A.: The effect of pH, water activity, sodium nitrate and storage temperature on the growth of enteropathogenic *Escherichia coli* and salmonellae in a laboratory medium. *Int. J. Food Microbiol.*, **3**, 183-194 (1986).
 15. Martínez S., Borrajo R., Franco I., Carballo J.: Effect of environmental parameters on growth kinetics of *Bacillus cereus* (ATCC 7004) after mild heat treatment. *Int. J. Food Microbiol.*, **117**, 223-227 (2007).
 16. Nolan D.A., Chamblin D.C., Troller J.A.: Minimal water activity levels for growth and survival of *Listeria monocytogenes* and *Listeria innocua*. *Int. J. Food Microbiol.*, **16**, 323-335 (1992).
 17. Valero A., Pérez-Rodríguez F., Carrasco E., Fuentes-Alventosa J.M., Garca-Gimeno, R. M., Zurera, G.: Modeling the growth boundaries of *Staphylococcus aureus*: Effect of temperature, pH and water activity. *Int. J. Food Microbiol.*, **133**, 186-194 (2009).
 18. Pitt J.I., Hocking A. D.: Fungi and food spoilage. Springer, Newyork, NY, USA. pp.275-337 (2009).
 19. Suk S.U., Park S.C.: Staphylococcal infections. *J. Infection*, **17**, 115-122 (1985).
 20. Kim S.R., Lee J.Y., Lee S.H., Ko H.S., Yoon Y.H., Kwon S.H., Ryu K.Y., Yun H.J., Kim W.I., Yun J.C., Kim D.H., Chung D.H.: Distribution of Hazardous Microorganisms in Perilla Leaf Cultivation Areas. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **43**, 243-248 (2001).
 21. Kim J.S., Shim W.B., Kim J.H., Kim S.B., Chung D.H.: Sanitary microbial distribution at the tomato farms in western Gyeongnam. *Korean J. Env. Hlth.*, **32**, 77-88 (2006).
 22. Kim, H.J., Lee, D.S. and Paik, H.D.: Characterization of *Bacillus cereus* isolated from raw soybean sprouts. *J. Food Prot.*, **67**, 1031-1035 (2004).
 23. Senyuva, H.Z., Gilbert, J., Ulken, U.: Aflatoxins in Turkish dried figs intended for export to the European Union. *J. Food Prot.*, **70**, 1029-1032 (2007).
 24. Heperkan D., Güler F.K., Oktay H.I.: Mycoflora and natural occurrence of aflatoxin, cyclopiazonic acid, fumonisin and ochratoxin A in dried figs. *Food Addit. Contam.*, **29(2)**, 277-286 (2012).