

## Microbial Contamination Levels of Strawberries at Domestic Farms of South Korea

Won-Il Kim\*, A-Ra Jo, Se-Ri Kim, Song Hee Ryu, Ki-Woong Nam<sup>1</sup>, Yohan Yoon<sup>2</sup>, Deok-Hoon Yoon<sup>1</sup>, So-Yong Oh<sup>1</sup>, Myeong Hyeon Nam<sup>3</sup>, Jae-Gee Ryu, and Hwang-Yong Kim

Microbial Safety Team, Department of Crop Life Safety, National Academy of Agricultural Science, RDA, Wanju-gun, 565-851, Republic of Korea

<sup>1</sup>Research Institute of International Agriculture, Technology and Information, Hankyong National University, Ansung, 456-749, Republic of Korea

<sup>2</sup>Department of Food & Nutrition, College of Human Ecology, Sookmyung Women's University, Seoul, 140-742, Republic of Korea

<sup>3</sup>Nonsan Strawberry Experiment Station, Chungnam ARES, Nonsan, 320-862, Republic of Korea

(Received: November 21 2014, Revised: December 24 2014, Accepted: December 25 2014)

Foodborne illness due to the consumption of contaminated raw strawberries is a continuing food safety concern. This study investigated and evaluated contamination levels of bacteria on strawberries at farms stage to evaluate potential hazards associated with fresh strawberries. A total of 315 samples, 105 samples from 5 sampling sites (A to E) of 21 farms and 210 samples from 1 sampling site of 6 farms, was collected every month for four months and analyzed to enumerate aerobic bacterial counts, *Coliforms*/*E. coli*, *Bacillus cereus* and *Staphylococcus aureus*. In addition, the prevalence study of five pathogens (*S. aureus*, *E. coli*, *E. coli* O157:H7, *Salmonella* spp. and *Listeria monocytogenes*) was performed on each sample. Aerobic bacterial counts ranged from 0.48 to 6.36 Log CFU/g, with the highest bacterial cell counts recorded for D and E sites. Coliforms were detected in 71 samples (22.5%) with a minimum of 0.48 cfu/g and a maximum of more than 4 Log CFU/g. *B. cereus* was detected in 98 samples (31.1%) among total samples analyzed. *S. aureus* was detected in 2 samples with a minimum of 0.48 Log CFU/g and a maximum of 1.38 Log CFU/g. *E. coli*, *E. coli* O157:H7, *Salmonella* spp. and *L. monocytogenes* were not isolated from any of the samples. The microbial contamination levels of strawberries determined in this study may be used as the fundamental data for microbiological risk assessment.

**Key words:** Strawberry, Microbiological quality, Food-borne pathogen

### Contamination levels of indicator bacteria in strawberries with sampling months.

Sam- pling time	No. of farms	No. of sample units	Percentage(%) of samples in the indicated interval : Total aerobic bacteria					Percentage(%) of samples in the indicated interval : Coliforms					Percentage(%) of samples in the indicated interval : <i>B. cereus</i>								
			Range					Range					Range								
			<2 <sup>a</sup>	2-3	3-4	4-5	>5	<1	1-2	2-3	>3	<1	1-2	2-3	>3						
Feb.	6	60	3.3	20.0	48.3	25.0	3.3	1.90-5.07	3.57±0.759A	95.0	3.3	1.6	0.0	ND <sup>c</sup> -2.46	0.17±0.475A	95.0	3.3	1.6	0.0	ND-2.46	0.17±0.607B
Mar.	6	60	15.0	21.6	38.3	18.3	6.6	1.48-5.18	3.26±0.994A	71.6	5.0	16.6	6.6	ND-4.78	0.74±1.284B	71.6	5.0	16.6	6.6	ND-4.78	0.74±0.468B
Apr.	6	30	10.0	26.6	43.3	13.3	6.6	1.95-5.37	3.31±0.885A	83.3	6.6	10.0	0.0	ND-2.49	0.34±0.787A	83.3	6.6	10.0	0.0	ND-2.49	0.34±0.448B
May	6	60	23.3	25.0	16.6	21.6	13.3	1.48-5.82	3.30±1.359A	85.0	5.0	5.0	5.0	ND-3.28	0.36±0.850A	85.0	5.0	5.0	5.0	ND-3.28	0.36±0.337A

<sup>a</sup>The unit of number is Log CFU/g.

<sup>b</sup>Standard deviation.

<sup>c</sup>Not detected.

\*Corresponding author : Phone: +82632383396, Fax: +82632383840, E-mail: kimwi@korea.kr

<sup>§</sup>Acknowledgement: This study was carried out with the support of the "Cooperative Research Program for Agricultural Science and Technology Development (Project No. PJ009404)," Rural Development Administration, Republic of Korea.

## Introduction

국민들의 생활 수준 향상 및 건강에 대한 관심이 고조되면서 별도의 조리과정 없이 섭취하는 신선 농산물의 소비량이 계속해서 증가하고 있다 (Burnett and Beuchat, 2001; Tian et al., 2012). 그 중에서 딸기는 주요 신선 섭취 농산물로써 국내 생산액이 2012년 기준 11,888억원으로 우리나라 전체 채소 생산액 (101,537억원)의 약 11.7%를 차지하는 중요한 농가의 소득원이다 (농촌진흥청, 2013). 2000년대 국내 딸기 생산량은 평균 약 20만 톤으로 80년대에 비해서는 약 2.9배, 90년대에 비해서는 약 1.4배 증가하였다 (통계청, 2010). 딸기는 국내에서 대부분 생식용으로 이용되고 있으며, 일부는 잼, 아이스크림, 주스 등의 가공식품 원료로도 이용되고 있다 (Lee et al., 2012). 한편, 국외에서는 *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157과 같은 식중독을 일으키는 병원성 미생물이 오염된 과채류 섭취에 따른 식중독 사고가 가정, 외식업체 등에서 발생하여 많은 인명 및 재산 피해를 가져와 (CDC, 2007), 소비자들이 신선 농산물의 안전성에 대한 우려를 표하고 있기도 하다. 국내에서는 딸기가 원인이 된 식중독 사고 발생 사례가 보고된 바 없으나, 미국의 경우 *E. coli* O157:H7 등과 같은 인체 병원성 미생물이 오염된 신선 딸기 섭취에 의한 식중독 사고가 보고된 바 있다 (The Marler Clark Network, 2013). 각 종 인체 병원성 미생물들은 생산과정에서 오염된 토양, 관개용수, 야생동물, 곤충 등에 의해 매개될 수 있고, 수확, 수확 후 처리, 가공, 포장 등의 처리과정 중에서도 비위생적인 작업자, 작업환경 등에 의해 교차오염이 일어날 수 있다 (Koseki and Isobe, 2005). 일반적으로 농장에서 바로 섭취하는 과일, 채소가 안전한 것으로 여겨지지만 (Ackers et al., 1998; Beuchat, 1996; De Roever, 1998; Mead et al., 1999), 생산단계에 있는 그것에도 인체 병원성 미생물이 존재할 가능성이 있다. *Salmonella* spp., *E. coli* O157:H7 등의 인체 병원성 미생물들이 농산물에 오염된 이후에는 농산물 품질 유지 등의 이유로 완전히 제거하기가 어려우므로 (Beuchat and Scouten, 2002), 병원성 미생물이 오염되기 전에 사전 예방적으로 관리해야만 한다. 국내의 딸기의 생물학적 위해 요소에 관한 연구 현황으로는 수확단계 딸기의 생물학적 위해 요소 분석 (Shim et al., 2013), 재배단계 딸기의 각 종 위해 요소 분석 (Lee et al., 2012), 유통단계 딸기의 생물학적 위해 요소 분석 (Yu et al., 2009), 재배방식에 따른 딸기의 생물학적 위해 요소 분석 (Yu et al., 2013) 등이 수행되었으나, 딸기 시료 수집지 및 분석시기가 한 지역 또는 특정한 시기로 국한되어 있어서 국내의 전반적인 생물학적 위해 요소 오염 특성을 나타내기에는 한계가 있다. 따라서 본 연구는 국내 주요 생산단계 딸기 생산지를 대상으로 딸기의 위생지표세균 및 유해미생물 오염도를 조사하였고 딸기의 주

요 수확 시기별로 오염도의 변화 양상 조사를 통해 국내 생산단계 딸기의 전반적인 위생지표세균 및 유해미생물 오염 특성을 규명하고자 한다.

## Materials and Methods

**주산지의 딸기 시료 수집** 경남 소재 2지역 (9호 농가), 경북 소재 1지역 (4호 농가), 전북 소재 1지역 (4호 농가), 전남 소재 1지역 (4호 농가)으로 총 5개 지역 (21호 농가)에서 딸기 (*Fragaria ananassa* Duch.) 시료를 수집하였다. 딸기는 완숙되어 출하가 가능한 과실을 대상으로 무작위로 채취하였고, 3개의 과실을 1점의 시료로 정하여 1호 농가당 5점, 총 105점의 시료를 수집하였다. 시료를 수집할 때에는 교차오염을 방지하고 미생물 밀도 변화를 최소화하기 위하여 멸균된 장갑을 착용하여 폴리에틸렌 재질의 봉투에 시료를 채취한 후, 즉시 냉장박스에 보관·이송하여 빠른 시간 내에 분석하였다.

**시기별 딸기 시료 수집** 충남 소재 1개 지역 내 6호의 농가에서 2, 3, 4, 5월에 각 월별 1회씩 딸기 시료를 수집하였다. 위와 같은 방법으로 시료를 채취하여 총 210점을 수집·분석하였다.

**위생지표세균 오염도 조사** 위생지표세균인 일반호기성세균과 대장균군/대장균의 오염도를 정량적으로 분석하였다. 딸기 시료를 stomacher bag에 넣고 1:3 (w/v)의 비율로 0.1% peptone water를 더해 Pulsifier PUL 100E (Microgen, UK)로 15초 동안 균질화하였다. 일반호기성세균수 측정을 위해 Pulsifier로 균질화한 희석용액 1 mL을 취해 건조배지 (Aerobic Count Plant, 3M, Minn, USA)에 분주한 후 30°C 배양기에서 48시간 동안 배양하여 나타난 colony의 수를 계수하였다. 대장균군/대장균 (*Coliforms/E. coli*)의 밀도 측정을 위해 희석용액 1 mL을 취해 건조배지 (*Coliforms/E. coli* Count Plate, 3M, USA)에 분주한 후 37°C 배양기에서 24시간 동안 배양하여 대장균군 및 대장균으로 의심되는 colony의 수를 계수하였다.

**유해미생물 오염도 조사** 수집한 딸기 시료에 대해 *Bacillus cereus*와 *Staphylococcus aureus*의 오염도를 정량적으로 분석하였다. *B. cereus* 오염도 조사를 위해 균질화한 희석용액을 0.25 mL씩 4개의 Mannitol Egg Yolk Polymyxin Agar (MYP, OXOID, UK)에 각각 분주하여 도말하였다. 30°C 배양기에서 24시간 동안 배양한 후 *B. cereus*로 의심되는 colony의 수를 세었다. 보다 정확한 세균동정을 위해 시료당 5개의 의심되는 colony를 MYP에 계대배양한 후 Nutrient Agar (NA, BD, USA) 배지를 이용해 순수분리 하였다. 분리된 균

주는 *B. cereus* Detection Kit (JS-BC050, Jinsung Uni-tech, Korea)을 이용한 *groEL*, *ces*, *cry1* 유전자 유무를 판별해서 *B. cereus* 진위를 검정하였다. 검정방법은 각 균주의 chromosomal DNA를 boiling 방법으로 추출하여 template DNA를 얻었다. Micro-tube에 master mixture (멸균수 14,875, buffer 2.5, dNTP 0.5, *cry1* forward primer 1, *cry1* reverse primer 1, *groEL* forward primer 1, *groEL* reverse primer 1, *ces* forward primer 1, *ces* reverse primer 1, *Taq* polymerase 0.125 uL) 24 uL와 template DNA 1 uL를 분주한 후 중합효소연쇄반응 장비 (C1000™ Thermal Cycler, Biorad, USA)를 이용하여 특이 염기서열을 증폭하였다 (Kim et al., 2012). 반응조건은 1. 95°C에서 2분, 2. 95°C에서 20초, 3. 61°C에서 20초, 4. 72°C에서 20초, 5. 72°C에서 2분으로 하였고 2번에서 4번 과정은 30 cycle로 설정하였다. 반응 후 증폭산물의 전기영동을 통하여 target gene인 *cry1* (138bp), *groEL* (250bp), *ces* (405bp)의 band 유무를 판별하였다. 판별된 *B. cereus* 수를 최초로 측정하였던 추정 colony의 수에 대입해 최종 세균수를 산정하였다. *S. aureus* 오염도 조사를 위해 균질화한 희석용액을 0.25 mL씩 4개의 Baird-Parker (BP, OXOID, UK)에 각각 분주하여 도달한 후 37°C의 배양기에서 48시간 동안 배양하였다. *S. aureus*로 의심되는 colony를 Nutrient Agar에 순수분리한 후 VITEK® 2 (BIOMERIEUX, France)를 이용해 분석·동정하여 *S. aureus* 진위를 판별하였다.

*S. aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* spp.의 오염도를 정성적으로 분석하였다. 각 세균의 선택적 증균배지인 Baird-Parker (BP, OXOID, UK), Fraser Listeria (OXOID, UK), E. coli (EC, OXOID, UK), modified E. coli (mEC, OXOID, UK), Rappaport-Vassiliadis R-10 (RV, OXOID, UK)를 사용하였다. 딸기 시료를 stomacher bag에 넣고 1:3 (w/v) 비율로 각각의 증균용액을 더해 37°C 배양기에서 24시간 동안 증균배양하였다. 증균용액을 각 세균의 선택배지인 BP,

Oxford agar, Eosin-Methylene Blue agar (EMB, OXOID, UK), Sorbitol Macconkey agar (SMA, OXOID, UK), Xylose lysine deoxycholate agar (XLD, OXOID, UK)에 멸균된 백금이를 사용하여 분리·배양하였으며 각 세균의 생장에 적절한 온도의 배양기에서 배양하였다. 배양한 후, 각 선택배지 별로 병원균으로 의심되는 균주를 육안으로 선별하고 의심되는 colony를 NA배지에 순수분리하였다. 분리한 균주는 정확한 동정을 위해 VITEK® 2 (BIOMERIEUX, France)를 이용해 최종 동정하였다.

**통계적 분석** 딸기의 지역별, 시기별 위생지표세균 및 유해미생물 오염도 조사로부터 얻은 결과값에 대해 일원배치분산분석 (one-way ANOVA)법으로 시기별 오염도 차이를 비교하였고, 분산분석 결과가 유의한 수준일 경우 ( $p < 0.05$ ), LSD법으로 다중검정을 실시하였다. 위의 분석은 SAS 9.2 소프트웨어 (SAS Institute Inc., USA)를 이용하여 실시하였다.

## Results and Discussion

**딸기의 위생지표세균 및 유해미생물 오염도, 위생지표세균 (일반호기성세균, Coliforms)** 일반호기성세균의 밀도를 식품의 생산, 가공 및 유통상의 위생조건 및 잠재적 식품 부패 등을 판정할 수 있는 지표로 유용하게 사용될 수 있으며, 대장균군 (Coliforms)은 식품위생상 분변오염의 지표로 사용되고 있다 (강상태 등, 2004). 본 연구에서는 국내 딸기의 전반적인 위생지표세균 오염도를 파악하기 위해 총 5지역 (21개 농가)에서 수집한 생산단계 딸기의 일반호기성세균, Coliforms의 오염도를 분석하였다 (Table 1). 대상 지역 및 농가의 딸기의 일반호기성세균 오염도는 평균 3.37 Log CFU/g, 0.48 - 6.36 Log CFU/g 범위, 대장균군의 오염도는 평균 0.41 Log CFU/g, N.D. (Not detected) - 2.48 Log CFU/g 범위인 것으로 나타났다. 시료수집 지역별 딸기

**Table 1. Contamination levels of indicator bacteria in strawberries with sampling sites.**

Sampling sites	No. of farms/site	No. of sample units	Percentage(%) of samples in the indicated interval :							Range	Mean ± S.D. <sup>b</sup>	Percentage(%) of samples in the indicated interval : Coliforms			Range	Mean ± S.D.
			Total aerobic bacteria													
			<2 <sup>a</sup>	2-3	3-4	4-5	5-6	>6	<1			1-2	>2			
A	5	25	60	20	4	16	0	0	0.48-4.82	1.99±1.372A	88	12	0	ND <sup>c</sup> -1.95	0.31±0.613A	
B	4	20	55	20	10	15	0	0	0.48-4.72	2.09±1.344A	100	0	0	ND-0.48	0.02±0.107A	
C	4	20	55	30	15	0	0	0	1.48-3.65	2.09±0.704A	100	0	0	ND-0.48	0.05±0.147A	
D	4	20	5	5	35	50	5	0	1.95-5.00	3.91±0.720B	85	10	5	ND-2.48	0.33±0.709A	
E	4	20	5	35	10	15	30	5	1.48-6.36	3.91±1.363B	85	5	10	ND-2.38	0.31±0.717A	

<sup>a</sup>The unit of number is Log CFU/g.

<sup>b</sup>Standard deviation.

<sup>c</sup>Not detected.

의 위생지표세균 오염도는 통계적으로 같거나 유의한 차이가 있는 것으로 나타났는데 (Table 1), 이러한 차이는 시료 수집시기의 차이에 따른 미생물 증식요건에 영향을 미치는 환경조건 (기온, 습도 등) 차이, 토양재배, 수경재배 등 해당지역 및 농가별 딸기 재배유형의 차이에 따른 토양으로부터 미생물 오염 정도 차이, 작물의 생육단계 차이에 따른 토양으로부터 과실의 이격거리, 생육환경 (기온, 습도 등), 재배환경의 생물학적 위해요소 오염도 (토양, 관개용수 등), 작업자위생 상태 등 여러 가지 요인이 영향을 미치는 것으로 판단된다. 유 등 (Yu et al., 2009)은 백화점과 대형할인매장에서 수집한 딸기 시료에서 일반호기성세균의 밀도가 각 평균 5.25, 4.97 Log CFU/g, 대장균군의 밀도가 각 평균 3.98, 3.91 Log CFU/g로 나타난 것으로 보고하였다. 본 연구의 생산단계 딸기의 위생지표세균의 평균 밀도와 비교해 봤을 때 비교적 높은 밀도로 나타난 것인데 이것은 분석시료의 background microflora의 밀도 차이, 수확 및 수확 후 처리 과정 중 교차오염 발생 혹은 유통과정 중 미생물 밀도 변화 등에 의한 것으로 추측된다. 심 등 (Shim et al., 2013)은 딸기의 재배환경 (토양, 물), 작업자 (손, 장갑, 작업복), 수확도구 (수확상자)의 일반호기성세균 및 대장균군의 밀도를 조사하였고, 이러한 환경에 존재하는 미생물들이 딸기의 수확 및 수확 후 처리 과정 중 과실에 직접 닿아 교차오염이 될 가능성이 있음을 시사하였다. 재배환경에 존재하는 미생물이 농작물로 이행될 가능성은 존재하며, 특히 오염된 관개수를 통한 유해미생물의 작물로의 이동성은 여러 연구자에 의해 밝혀진바 있다 (Tyrrel et al., 2006; Mitra et al., 2009; Steele and Odumeru, 2004). 그리고 농산물은 재배단계 중 노출된 환경뿐 아니라 수확단계에서도 작업자, 수확바구니 등과 접촉되어 유해미생물의 교차오염이 일어날 가능성이 있고, 수확된 이후에도 세척, 절단, 저장 등의 여러 단계를 거치는 동안 유해미생물의 교차오염과 증식이 발생할 수 있는 것으로 알려져 있다 (Wachtel and Charkowski, 2002; Kroupitski et al., 2009; Ukuku and Sapers, 2007; Gagliardi et al., 2003). 유 등 (Yu et al., 2013)이 보고한 생산단계 딸기의 부위별 위생지표세균 오염도 분석에서는 딸기 과실에서 일반호기성세균이 2.3 - 6.8 Log CFU/g, 대장균군이 2.1 - 4.5 Log CFU/g 범위로 나타나 본 연구의 일반호기성세균의 오염도 범위와 유사한 것으로 나타났다. 다만, 대장균군의 평균 및 오염도 범위는 다소 차이가 있는데 이는 딸기의 재배방식 (수경, 토경) 및 재배형태 (일반, 무농약, 유기농)의 차이에 따른 것으로 판단된다. 본 연구에서도 수경재배법에 비해 토경재배법으로 생산된 딸기에서 일반호기성세균, 대장균군, *B. cereus*의 오염도가 상대적으로 높게 나타났는데 (data not shown), 이는 생산단계 주요 오염원인 토양과 밀접한 관계가 있는 것으로 판단된다. 위생지표세균을 비롯하여 병원성 미생물 등의 교차오염을 예방

하기 위해서는 딸기 재배, 수확, 수확 후 처리 등의 과정에 있어서 농자재, 작업장, 작업복 및 작업도구, 작업자의 위생관리가 중요하다.

**유해미생물** 딸기는 과육이 연약하여 수확 후 처리 과정에서도 세척과 같은 별도의 과정이 없고, 일반적으로 생 것으로 섭취하는 경우가 많다. 국외의 경우에는 *S. enterica*, *E. coli* O157:H7와 같은 병원성 미생물에 오염된 딸기 섭취에 의한 식중독 사고가 보고된 바 있다 (Calder et al., 2003; CDC, 2013). 또한 이집트에서 생산단계 딸기 과실에서 *Salmonella* spp.는 28%, *E. coli*는 72%의 비교적 높은 빈도로 검출되었다고 보고된 바 있다 (Uyttendaele et al., 2014). 지금까지 국내에서는 딸기 섭취에 따른 식중독 사고 발생이 보고된 적이 없고, 생산단계 및 판매단계 딸기에서 위와 같은 유해미생물이 검출된 사례는 없다. 본 연구에서는 국내 생산단계 딸기의 유해미생물 오염도 조사를 수행하였고, *B. cereus*를 제외한 *S. aureus*, *E. coli*, *E. coli* O157:H7, *Salmonella* spp., *L. monocytogenes*은 검출되지 않았다 (data not shown). *B. cereus*는 총 105점 시료 중 73점 (69.5%)의 시료에서 검출되었고, 정량적으로 1점을 제외하고는 모두 2 Log CFU/g 이하의 비교적 낮은 오염도를 나타냈다 (data not shown). *B. cereus*의 경우에는 구토형 또는 설사형 독소를 생성하여 인체에 해를 일으키는데, 일반적으로 매개식품 내에 5 - 8 Log CFU/g으로 존재할 때 생활활성이 있는 것으로 알려져 있다 (식품의약품안전처, 2010). 본 연구결과에서는 병원성 미생물의 오염도에 있어 우려할만한 결과는 나타나지 않았다. 하지만 병원성 미생물은 그 오염경로가 다양하고, 딸기는 가열 등 'kill-step'이 없이 신선 섭취하는 경우가 대부분이므로 생산단계에서부터 철저한 위생관리를 통해 안전성을 확보해야만 한다.

#### 시기별 딸기의 위생지표세균 및 유해미생물 오염도

시기별 딸기의 위생지표세균 및 유해미생물 오염도 변화를 조사하기 위하여 시료 수집 시기를 딸기 과실의 주요 수확기인 2월에서 5월까지로 하였고, 딸기 재배력 및 위생관리의 편차를 줄이기 위해 4개 농가의 동일한 필지에서 시료를 수집·분석하였다. 위생지표세균 중 일반호기성세균의 경우에는 2, 3, 4, 5월에 각각 1.90 - 5.07, 1.48 - 5.18, 1.95 - 5.37, 1.48 - 5.82 Log CFU/g 범위로 나타났고, 평균값은 각각 3.57, 3.26, 3.31, 3.30 Log CFU/g로써 시기에 따른 일반호기성세균의 오염도는 유의한 변화는 없는 것으로 나타났다 (Table 2). 대장균군의 경우에도 3월의 오염도를 제외하고 나머지 시기는 유의한 차이는 없었으며 3월은 다른 시기에 비해 비교적 오염도가 높은 것으로 나타났다. *B. cereus*의 경우 5월이 다른 시기에 비해 오염도가 낮게 나타났는데, 이는 작물이 성장함에 따라 토양과 딸기 과실의 간

**Table 2. Contamination levels of indicator bacteria in strawberries with sampling months.**

Sam- pling time	No. of sam- pling farms	No. of sample units	Percentage(%) of samples in the indicated interval : Total aerobic bacteria					Range	Mean ± S.D. <sup>b</sup>	Percentage(%) of samples in the indicated interval : Coliforms					Range	Mean ± S.D.	Percentage(%) of samples in the indicated interval : <i>B. cereus</i>					Range	Mean ± S.D.
			< <sup>a</sup>	2-3	3-4	4-5	>5			<1	1-2	2-3	>3	<1			1-2	2-3	>3				
			Feb.	6	60	3.3	20.0			48.3	25.0	3.3	1.90-5.07	3.57±0.759A			95.0	3.3	1.6	0.0	ND <sup>c</sup> -2.46		
Mar.	6	60	15.0	21.6	38.3	18.3	6.6	1.48-5.18	3.26±0.994A	71.6	5.0	16.6	6.6	ND-4.78	0.74±1.284B	71.6	5.0	16.6	6.6	ND-4.78	0.74±0.468B		
Apr.	6	30	10.0	26.6	43.3	13.3	6.6	1.95-5.37	3.31±0.885A	83.3	6.6	10.0	0.0	ND-2.49	0.34±0.787A	83.3	6.6	10.0	0.0	ND-2.49	0.34±0.448B		
May	6	60	23.3	25.0	16.6	21.6	13.3	1.48-5.82	3.30±1.359A	85.0	5.0	5.0	5.0	ND-3.28	0.36±0.850A	85.0	5.0	5.0	5.0	ND-3.28	0.36±0.337A		

<sup>a</sup>The unit of number is Log CFU/g.

<sup>b</sup>Standard deviation.

<sup>c</sup>Not detected.

격이 늘어나 *B. cereus*의 주요 오염원인 토양으로부터의 교차오염 가능성이 줄어들기 때문인 것으로 판단된다. 간접적인 사례로 본 연구의 시료수집 대상 농가 중 토경재배 (19호 농가) 시료와 수경재배 (8호 농가) 시료의 일반호기성세균, 대장균군, *B. cereus*의 오염도를 비교해 보았을 때, 토양재배는 각 평균 3.17, 0.29, 0.20 Log CFU/g, 수경재배는 각 평균 2.47, 0.25, 0.15 Log CFU/g로써 수경재배에 비해 토경재배 농가의 시료에서 오염도가 상대적으로 높게 나타난 것을 확인할 수 있었다 (data not shown). 토양은 관개, 범람, 부적절한 퇴비 사용 등 여러 경로를 통해 병원성 미생물에 오염될 수 있다고 알려져 있으며 (Santamaria and Toranzos, 2003), 유사한 작물의 사례로써 Barak과 Liang (Barak and Liang, 2008)은 *Salmonella enterica*와 같은 인체병원균을 토양에 인위적으로 접종하였을 때 6주 이상 생존이 가능하여 이것이 토마토 식물체의 과실, 잎, 줄기 등의 지상부로 오염되어 장기간 생존이 가능하다는 것을 보고하였다. 본 연구에서는 시기별로 수집한 딸기에서 *S. aureus*, *E. coli*, *E. coli* O157:H7, *Salmonella* spp., *L. monocytogenes* 모두 불검출로 나타났다. 생산단계 딸기의 안전성 향상을 위해서는 관개, 범람, 야생동물 출입 등을 통한 외부로부터의 토양 오염을 방지하고 충분히 부숙된 퇴비를 사용하며 비닐필름 등을 이용한 멀칭과 같은 토양피복을 통해 흙이 과실로 묻지 않도록 관리하는 것이 필요하다.

### Conclusion

본 연구는 생산단계 딸기를 국내 5개 지역 소재의 21호 농가에서 총 105점의 시료를 수집하여 위생지표세균 및 유해미생물의 오염도를 분석하였다. 또한 주산지 1개 지역의 6호 농가를 대상으로 시기별 (2, 3, 4, 5월)로 총 210점의 시료에 대해 위생지표세균 및 유해미생물의 오염도를 조사하였다. 생산단계 딸기의 위생지표세균 중 일반호기성세균은 0.48 - 6.36 Log CFU/g 범위로 나타났고, Coliforms는 ND

- 4.78 Log CFU/g 범위로써 105점 시료 중 53점 (50.4%)에서 검출되었다. *B. cereus*의 경우에는 105점의 시료 중 73점 (69.5%)에서 검출되었고 1점을 제외하고는 모두 2 Log CFU/g 이하인 것으로 나타났다. 시기별 조사에서는 3월의 대장균군의 밀도가 다른 시기에 비해 유의하게 높았고, 5월의 *B. cereus*가 다른 시기에 비해 유의하게 낮은 것으로 나타났다. 본 연구에서 수행한 *S. aureus*, *E. coli*, *E. coli* O157:H7, *Salmonella* spp., *L. monocytogenes* 오염도 조사에서는 이들 모두 불검출로 나타났다. 본 연구는 국내 생산단계 딸기의 위생지표세균 및 유해미생물 오염도를 조사를 통해 지역별 또는 농가별로 위생지표세균 오염도가 유의한 차이가 있는 것을 확인하였고, 시기별 유해미생물 조사결과를 통하여 토양으로부터의 이격거리가 *B. cereus*의 오염도에 상관성이 있음을 간접적으로 시사하였다. 본 연구결과는 생산단계 농산물 안전성 향상 및 국내 딸기의 미생물 위해성평가 (Microbiological Risk Assessment)의 기초자료로 활용될 수 있을 것으로 기대한다.

### References

- Tian, J. Q., Bae, Y. M., Choi, N. Y., Kang, D. H., Heu, S. and Lee, S. Y. 2012. Survival and growth of foodborne pathogens in minimally processed vegetables at 4 and 15°C. *J. Food Sci.*, 77(1):M48-M50.
- RDA(Rural Development Administration). 2013. Strawberry, pp. 20.
- Statistics Korea. Korean Statistical Information Service (<http://kosis.kr>).
- Lee, C. Y., Lee, W. G., Song, J. E., Kim, K. Y., Shim, W. B., Yoon, Y. H., Kim, Y. S. and Chung, D. H. 2012. Hazard analysis for the cultivation stage of strawberry farms for securing preliminary data to establish the Good Agricultural Practices. *J. Agric. Life Sci.*, 46(3):97-108.
- Centers for Disease Control and Prevention (CDC). 2007. Morbidity and mortality weekly report (MMWR). 56(35):909-911.

- The Marler Clark Network: Foodborne illness outbreak database. <http://outbreakdatabase.com>.
- Koseki, S. and Isobe, S. 2005. Prediction of pathogen growth on iceberg lettuce under real temperature history during distribution from farm to table. *Int. J. Fd. Microbiol.*, 104:239-248.
- Ackers, M. L., Mahon, B. E., Leahy, E., Goode, B. Damrow, T., Hayes, P. S., Bibb, W. F., Rice, D. H., Barrett, T. J., Hutwagner, L., Griffin, P. M. and Slutsker, L. 1998. An outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infections associated with leaf lettuce consumption. *J. Infect. Dis.*, 177:1588-1593.
- Beuchat, L. R. 1996. *Listeria monocytogenes*: incidence on vegetables. *Food Control*, 7, 223-228.
- De Roever, C. 1998. Microbiological safety evaluations and recommendations on fresh produce. *Food Control*, 9:321-347.
- Mead, P. S., Slutsker, L., Dietz, V., McCaig, L. F., Bresee, J. S., Shapiro, C., Griffin, P. M. and Tauxe, R. V. 1999. Food-related illness and death in the United States. *Emerg. Infect. Dis.*, 5:607-625.
- Beuchat, L. R. and Scouten, A. J. 2002. Combined effects of water activity, temperature and chemical treatments on the survival of *Salmonella* and *Escherichia coli* O157:H7 on alfalfa seeds. *J. Appl. Microbiol.*, 92:382-395.
- Shim, W. B., Kim, K. Y., Yoon, Y. H., Kim, J. E., Shim, S. I., Kim, Y. S. and Chung, D. H. 2013. Microbiological hazard analysis for strawberry farms at the harvest stage to establish Good Agricultural Practices (GAP) model based on principle of HACCP. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 45(1):104-110.
- Lee, C. Y., Lee, W. G., Song, J. E., Kim, K. Y., Shim, W. B., Yoon, Y. H., Kim, Y. S. and Chung, D. H. 2012. Hazard analysis for the cultivation stage of strawberry farms for securing preliminary data to establish the Good Agricultural Practices. *J. Agriculture & Life Science*, 46(3):97-108.
- Yu, Y. M., Youn, Y. N., Hua, Q. J., Cha, G. H. and Lee, Y. H. 2009. Biological hazard analysis of paprikas, strawberries and tomatoes in the markets. *J. Fd Hyg. Safety.*, 24:174-181.
- Yu, Y. M., Kim, J. W., Choi, I. W., Youn, Y. N. and Lee, Y. H. 2013. Bacterial contamination levels in strawberry parts according to their cultivation methods. *Korean J Food Preserv*, 20(3): 323-329.
- Kim, W. I., Jung, H. M., Kim, S. R., Park, K. H., Kim, B. S., Yun, J. C. and Ryu, K. Y. 2012. Investigation of microbial contamination levels of leafy greens and its distributing conditions at different time - Focused on perilla leaf and lettuce -. *J. Fd Hyg. Safety*, 27(3):277-284.
- Kang, S.T. and Yun, J.Y. 2004. Food Microbiology. pp. 414-430.
- Tyrrel, S.F., Knox, J.W. and Weatherhead, E.K. 2006. Microbiological water quality requirements for salad irrigation in the United Kingdom. *J. Food Prot.*, 69(8):2029-2035.
- Mitra, R., Cuesta-Alonso, E., Wayadande, A., Talley, J., Gilliland, S. and Fletcher, J. 2009. Effect of route of introduction and host cultivar on the colonization, internalization, and movement of the human pathogen *Escherichia coli* O157:H7 in spinach. *J. Food Prot.*, 72:1521-1530.
- Steele, M. and Odumeru, J. 2004. Irrigation water as source of foodborne pathogens on fruit and vegetables. *J Food Prot.*, 67(12):2839-2849.
- Wachtel, M. R. and Charkowski, A. O. 2002. Cross-contamination of lettuce with *Escherichia coli* O157:H7. *J Food Prot.*, 65:465-470.
- Kroupitski, Y., Pinto, R., Brandl, M. T., Belausov, E. and Sela, S. 2009. Interactions of *Salmonella enterica* with lettuce leaves. *J. Appl Microbiol*, 106:1876-1885.
- Ukuku, D. O. and Sapers, G. M. 2007. Effect of time before storage and storage temperature on survival of *Salmonella* inoculated on fresh-cut melons. *Food Microbiol*, 24:288-295.
- Gagliardi, J. V., Millner, P. D., Lester, G. and Ingram, D. 2003. On-farm and postharvest processing sources of bacterial contamination to melon rinds. *J. Food Prot.*, 66:82-87.
- Calder, L., Simmons, G., Thornley, C., Taylor, P., Pritchard, K., Greening, G. and Bishop, J. 2003. An Outbreak of Hepatitis A Associated with Consumption of Raw Blueberries. *Epidemiol. Infect.* 131(1):745-751.
- CDC (Centers for Disease Control and Prevention). Foodborne outbreak online database (FOOD). Data retrieved from <http://wwwn.cdc.gov/foodborneoutbreaks/Default.aspx>.
- Uyttendaele, M., Moneim, A. A., Ceuppens, S. and Tahan, F. E. 2014. Microbiological safety of strawberries and lettuce for domestic consumption in Egypt. *J. Food Process Technol.*, 5:308. doi: 10.4172/2157-7110.1000308.
- Ministry of Food and Drug Safety. 2010. *Bacillus cereus* (Risk Profile). pp. 3-4.
- Santamaría, J. and Toranzos, G. A. 2003. Enteric pathogens and soil: a short review. *Int. Microbiol.*, 6:5-9.
- Barak, J. D. and Liang, A. S. 2008. Role of soil, crop debris, and a plant pathogen in *Salmonella enteric* contamination of tomato plants. *PLoS One*, 3(2):e1667.