pISSN 1229-1153 / eISSN 2465-9223 *J. Food Hyg. Saf.*
Vol. 31, No. 4, pp. 264~271 (2016)
http://dx.doi.org/10.13103/JFHS.2016.31.4.264

Journal of Food Hygiene and Safety
Available online at http://www.foodhygiene.or.kr

어린잎채소 생산 농장의 위생지표세균과 병원성미생물 오염도 조사

이은선 · 곽민규 · 김원일 · 안현미 · 이효섭[1] · 류송희[1] · 김황용[2] · 류재기 · 김세리*

농촌진흥청 국립농업과학원 농산물안전성부 유해생물팀,
[1]농촌진흥청 국립농업과학원 화학물질안전과, [2]농촌진흥청 국외농업기술과

Investigation of Microbial Contamination Level during Production of Baby Leafy Vegetables

Eun-Sun Lee, Min-Gyu Kwak, Won-Il Kim, Hyun Mi An, Hyo-Sup Lee[1], Song-Hee Ryu[1], Hwang-Yong Kim[2], Jae-Gee Ryu, and Se-Ri Kim*

Microbial Safety Team, Agro-Food Safety & Crop Protection Department, NAS, RDA, Wanju 55365, Republic of Korea
[1]Chemical Safety Division, Agro-Food Safety and Crop Protection Department, NAS, RDA, Wanju 55365, Republic of Korea
[2]Division for Korea Program on International Agriculture, Technology Cooperation Bureau, RDA, Jeonju 54875, Republic of Korea

(Received June 28, 2016/Revised July 4, 2016/Accepted August 10, 2016)

ABSTRACT - The purpose of this study was to investigate contamination sources of baby leafy vegetables by assessing microbial loads on baby leafy vegetables and agricultural inputs contacted with the vegetables. To estimate microbial loads, fecal indicators (coliform and *Escherichia coli*) and foodborne pathogens (*E. coli* O157:H7, *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, and *Bacillus cereus*) were examined. A total of 126 samples including eleven kinds of leafy vegetables, irrigation water, media, and tools were tested, resulting in coliform contamination observed from most of samples. For *E. coli*, 10.3% (13/126) of the samples were positive including irrigation water, knife, handler, media, tools, and three kinds of leafy vegetables. *B. cereus* was detected from 38% (48/126) of the samples including media, tools and three kinds of leafy vegetables. No *E. coli* O157:H7, *Salmonella* spp., and *L. monocytogenes* was detected. This result implies that contacting with agricultural inputs could explain microbial load of baby leafy vegetables.

Key words: Baby leaf vegetables, sanitary indication bacteria, food borne pathogens

최근 소비자들은 생활수준이 향상됨에 따라 웰빙이나 로하스와 같은 건강한 삶에 대한 관심이 높아지고 있으며 농산물 선택에 있어서도 신선하고 보기 좋은 농산물을 넘어 기능성이 높은 농산물을 선호하는 추세이다[1]. 이러한 농산물 소비 성향의 변화에 따라 식이섬유를 비롯한 무기염류나 비타민과 같은 영양소들이 풍부한 어린잎채소의 소비가 늘어나고 있다[2-3].

어린잎채소는 물에 세척을 한 후 생으로 바로 섭취하는 샐러드용, 비빔밥 등에 많이 이용되고 있으며[4] 단순히 물 세척만으로는 어린잎채소 중의 미생물을 완벽히 제거하기는 어렵다[5]. 이러한 이유로 생식용 채소와 관련된 식중독 사고는 농산물로 인한 식중독의 많은 부분을 차지하고 있다[6]. 가장 대표적인 예로는 2006년에 *Escherichia coli* O157:H7 (*E. coli* O157:H7)에 오염된 시금치가 원인이 되어 발생한 식중독 사고를 들 수 있는데 이 사고로 205명 이상의 환자가 발생하였고 3명이 사망하였다[7].

어린잎채소는 재배과정 중 병원성 미생물에 오염된 상토와 농업용수에 의해 오염될 수 있으며, 수확 및 수확 후 처리과정에서는 작업환경과 작업자의 위생관리가 소홀할 때 오염될 수 있다[6]. 다양한 경로를 통해 어린잎채소에 유입된 병원성 미생물의 생존은 양분, 토착미생물군총, 자외선, 습도 등에 의해 영향을 받을 수 있다[8]. 재배 중에 어린잎채소에 가해지는 자외선, 습도 조건은 병원성 미생물

*Correspondence to: Se-Ri Kim, Microbial Safety Team, Agro-Food Safety & Crop Protection Department, National Academy of Agricultural Science, Rural Development Administration, 166, Nongsaengmyeong-ro, Iseo-myeon, Wanju-gun, Jeollabuk-do 55365, Republic of Korea
Tel: 82-63-238-3395, Fax: 82-63-238-3840
E-mail: seri81@korea.kr

이 생존하기에는 적절한 조건은 아니지만 각종 스트레스에 노출된 병원성미생물은 환경에 적응하면서 오랫동안 식물표면에서 생존이 가능하다고 보고되고 있다[8]. Islam 등[9]의 연구에 따르면 *E. coli* O157:H7에 오염된 토양에서 자란 상추와 파슬리에서 각각 77일, 177일 동안 *E. coli* O157:H7이 검출되었다고 보고하였고, Moyne 등[10]의 상추에 *E. coli* O157:H7를 살포한 후 28~35일 동안 *E. coli* O157:H7이 검출되었다고 보고하였다. 이러한 연구결과는 오염된 농업환경은 농산물의 안전성에 영향을 미칠 수 있으며 병원성 미생물은 농산물표면에서 오랫동안 생존 가능하기 때문에 각별한 관리가 필요함을 시사한다.

이에 미국 FDA에서는 채소 생산에 있어서 미생물 오염도를 최소화하기 위하여 The Guide to Minimize Microbial Food Safety Hazards for Fresh Fruits and Vegetables 지침서를 따르도록 하고 있다[11]. 또한 미국에서는 2011년에 식품안전을 강화하기 위하여 식품현대화법을 제정하고 식품안전현대화법의 성공적인 실행을 위하여 다섯 가지 규칙(rule)을 제안하였으며, 그중 하나가 농산물 안전기준(Final Rule on Produce Safety)이다[12]. 농산물 안전기준은 미생물 오염 5대 경로(농업용수, 가축분뇨를 이용한 생물학적 토양 개량제, 작업자의 건강과 개인위생, 농기구 및 농기계 그리고 가축과 야생동물)를 과학적으로 관리하도록 설정한 기준이다[12]. 뿐만 아니라 국내에서도 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[13].

아직까지는 국내에서 어린잎채소가 직접적인 원인이 되어 발생한 식중독 사례는 보고된 바는 없지만 국내에서도 어린잎채소에 의한 식중독사고를 예방하는 차원에서 이들 농산물을 안전하게 생산하기 위한 위생관리 지침마련이 필요한 실정이다.

따라서 본 연구는 안전한 어린잎채소 생산을 위한 위생관리지침마련에 필요한 기초자료를 수집하기 위하여 어린잎채소의 재배~수확 후 단계에서 어린잎채소와 직접 접촉하는 시료를 대상으로 미생물 오염도를 조사하였으며 그 결과를 보고하고자 한다.

Materials and Methods

시료 채취 및 전처리

본 연구는 2015년 2월부터 3월까지 어린잎채소 생산농가 세 곳을 대상으로 어린잎채소와 생산 환경에서 시료를 채취하여 위생지표세균(대장균군, *E. coli*)과 식중독세균(*E. coli* O157:H7, *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*)을 분석하였다. 어린잎 채소는 Fig 1과 같이 생산되며 어린잎채소 생산과정 중 직접 접촉이 가능한 관개용수, 상토, 종자, 칼, 수확용기, 작업자 장갑, 탈수기망, 건조용 바구니, 포장대, 포장용기, 종자와 어린잎채소 11종(적무, 적양무, 적양배추, 다채, 비트, 청경채, 밀, 쑥갓, 무, 홍쌈추, 적근대)을 채취하여 본 연구에 사용하였다(Table 1).

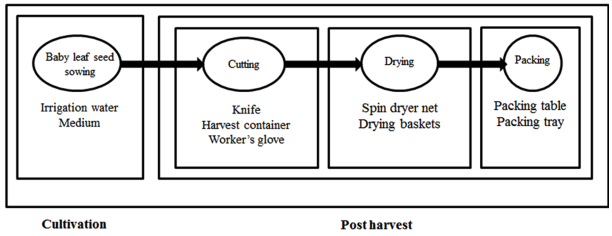

Fig. 1. Flow diagram of cultivation and post harvest process for baby leafy vegetables.

Table 1. Samples for the investigation of microorganisms from three farms producing baby leafy vegetables

Classification	Samples	Unit
Environment & equipment	Irrigation water	1 L
	Medium	200 g
	Knife	100 cm^2
	Harvest container	100 cm^2
	Worker's hand	1 hand
	Spin dryer net	100 cm^2
	Drying baskets	100 cm^2
	Packing table	100 cm^2
	Packing tray	100 cm^2
Seeds Baby leafy vegetables	Red radish	200 g
	Malaga violet radish	200 g
	Red cabbage	200 g
	Tatsoi	200 g
	Beet	200 g
	Bok choy	200 g
	Red beet	200 g
	Wheat	200 g
	Crown daisy	200 g
	Radish	200 g
	Hongssamchu	200 g

*All samples were analysed in triplicate

어린잎채소 재배에 사용되는 용수는 하우스 내에서 사용하는 지하수 2 L를 채수병에 채취하였으며 상토는 약 200 g정도 시료채취용 멸균팩에 채취하였다. 작업자의 장갑은 어린잎 채소 생산과정 내에서 선별, 포장하는 작업자를 대상으로 채취하였으며 glove juice법으로 채취하였다[14]. Glove juice법은 0.85% 생리식염수 50 mL를 멸균 팩에 붓고 손을 넣어 30초간 씻어서 손에 있는 미생물을 채

취하는 방법이다[14]. 어린잎채소의 재배 및 수확과정에서 칼, 수확용기, 탈수기망, 건조용 바구니, 포장대, 포장용기 등 평판시료는 10 cm × 10 cm 크기의 면적대를 사용하여 100 cm^2의 면적을 면봉으로 문질러 채취하였다. 채취된 시료는 아이스박스에 담아 실험실까지 운반한 후 24시간 내에 분석하였다.

위생지표세균의 측정

위생지표세균의 분석을 위하여 종자, 어린잎채소, 상토는 각각 25 g씩 취하여 0.85% 생리식염수 225 mL과 혼합하고 stomacher에서 2분간 균질화 하였다. Glove juice법과 swab법으로 채취된 시료는 30초간 vortex한 후 사용하였다. 균질화 된 시료 1 mL를 취하여 10배 단계희석한 후 일반세균 및 coliform 측정용 petrifilm™ (3M, St. Paul, MN, USA)에 접종하고 37°C 24시간 배양하였다[15]. 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 상토, 종자 및 작물을 비롯한 고체 시료의 경우 25 g을 취하여 225 mL의 EC broth (Oxoid, Hampshire, UK)에서 37°C에서 24시간 증균 배양하였고, glove juice법과 swab법으로 채취한 시료는 1 mL를 채취하여 10 mL의 발효관이 든 EC broth에서 증균하였다. 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, l'Etoile, France)으로 최종 동정하였다[15].

병원성 미생물 분리 · 동정

병원성 미생물은 *E. coli* O157:H7, *L. monocytogenes*, *Salmonella* spp.,를 정성분석을 하였으며 *B. cereus*는 정량분석을, *S. aureus*은 정성 · 정량분석을 동시에 수행하였다. 실험은 식품공전법[15]에 준하여 분석 하였으며 구체적인 방법은 아래와 같다.

정성분석

병원성 미생물의 정성분석을 위하여 종자, 어린잎채소 및 상토는 25 g을 취하여 buffered peptone water (BPW: Oxoid, Hampshire, UK) 225 mL과 혼합하고 stomacher에서 2분간 균질화 시켰다. Glove juice법과 swab법으로 채취된 시료는 30초간 vortex한 후 사용하였다. 균질화 된 시료는 1 mL를 채취하여 10 mL의 BPW에서 증균하였다. *E. coli* O157:H7은 증균 배양한 시료를 1 mL씩 취하여 10 mL의 발효관이 든 modified EC broth (Oxoid, Hampshire, UK)에 접종하여 42°C에서 24시간 배양시켜 양성 의심 균주를 CHROMagar O157 (CHROMagarTM, Paris, France)에 접종하여 37°C에서 24시간 배양 후 붉은 색을 띄는 colony를 nutrient agar (NA: Oxoid, Hampshire, UK)에 배양 한 다음 VITEK (VITEK-2 compact, Biomerieux, l'Etoile, France)으로 확인하였다.

S. aureus, *L. monocytogenes*, *Salmonella* spp.는 증균 배양한 시료 1 mL를 각각 취하여 10 mL의 10% NaCl이 들어간 tryptic soy broth (Difco, MD, USA), Fraser *Listeria* broth (Oxoid, Hampshire, UK), Rappaport Vassiliadis R10 Broth (Difco, MD, USA)에 접종하여 각각 37°C, 30°C, 37°C에서 24시간 배양시켰다. 이후 양성의심 시료를 CHROMagar Staphy (CHROMagarTM, Paris, France), palcam agar (Oxoid, Basingstoke, UK), xylose lysine tergitol-4 (XLT: Oxoid, Hampshire, UK)에 접종하여 각각 24시간 동안 37°C, 30°C, 37°C에 배양 후 의심 집락을 NA에 배양한 다음 VITEK으로 확인하였다.

정량분석

*B. cereus*는 앞서 위생지표세균측정과 동일한 방법으로 전처리를 한 후 mannitol egg yolk polymyxin agar (MYP agar; Oxoid, Hampshire, UK)에 도말하여 30°C, 24시간 배양하였다. 집락수를 계수한 후, 희석농도 당 5개 집락 이상을 NA에 분리하여 PCR (polymerase chain reaction)로 최종 확인하였다. PCR은 *B. cereus* 특이 유전자인 *gyrB*, *cry*유전자 대상으로 하였으며 PCR 조건은 Choo 등[16]의 연구와 동일하게 수행되었다. PCR 조건은 95°C에서 5분간 pre-denaturation을 진행한 후 95°C에서 1분간 denaturation, 55°C에서 2분간 annealing, 72°C에서 1.5분간 extension 조건에서 29 cycle을 하고, final extension을 72°C에서 7분간 실시하였다. agarose gel 전기영동을 통해서 PCR 결과를 확인하였다.

*S. aureus*는 전처리된 시료를 baird parker agar (BPA; Oxoid, Hampshire, England)에 도말하여 37°C, 24시간 배양한 다음 계수하고 희석농도 당 의심집락 5개 이상을 CHROMagar Staphy (CHROMagarTM, Paris, France)에 접종하였다. 양성균주로 의심되는 것은 NA에 분리하여 VITEK으로 확인하였다.

Results and Discussion

어린잎채소 재배환경의 미생물 오염도

어린잎채소 재배환경의 미생물 오염도 실험 결과는 Table 2와 Table 3과 같다. 관개용수의 경우 대장균군은 불검출되었으나 A농가의 관계용수에서 *E. coli*가 검출되었다. 관개용수에서 *E. coli*를 비롯한 위생지표세균의 검출은 병원성미생물의 검출 가능성과 반드시 일치하지는 않지만 *E.*

*coli*는 분변오염의 지표세균이기 때문에 관개용수가 분변에 노출되었을 가능성을 시사하는 결과라 할 수 있다. 본 연구를 위하여 채취한 농업용수는 호스를 통하여 직접 살포되는 물을 분석하였으며 *E. coli*의 오염 원인은 용수원의 오염과 호스 내부의 오염으로 추론해 볼 수 있다. 보다 정확한 원인 규명을 위해서는 추후 수원부터 작물에 살포되기 까지 단계별 용수를 채취하여 면밀한 조사가 필요하다고 사료된다. 하지만 2013년 9월 영국에서는 베로톡신을 생성하는 *E. coli* O157에 오염된 물냉이(watercress)로 인한 식중독이 발생하였는데 분자유전학적인 기법으로 *E. coli* O157의 오염원을 조사한 결과, 오염원을 관개용수로 추정하였다[17]. 또한 그 외에도 관개용수가 농산물의 안전성에 미치는 영향에 대한 연구가 진행되어 왔으며 대표적인 결과로 Solomon 등[18]은 실험실에서 인위적으로 관개용수를 *E. coli* O157:H7에 오염시킨 후 상추에 살포하였더니 세척 후에도 *E. coli* O157:H7이 발견되었다고 보고하였고, Oliveria 등[19]은 *L. innocua* 7.0 log CFU/ml 수준으로 오염된 관개용수를 살수관수법으로 상추에 물을 주고 상추에 전이된 *L. innocua*의 농도를 조사하였더니 4.9 log CFU/g였다고 보고하여 수질의 안전성은 농산물의 안전과 직결됨을 알 수 있다. 하지만 국내의 농산물우수관리 기준에는 관개용수의 기준을 하천, 호소수의 경우 생활환경 4급 기준, 지하수는 농업용수 기준으로 설정하고 있다[20]. 이들 기준에는 미생물에 대한 규격이 설정되어 있지 않고 있다. 농작물로 직접 살포되어 농산물 안전성에 영향을 미칠 수 있는 농업용수에 대해서는 농업용수의 모니터링과 위해성 평가를 통하여 미생물 관리 기준 설정이 필요할 것으로 사료된다.

토양과 같은 역할을 하는 상토의 미생물 오염도 조사 결과, 대장균군은 불검출~4.27 log CFU/g 수준이었다. B농

Table 2. Distribution of sanitary indicator bacteria in the samples collected from production environment (Unit : log CFU/mL, g, 100 cm^2)

Samples		Coliform			*E. coli*		
		A	B	C	A	B	C
Cultivation	Irrigation water	N. D.	N. D.	N. D.	+	-	-
	Medium	N. D.	4.27 ± 0.04	0.82 ± 1.15	-	+	-
Packaging	Knife	1.09 ± 0.92	N. D.	N. D.	+	+	-
	Harvest container	1.53 ± 0.46	N. S.	2.95 ± 0.81	-	-	-
	Worker's gloves	2.17 ± 1.55	2.49 ± 0.25	2.78 ± 1.34	+	-	-
	Spin dryer net	1.70 ± 0.38	N. S.	N. S.	-	-	-
	Drying baskets	N. D.	2.46 ± 0.30	N. S.	-	-	-
	Packing table	1.00 ± 0.84	2.21 ± 0.64	2.95 ± 0.57	-	-	-
	Packing tray	N. D.	N. D.	N. D.	-	-	-

[1)]Values are the mean ± standard deviation of triplicate experiments (log CFU/mL, g, 100 cm^2, hand).
[2)]N. D.: Not detected (Detection limit: irrigation water: < 1 CFU/mL, other samples: < 10 CFU/100 cm^2)
[3)]N. S.: Not sampled
*A, B, and C : Farms

Table 3. Detection of pathogenic bacteria from the samples collected from production environment (Unit : log CFU/mL, g, 100 cm^2)

Samples		*B. cereus*			*S. aureus*		
		A	B	C	A	B	C
Cultivation	Irrigation water	N. D.	N. D.	N. D.	-	-	-
	Medium	2.98 ± 0.02	3.36 ± 0.20	2.12 ± 0.06	-	-	-
Packaging	Knife	1.10 ± 1.56	N. D.	3.95 ± 0.35	+	-	-
	Harvest container	1.07 ± 0.79	N. S.	1.45 ± 1.03	-	-	-
	Worker's gloves	N. D.	0.77 ± 1.08	N. D.	+	-	+
	Spin dryer net	N. D.	N. S.	N. S.	-	-	-
	Drying baskets	0.48 ± 0.68	1.03 ± 0.75	N. S.	-	-	-
	Packing table	0.77 ± 1.08	0.94 ± 1.34	2.62 ± 1.86	-	-	+
	Packing tray	N. D.	1.73 ± 1.25	N. D.	-	-	-

[1)]Values are the mean ± standard deviation of triplicate experiments(log CFU/mL, g, 100 cm^2, hand).
[2)]N. D.: Not detected (Detection limit: irrigation water: < 1 CFU/mL, other samples: < 10 CFU/100 cm^2)
[3)]N. S.: Not sampled
*A, B, and C : Farms

가의 경우, 대장균군 4.27 log CFU/g, *B. cereus* 3.36 log CFU/g 수준으로 타 농가에 비해 다소 미생물 오염도가 높았을 뿐만 아니라 *E. coli*도 검출되었다. Kim 등[21]이 상추 육묘과정에 사용되는 상토와 상추의 미생물 오염도 모니터링을 수행한 결과, 상추와 상토에 오염된 미생물의 종류와 오염도 농도가 유사하여 상토의 안전성은 농산물의 안전성에 미치는 영향이 크다고 보고한 바 있다. 또한 Kim 등[22]은 상토의 미생물 오염이 육묘기 상추의 미생물 안전성에 미치는 영향을 조사하였는데 그 결과, 상토의 *E. coli* 초기 오염농도는 7.54 log CFU/g이었으며 시간이 경과하면서 점차 감소하였지만 육묘기 끝무렵인 28일까지도 4.66 log CFU/g로 존재하고 있었다고 보고하였다. 한편, *B. cereus*의 경우는 파종 후 6일 동안 2.32 log CFU/g 정도 감소하였으나 이후 21일까지는 유의적인 감소를 보이지 않았고, 포자수는 28일간 2.00 log CFU/g 내외로 일정하게 유지되었다고 보고하였다. 또한 *E. coli*와 *B. cereus*로 오염된 상토에서 상추의 오염도를 조사한 결과, 상추의 출아하는 시점인 6일째에 상추에서 *E. coli*와 *B. cereus*가 각각 4.92, 3.59 log CFU/g가 검출되어 오염된 상토에서 상추로 병원성미생물이 출아시점부터 직접 이행될 수 있음을 확인하였다. 뿐만 아니라 상추 중 *E. coli*와 *B. cereus*는 시간이 경과함에 따라 점차 감소하였지만 육묘기 내내 생존 가능하였다고 보고함에 따라 상토의 미생물 오염은 작물 오염에 크게 영향을 끼치므로 상토의 안전성 확보가 필요하다. 이를 위해서는 농가로 오염된 상토가 유입되지 않도록 상토를 생산하는 업체에서부터 철저한 관리가 필요할 것으로 사료된다.

어린잎채소 수확 및 수확후 처리 환경의 미생물 오염도

어린잎채소의 수확 및 수확 후 처리환경 및 작업자 장갑에서 미생물 오염도를 분석한 결과는 Table 2와 Table 3과 같다. 전반적으로 어린잎 채소 수확 과정 사용되는 수확용기, 칼, 장갑 등 어린잎채소와 접촉하는 시료에 대한 대장균군의 오염도는 불검출~2.95 log CFU/mL, g, 100 cm^2, hand이었다.

먼저 수확 단계에 사용하는 수확용기와 칼의 대장균군 수는 불검출~2.95 log CFU/100 cm^2로 농가의 위생관리 수준에 따라 차이가 있었다. 또한 *B. cereus*는 수확 용기에서 1.07~1.45 log CFU/100 cm^2 수준으로 검출 되었으며 칼에서는 C농가에서 최고 3.95 log CFU/100 cm^2까지 검출되었다. 어린잎 채소 농가에서 사용되는 수확용기와 칼은 사용 후 세척과정을 거치지 않고 반복적으로 사용되고 있어 미생물오염도가 높은 것으로 생각된다. *B. cereus*는 농산물 생산 환경에서 빈번히 검출되는데 Ryu 등[23]의 연구에 따르면 *B. cereus*의 영양세포는 상대습도 85%이하에서는 하루만에 3.0 log CFU/10cm^2가 사멸하지만 포자의 경우 실험기간인 6일 동안 초기농도를 그대로 유지하고 있었다고 보고하였다. 그러나 *B. cereus*는 200 ppm chlorine을 3분

Table 4. Detection of sanitary indicator bacteria and pathogens from various seeds and baby leafy vegetables. (Unit : log CFU/mL, g, 100 cm^2)

Farm	Baby leafy vegetables	Coliform		*B. cereus*		*E. coli*	
		Seeds	Leaves	Seeds	Leaves	Seed	Leaves
A	Red radish	N.D.	4.31 ± 0.08	N.D.	N.D.	-	-
	Malaga violet radish	N.D.	4.37 ± 0.07	N.D.	N.D.	-	-
	Red cabbage	1.40 ± 0.34	3.43 ± 0.12	N.D.	N.D.	-	-
	Tatsoi	N.D.	1.99 ± 0.38	N.D.	N.D.	-	+
B	Red radish	1.36 ± 1.25	4.51 ± 0.18	N.D.	N.D.	+	+
	Malaga violet radish	N.D.	1.27 ± 0.35	N.D.	N.D.	-	-
	Beet	2.07 ± 1.79	2.61 ± 2.31	N.D.	N.D.	-	-
	Bok choy	N.D.	1.57 ± 0.35	0.61 ± 0.28	1.46 ± 0.21	-	+
	Red beet	N.D.	3.77 ± 0.28	N.D.	0.24 ± 0.41	-	-
	Wheat	0.93 ± 1.13	1.55 ± 0.16	N.D.	N.D.	-	-
C	Red radish	N.D.	3.40 ± 0.62	N.D.	N.D.	-	-
	Malaga violet radish	N.D.	4.85 ± 0.08	N.D.	N.D.	-	-
	Red cabbage	N.D.	3.77 ± 0.76	N.D.	N.D.	-	-
	Beet	N.D.	0.67 ± 1.15	N.D.	0.33 ± 0.58	-	-
	Bok choy	3.04 ± 0.33	4.59 ± 0.27	N.D.	1.35 ± 1.23	-	-
	Crown daisy	N.D.	3.56 ± 0.36	N.D.	N.D.	-	-
	Radish	N.D.	3.85 ± 1.03	N.D.	N.D.	-	-
	Hongssamchu	N.D.	1.00 ± 1.73	1.69 ± 1.47	N.D.	-	-

[1] Values are the mean ± standard deviation of triplicate experiments (log CFU/g).
[2] N.D.: Not detected (Detection limit: irrigation water: < 1 CFU/mL, other samples: < 10 CFU/100 cm^2)

이상 처리 했을 때 영양세포와 포자가 동시에 사멸하는 것을 확인하였다[23]. 따라서 작업 후에 수확용기를 비롯한 작업도구의 세척, 소독을 통하여 *B. cereus*등 식중독세균을 제거할 수 있으며 이를 통하여 어린잎채소로 전이되는 것을 예방할 수 있을 것으로 사료된다.

작업자 장갑에서는 대장균군이 2.17~2.78 log CFU/hand 수준이었다. 또한 A농가의 작업자 장갑에서 *E. coli*가 발견되었고 A, C농가에서 *S. aureus*가 검출되었다. 작업자의 손이나 장갑의 미생물 오염도가 타 시료에 비해 높다는 사실은 다른 연구자들의 연구결과에서도 지속적으로 보고되고 있을 뿐만 아니라[24-25] 어린잎채소의 수확 후 작업은 대부분 수작업으로 이루어지고 있기 때문에 미생물에 오염된 장갑에 의해 어린잎채소로 교차 오염의 가능성이 있다. Smith[26]는 미생물에 오염된 장갑을 통하여 샐러드, 파스타, 햄 등으로 미생물이 전이되는 것을 증명하였고, Verhaelen 등[27]은 노로바이러스와 아데노바이스의 surrogate를 장갑에 접종하고 장갑에 의해 상추로 바이러스의 전이율을 조사 한 결과, 각각 25%, 18%가 전이된다고 보고하여 미생물이나 바이러스에 오염된 장갑은 농산물로 충분히 전이될 수 있음을 확인할 수 있다. 따라서 장갑의 주기적인 교체와 세척이 필요하며 어린잎채소를 생산하는 과정 중 장갑을 교체하는 주기에 대한 연구는 아직 진행된 사례가 없기 때문에 어린잎채소 생산 현장에 위생 세부적인 실천 지침을 제공하기 위해서는 차후 세부적인 연구가 수행되어야 할 것으로 사료된다.

수확 한 이후에 어린잎 채소와 접촉하는 탈수기 내부, 건조바구니, 포장대의 경우에는 대장균군은 불검출~2.95 log CFU/cm^2, *B. cereus*가 불검출~2.61 log CFU/cm^2, C농가에서 *S. aureus*는 검출되었다. 작업도구에서 대장균군, *B. cereus*, *S. aureus*의 검출은 농업현장에서는 위생관리에 대한 인식부재로 인하여 사용한 작업도구를 적절하게 세척하거나 소독을 하지 않은 데서 기인한 결과라 사료된다. 어린잎채소와 직접 접촉한 작업도구의 미생물 오염은 어린잎채소의 미생물학적 안전성에 영향을 끼칠 수 있으며 이에 대해서 많은 연구자들의 연구에서 증명되어 왔다. Chai 등[28]은 *Campylobacter*에 오염된 도마에서 농산물로 전이율은 22.6%~73.3%이였다고 보고하여, 병원성 미생물에 오염된 작업환경이 농산물의 안전성에 얼마나 중요한 영향을 미치는 지를 보여주었다. 또한, Silagyi 등[29]의 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^{2}가 검출되었는데, 이러한 검출수준의 차이는 각 채소가 가진 수분활성도에 따라 달라지며 수분이 많은 채소에서 전이율이 높다고 보고하였다. 특히, 어린잎채소는 시들음을 방지하고 신선도를 높이기 위하여 수분을 가하는 경우가 많기 때문에 농산물과 접촉하는 작업도구의 철저한 위생관리가 필요하다.

종자 및 어린잎채소의 미생물 오염도

어린잎채소 종자와 최종 완제품에서 미생물 오염도는 Table 4과 같다. 종자와 어린잎채소의 대장균군수는 종자에서는 불검출~3.04 log CFU/g이었으나 어린잎채소에서는 1.00~4.85 log CFU/g 수준으로 종자에 비하여 높게 검출되었다. 종자의 미생물 오염도가 어린잎 채소의 오염도에 영향을 미치는 지를 조사하기 위하여 종자와 어린잎 채소의 대장균군수 간의 상관계수를 산출하였다. 그 결과 상관계수는 $R^2 = 0.05$로 종자의 미생물 수준이 어린잎채소의 오염도에 영향이 없는 것으로 나타났다(data not shown). 따라서 어린잎채소의 오염은 종자로부터 기인하기보다 재배과정 중에 수질, 상토의 미생물 안전성, 수확 후 위생관리의 미흡으로 인하여 발생되는 것으로 추정된다.

또한 어린잎채소에서 *B. cereus*와 *E. coli*가 검출되었는데 *B. cereus*의 경우 B 농가의 청경채와 적근대, C 농가의 비트와 청경채에서 검출되었고 검출 수준은 0.24~1.46 log CFU/g으로 다소 낮은 수준이었다. *E. coli*는 A농가의 다채, B농가의 적무, 청경채에서 검출되었다. 어린잎 채소에서 *E. coli*의 검출은 어린잎채소를 재배하는 과정 중 *E. coli*에 오염된 관개용수나 작업환경에 의한 것으로 추정된다. A농가의 경우 관개용수, 칼, 작업자 손에서 B 농가의 경우는 상토와 칼에서 *E. coli*가 발견됨에 따라 이들 시료와 연관이 있을 것으로 보이며 추후 유전자 typing을 통하여 정확한 원인을 구명하는 것이 필요하다고 판단된다.

본 연구의 결과를 종합해 보면 어린잎채소에서 *E. coli*, *B. cereus*의 검출 수준이 식중독을 일으킬 만한 수준은 아니었으며 병원성이 강한 *E. coli* O157:H7, *Salmonella* spp., *L. monocytogenens, S. aureus*는 발견되지는 않아 안전성 면에서는 크게 우려할 수준은 아닌 것으로 판단된다. 하지만 관개용수를 비롯한 다양한 농업환경에서 *E. coli*, *B. cereus*가 검출됨에 따라 어린잎채소의 미생물오염을 사전 예방하는 차원에서 농업현장에서 쉽게 실천할 수 있는 재배 ~ 수확 후 과정의 위생관리 기술 개발과 보급이 필요할 것으로 판단된다.

Acknowledgement

본 연구는 농촌진흥청 국립농업과학원 농업과학기술 연구개발사업(과제번호: PJ011237)의 지원에 의해 이루어진 것임.

국문요약

본 연구는 어린잎 채소와 생산환경에서 미생물학적 오염도를 조사하고자 수행하였다. 이를 위하여 11종의 어린

잎채소와 종자, 관개용수, 상토, 작업도구 및 작업자 장갑 등 총 126개의 시료를 채취하여 위생지표세균(대장균군, *E. coli*)과 병원성미생물(*Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus*)을 조사하였다. 그 결과, 종자와 관개용수를 제외한 대부분의 시료에서 대장균군이 검출되었다. *E. coli*는 분석시료 중 10.3% (13/126)에서 검출되었으며 검출된 시료로는 관개용수, 칼, 작업자 장갑, 및 다채, 적무, 청경채였다. 또한 *B. cereus*는 상토, 작업도구 및 청경채, 비트, 적근대 등 총 38% (48/126)의 시료에서 검출되었다. 한편 *E. coli* O157:H7, *Salmonella* spp., *L. monocytogenes*는 검출되지 않았다. 본연구의 결과로 미루어 볼 때 어린잎채소는 미생물 안전성면에서는 크게 우려할 수준은 아니지만 어린잎채소의 미생물오염을 사전 예방하는 차원에서 농업현장에서 쉽게 실천할 수 있는 위생관리 기술 개발과 보급이 필요하다고 판단된다.

References

1. Ha, J.O., Ha, T.M., Lee, J.J., Kim, A.R., Lee, M.Y.: Chemical components and physiological functionalities of Brassica campestris ssp. rapa sprouts. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **38**, 1302-1309 (2009).
2. Waje, C.K., Jun, S.Y., Lee, Y.K., Kim, B.N., Han, D.H., Jo, C., Kwon, J.H.: Microbial quality assessment and pathogen inactivation by electron beam and gamma irradiation of commercial seed sprouts. *Food Control*, **20**, 200-204 (2009).
3. Weiss, A., Hammes, W.P.: Thermal seed treatment to improve the food safety status of sprouts. *J. Appl. Bot.*, **77**, 152-155 (2003).
4. Kang, H.M., Kim, I.S.: Comparison of storability of some sprout vegetables in MA storage. *J. Bio-Environment Control*, **16**, 415-419 (2007).
5. Burnett, S.L., Beuchat, L.R.: Human pathogens associated with raw produce and unpasteurized juices and difficulties in decontamination. *J. Int. Microbiol. Biotechnol.*, **27**, 104-110 (2001).
6. Beuchat, L.R.: Pathogenic microorganisms associated with fresh produce. *J. Food Prot.*, **59**, 204-216 (1996).
7. CDC: 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.htm Accessed Febrary 20, 2010 (2006).
8. Beuchat, L.R.: Ecological factors influencing survival and growth of human pathogens on raw fruits and vegetables. *Microb. Infect.,* **4**, 413-423 (2002).
9. Islam, M., Doyle, M.P., Phatak, S.C., Millner, P., Jiang, X.: Persistence of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 in soil and leaf lettuce and parsley grown in fields treated with contaminated manure composts or irrigation water. *J. Food Prot.*, **67**, 1365-1370 (2004).
10. Moyne, A., Sudarshana, M.R., Blessington, T., Koike, S.T., Cahn, M.D., Harris, L.J.: Fate of *Escherichia coli* O157:H7 in field-inoculated lettuce. *Food Microbiol.*, **28**, 1417-1425 (2011).
11. U.S. 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/Food/GuidanceRegulation/GuidanceDocumentsRegulatoryInformation/ProducePlantProducts/ucm174200.htm. Accessed Oct. 16, 2015 (2009).
12. U.S. Food and Drug Administration : FSMA Final Rule on Produce Safety. Available from: http://www.fda.gov/Food/GuidanceRegulation/FSMA/ucm334114.htm. Accessed May. **220**, 2016 (2011).
13. Shim, W.B., Nam, M.W., Chung, D.H.: Understanding and activation of GAP system. *Safe Food*, **9**, 3-8 (2014).
14. Anonymous: Guidelines for effectiveness testing of surgical hand scrub (glove juice test). *Fed. Regist*., **43**, 1242-1243 (1978).
15. Ministry of food and drug safety : Korean Food code. http://fse.foodnara.go.kr/Accessed Oct. **16**, 2015 (2012).
16. Choo, E.Y., Jang, S.S., Kim, K.S., Lee, K.G., Heu, S.G. and Ryu, S.R.: Prevlence and genetic diversity of *Bacillus cereus* in dried red pepper in Korea. *J. Food Prot.*, **70**, 917-922 (2007).
17. Launders, N., Byrne, L., Adams, N., Glen, K., Jenkins, C., Tubin-Delic, D., Locking, M., Williams, C., Morgan, D.: Outbreak of Shiga toxin-producing *E. coli* O157 associated with consumption of watercress, United Kingdom, August to September 2013. *Euro Surveill,* **18**, 1-5 (2013).
18. Solomon, E.B., Potenski, C.J. and Mattews, K.R.: Effect of irrigation method on transmission to and persistence of *Escherichia coli* O157:H7 on lettuce. *J. Food. Prot.*, **65**, 673-676 (2002).
19. Oliveira, M., Usall, J., Vinas, I., Solsona, C. and Abadias M.: Transfer of *Listeria innocua* from contaminated compost and irrigation water to lettuce leaves. *Food Microbiol.,* **28**, 590-596 (2011).
20. Kim, H.Y., Cho, J.R., Cho, S.M., Ha, J.H., Kim, G.C., Kim, S.R., Kim, W.I., Ryu, S.H., Choi, J.H.: Explanation on good agricultural practices standards. Rural development administration. Jeonbuk, pp. 34-36 (2015).
21. 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).
22. Kim, S.R., Lee, S.H., Kim, W.I., Kim, B.S., Kim, J.H., Chung, D.H., Yun, J.C. and Ryu, K.Y.: Effect of medium, soil, and irrigation water contaminated with *Escherichia coli* and *Bacillus cereus* on the microbiological safety of lettuce. *Kor. J. Hort. Sci. Technol*., **30**, 442-448 (2012).
23. Ryu, J.H., Beuchat, L.R.: Biofilm formation and sporulation by *Bacillus cereus* on a stainless steel surface and subsequent resistance of vegetative cells and spores to chlorine, chlorine dioxide, and a peroxyactic acid-based sanitizer. *J. Food Prot*., **68**, 2614-2622 (2005).
24. 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. and Chung, D.H.: Distribution of hazardous microorganisms in perilla leaf cultivation areas. *Korean J. Food Sci. Technol*., **43**, 243-248 (2001).
25. Park, S.H., Kim, J.S., Kim, K.Y., Chung, D.H., Sim, W.B.: Identification of toxin gene and antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* isolated from agricultural product cultivation environments. *J. Environ Health Sci*., **39**, 465-473 (2013).
26. Smith, D.: Ranking of cross-contamination vectors of ready-to-eat foods: a practical approach. Guideline 54. Campden BRI, Chipping Campden, UK. (2007).
27. Verhaelen, K., Bouwknegt, M., Carratalà, A., Lodder-Verschoor, F., Diez-Valcarce, M., Rodríguez-Lázaro, D., Husman, A.M.R., Saskia Rutjes, A.: Virus transfer proportions between gloved fingertips, soft berries, and lettuce, and associated health risks. *Int. J. Food Microbiol*., **166**, 419-425 (2013).
28. Chai, L.C., Lee, H.Y., Ghazali, F.M., Bakar, F.A., Malakar, P.K., Nishibuchi, M. Nishibuchi, Nakaguchi, Y. and 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).
29. Silagyi, K., Kim S.H., Lo, Y.M. and Wei, C.: Production of biofilm 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).