J. Fd Hyg. Safety
Vol. 24, No. 2, pp. 174~181 (2009)

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

유통중인 파프리카, 딸기 및 토마토의 생물학적 위해요소 분포 조사

유용만[1] · 윤영남[1] · Quan Juan Hua · 차광호 · 이영하*
충남대학교 의과대학 감염생물학교실 의학연구소, [1]충남대학교 농업생명과학대학 응용생물학

Biological Hazard Analysis of Paprikas, Strawberries and Tomatoes in the Markets

Yong-Man Yu[1], Young-Nam Youn[1], Quan Juan Hua, Guang-Ho Cha, and Young-Ha Lee*
Department of Infection Biology and Research Institute for Medical Sciences, School of Medicine, Chungnam National University, Daejeon 301-131
[1]Department of Applied Biology, College of Agriculture & Life Sciences, Chungnam National University, Daejeon 305-764
(Received April 1, 2009/Revised May 13, 2009/Accepted June 2, 2009)

ABSTRACT - The consumption of "ready-to-eat" agricultural products is recently increasing and the safety of these agricultural products is forefront of public concerns. The 120 samples of paprikas, strawberries and tomatoes, which are the representative exported agricultural products, were purchased at the department stores and discount stores in Daejeon. And we determined the microbiological and parasitological contamination level of these agricultural products using culture media, multiplex PCR, commercial bacterial detection kit and microscopy, and also evaluated the decontamination method. Mean counts of total aerobic bacteria from these agricultural products ranged from 1.3×10^4 CFU/g to 1.8×10^5 CFU/g, and mean counts of coliforms ranged from 1.4×10^3 CFU/g to 9.6×10^3 CFU/g. There was no significant difference in the level of bacterial contamination between the agricultural products from department stores and the ones from discount stores. Strawberry showed the highest contamination level for the bacteria and we also found the unidentified parasite eggs. *Enterobacter cloacae* was the most frequently isolated bacteria strain, but no food poisoning pathogenic bacteria except *Staphylococcus aureus* was isolated from the products by multiplex PCR. Compared to unwashed products, tab water-washed ones showed 80% decrease of the counts of total aerobic bacteria on the agricultural products, and the rates decreased more by incorporating detergent or ultrasonic wave treatment. We concluded that the biological contamination levels among paprikas, strawberries and tomatoes were the highest in strawberries, but there were not significant difference according to distribution systems.

Key words : Paprika, Strawberry, Tomato, Food safety, Biological hazard analysis

국민 생활수준의 향상으로 건강에 대한 관심이 증대되어 육식보다 채식, 가공식품보다 자연 식품을 선호하는 추세이다. 따라서 곡류와 채소류를 중심으로 한 전통적인 식생활 패턴이 늘고 있으며, 이와동시에 웰빙(well-being)과 관련된 신선 농산물의 소비가 증가되고 있다. 웰빙 관련 농산물 중 익히지 않고 직접 섭취하는 비가열 즉석섭취(ready-to-eat) 농산물은 간편하게 직접 먹을 수 있는 장점은 있지만, 생산, 유통 과정중 주의를 소홀히 할 경우 식중독을 일으킬 우려가 있다.

최근 웰빙 관련 농산물중 파프리카, 딸기, 토마토 등과 같은 신선 과채류의 약리작용이 많이 알려지면서 이들 농산물의 수출이 확대되고 있으며 또한 국내 소비도 늘고 있다[1)]. 파프리카는 우리나라의 대표적인 수출농산물로서 면역력을 높이고 발암억제 효과가 있다는 것이 알려져 있다[2)], 토마토는 미국 타임지가 뽑은 '몸에 좋은 10가지 식품' 중 하나로(TIME/2002. 1. 21) 라이코펜(lycopene)이 세포의 산화를 막아 노화를 억제하고, 심혈관 질환과 각종 암의 예방효과가 있다고 보고되었다[3)]. 그렇지만 2008년 미국에서 살모넬라균 식중독 사건이 발생하여 대형유통업체, 식당 및 소매점에서 토마토의 취급을 기피하는 등 위생적 처리가 문제시 되고 있다[4)]. 딸기는 심혈관질환의 예방에

*Correspondence to: Young-Ha Lee, Department of Infection Biology, School of Medicine, Chungnam National University, 6 Munhwa-dong, Jung-gu, Daejeon 301-131, Korea
Tel: 82-42-580-8273, Fax: 82-42-583-8216
E-mail: yhalee@cnu.ac.kr

효과적인 것으로 알려져 있고, 매혹적인 색과 향기, 맛을 지니고 있어 수출 유망작목 중 하나이나 과육이 연하고 수분함량이 높아 변질되기 쉽고 곰팡이 발생 등으로 저장 유통 기간이 매우 짧은 단점이 있다[5].

지난 수년동안 우리나라에서 식품안전 사고가 계속적으로 발생하였으나, 관련 부처의 적절한 대처 부족 및 소비자의 식품에 대한 부정적 이미지 등으로 인하여 식품에 대한 안심도는 그리 높지 않은 것으로 보고되어 있다[6]. 국내 농산물의 위생 및 안전성에 대한 연구로, 유통중인 야채샐러드의 미생물 오염[7,8] 및 유기농 채소의 식중독 원인균 오염도를 조사하였으며[9], 유통중인 신선채소류의 미생물 오염도를 평가하였으나[10,11], 과채류중 수출 농산물의 생물학적 위해요소에 대한 연구는 거의 이루어 지지 않았다.

국제적으로 통용되는 식중독 세균 검출 표준시험방법(Gold standard)들은 일부 정량적 분석이 요구되는 세균을 제외하고는 증균(Enrichment), 선택(Selection), 확인(Confirmation)의 기본적인 3단계 절차로 구성 되어 있다[12]. 이러한 전통적인 분리법은 배지를 제조하고 배지에서 생육한 집락을 관찰하고 분리 균의 생화학적 특성을 검증하는 등 많은 시간과 인력이 투입되어야 되는 한다[9]. 또한 배지의 성능, 시간, 온도, 산소 농도 등 배양 조건에 따라 결과가 달라질 수 있는 많은 변수를 내포하고 있다[12]. 전통적 검출 방법의 이러한 단점들을 최소화하기 위하여 최근에는 항원항체를 이용한 immunoassay 혹은 특이 유전자 검출을 기반으로 하는 polymerase chain reaction (PCR) 방법 등이 빠른 속도로 식중독 세균 분리에 도입되고 있다[13]. 본 연구는 우리나라의 대표적인 수출 농산물인 파프리카, 딸기 및 토마토를 백화점 및 대형할인점에서 구입하여 배지법, 분자생물학적 방법, 면역학적 방법 및 현미경적 관찰을 통하여 총호기성균, 대장균군, 식중독 유발 세균 및 기생충의 오염 정도를 매장별로 조사・분석함과 동시에 이들 농산물의 오염을 줄일 수 있는 효과적인 세척법을 제시하여 수출 농산물의 생물학적 안전성 확보를 위한 기초자료로 활용하고자 한다.

재료 및 방법

시험재료

본 실험에 사용된 농산물은 파프리카, 딸기 및 토마토이었으며, 이들 농산물은 2008년 9월부터 11월까지 대전지역 2개 백화점 및 2개 대형할인점에서 각각 4회 구입하였다. 각각의 시료는 비닐팩에 넣어 냉장상태로 실험실로 운반하였으며, 냉장고에 보관하면서 시료채취 후 4시간 이내에 실험에 사용하였다.

총호기성균(Total aerobic bacteria)의 정량적 분석

총호기성균의 정량은 식품공전 중 표준평판법을 이용하였다[14]. 시료는 세척 전후로 나누어 검체 25 g에 225 mL 멸균 생리식염수를 가한 후 스토마커(BagMixer, Interscience, U.S.A.)를 이용하여 1분간 균질화한 것을 농산물 시료원액으로 사용하였다. 농산물 시료원액은 생리식염수로 10배 계열 희석하여 페트리 디시(지름 100 mm)에 1 mL씩 넣은 후, 43~45°C로 유지한 표준한천배지(SPCA; standard plate count agar, Oxoid, England) 15 mL와 혼합 후 굳혔다. 표준평판배지는 35 ± 1°C에서 24~48시간 배양 후 확산 집락(colony)이 없고 한 평판에 30~300개의 집락이 있는 평판을 선택하여 집락 수를 산정하였다. 세척한 검체도 세척전의 검체와 동일한 방법으로 실험을 하였다.

농산물 1 g당 세균 집락 수 [colony forming units (CFU)/g] = 측정 평판의 평균 집락 수 × 시료의 희석 배수

대장균군(Coliforms)의 정량적 분석

대장균군의 정량은 식품공전 중 데속시콜레이트유당한천배지법에 따라 실시하였다[14]. 희석한 농산물 시료원액 1 mL와 50°C로 유지한 데속시콜레이트유당한천배지(DLA; desoxycholate lactose agar, Oxoid, England) 15 mL를 페트리 디시에 분주하여 잘 섞어 굳힌 후 35 ± 1°C에서 24시간 배양하여 생성된 전형적인 암적색의 집락 수를 계산하였다. 대장균군의 균수 산출은 총호기성균의 정량법에 따라 하였다.

자동분석기를 이용한 세균의 동정

파프리카, 딸기 및 토마토에 흔히 존재하는 세균을 동정하기 위하여 "비오메리으(bioMerieux Inc., Hazelwood, Mo, USA)"에서 만든 Vitek2 GN 및 GP 카드를 사용하였다. 농산물 시료원액을 증균배지로 1차 배양한 후 선택배지로 옮겨 배양하였다. 사용한 선택배지는 TCBS agar, Sorbitol MacConkey agar, SS agar, PALCAM agar, Brilliant green agar에 분주한 후 37°C 배양기에 24~48시간 배양하였다. 선택된 집락을 멸균 생리식염수 3 mL가 들어있는 플라스틱 튜브에 분주한 다음 vortex mixing한 후 Densichek으로 탁도를 맞추었다. GP, GN 카드에 사용할 세균 부유액은 McFarland 0.5(~0.625)관 탁도로 맞추고 YST는 2.0 (1.8~2.2)관 탁도로 맞추었다. 세균 부유액이 있는 튜브를 카세트 튜브 홀더에 꽂은 다음 VITEK2 (bioMerieux Inc, Hazelwood, Mo, USA)를 이용하여 세균을 자동으로 동정하였다.

식중독 원인균 검출을 위한 multiplex PCR법

농산물 시료원액 200 μl를 Tryptic soy broth, Selenite broth, Shigella broth, Listeria enrichment broth 혹은 Buffered peptone water에 35~37°C에서 18~24시간 배양하였다. 배양액 1 mL를 15,000 rpm으로 20분 원심후 침사를 얻었으며, QIAamp DNA Mini Kit (Qiagen, Germany)를 이용하여

Table 1. Specific primers of food-borne pathogenic bacteria for multiplex PCR

Organisms	Target genes	Primer sequence (5'-3')	Product size (bp)	Reference
Shigella spp.	*IpaH*	For 5'-CCT TGA CCG CCT TTC CGA TA-3' Rev 5'-CAG CCA CCC TCT GAG GTA CT-3'	606	Kong et al., 2002[15]
Salmomella spp.	*IpaB*	For 5'-GGA CTT TTT AAA AGC GGC GG-3' Rev 5'-GCC TCT CCC AGA GCC GTC TGC-3'	314	Kong et al., 2002[15]
V. cholerae	*ompU*	For 5'-ACG CTG ACG GAA TCA ACC AAA G-3' Rev 5'-GCG GAA GTT TGG CTT GAA GTA G-3'	869	Panicker et al., 2004[16]
S. aureus	*nuc*	For 5'-GAA AGG GCA ATA CGC AAA GA-3' Rev 5'-TAG CCA AGC CTT GAC GAA CT-3'	482	Vicedo and Aznar, 2006[17]
L. monocytogenes	*hlyA*	For 5'-CCT AAG ACG CCA ATC GAA AAG AAA-3' Rev 5'-TAG TTC TAC ATC ACC TGA GAC AGA-3'	858	Aznar and Alacon, 2003[18]
B. cereus	*gyrB*	For 5'-GTT TCT GGT TTA CAT GG-3' Rev 5'-TTT TGA GCG ATT TAA ATG C-3'	374	Jensen et al., 2005[19]

세균의 genomic DNA를 추출하였다. 검사대상 세균은 인체에 식중독을 일으키는 *Shigella* spp., *Salmonella* spp., *Vibrio choleare, Staphylococcus aureus, Listeria monocytogenes, Bacillus cereus*이었으며, 이들의 표준균주는 국립보건원에서 분양받았다. 6종의 식중독 유발 세균을 검출하기 위한 multiplex PCR에 사용할 primer set는 Table 1과 같았다.

Multiplex PCR 반응액은 20 μL가 되도록 하였으며, 이들은 2 μL 10× buffer (pH 8.4, Solgent, Co., Daejeon, Korea), 0.4 μL 10 mM dNTP mix, 0.8 μL forward primer (10 pM), 0.8 μL reverse primer (10 pM), 0.6 μL genomic DNA template, 4 μL 5× Band Doctor (Solgent, Co.), 0.1 μL *Taq* DNA polymerase (Solgent, Co.) 및 11.3 μL 증류수를 첨가하여 만들었다. PCR 반응은 94°C에서 먼저 5분간 denaturation을 시킨 후 94°C, 52～54°C, 72°C에서 각각 1분간 30회 반응시켰으며, 마지막으로 72°C에서 5분간 extension을 실시하여 2% agarose gel에서 전기영동을 실시하여 증폭여부를 확인하였다.

E. coli O157:H7 검출

농산물내 존재하는 *E. coli* O157:H7을 검출하기 위하여 Reveal 9750 kit(Neogen Corporation, Lansing, MI, USA)를 사용하였다. 증균배지를 만들기 위해 공급된 파우더 8.9 g을 멸균된 증류수 225 mL에 넣고 잘 흔들어서 푼 다음, 농산물 샘플 25 g을 넣었다. 42°C 배양기에서 8시간 반응시킨 후 샘플 시료 5 mL를 멸균 피펫으로 채취하여 유리 tube에 담아 10분 동안 끓인다. 상온에서 식힌 후 그 중 120 μL를 피펫하여 제공된 kit strip에 떨어뜨려 15분 후에 결과를 읽는다. 2개의 선(대조군 및 시험군)이 보일 경우 양성으로 판정하였다.

기생충 검사

농산물에 부착되어 있는 각종 기생충은 다음과 같은 방법으로 검사하였다. 농산물 시료원액 100 mL를 채취한 후 1,500 rpm으로 5분 원심하였다. 침사를 현미경으로 관찰하여 농산물에 존재하는 각종 기생충의 충란, 포낭, 유충 또는 충체 유무를 확인하였다. 검사대상 기생충은 농산물 매개 기생충(*Giardia lamblia, Entamoeba histolytica, Cryptosporidium parvum, Ancylostoma duodenale, Trichuris trichiura*)을 포함한 인체 유해 기생충을 모두 조사하였다[20].

세척방법별 세균 감소율 비교

효과적인 농산물 세척 조건을 찾기 위하여 각 조건별 세균 감소율을 비교 분석하였다. 1)대조군; 구입한 후 아무런 처치를 하지 않은 농산물, 2)담수세척군; 5 L 용기에 수돗물을 담아둔 상태에서 2회 및 5회 세척한 농산물, 3)유수세척군; 보통 수돗물 수압(유속 0.4 m/sec, 수압 2.5 kg/cm^2)의 흐르는 물로 2회 및 5회 세척한 농산물, 4)야채용 세제 첨가군; 5 L 수돗물에 야채용 세제(제1종 세제)를 혼합하여 2회 및 5회 세척한 농산물, 5)초음파세척군; 야채를 초음파 세척기에 담근 후 30초 및 90초 세척한 농산물로 구분하였다. 단, 1회 세척(1 stroke)은 농산물을 물속에서 10 cm 이상 넣은 후 좌우로 20 cm 이상 1번 흔들어 세척하는 방법으로 정의하였다.

통계처리

모든 실험은 2회 이상 중복 실시하였으며, 각 처치군 간의 차이는 Mann-Whitney U test 혹은 Students 't-test로 통계 처리하여 유의성을 검증하였다.

결과 및 고찰

농산물 종류별, 매장별 총호기성균 및 대장균군의 정량적 분석

총호기성균은 식품 미생물 오염의 지표로 사용되는 것으로 검체 중에 존재하는 세균 중 표준 한천배지 내에서 발육할 수 있는 세균을 의미한다. 총호기성균의 검출 유

Table 2. Counts of total aerobic bacteria and coliforms in various agricultural products according to distribution system in Daejeon

Samples	Distribution systems	No. of samples	Mean CFU/g of sample	
			Total arerobic bacteria	Coliforms
Paprikas	Department stores	20	2.2×10^4	2.1×10^3
	Discount stores	20	1.3×10^4	1.4×10^3
Strawberries	Department stores	20	1.8×10^5	9.6×10^3
	Discount stores	20	9.5×10^4	8.2×10^3
Tomatoes	Department stores	20	2.9×10^4	3.4×10^3
	Discount stores	20	2.7×10^4	3.9×10^3

무가 인체에 대한 유해성과 직접적인 관련성은 적지만, 식품의 생산, 가공 및 유통상의 위생조건 및 잠재적 식품 부패 등을 판정할 수 있는 지표로 유용하게 사용될 수 있으며, 대장균군(coliform bacteria)은 식품위생상 분변오염의 지표로 사용된다[21]. 본 연구에서는 대전시내 백화점 및 대형할인점의 식품코너에서 판매되고 있는 파프리카, 딸기 및 토마토를 대상으로 총호기성균 및 대장균군의 수를 정량적으로 조사하였다(Table 2). 백화점에서 구입한 농산물의 총호기성균 집락 수는 2.2×10^4에서 1.8×10^5 CFU/g이었으며, 대장균군의 수는 $2.1 \times 10^3 \sim 9.6 \times 10^3$ CFU/g이었다. 대형할인점에서 구입한 농산물의 평균 총호기성균의 집락 수는 1.3×10^4~9.5×10^4 CFU/g, 대장균균의 수는 1.4×10^3~8.2×10^3 CFU/g 범위이었다. 이와 관련하여 치커리, 미나리, 부추, 배추, 상추, 깻잎, 참나물을 대상으로 한 조사에서 총호기성균은 2.2×10^6~6.0×10^7 CFU/g, 대장균군은 4.1×10^5~9.8×10^6 CFU/g 범위이었다고 하였으며[11], 상추, 깻잎, 오이에 존재하는 총호기성균과 대장균군 분석에서 각각 5.27 ± 0.19~7.10 ± 0.11 $\log_{10}$CFU/g 및 3.65 ± 0.15~6.44 ± 0.16 $\log_{10}$CFU/g 범위였고 보고하여[10] 본 연구에 비하여 높은 세균 오염정도를 보고하였다. 이러한 차이의 원인으로 본 실험에 사용한 농산물은 대부분 비닐하우스나 특수한 온실에서 외부와 차단된 상태에서 재배하고 있으며 때에 따라서는 흙의 표면을 비닐로 덮어서 재배하기 때문에 최 등[10] 및 정 등[11]의 보고에 비하여 적은 수의 세균 오염을 보인 것으로 사료된다.

또한 농산물의 오염 수준을 매장별로 비교시, 백화점과 대형할인점에서 구입한 파프리카, 딸기 및 토마토의 총호기성균과 대장균군의 수는 유의한 차이를 보이지 않았는데($p>0.05$), 이는 농가에서 이들 농산물의 생산 조건이 유사하며, 이들의 운송 및 매장내 진열시의 조건이 또한 유사하기 때문에 매장별 세균 수가 유의한 차이를 보이지 않은 것으로 생각된다. 백화점 혹은 대형할인점에서 구입한 농산물중 파프리카에서 가장 적은 수의 세균 집락(평균 총호기성균 수 1.3×10^4~2.2×10^4 CFU/g, 평균 대장균군 수 1.4×10^3~2.1×10^3 CFU/g)이 발견되었고, 딸기에서 가장 많은 세균 집락(평균 총호기성균 수 9.5×10^4~1.8×10^5 CFU/g, 평균 대장균군 수 8.2×10^3~9.6×10^3 CFU/g)이 검출되었다. 이는 딸기는 표면이 매끄럽지 않고 재배시 지표와의 접촉 가능성이 높으므로 토양 혹은 먼지와 같은 자연계에 노출이 될 가능성이 높아 세균의 오염도가 높은 것으로 판단된다. 이와 유사한 보고로, 우리나라 유기농 채소의 총호기성균의 오염 수준은 가지, 오이, 상추, 배추, 감자, 당근 등으로 많이 발견되었으며[9], 총호기성균 및 대장균군의 오염 수준은 오이, 깻잎, 상추 순으로 높은 결과를 나타낸 것으로 보아[10] 먹을 수 있는 부위가 토양 혹은 먼지 등과 가까이 접촉할 수록 오염 수준이 증가하는 경향임을 알 수 있었다.

딸기의 세척방법별 총호기성균 제거율 비교

안전한 즉석섭취 농산물을 먹기 위해서는 위생적인 생산, 운반, 보관 뿐만 아니라 소비자의 올바른 소비 등이 고루 갖춰져야 한다. 최근 세척해 상품화하고 있는 품목은 상추・깻잎 등 잎채소류를 비롯해 무・감자・고구마・당근・고추・가지・파프리카・방울토마토・참외・딸기・포도・복숭아・천도복숭아 등 20여가지에 달한다[1]. 이처럼 세척농산물이 늘어나는 것은 소비자들이 일반농산물보다 취급하기 편리하면서 안전성도 확보되기 때문에 선호하고 것으로 판단된다. 본 연구에서 백화점 및 대형할인점에서 판매되는 파프리카, 딸기 및 토마토 중 가장 많은 세균이 검출된 딸기를 대상으로 세척 방법별 총호기성균 감소율을 조사하였다(Fig. 1). 담아둔 물(담수세척군)로 2회 세척시 67.7 ± 4.7%, 5회 세척시 82.6 ± 3.5%의 세균 감소율을 보였으며, 흐르는 수돗물로 세척시(유수세척군) 부착되어 있는 세균의 71.4 ± 3.8%~85.4 ± 3.2%를 제거할 수 있었다. 담아둔 물에 야채 세척용 세제를 첨가한(야채용세제첨가군) 후 2회 및 5회 세척시 세균 감소율은 각각 87.5 ± 4.9% 및 95.1 ± 3.1%로 세제 첨가시 세균 감소율이 월등히 증가하였다. 또한 딸기를 초음파(초음파세척군)로 30초동안 세척시 86.3 ± 3.4%의 세균 감소율을, 90초동안 세척시 96.8 ± 3.7%의 세균 감소율을 보였다. 따라서 야채용 세제를 사용하거나 초음파 세척시 가장 우수한 세균 제거율을 보였으며, 세척 횟수를 늘리며 세균 제거율이 증가하였다. 이러한 실험 결과는 흐르는 수돗물에 5회 세척 후 총호기성균의 감소율이 71.7%~92.6%이었다는 보고[11],

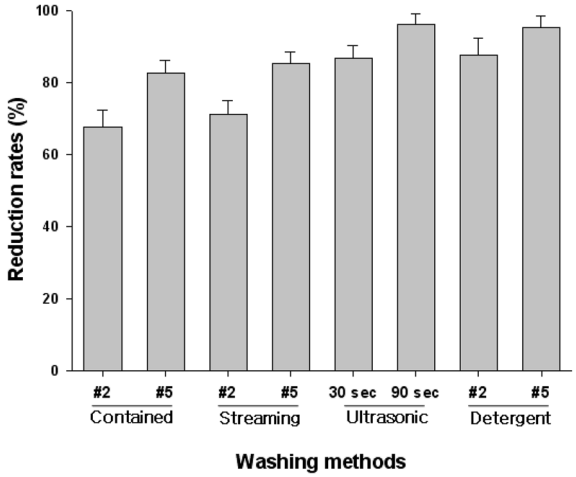

Fig. 1. Reduction rates of total aerobic bacteria of strawberries according to washing methods (n=10).

[a] Reduction rates (%) = $\frac{\text{Mean CFU/g of Washing method}}{\text{Mean CFU/g of Control}} \times 100$

[b]Two or five strokes (#2 or #5) mean that strawberries were immersed more than 10 cm in depth within the water and followed by moving back and forth more than 20 cm in width 2 or 5 times.

생리식염수와 야채용세척제에 3분간 침지 후 생리식염수로 5회, 야채용세제로 1회 세척시 세균수가 95.5% 감소하였다는 보고[10]와 유사한 범위내에 속하였다. 야채의 특성 및 세척 방법에 따라 약간의 차이가 있을 수 있지만, 쌈채소, 신선야채류, 과채류 등을 먹을 때 흐르는 수돗물로 충분히 세척시 세균의 80% 이상을 제거할 수 있고, 야채용 세제에 침지한 후 흐르는 수돗물로 세척시에는 부착세균의 90% 이상을 제거할 수 있음을 본 실험과 기존의 보고를 통해서 확인되었다. 최종 소비자의 철저한 세척이 즉석섭취 농산물에 의한 식중독 예방에 중요한 역할을 하겠다.

식중독 유발 *Shigella* spp., *Salmonella* spp., *Vibrio choleare*, *Staphylococcus aureus, Listeria monocytogenes, Bacillus cereus* 및 *E. coli* O157:H7의 검출 성적

우리나라 18세 이상 성인 중 12.4%는 연 1회 이상 식중독을 경험하고 있으며, 0.3%는 식중독으로 인해 병원에 입원한 것으로 나타났다[22]. 또한 최근 10년간(1991-2000년)의 우리나라 식중독 발생현황을 분석시, 식품위생수준이 예전에 비해 전반적으로 향상되었음에도 불구하고 식생활 형태의 변화로 식중독 발생은 해마다 증가하고 사건당 발생환자 수가 1990년에 20명 정도였던 것이 2000년에 이르러서는 3.5배인 69.8명으로 식중독 발생이 점차 집단화 및 대형화되고 있음을 보고하였다[22].

식품에서 식중독 세균의 검출에 있어서 가장 이상적인 방법은 검출 과정이 간단하고 경제적이며 정확하여야 한다는 것이다. 전통적인 배지법은 공인된 방법이지만 시간과 노력이 많이 요구되는 단점이 있으며 그 결과가 명확하지 않는 경우도 종종 있다. 그러므로 이를 보완하거나 대체하기 위해 분자생물학적 방법, 면역학적 방법 외에 바이오센서, 전기영동 기법 등이 다양하게 응용되고 있다. 본 실험에서 파프리카, 딸기 및 토마토에 식중독을 유발

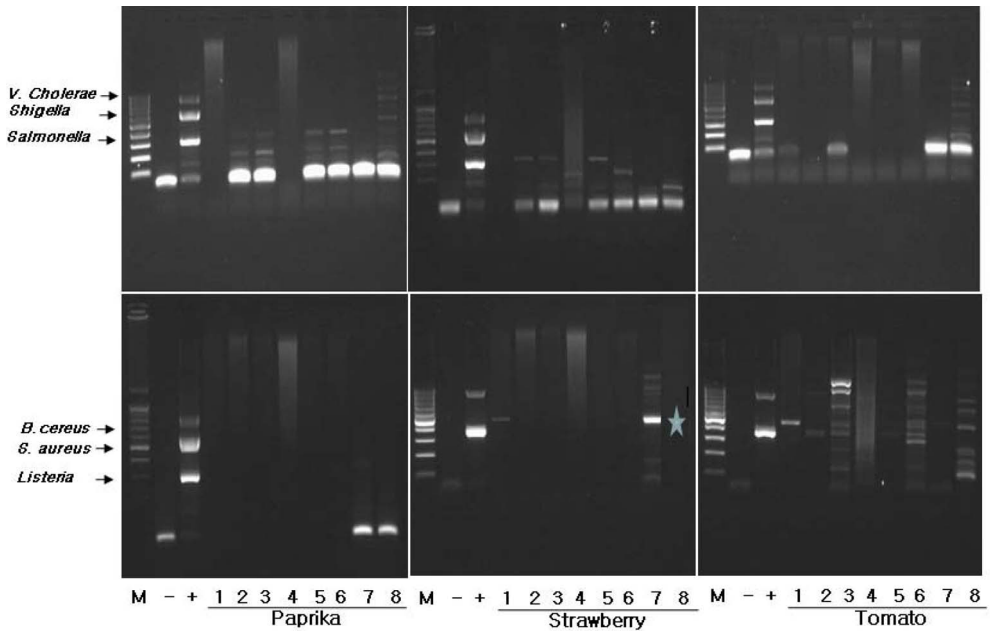

Fig. 2. Multiplex PCR results of paprikas, strawberries and tomatoes on foodborne pathogenic bacteria. Lane M, DNA marker; lane −, negative control; lane +, positive control; lane 1~4, experimental samples from department stores; lane 5~8, experimental samples from discount stores. Star indicates the *nuc* amplicon of *Staphyloccus aureus* in lane 7 of strawberries.

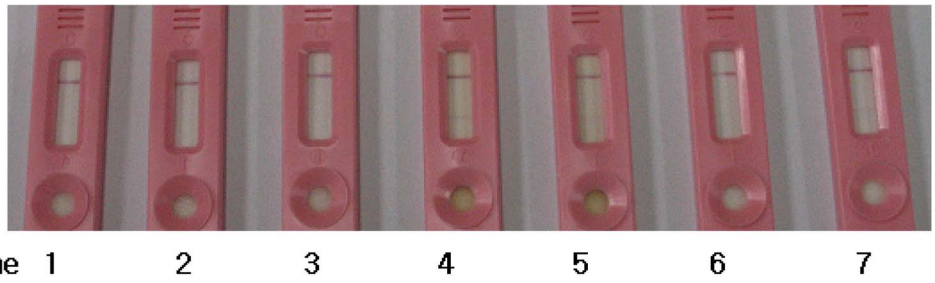

Fig. 3. Results for the detection of *E. coli* O157:H7 from paprikas (lane 1 and 2), strawberries (lane 3~5) and tomatoes (lane 6 and 7). If lines are present in the control and test zones, the sample is presumptively positive for *E. coli* O157:H7.

하는 병원성 세균의 부착 유무를 multiplex PCR 및 상업용 키트를 이용하여 조사하였다. Multiplex PCR 결과, 조사한 농산물에서 식중독을 유발하는 *Shigella* spp., *Salmonella* spp., *Vibrio choleare, Listeria monocytogenes, Bacillus cereus*는 검출되지 않았으나, 딸기에서 *Staphylococcus aureus*가 1례 발견되었다(Fig. 2). 또한 상업용 키트를 이용하여 *E. coli* O157:H7의 오염여부를 관찰한 결과 파프리카, 딸기 및 토마토 모두 음성으로 나타났다(Fig. 3). Multiplex PCR은 동시에 여러 target DNA를 검출하는 방법으로 시간과 노력을 많이 줄 일 수 있어 genotyping, 유전자변형물질 조사, 병원체 검출 등 여러 분야에서 많이 이용되고 있지만 한계를 가지고 있다[13]. 즉 Gold standard인 전통적인 배지법의 결과와 비교하여 위양성(PCR 양성, 배양 음성) 혹은 위음성(PCR 음성, 배지 양성)을 보일 수 있으므로 이에 대한 확인 작업이 필요하다. 위양성은 죽은 세균, 살아 있으나 배양은 되지 않는 상태의 세균, 세균들이 상해를 받았거나 주변 환경이 좋지 않을 때 일어날 수 있으며 또한 template DNA, 시약, 기구 등과 같은 PCR 시스템이 오염되어 일어날 수 있다. 본 실험에서는 PCR 과정중 위양성 및 위음성을 제거하기 위하여 증균배지에서 DNA추출시 후드에서 작업을 하였으며, 양성대조군과 template DNA가 들어 있지 않은 음성대조군을 항상 같이 시행하고, primers의 non-specific binding으로 인한 PCR 산물의 생성을 막기 위해 hot-start 방법을 사용하였다. 이와 관련된 국내 연구로, 즉석섭취 야채샐러드의 4%에서 *S. aureus*가 분리되었으며, 1%에서 *Salmonella* spp.가 검출되었다고 하였으며[8], 샐러드의 2.8%에서 *S. aureus*가 분리되었다고 하였다[23]. 또한 유치원생, 초・중・고등학생 및 일반인을 대상으로 손의 위생상태를 조사한 결과, 총 검사대상자의 9.4%에서 *S. aureus*가 검출되었다고 보고하였다[24]. *S. aureus*는 건강한 사람이라도 이들의 40%는 비강을 통해 옮겨질 수 있으므로 손으로 얼굴이나 신체부위를 만진후 반드시 손을 세척하는 습관이 중요하겠다[22,24]. 1998년부터 2000년사이 우리나라에서 발생한 식중독을 원인균별로 분류시, *Salmonella* spp.가 전체 발생 건수의 25.4%, 환자의 32.3%를 분포하였고, *S. aureus*가 전체 발생 건수의 9.6%, 환자의 15.4%를 차지하였다[25]. 또한 2000년도 원인식품별 식중독 발생현황을 환자 수를 기준으로 분석시, 과일 및 채소류가 전체의 10.7%를 차지하였으며, 이 중 과채류에 의한 식중독 사례는 매년 증가하는 양상을 보였다[25]. 이는 과채류 재료 자체에 문제가 있는 경우도 있지만, 과채류의 유통, 손질 및 조리시 취급자 혹은 주변의 다른 재료와의 접촉으로 교차오염이 원인이 될 수도 있다[25].

Salmonella spp.는 가장 흔한 식중독 원인균으로 최근 미국내 과채류에서 S*almonella* spp.가 발견되었으나, 구체적인 감염 경로는 아직 밝혀지지 않고 있다. 미국 식품위생학자들은 상추나 토마토가 재배되는 포장에 야생동물의 배설물에서 번식한 식중독 균이 빗물이 튀거나 수확을 하는 농작업 과정에서 일차적으로 감염되었을 가능성이 있고 이차적으로는 햄버거나 샌드위치를 만들 때 칼로 써는 과정에서 식칼이나 도마에서 감염되었을 것이라고 추정하고 있다[4]. 이에 반해 우리나라 식품의약품안전청에서 국내 생산 토마토와 샐러드 등 신선편이 식품을 수거해 *Salmonella* spp. 오염여부를 검사한 결과 모든 제품에서 *Salmonella* spp.이 검출되지 않아[1] 본 연구의 결과와 동일하였다.

파프리카, 딸기 및 토마토에 흔히 존재하는 세균의 동정

야채, 과일류에서 발견되는 대표적인 부패세균은 *Pseudomonas, Bacillus, Eriwinia, Lactobacillus, Rhizopus* 등이 있으며, 즉석섭취 야채류에서 발견되는 대표적인 식중독 유발 세균은 *Staphylococcus aureus, Listeria monocytogenes, Clostridium botulinum, Aeromonas hydrophila, Salmonella, E. coli* O157:H7, *Yersinina enterocolitica* 및 *Campylobacter jejuni* 등 있다[21,26]. 본 조사에서 파프리카, 딸기 및 토마토에 흔히 부착되어 있는 세균을 확인하기 위하여, 선택・감별배지에서 12개의 집락을 확보하였으며, 이를 세균자동분석기를 이용하여 동정하였다. 동정결과 이들 농산물에서 흔히 발견되는 세균 종은 *Pantoae* spp, *Enterobacter cloacae, Sphingomonas paucimobilis, Klebsilla oxytoca, Pseudomonas aeroginosa, Pseudomonas putida, Staphylococcus sciuri, Aeromonas hydrophila, Aeromonas caviae,*

Staphylococcus aureus, Citrobacter freundii, Serratia odorifera 이었다. 파프리카 및 토마토는 2~4종의 세균이, 딸기는 4~6종의 세균이 발견되었으며 가장 흔히 발견되는 세균종은 *Enterobacter cloacae*이었다. 김 등[8]은 우리나라에서 유통중인 즉석섭취 야채샐러드에 부착되어 있는 세균을 동정한 결과 *Enterobactor cloacae*, *Klebsiella oxytoca*, *Citrobactoer freundii*, *Klebsiella pneuminiae* 순으로 많이 발견되었다고 하여 본 연구의 성적과 유사하였다.

기생충 검사 결과

식료품을 통해서 감염될 수 있는 기생충으로 *Giardia lamblia, Ascaris spp., Entamoeba histolytica, Gnathostoma spinigerum, Cryptosporidium parvum, Clonorchis spp., Taenia spp., Ancylostoma duodenale, Toxocara spp., Toxoplasma gondii, Trichuris trichiura, Anisaki simplex* 등이 있으며[20], 노르웨이의 시장에서 구입한 채소와 과일을 대상으로 기생충학적 검사를 시행한 결과 조사한 농산물의 6%에서 기생충이 발견되었으며[27], 사우디아라비아에서는 농산물의 13~27%가 기생충에 오염되었다고 보고하여[28], 농산물이나 농식품을 수입시 각별한 주의가 필요하겠다. 본 실험에서 파프리카 및 토마토에서는 기생충이 분리되지 않았으나, 딸기에서 미확인 기생충란이 검출되어 철저한 세척이 필요하겠다(Fig. 4).

농산물의 생물학적 위해요소 오염 원인으로는 가축, 야생동물 분변, 자연재해, 하수, 논밭의 위생관리 부족, 운송수단, 취급자에 의한 오염 등이 있을 수 있다. 미국 FDA의 과일 및 야채류의 미생물 오염방지를 위한 지침에 의하면, 채소 성장 및 수확시기에는 가축의 접근을 금지하고 수확농업용수, 냉장 공정 등 수확에서 제품생산에 이르기까지 미생물의 오염을 줄이기 위해 GAP 및 GMP에 따르도록 지시하고 있다[29]. 그러나 우리나라의 경우 아직 구체적인 기준 규격이 설정되지 않아 안전 사각지대에 놓여있는 실정이다. 본 연구에서는 대전지역에서 유통중인 농산물중 조리하지 않고 직접 식용으로 할 수 있는 파프리카, 딸기 및 토마토를 대상으로 생물학적 위해요소를 조사한 결과, 일부 농산물에서 *Staphylococcus aureus*와 기생충란이 발견되어 생산 및 유통과정중 오염 경감을 위한 노력이 필요하며 또한 먹기 직전 철저한 세척이 요구된다. 이와 같은 연구를 통하여, 국내에서 생산 판매되고 있는 농산물의 생물적 위해 요인을 규명하고, 우리 농산물의 소비자 신뢰도 향상 및 안전한 농산물 공급을 통한 국민 보건향상에 기여할 수 있으며, 더 나아가 농산물의 해외수출 확대에도 공헌을 할 것이다.

요 약

생활수준의 향상으로 건강과 웰빙에 대한 관심이 늘면서 즉석섭취(ready-to-eat) 농산물의 수요가 증가하고 있다. 이들 농산물중 파프리카, 딸기, 토마토 등은 우리나라의 대표적인 수출 농산물로서 안전성 확보가 중요하다. 본 연구는 대전시내 2개 백화점과 2개 대형할인점에서 유통 중인 파프리카, 딸기 및 토마토를 대상으로 총호기성균, 대장균군, 식중독 유발 세균 및 기생충의 오염 수준을 배지배양법, multiplex PCR, 상업용키트 및 현미경으로 조사하였으며, 또한 세척방법별 세균 감소율을 평가하였다. 유통중인 파프리카, 딸기 및 토마토의 평균 총호기성균 수는 1.3×10^4~1.8×10^5 CFU/g, 평균 대장균군의 수는 1.4×10^3~9.6×10^3 CFU/g 범위이었으며, 세균 오염 정도는 매장별로 유의한 차이를 보이지 않았다. 총호기성균 및 대장균군의 오염 정도는 딸기에서 가장 높았으며, 딸기에서 미확인 기생충 충란이 발견되었다. 조사한 농산물에서 가장 흔히 분리되는 세균은 *Enterobacter cloacae* 이었으며, 식중독 유발 세균중 *Staphylococcus aureus*가 딸기에서 발견되었으나 그 외의 식중독 유발 세균은 분리되지 않았다. 딸기를 대상으로 세척방법별 세균 감소율을 조사한 결과 수돗물로 5회이상 세척시 일반세균의 80%이상을 제거할 수 있었으며 야채용 세제를 사용하거나 초음파 세척시 세균 감소율이 증가하였다. 이상의 결과로 보아, 파프리카, 딸기 및 토마토의 세균 및 기생충의 오염 정도를 조사한 결과 딸기에서 가장 많은 생물학적 오염을 보였으며, 이들 농산물들의 생물학적 오염 정도는 구입 매장별로 유의한 차이를 보이지 않았다.

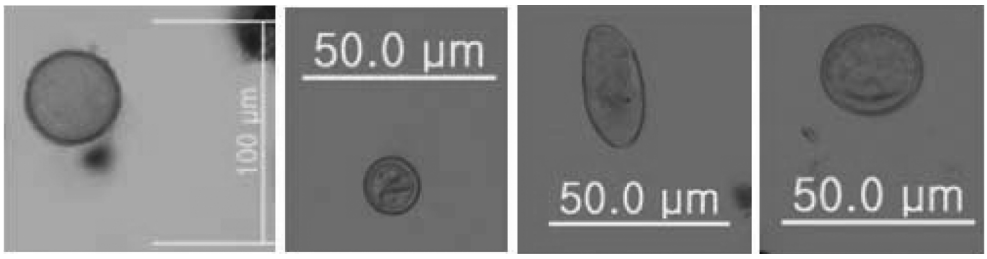

Fig. 4. Unidentified eggs were found in strawberries.

감사의 말씀

본 연구는 2008년도 농림기술관리센터(ARPC)의 지원에 의하여 수행되었으며 이에 감사를 드립니다(과제 관리번호 608010-05-1-SB330).

참고문헌

1. 농산물유통공사: 농산물수출실무정보, http://www.kati.net/index.jsp.
2. Beltran, J., Ghosh, A.K. and Basu, S.: Immunotherapy of tumors with neuroimmune ligand capsaicin. *J. Immunol*., **178**, 3260-3264 (2007).
3. Rao, A.V.: Lycopene, tomatoes, and the prevention of coronary heart disease. *Exp. Biol. Med.*, **227**, 908-913 (2002).
4. Centers for Disease Control and Prevention: Outbreak of *Salmonella* serotype Saintpaul infections associated with multiple raw produce items-United States. *MMWR Morb. Mortal. Wkly. Rep.*, **57**, 929-934 (2008).
5. Liu, S., Buring, J.E., Sesso, H.D., Rimm, E.B., Willett, W.C. and Manson, J.E.: A prospective study of dietary fiber intake and risk of cardiovascular disease among women. *J. Am. Coll. Cardiol*., **39**, 49-56 (2002).
6. 최정숙, 전혜경, 황대용, 남희정: 주부의 식품안전에 대한 인식과 안전성우려의 관련 요인. 한국식품영양과학회지, **34**, 66-74 (2005).
7. 심선보, 함수남, 권필수, 이선옥, 김소희, 이길웅, 방옥균: 시중에 유통중인 야채 샐러드류의 식중독균 오염실태조사 및 감소방안 연구, 식품의약품안전청 연구보고서. **7**, 364~365 (2003).
8. 김진숙, 방옥균, 장해춘: 즉석 섭취 야채샐러드의 미생물 오염조사. 한국식품위생안전성학회지, **19**, 60-65 (2004).
9. 원영준, 윤창용, 서일원, 남혜선, 이동미, 박동희, 이향미, 김세실, 이계융: 유기농 채소에서 식중독 원인균의 오염도 조사. 식품의약품안전청 연구보고서, **6**, 521 (2002).
10. 최진원, 박신영, 연지혜, 이민정, 정덕호, 이규호, 김민곤, 이동하, 김근성, 하상도: 유통 중인 신선 채소류의 미생물 오염도 평가. 한국식품위생안전성학회지, **20**, 43-47 (2005).
11. 정승혜, 허명제, 주정화, 김경애, 오성숙, 고종명, 김용희, 임정수: 비가열 섭취 채소류의 미생물 오염도 조사. 한국식품위생안전성학회지, **21**, 250-257 (2006).
12. 김용수, 하산도: 선택배지를 활용한 전통적인 식중독세균 분리 기법. Safe Food, **1(4)**, 5-15 (2006)
13. 홍광원. 식중독균 신검출 기법-PCR 기법. Safe Food, **1(4)**, 16-23 (2006)
14. 식품의약품안전청: 식품공전, 식품의약품안전청, 422-464 (2008).
15. Kong, R.Y., Lee, S.K., Law, T.W., Law, S.H. and Wu, R.S.: Rapid detection of six types of bacterial pathogens in marine waters by multiplex PCR. *Water Res*., **36**, 2802-2812 (2002).
16. Panicker, G., Call, D.R., Krug, M.J. and Bej, A.K.: Detection of pathogenic *Vibrio* spp. in shellfish by using multiplex PCR and DNA microarrays. *Appl. Environ. Microbiol*., **70**, 7436-7444 (2004).
17. Vicedo, A.B. and Aznar, R.: PCR-based procedures for the detection and quantification of *Staphylococcus aureus* and their application in food. *J. Appl. Microbiol*., **100**, 353-364 (2006).
18. Aznar, R. and Alarcón, B.: PCR detection of *Listeria monocytogenes*: a study of multiple factors affecting sensitivity. *J. Appl. Microbiol*., **95**, 958-966 (2003).
19. Jensen, G.B., Fisker, N., Sparsø, T. and Andrup, L.: The possibility of discriminating within the Bacillus cereus group using gyrB sequencing and PCR-RFLP. *Int. J. Food Microbiol*., **104**, 113-120 (2005).
20. Pozio, E.: Foodborne and waterborne parasites. *Acta Microbiol. Pol*., **52 Suppl**, 83-96 (2003).
21. 강성태, 윤재영: 식품미생물학. 형설출판사, 서울, pp. 414-430. (2004).
22. 박경진, 천석조, 박기환, 홍종해, 김정원: 식중독 경험 및 식품안전에 대한 인식 조사. 한국식품위생안전성학회지, **18**, 139-145 (2003).
23. 김하규, 이학태, 김종호, 이상선: 즉석 섭취 식품에 대한 미생물 오염 분석. 한국식품위생안전성학회지, **23**, 285-290 (2008).
24. 정재근, 김민지, 기혜영, 최미화, 서진종, 김선희, 박종태, 김명권, 김은선: 손 위생에 대한 식중독 원인균 실태조사. 한국식품위생안전성학회지, **23**, 40-50 (2008).
25. 박희옥, 김창민, 우건조, 박선희, 이동하, 장은정, 박기환: 최근 한국에서 발생한 식중독 모니터링 및 추이 분석. 한국식품위생안전성학회지, **16**, 280-294 (2001).
26. Abadias, M., Usall, J., Anguera, M., Solsona, C. and Viñas, I.: Microbiological quality of fresh, minimally-processed fruit and vegetables, and sprouts from retail establishments, *Int. J. Food Microbiol*., **123**, 121-129 (2008).
27. Robertson, L.J. and Gjerde, B.: Occurrence of parasites on fruits and vegetables in Norway. *J. Food Prot*., **64**, 1793-1798 (2001).
28. Al-Binali, A.M., Bello, C.S., El-Shewy, K. and Abdulla, S.E.: The prevalence of parasites in commonly used leafy vegetables in South Western, Saudi Arabia. *Saudi Med. J*., **27**, 613-616 (2006).
29. U.S. Food and Drug Administration: Foodborne pathogenic microorganial and natural toxins handbook. http://www.cfsan.fda.gov/cgi-bin/.