pISSN 1229-1153 / eISSN 2465-9223 *J. Food Hyg. Saf.*
Vol. 33, No. 1, pp. 31~37 (2018)
https://doi.org/10.13103/JFHS.2018.33.1.31

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

유기농 시설엽채류의 유해미생물 오염평가

오소영 · 남기웅[1] · 윤덕훈*
국립한경대학교 국제농업기술정보연구소, [1]국립한경대학교 원예생명과학과

Analysis of Pathogenic Microorganism's Contamination on Organic Leafy Vegetables at Greenhouse in Korea

Soh-Young Oh, Ki-Woong Nam[1], and Deok-Hoon Yoon*
Research Institute of International Agriculture, Technology and Information, Hankyong National University, Anseong, Korea
[1]Department of Horticultural Life Science, Hankyong National University, Anseong, Korea
(Received September 15, 2017/Revised October 9, 2017/Accepted December 21, 2017)

ABSTRACT - This study was conducted to evaluate the microbiological safety of leafy vegetables (perilla leaf and lettuce) in relation to cultivation methods. A total of 2,304 samples were collected from plants, harvesting tools and soil mulching film during the production and harvest stages from organic- and conventional- farms. From the samples, sanitary indicator microorganisms (total aerobic bacteria, coliforms, *E. coli.*, Environmental *Listeria*, and yeast and mold) and pathogenic microorganisms (*S. aureus*, *B. cereus*, *Salmonella* spp., *Clostridium* spp., and *L. monocytogenes*) were analyzed. In the production stage of leafy vegetables, the sanitary indicator microorganisms was not detected regardless of cultivation method or it was detected to be less than 3.4 Log CFU/100 cm^2. *B. cereus* and *S. aureus* were found to be 0.22~1.55 Log CFU/g in perilla leaf and lettuce produced by organic farms, and *S. aureus* was not detected and *B. cereus* was found to be 0.42~2.19 Log CFU/g in conventional farms. There were no significant differences between two cultivation methods. In the harvesting tools and soil mulching film, the contamination levels of sanitary indicator microorganisms and pathogenic microorganisms was low regardless of the cultivation method. However, there was a positive correlation (R^2 = 0.4526) in that the higher the microbial contamination level in the harvesting tool, the higher the microbial contamination on the surface of the plant. In addition, sanitary indicator microorganisms and pathogenic microorganisms were not detected or low in soil mulching during the production of organic leafy vegetables. As a result of this study, microbial hygiene control by soil mulching and harvesting tools was more important than difference of cultivation method in production of leafy vegetables.

Key words: Organic, Leafy vegetables, Lettuce, Perilla leaf, *B. cereus, S. aureus*

최근 안전농산물에 대한 국민적 관심 증가에 따라 농산물의 재배농법 및 가공법의 변화, 신선농산물 및 최소가공 농산물의 소비증가, 국제 유통의 증가 등의 요인에 의해 생과일과 채소섭취에 따른 인체 감염발생이 증가하고 있다[1]. 또한 농업생태계를 건강하게 유지하고 화학물질에 대해 안전한 유기농산물에 대한 관심도 높다[2,3]. 유기농업은 화학비료 및 화학합성농약을 사용하지 않는 대신 여러 친환경자재뿐만 아니라 유해미생물의 증식이 우려되는 가축분뇨 기반의 퇴비를 사용하고 있으며[3-6], 화학적방제제나 화학비료를 사용하지 않으므로 유해미생물의 증식이 우려되어 미생물 안전성에 문제가 부각되고 있다. 실제로 유기농산물을 매개로 사람에게 다양한 질환이 유발되거나 사망에 이르는 사례가 보고되고 있다[7,8]. 미국에서는 토마토에 오염된 *Salmonella* spp. 식중독 사건이 발생하여 대형유통업체, 식당 등에서 토마토 취급을 기피하는 현상이 일어났고[9], *Listeria*에 오염된 멜론에 의한 사망사고가 발생하였다[10]. 또한 딸기에서는 *E. coli* O157:H7에 의해 질병 및 사망사고가 발생하였으며[11], 이외 새싹채소, 당근, 방울토마토, 호박 등의 과채류에서도 *Listeria monocytogenes*와 *Aeromonas* spp.가 검출되었다[12]. 독일에서는 유기농 채소를 섭취하고 Enterohemorhagic *Escherichia coli*로 인하여 다수의 사망사고가 발생하였으며[13], 2005년 스페인산 양상추에서 *Salmonella typhimurium*이 검출되었는데 그 원인으로는 미처리된 하수를 관개용수로 이용했기 때문이었

*Correspondence to: Deok-Hoon Yoon, Hankyong National University, #327, Jungang-ro, Anseong-si, Gyeonggi-do 17579, Korea
Tel: 82-31-678-4643, Fax: 82-31-678-4644
E-mail: tropagri@hknu.ac.kr

다[12]. 국내에서는 즉석섭취 및 편의식품에 대해 *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Vibrio parahaemolyticus*는 음성, *Staphylococcus aureus*은 1 g당 100 CFU/g 이하, *Bacillus cereus*는 1 g당 1,000 CFU/g 이하, 세균수는 1 g당 100,000 CFU/g 이하로 규정하고 있다[14]. Kim 등[15]은 일반적으로 신선채소류의 총균수는 10^4~10^6 CFU/g이며, 품질저하에 관계되는 부패균인 *Fluorescent pseudomonas* 등은 10^1~10^3 CFU/g 수준으로 존재한다고 보고하였다. 또한 Won 등[16]은 국내산 유기농 채소의 23.2%에서 대장균이 검출되었고, *Enterobacter, Klebsiella* 및 *Citrobacter* 등의 장내세균도 발견되었다고 보고하였다. *S. aureus*은 자연 환경에 대한 저항성이 강하기 때문에 자연계에 광범위하게 분포하고 있으며 사람이나 동물의 화농성 병소에 존재할 뿐만 아니라 건강한 사람과 동물의 피부 등에도 상재하고 있어 식품과 인체에 오염될 가능성이 매우 높다[17]. *S. aureus*에 의한 식중독은 균이 식품에서 증식하면서 생성된 독소를 사람이 섭취함으로서 발생하는 독소형 식중독인데, 자연계에는 여러 종류의 Staphylococcus속이 있으나 식중독을 유발하는 enterotoxin을 생산하는 균종은 *S. aureus*에 한정되며, 면역학적으로 서로 다른 18가지 enterotoxin (A~U형)이 존재한다[18]. 주로 A형이나 D형에 의한 식중독 사례가 많은 것으로 보고되고 있으며 독소 중 B형이 열에 가장 안정한 것으로 알려져 있다[19].

대표적 그람양성균중 하나인 *B. cereus*는 토양, 물 등 자연계에 퍼져있는 독소형 식중독균으로 구토나 설사를 일으키는데 최근 분유, 된장, 떡 등에 오염이 확인되면서 규제가 강화되고 있다. *B. cereus*가 생산하는 설사형 식중독을 유발하는 독소는 haemolysin BL (HBL), non-haemolytic enterotoxin (NHE), cytotoxin K (CytK), enterotoxin T (BceT), enterotoxin FM (EntFM)이 있으며, 구토형식중독은 emetic toxin (EM)에 의해 유발된다[20]. *B. cereus*에 의한 식중독사례를 보면 설사형 식중독은 육류, 채소의 스프, 소시지, 크림이 원인식품이었으며, 구토형식중독은 쌀밥이나 볶음밥이 원인식품이었다[21]. *B. cereus*는 쌀, 향신료, 육류, 난가공품, 유가공품 등 다양한 가공식품과 익히지 않고 섭취하는 식품에 널리 분포하고 있다. 이는 농업환경이 농산물의 안전성에 영향을 미치며, 병원성 미생물은 농산물 표면에서 생존 및 증식이 가능하기 때문에 관리가 필요함을 시사하고 있다. 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[22]. 또한 2011년에 식품안전을 강화하기 위하여 식품현대화법(FSMA)을 제정하고, 성공적인 실행을 위한 방안 중 하나로 농산물 안전기준(Final Rule on Produce Safety)을 마련하였다[23]. 농산물 안전기준은 미생물오염 5대 경로인 농업용수, 가축분뇨를 이용한 생물학적 토양 개량제, 작업자의 건강과 개인위생, 농기구 및 농기계, 가축과 야생동물을 과학적으로 관리하도록 설정한 기준이다[11]. 이에 따라 국내에서도 농산물의 안전성을 확보하는 제도인 Good Agricultural Practice (GAP)제도의 도입 및 확장을 권장하고 있으며[24], 신선 채소에 의한 식중독 사고예방 및 농산물안전성 향상을 위한 위생관리지침마련이 필요하다.

본 연구는 시설엽채류(상추, 깻잎)의 생산단계에서 부산물퇴비를 사용한 유기농가와 유기농자재를 사용한 유기농가, 그리고 관행농가에서의 유해미생물 오염실태를 파악하여 유기농 시설엽채류의 건전성과 미생물 위해평가의 기초자료로 활용하고자 수행하였다.

Materials and Methods

시설엽채류 시료 수집

시설에서 재배되는 상추(Lactuca sativa)의 유해미생물 오염도 조사를 위해 충북 소재 3개 농가(부산물퇴비 사용, 유기질비료 사용, 관행)에서 시료를 수집하였다. 상추 1 kg을 1점으로 하여 각 농가당 3개 지점에서 2주 간격으로 총 54점의 시료를 수집하여 분석에 사용하였다. 시설 깻잎(Perilla Leaf)의 유해미생물 오염도 조사를 위해 충남 소재 3개 농가(부산물퇴비 사용, 유기질비료 사용, 관행)에서 시료를 수집하였다. 시료는 깻잎 20매를 1점으로 하여 각 농가당 3개 지점에서 2주 간격으로 총 54점의 시료를 수집하여 분석하였다. 시료 채취시 교차오염을 방지하기 위하여 멸균장갑을 착용하였으며, 채취 후 냉장박스에 보관하여 실험실로 운반하여 12시간 내에 시료 당 3반복으로 분석하였다.

작업도구 시료 수집

시설 엽채류의 생산 및 수확 작업시 사용되는 도구로부터의 유해미생물 오염도 조사를 위해 상추와 깻잎의 식물체 조사를 실시한 동일 농장에서 농가별로 수확바구니, 수확장갑, 토양피복재 등 3가지 샘플을 3반복으로 12개월 동안 2주 간격으로 시료를 채취하였다. E-swab kit (3M, Maplewood, MN, USA)를 이용하여 각 도구의 표면에서 10 cm^2 면적 내의 표면미생물을 채집하였다. 모든 시료는 냉장 보관하여 실험실로 운반하여 12시간 내에 시료당 3반복으로 분석하였다.

유해미생물 오염도 조사

수집한 시료에 대해 위생지표세균인 Total aerobic bacteria, Environmental *Listeria*, Yeast & mold 그리고 Coliforms을 정량적으로 분석하였으며, 식중독 유발가능성이 있는 독소생성 *B. cereus*와 *S. aureus*, *Clostridium* spp., *Salmonella* spp. 그리고 *L. monocytogenes*의 오염도를 정량적으로 분석하였다. 작업도구의 표면에서 채집한 시료는 10-20배 멸

균수로 희석하여 정량적으로 각각의 미생물 선택배지에 접종하였다. 각 작물 시료는 10 ± 1 g을 stomacher bag에 넣고 1:10(w/v) 비율로 0.1% peptone water를 더해 5분간 고루 문질러 균질화 하였다. 호기성세균은 Aerobic count plate (3M™ Petrifilm™, USA)에 균질화한 시료 1 mL를 분주하여 35°C에서 48시간 배양 후, 형성된 붉은색 집락(colony)을 계수하였다. 대장균군은 Coliform count plate (3M™ Petrifilm™, USA)에 시료 1 mL를 분주하여 35°C에서 24시간 배양 후, 기포를 가진 붉은색 colony를 계수하였다. 효모 및 곰팡이는 Yeast and mold count plate (3M™ Petrifilm™, USA)에 시료 1 mL를 분주하여 25°C에서 48시간 배양 후, 파란색의 colony를 계수하였다. *B. cereus* 오염도 조사를 위해 균질화한 희석용액 100 μL를 3개의 Mannitol Egg Yolk Polymyxin Agar에 각각 분주하여 도말한 후, 37°C 배양기에서 24시간 동안 배양하여 분홍색의 lethicinase 작용으로 집락주위에 밝은 환(clear zone)이 나타나는 단일 집락수를 계수하였다. *S. aureus* 오염도 조사를 위해 균질화한 희석용액을 100 μL씩 3개의 Baird-Parker (BP, Oxoid, Hampshire, UK)에 각각 분주하여 도말한 후, 37°C의 배양기에서 48시간 동안 배양 후 검은색의 lethicinase 작용으로 집락주위에 밝은 환(clear zone)이 나타나는 단일 집락을 계수하였다. 최종 동정은 계수한 평판에서 전형적인 집락을 선발하여 Nutrient Agar (NA, BD, USA)배지에 접종하고 37°C에서 24시간 배양한 후 VITEK (VITEK-2 compact)을 사용하였고 대조군으로 *S. aureus* 표준 균주 ATCC 25923을 사용하였다. *Clostridium* spp. 오염도 조사를 위해 *C. bifermentans, C. perfringens, C. septicum*을 포함한 *Clostridium*을 확인 할 수 있는 선택배지인 Difco Differential Reinforced Clostridial Agar (Difco, USA)에 균질화한 희석용액 100 μL를 분주하여 도말한 후 37°C 배양기에서 72시간 동안 배양한 후 검정색의 반점이 나타나는 단일 집락수를 계수하였다. *Salmonella*의 경우 Salmonella Express Plate (SALX) Petrifilm™ (3M, USA)에 균질화한 희석용액 1 mL씩 치상하여 40°C 배양기에서 24시간 동안 배양한 후 적색콜로니에 황색존이나 가스방울이 있는 집락을 *Salmonella* 종으로 추정하여 계수하였다. 확정실험은 Petrifilm Salmonella Express Disc와 반응시켜 *Salmonella*로 추정된 집락이 디스크반응 후 진한청색콜로니 또는 붉은 가운데 진청색침전물이 나타나면 *Salmonella*로 확정하여 계수하였다. *L. monocytogenes*의 오염도 조사를 위해 균질화한 희석용액 100 μL를 Oxford agar (Oxoid, UK) 배지에 분주하여 도말하여 37°C 배양기에서 48시간 동안 배양한 후 검정색을 중심으로 회색 균체가 나타나는 단일 집락수를 계수하였다.

통계분석

분석된 토양 화학성과 미생물 군집은 SAS 프로그램 9.1.3 버전 (2006)을 사용하여 통계분석 하였으며, 엽채류 표면의 미생물 검출량을 5% 수준에서 Duncan's multiple range test를 하였다.

Results and Discussion

유기농 시설 엽채류의 위생지표세균 및 유해미생물 오염도

유기농 깻잎과 유기농 상추의 재배기간 동안 단위면적당 위생지표세균 및 유해균의 오염도를 분석하였다(Fig. 1). 위생지표세균은 인체 유해성과 직접 관련은 적으나, 위생적 관리수준 등을 판정할 수 있는 지표로 사용이 가능하다. 유기농 깻잎에서는 Total aerobic bacteria (AC)과 *B. cereus* (BC) 만 검출되었으며, 유기농 상추에서는 Total aerobic bacteria (AC), Yeast & mold (YM), *S. aureus* (SA), *B. cereus* (BC), Environmental *Listeria* (EL) 순으로 검출되었다.

모든 시료에서 식중독균인 *Salmonella* spp., *Clostridium* spp., *L. monocytogenes*는 검출되지 않았다. 독소형 식중독균인 *S. aureus*는 유기농 깻잎에서는 검출되지 않았으며, 유기농 상추에서의 검출량은 2.03 Log CFU/100 cm^2였다. 또 다른 식중독균인 *B. cereus*의 검출량은 유기농 깻잎과 유기농 상추에서 각각 1.55 Log CFU/100 cm^2와 1.35 Log CFU/100 cm^2이었다. Kim 등[20]은 들깻잎과 들깻잎 생산환경으로부터 채취한 시료에서 분리한 *B. cereus*균주의 독소유전자를 분석한 결과 모든 균주에서 설사를 유발하는 독소유전자가 확인되었고, 21%의 균주에서 구토를 유발하는 독소유전자가 확인되었다고 하였다. 또한 *S. aureus*의 독소유전자에서 4개의 독소유전자패턴이 확인되었고, 32%의 균주에서 독소유전자가 확인되었다[26]. *S. aureus* 및 *B. cereus*와 같은 독소형 식중독균의 경우 독소를 생성하여

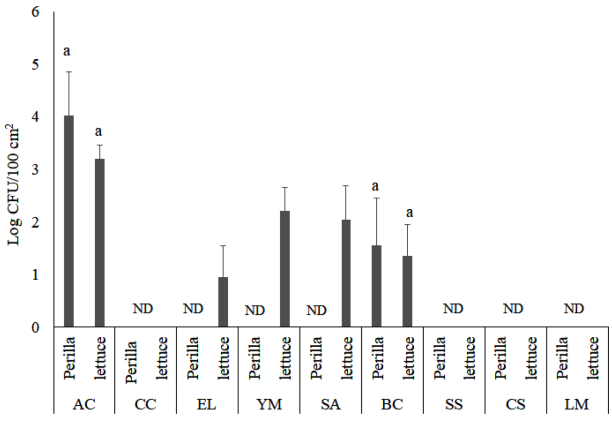

Fig. 1. Comparison of microorganism on leaf surface according to the type of organic leafy vegetables. AC: Total aerobic bacteria, CC: Coliforms, EL: Environmental *Listeria*, YM: Yeast & Mold, SA: *Staphylococcus aureus,* BC: *Bacillus cereus,* SS: *Salmonella* spp., CS: *Clostridium* spp., LM: *Listeria monocytogenes*.

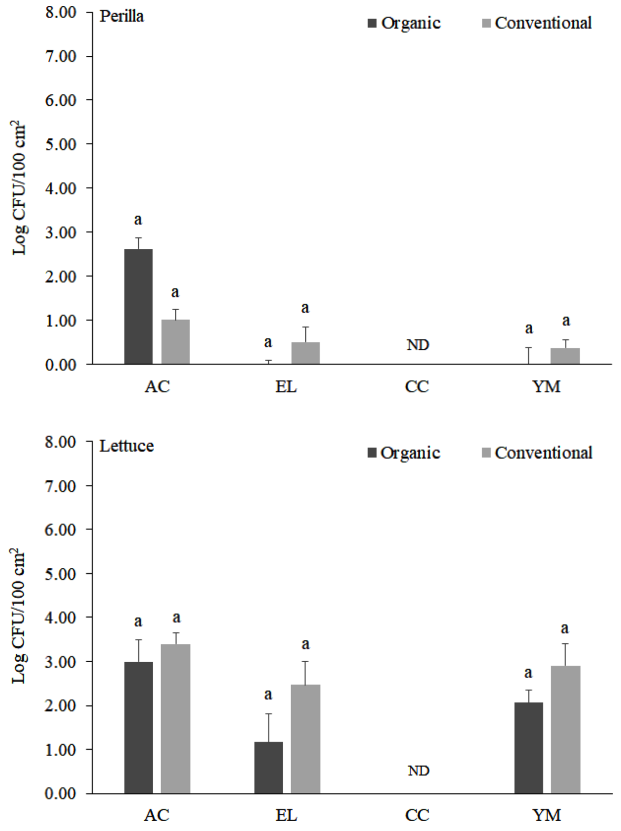

Fig. 2. Microbial population of leaf vegetables collected from organic and conventional farms. Organic : use several environment friendly agricultural materials, Conventional : General farm to the chemical control. AC: Aerobic bacteria, EL: Environmental *Listeria*, CC: Coliforms, YM: Yeast & Mold.

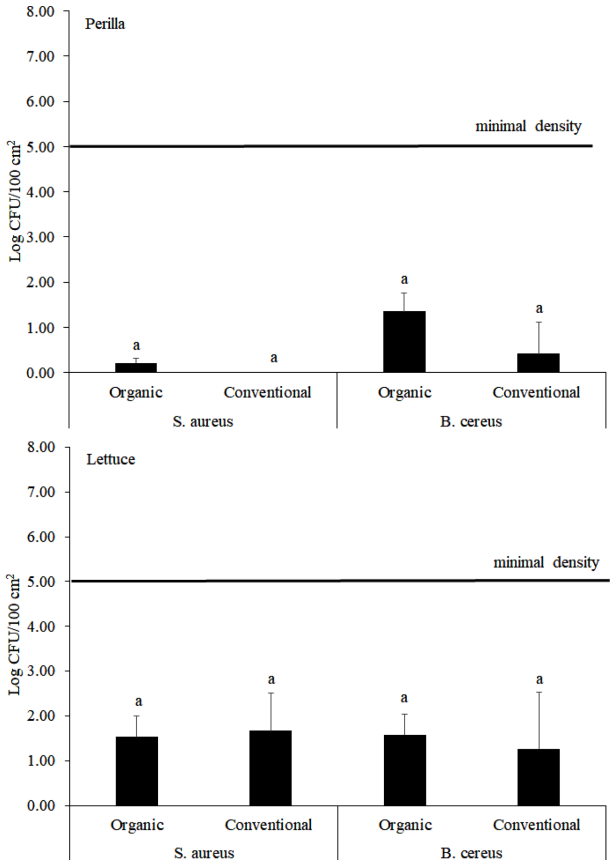

Fig. 3. Comparison of toxin-producing bacteria on leaf surface according to the type of cultivation method.

병을 유발할 수 있는 최소밀도가 5 Log CFU/g으로 알려져 있는데[25], 본 연구에서의 검출량은 1.35~2.03 Log CFU/100 cm^2 범위로 오염수준은 낮았다.

유기농과 관행 엽채류의 위생지표세균과 유해미생물 오염도 비교

유기농가와 관행농가에서 생산된 시설엽채류 표면의 위생지표세균의 분포를 조사하였다(Fig. 2). 모든 시료에서 Coliforms은 검출되지 않았고, Total aerobic bacteria, Yeast & Mold, Environmental *Listeria* 등은 모든 시료에서 3.4 Log CFU/100 cm^2 이하로 검출되었다. 또한 World Health Organization (WHO)의 총호기성 세균수에 대한 오염 한도치인 7 Log CFU/g 기준[27]을 적용하였을 때는 모두 기준치 이하인 것으로 조사되었다.

유기농 엽채류와 관행 엽채류 표면의 유해균의 오염도를 분석·비교하였다(Fig 3). 유해미생물인 *S. aureus*는 하나 이상의 독소를 형성해서 식중독을 일으키는 독소형 식중독으로서, 상대적으로 많은 균주들이 항생제에 내성을 가지는 경우가 많은데 신선채소의 17.7-24.0%에서 검출된다고 하며[28], 또한 우리나라에서 생산된 상추의 37%에서 *S. aureus*가 검출되었다고 하였다[29].

모든 시료에서 *Salmonella* spp., *Clostridium* spp., *L. monicytogenes*는 검출되지 않았다. 유기농 깻잎과 유기농 상추에서 *B. cereus*와 *S. aureus*가 0.22~1.55 Log CFU/g 수준으로 분석되었고, 관행 엽채류의 경우 *S. aureus*는 검출되지 않았으며 *B. cereus*는 0.42~2.19 Log CFU/g의 검출량을 나타내어 유기농 엽채류와 관행 엽채류 사이에 유의적 차이는 없었다. 또한 모든 시료에서 독소를 생성하기 위한 최저 수준인 5 Log CFU/g 보다 낮았으므로 안전한 수준이었다.

관행농산물의 경우 잔류농약, 중금속이 문제로 대두되어 화학적 자재를 사용하지 않는 유기농산물이 가치를 인정받았으나, 최근 미생물학적 안전성이 우려되고 있다[30]. 그러나 본 연구 결과 관행엽채류와 유기엽채류의 위생지표세균 및 유해미생물 검출량은 모두 위해 수준 이하였으며, 통계적 유의차가 없으므로 재배방법에 의한 미생물학적 안전성 차이는 없는 것으로 사료된다. 이는 미국의 미네소타지역의 유기농가와 관행농가로부터 2,029개의 농산물 샘플을 조사한 결과 모든 유형의 농가에서 생산된 엽채류와 상추 및 배추에서 높은 수준의 대장균이 검출되었으나,

Table 1. Microbial population of harvest tool used in farm. Unit : mean ± standard deviation; Log CFU/100 cm^2

	Cultivation method	AC	EL	CC	YM	SA	BC	SS	CS	LM
Mulching film	Organic	4.6 ± 0.46a	2.4 ± 0.35	ND	1.8 ± 0.46	2.8 ± 0.93	4.2 ± 1.49a	ND	ND	ND
	Conventional	5.0 ± 0.36a	ND	ND	ND	ND	4.7 ± 1.37a	ND	ND	ND
Glove	Organic	2.9 ± 1.00a	2.1 ± 0.96	ND	1.8 ± 0.54	ND	ND	ND	ND	ND
	Conventional	4.0 ± 1.00a	ND	ND	ND	ND	3.7 ± 0.74	ND	ND	ND
Basket	Organic	3.3 ± 1.95a	1.8 ± 1.73	ND	2.5 ± 0.85	1.8 ± 0.72	ND	ND	ND	ND
	Conventional	3.4 ± 0.98a	ND	ND	ND	ND	3.4 ± 0.59	ND	ND	ND

AC: Total aerobic bacteria, EL: Environmental *Listeria*, CC: Coliforms, YM: Yeast & Mold, SA: *Staphylococcus aureus,* BC: *Bacillus cereus,* SS: *Salmonella* spp., CS: *Clostridium* spp., LM: *Listeria monocytogenes*.

관행농가와 유기농가 사이에 유의미한 차이는 없다는 보고와 일치한다[31].

수확도구의 위생지표세균과 유해미생물 오염도 비교

농가에서 사용하는 수확도구 표면의 위생지표세균과 유해균의 오염도를 분석하였다(Table 1). 재배방법과 관계없이 장갑, 수확바구니, 멀칭필름의 세균밀도는 전반적으로 낮은 수준을 유지하였으며 Coliforms, *Salmonella* spp., *Clostridium* spp., *L. monocytogenes*는 모든 시료에서 검출되지 않았다. 유해균의 분포는 재배방법의 차이보다는 각 농가별 관리 수준과 밀접한 관계가 있었다[32]. 유기농가의 수확장갑에서 위생지표세균 및 유해미생물의 검출량은 0~2.9 Log CFU/glove 이었으며, 관행농가의 장갑은 0~4.0 Log CFU/glove 으로 작업자 손의 일반세균기준인 3.4 Log CFU/hand[33]에 비해 유기농가에서는 낮은 수준이었으나, 관행농가에서는 호기성세균의 경우 0.6 Log이상 높았다. 수확바구니에서 Coliforms은 모든 농가에서 검출되지 않았고, 유기농가의 수확바구니에서 *S. aureus*는 0~2.5 Log CFU/100 cm^2였으나 *B. cereus*는 검출되지 않았다. 관행농가의 수확바구니에서 *S. aureus*는 검출되지 않은 반면 *B. cereus*는 0~4.9 Log CFU/100 cm^2 였다. 이는 어린잎채소의 수확단계에 사용하는 수확용기와 칼의 대장균군수는 0~2.95 Log CFU/100 cm^2, *B. cereus*는 수확 용기에서 1.07~1.45 Log CFU/100 cm^2 수준으로 검출 되었으며 수확용 칼에서는 최고 3.95 Log CFU/100 cm^2까지 검출되었으나 농가의 위생관리 수준에 따라 차이가 있었다는 보고[34]와 유사한 결과였다.

식물체 표면과 수확도구의 유해미생물 오염도 상관관계

시설엽채류의 식물체 표면의 미생물 밀도를 조사한 결과 재배방법에 따른 유해균 분포의 차이가 없었고, 수확장갑과 수확바구니 등에서는 낮은 수준이지만 유해균이 검출되었으므로 이들의 오염도와 엽채류의 유해미생물 발생량간의 상관관계를 분석하였다(Fig. 4). 그 결과 수확도구의 미생물 오염도가 높아질수록 엽채류의 미생물 오염도도 높아지는 정의 상관관계가 있었다. Smith 등[35]은 미생물에 오염된 장갑을 통하여 샐러드, 파스타, 햄 등으로

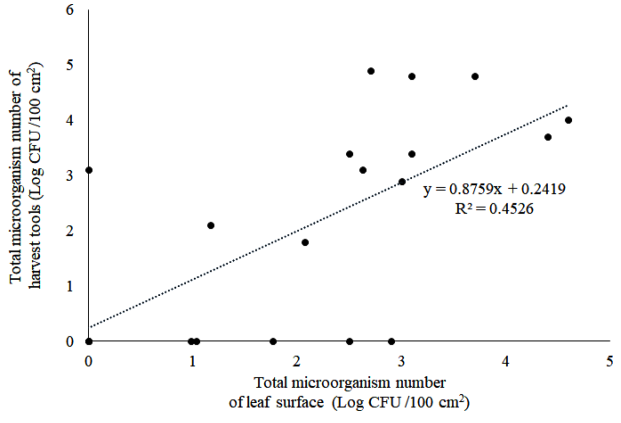

Fig. 4. Correlations between microorganism number on leaf surface and microorganism number on harvest tools surveyed. The coefficient between the microorganism number on leaf surface and microorganism number on harvest tools occurrence was calculated as 0.45.

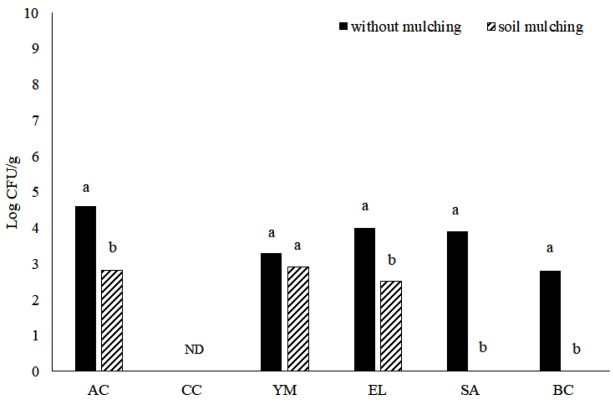

Fig. 5. Change of microorganism on leaf surface by soil mulching for organic farms. AC: Total aerobic bacteria, CC: Coliforms, YM: Yeast & Mold, EL: Environmental *Listeria*, SA: *Staphylococcus aureus*, BC: *Bacillus cereus.*

미생물이 전이된다고 하였다. 따라서 수확장갑의 주기적 교체 또는 세척이 필요하며, 수확도구를 깨끗하게 관리함으로써 수확 후 엽채류의 유해미생물 오염도를 낮출 수 있을 것으로 사료된다.

유기농법으로 시설엽채류를 생산시 토양 피복 유무에 따른 식물체 표면의 미생물상의 변화를 조사한 결과(Fig. 5), 토양 피복의 유무에 상관없이 Coliforms는 검출되지 않았으며, Yeast & Mold는 피복시 2.9 ± 2.5 log CFU/g, 무피복시 3.3 ± 2.7 log CFU/g로 조사되었으나 통계적 유의차는 없었다. 토양을 피복하는 경우 Total aerobic bacteria와 Environmental *Listeria*가 각각 2.8 ± 1.8 log CFU/g과 2.5 ± 2.2 log CFU/g로 조사되어 피복하지 않을 때의 4.6 ± 3.7 log CFU/g와 4.0 ± 2.6 log CFU/g 보다 낮은 량이 검출되었다. *S. aureus*와 *B. cereus*는 토양 피복시 검출되지 않았다.

농산물의 안전성을 위협하는 병원성 미생물의 오염은 재배과정과 유통과정중에 발생할 수 있으며, 특히 토양, 오염된 관개수, 비위생적인 수확 후 환경과 작업자는 직접적인 오염원이 될 수 있다[36]. 토양에서 검출되는 *B. cereus*와 *Clostridium* spp. 등이 농산물에서 높은 오염도를 나타내는 이유는 농산물이 토양과 접촉이 가능하기 때문으로[37] 농산물 생산환경의 관리수준에 따라 작물로 유해미생물의 이행가능성에 차이를 나타내게 된다. 건강한 사람의 25~50%는 *S. aureus*의 보균자이므로 작업자에 의해 쉽게 오염될 수 있으며[26], 이들 중 15~20%는 enterotoxin 생성균주인 것으로 알려져 있다. 신선엽채류는 일반적으로 오염된 병원체를 사멸시키거나 감소시키는 가공과정을 거치지 않기 때문에 *B. cereus*와 *S. aureus* 같은 유해미생물의 오염은 이를 섭취하는 사람의 건강에 영향을 미칠 수 있다.

본 연구 결과 재배농법에 따라 생산과 수확과정에서 낮은 수준이지만 유해균이 검출되었고 이는 유통과 섭취 환경조건에 따라 병원성 미생물에 의한 안전에 영향을 미칠 수 있는 가능성이 확인되었으나, 재배농법간의 차이는 없었다. 따라서 재배농법에 상관없이 농산물의 생산과정과 수확 및 수확 후 과정에서 유해미생물의 오염을 낮출 수 있는 관리방안을 모색함으로써 농산물을 통한 식중독사고의 위험을 감소시킬 수 있을 것이다.

Acknowledgement

본 연구는 농촌진흥청 공동연구사업(과제번호 : PJ010820)의 지원에 의해 이루어진 것입니다.

국문요약

본 연구는 시설엽채류에서 재배농법별 미생물학적 안전성을 평가하기 위해서 깻잎과 상추를 대상으로 수행하였다. 유기농 및 관행 농가로부터 생산 및 수확 단계에서 식물체, 수확장갑, 수확비구니, 토양피복재 등으로부터 총 2,304개의 시료를 채취하여 Total aerobic bacteria, Coliforms, *E.coli*, Environmental *Listeria*, Yeast & mold 등의 위생지표세균과 *Staphylococcus aureus, Bacillus cereus, Salmonella* spp., *Clostridium* spp., *L. monocytogenes*등의 병원성미생물을 분석하였다. 시설엽채류의 생산과정에서는 재배농법에 상관없이 위행지표세균은 검출되지 않거나 3.4 Log CFU/100 cm^2 이하로 검출되었다. 유기농법으로 생산되는 깻잎과 상추에서 *B. cereus*와 *S. aureus*가 0.22~1.55 Log CFU/g로 조사되었고, 관행농법에서는 *S. aureus*는 검출되지 않았으며 *B. cereus*는 0.42~2.19 Log CFU/g으로 조사되었으나 통계적 유의차는 없었다. 수확도구 및 멀칭필름에서도 재배농법과는 관계없이 위생지표세균과 유해균의 오염도는 낮았으며 차이는 없었다. 그러나 수확도구에서의 미생물 오염도가 높아질수록 식물체 표면의 미생물 오염도도 높아지는 정의 상관관계(R^2 = 0.4526)가 있었다. 또한 유기농 시설엽채류 생산시 토양 피복시 위생지표세균과 병원성미생물이 검출되지 않거나 피복을 하지 않은 경우에 비하여 낮은 경향을 나타내었다. 본 연구결과, 시설엽채류 생산시 재배농법의 차이보다는 토양피복 및 수확과정의 미생물적 위생관리가 더욱 필요함을 알 수 있었다.

References

1. Beuchat L.R.: Ecological factors influencing survival and growth of human pathogens on raw fruits and vegetables. *Microbes and Infection*, **4**, 413-423 (2002).
2. Bari M.L., Nei D., Enomoto K., Todoriki S., Kawamoto S.: Combination treatments for killing *Escherichia coli* 0157:H7 on alfalfa, radish, brocooli, and mung bean seeds. *J. Food Prot.*, **72**, 631-636 (2009).
3. Samara A., Koutsoumanis K.P.: Effect of treating lettuce surfaces with acidulants on the behavior of *Listeria monocytogenes* during storage at 5 and 20°C and subsequent exposure to simulated gastric fluid. *Int. J. Food Microbiol.*, **129**, 1-7 (2009).
4. Erenstein, O.: Crop residue mulching in tropical and semi-tropical countries: an evaluation of residue availability and other technological implications. *Soil Till. Res.*, **67**, 115-133 (2002).
5. Lai, R.: Tillage and agricultural sustainability. *Soil Till. Res.*, **20**, 133-146 (1991).
6. Lee, Y.H.: Evaluation of no-tillage rice cover crop cropping systems for organic farming. *Korean J. Soil Sci. Fert.*, **43**, 200-208 (2010).
7. Lammerding A.M.: An overview of microbial food safety risk assessment. *J. Food Protect.*, **60**, 1420-1425 (1997).
8. Stephenson J.: New approaches for detecting and curtailing food borne microbial infections. *J. Am. Med. Assoc.*, **277**, 1337-1339 (1997).
9. Centers for Disease Control and Prevention. The United

States annual listing of foodborne disease outbreaks. Available from: http://www.cdc.gov/foodborne outbreaks/outbreak data.htm. Accessed Aug. 1 (2008).
10. Lomonaco S., Verghese B., Gerner-Smidt P., Tarr C., Gladney L., Joseph L., Katz. L, Turnsek M., Frace M., Chen Y., Brown E., Meinersmann R., Berrang M., Knabel S.: Novel epidemic clones of *Listeria monocytogenes*, United States. *Emerg. Infect. Dis.*, **19**, 147-150 (2013).
11. FDA. Fresh strawberries from washington county farm implicated in E. coli O157 outbreak in NW Oregon. Available from: http://www.fda.gov/Safety/Recalls/ucm267667.htm. Accessed Aug. 16 (2011).
12. Heaton J.C., Jones K.: Microbial contamination of fruit and vegetables and the behaviour of enteropathogens in the phyllosphere: A review. *J. Appl. Microbiol.*, **104**, 613-626 (2008).
13. Frank C., Werber D., Cramer J.P., Askar M., Faber M., Heiden M., Bernard H., Fruth A., Prager R., Spode A., Wadl M., Zoufaly A., Jordan S., Kemper M.J., Follin P., Müller L., King L.A., Rosner B., Buchholz U., Stark K., Krause G.: Epidemic profile of shiga-toxinproducing *Escherichia coli* O104: H4 outbreak in Germany. *New Engl. J. Med.*, **365**, 1771-1780 (2011).
14. KFDA Food Code 10-3-1-43. Korea Food and Drug Administration. Seoul, Korea (2009).
15. Kim J.S., Bang O.K., Chang H.C.: Examination of microbiological contamination of ready-to-eat vegetable salad. *J. Food Hyg. Saf.*, **19**, 60-65 (2004).
16. Won Y.J., Yoon C.Y., Seo I.W., Nam H.S., Lee D.M., Park D.H., Lee H.M., Kim S.S., Lee K.Y.: The study for the occurrence of food poisoning bacteria in organic vegetables. *Annu. Rep. KFDA, Seoul, Korea*, **6**, 521 (2002).
17. Cho, Y.S., Lee, J.Y., Lee, M.K., Shin, D.B., Park, K.M.: Prevalence and Characterization of *Staphylococcus aureus* Pathogenic Factors Isolated from Various Foods in Korea. *Korea J. Food Sci. Technol.*, **43**, 648-654 (2011).
18. Chen, T.R., Hsiao, M.H., Chiou, C.S., Tsen, H.Y.: Development and use of PCR primers for the investigation of C1, C2 and C3 enterotoxin types of *Staphylococcus aureus* strains isolated from food-borne outbreaks. *Int. J. Food Microbiol.*, **71**, 63-70 (2001).
19. Lee E.J.: The effect of temperature and time on the multiplication of *Staphylococcus* in foods. *Korean Journal of Public Health.*, **9**, 381-387 (1972).
20. Kim, S.R., Lee, J.Y., Lee, S.H., Ryu, K.Y., Park, K.H., Kim, B.S., Yoon, Y.H., Shim, W.B., Kim, K.Y., Ha, S.D., Yun, J.C., Chung, D.H. : Profiles of toxin genes and antibiotic susceptibility of *Bacillus cereus* isolated from perilla leaf and cultivation areas. *Korea J. Food Sci. Technol.,* **43**, 134-141 (2011).
21. Chun SB, *Bacillus cereus*. p. 326. In: Food-born Pathogens. Jinsung Unitec, Seoul, Korea (2007).
22. FDA. Guidance for industry:guide to minimize microbial food safety hazards of leafy greens; Draft Guidance. Available from: http://www.fda.gov. Accessed 2009.
23. FDA. FSMA Final Rule on Produce Safety. Available from: http://www.fda.gov. Accessed 2011.
24. Shim, W.B., Nam, M.W., Chung, D.H.: Understanding and activation of GAP system. *Safe Food*, **9**, 3-8 (2014).
25. EFSA. Opinion of the scientific panel on biological hazards on *Bacillus cereus* and other *Bacillus* spp. In foodstuffs. *EFSA J.*, **175**, 1-48 (2005).
26. Kim, S.R., Cha, M. H., Chung, D.H., Shim, W. B.: Profiles of toxin genes and antibiotic susceptibility of *Staphylococcus aureus* isolated from perilla leaf cultivation area. *J. Food Hyg. Saf.,* **30**, 51-58 (2015).
27. World Health Organization (WHO). "WHO guidelines for assessing quality of herbal medicines with reference to contaminants and residue". Geneva, (2007).
28. Beuchat L.R., Harris L.R., Linda J., Ward T.E., Kajs T.M.: Development of a proposed standard method for assessing the efficacy of fresh produce sanitizer. *J. Food Protect.*, **64**, 1103-1109 (2001).
29. Jung, H.J., Cho, J.I., Park, S.H., Ha, S.D., Lee, K.H., Kim, C.H., Song, H.S., Chung, D.H., Kim, M.G., Kim, K.Y., Kim, K.S.: Genotypic and phenotypic characteristics of Staphylococcus aureus isolates from lettuces and raw milk. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **37**, 134-141 (2005).
30. Kang T.M., Cho S.K., Park J.Y., Song K.B., Chung M.S., Park J.H.: Analysis of microbial contamination of sprouts and fresh cut salads in a market. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **43**, 490-494 (2011).
31. Mukherjee A., Dorinda S., Jones A., Buesing K., Francisco D.G.: Longitudinal microbiological survey of fresh produce grown by farmers in the upper midwest. *Journal of food protection*, **69**, 1928-1936, (2006).
32. Oh S.Y., Nam K.W., Kim W.I., Lee M.H., Yoon D.H.: Analysis of pathogenic microorganism's contamination on cultivation environment of strawberry and tomato in Korea. *Korean J. Soil Sci. Fert.*, **47**, 510-517 (2014).
33. Shim, W.B., Kim, J.S., Chung, D.H.: Microbiologica hazard analysis of Ginseng Farns at the cultivation stage to develop a good agricultural practices (GAP) model, *J. Food Hyg. Saf.*, **28**, 312-318 (2013).
34. Lee, E.S, Kwak M.G, Kim W.L, An H.M, Lee H.S, Ryu S.H, Kim H.Y, Ryu J.G., Kim S.R.: Investigation of microbial contamination level during production of baby leafy vegetables. *J. Food Hyg. Saf.*, **31**, 264-271 (2016).
35. Smith, D.: Ranking of cross-contamination vectors of readyto-eat foods: a practical approach. Guideline 54. Campden BRI, Chipping Campden, UK. (2007).
36. FDA. Guidance for industry, Guide to minimize microbial food safety hazard for fresh fruits and vegetables. Available From: http://csan.fda.gov. Accessed Oct. 26, (2005).
37. Brackett, R.E. and Splittsoesser, D.F.: Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 4th ed. American Public Health Association, Washington, D.C. 515-552 (2001).