pISSN 1229-1153 / eISSN 2465-9223 *J. Food Hyg. Saf.*
Vol. 33, No. 5, pp. 404~411 (2018)
https://doi.org/10.13103/JFHS.2018.33.5.404

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

경남 한산 · 거제만해역에서 생산된 패류의 위생학적 안전성 평가

하광수* · 이가정[1] · 정연중[1] · 목종수 · 김풍호[2] · 김연계 · 이희정 · 김동욱 · 손광태
국립수산과학원 식품위생가공과, [1]남동해수산연구소, [2]서해수산연구소

Evaluation of Sanitary Safety for Shellfish in Hansan·Geojeman, Korea

Kwang-Soo Ha*, Ka-Jeong Lee[1], Yeon-Jung Jeong[1], Jong-Soo Mok, Poong-Ho Kim[2], Yeon-Kye Kim, Hee-Jung Lee[1], Dong-Wook Kim, and Kwang-Tae Son
Food Safety and Processing Research Division, National Institute Fisheries Science, Busan, Korea
[1]Southeast Sea Fisheries Research Institute, National Institute Fisheries Science, Tongyoung, Korea
[2]West Sea Fisheries Research Institute, National Institute Fisheries Science, Incheon, Korea
(Received August 9, 2018/Revised September 10, 2018/Accepted October 5, 2018)

ABSTRACT - To evaluate bacteriological and toxicological safety hygienic indicator bacterium and paralytic and diarrhetic shellfish toxins in the shellfish produced in Hansan·Geojeman 2013-2017 were investigated. Fecal coliforms were < 18~330 MPN/100 g in 404 oyster samples. But all samples tested, did not exceed 230 *E. coli* MPN/100 g. Geometric mean of *E. coli* for oyster samples collected during major shellfish production period was 24.3 MPN/100 g, considerde stable results. Bacteriological quality of oysters collected from Hansan·Geojeman meets the standard value based on shellfish hygiene of the Food Sanitation Act of Korea and also meets Grade A, according to classification of shellfish harvesting areas of the European Union. For toxicological evaluation of Hansan·Geojeman, 532 oyster samples and 268 mussel samples as an indicator, were analyzed. Paralytic shellfish toxins were detected in the range of 0.42~2.29 mg/kg in eight mussel samples, and exceeded criteria in three samples from early to late April 2013. Diarrhetic shellfish toxin was detected in three of 120 samples, but it was revealed to be under regulation value (0.16 mg Okadaic Acid equ./kg). As a result of toxicological evaluation, paralytic and diarrhetic shellfish toxins were not detected in oyster samples, but it was found that mussel as an indicator species, exceeded the threshold value of paralytic shellfish toxin. Accordingly, sanitary surveys were continuously requested for food safety management of shellfish.

Key words : Hansan·Geojeman, *E. coli*, Fecal coliform, Shellfish poisoning

한산 · 거제만해역은 경상남도 거제시 남서쪽에 위치하고 있는 거제시 거제면, 둔덕면, 동부면의 해안선으로 둘러쌓인 거제만과, 통영시 한산면 한산도와 추봉도의 동부해역을 포함한다. 이 해역은 동서 및 남북의 길이가 모두 약 10 km이고 수역면적은 약 55 km^2 정도의 폐쇄성 내만이며, 경남지역의 주요 패류생산해역이다[1].

패류는 육지와 인접한 내만이나 하구수역 등의 얕은 바다에서 주로 생산되므로 패류생산 해역 인근에 위치한 주거지, 가축 사육지, 선박, 야생동물서식지 등에서 발생하는 각종 분변은 패류양식장 수질의 위생학적 안전성에 영향을 미치는 요인이 된다[2]. 패류 섭취를 통해 발생 가능한 질병은 일반적으로 분변에서 구강 경로를 통해 전파되며, 패류생산해역의 하수 오염이 질병에 미치는 상관관계는 여러 논문을 통해 보고되었고, 육상의 분변은 강우나 태풍 시에 하천을 흘러 대량으로 해역에 유입된다[3-5]. 따라서 패류의 위생학적 안전성 확보를 위해서는 생산해역에 대한 관리가 매우 중요하며, 미국, 유럽연합 등 선진국에서는 분변계대장균, 대장균 등 위생지표세균 분석을 통해 패류생산해역의 위생학적 상태에 따라 등급을 부여해 관리하고 있다.

EU는 패류 중 대장균의 함량을 분석하여 해역을 A, B, C 등급으로 나누고 있으며, A 등급에서 생산된 패류는 생식이 가능하며, 패육 100 g당 230 Most Probable Number (MPN)을 초과한 시료수가 20% 미만이거나 모든 시료에서 대장균 값이 700 MPN/100 g 이하로 규정하고 있다. 우

*Correspondence to: Kwang-soo Ha, Food Safety and Processing Research Division, National Institute Fisheries Science, Busan, 46083, Korea
Tel: 82-51-720-2632, Fax: 82-51-720-2619
E-mail: ksha@korea.kr

리나라도 생식용 굴에 대한 기준을 대장균 230 MPN/100 g 이하로 정하고 있다. 그리고 미국은 해수의 분변계대장균 함량을 분석한 결과로 해역을 5개 등급으로 분류하여 관리하고 있다[6-8].

인체에 급성치사 독성을 일으키기도 하는 마비성패류독소는 패류의 위생안전성 확보를 위해반드시 관리되어야 하는 위해요소이다. 우리나라를 비롯한 세계 여러 나라에서 마비성패류독소에 의한 식중독 사고의 발생이 보고되고 있으며, 경남 진해만 일원에서는 매년 봄철 주기적으로 마비성패류독소가 검출되고 있다[9]. 우리나라, 미국, EU 등의 관리기준은 0.8 mg/kg 이하로 관리되고 있다.

설사성패류독소에 의한 식중독사고는 1960년대 네덜란드, 1976년 일본의 동북지방에서 양식하던 가리비에서 발생된 것으로 보고되고 있으며, 그 후에도 프랑스, 스웨덴, 스페인 등 유럽지역에서 다수의 중독사고 발생이 보고되었다. 또한 북미, 남미, 아시아 등 전 세계적으로 발생이 보고되었으나, 우리나라의 경우 패류에서 간헐적으로 미량 검출되고 있지만, 중독사고는 보고되지 않았다[10]. 설사성패류독소의 관리기준은 우리나라는 okadaic acid 및 dinophysistoxin-1의 합계가 0.16 mg/kg 이하로 정해져 있으나, 다른 나라에서는 그 외의 독소성분에 대한 기준도 설정하여 관리하고 있다. 따라서 패류생산해역의 안전성 확보를 위해서는 패류 섭취로 인한 식중독 사고의 주요 원인이 되고 있는 독물학적 안전성의 확보가 반드시 필요하다.

본 연구는 2013년부터 2017년까지 한산·거제만해역에서 주로 생산되는 패류인 굴에 대한 위생지표세균을 분석하여, 패류생산해역으로써 생물학적 안전성 확보여부를 평가하였다. 또한 굴(*Crassostrea gigas*) 및 지중해담치(*Mytilus galloprovincialis*)의 마비성 및 설사성 패류독의 함량을 분석하여 독물학적으로 안전성이 유지되고 있는지 확인하였다.

Materials and Methods

조사지점 및 시료의 채취

한산·거제만해역은 수출용 패류생산 지정해역으로 지정되어 관리되고 있으며, 지정해역 경계선 내외부에는 주로 굴 어장이 위치하고 있다. 2013년부터 2017년까지 한산·거제만해역에 대한 세균학적 안전성평가를 위하여 내간리(O-1), 추봉리(O-2), 가배리(O-3), 오송리(O-4), 법동리(O-5), 어구리(O-7), 창좌리(O-8)에 굴 조사지점 7개소를 선정하여 조사하였다. 또한 독물학적 안전성을 평가하기 위해 굴 조사지점 4개소(O-1, O-2, O-5, O-7) 및 마비성패류독의 지표종인 지중해담치 조사지점 2개소를 창좌리(M-1), 추봉리(M-2)에 설정하여 패류독소 분석을 실시하였고, 조사지점 위치를 Fig. 1에 나타내었다. 패류시료는 채취지점의 해수를 이용하여 부착물을 제거한 후, 멸균 용기에 담아 10°C 이하로 보관하여 운반한 후, 분석에 사용하였다.

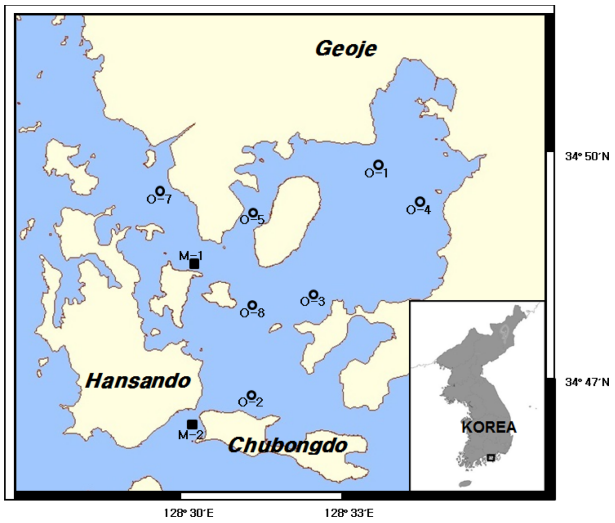

Fig. 1. Sampling sites for shellfishes in the Hansan·Geojeman area. ○, Oyster; ■, Mussel.

위생지표세균 분석

굴의 분변계대장균과 일반세균수 분석을 위하여 The American Public Health Association (APHA)의 시험방법[11]에 따라 실험하였다. 12개체 이상의 패류에서 200 g 이상을 시료로 하여 동량의 PBS (Merck, Germany)를 첨가한 후 마쇄하였다. 시료는 Lauryl tryptose broth (Difco, USA) 배지에 5개 3단 시험관에 시료를 각각 1 g, 0.1 g, 0.01 g을 접종하고 35 ± 0.5°C에서 24시간, 48시간 배양한 후 결과를 확인하였다. 가스 생성이 확인된 시험관을 EC broth (Difco, USA)에 접종한 후, 44.5 ± 0.2°C에서 24시간하여 배양하여 양성시료를 확인하였다. 일반세균수 분석은 0.1 g, 0.01 g으로 희석된 시료 1 mL 씩을 패트리디쉬에 접종한 후, 44~46°C로 유지된 Plate counter agar (Difco, USA)를 분주하고 35 ± 0.5°C에서 48시간 배양한 후, 집락을 계수하였다. 대장균 분석은 Most probable technique using 5-bromo-4-chloro-3-indolyl-β-D-glucuronide (ISO/TS 16649-3:2015)의 방법[12]에 준하여 분석하였다. 패류를 2배의 0.1% peptone water (Merck, Germany)를 첨가한 후 마쇄하고, 시료와 0.1% Peptone water의 비율이 3:7이 되도록 희석한 후 10 mL의 희석액을 2배 농도의 Mineral modified glutamate medium (Oxoid, UK)가 함유된 시험관에 접종하였다. 0.1 g 및 0.01 g으로 희석된 시료를 동일배지에 접종한 후, 37 ± 1°C에서 24시간 배양하고 양성으로 확인된 시험관은 Tryptone bile glucuronide agar (Oxoid, UK)에 도말한 후 44 ± 1°C에서 24시간 배양한 후, 양성으로 확인된 집락을 100 g 당 MPN으로 표시하였다.

마비성패류독소 분석

한산·거제만해역에서 생산된 굴 및 지중해담치의 마비성패류독(Paralytic Shellfish Poisoning, PSP) 함량은 APHA 방법에 따라 분석하였다[11]. 실험에 사용된 패류는 수도수로 내부 및 외부의 이물질을 제거하고 물기를 뺀 후, 패류육을 균질화하였다. 100 g의 시료에 0.1 N HCl 동량을 첨가한 후, 분석시료의 pH가 2.0~4.0 범위로 맞추고, 100°C에서 5분간 가열하였다. 시료를 냉각한 후, 다시 pH를 조정하고 시료량을 200 mL로 정량하였다. 3,000 rpm, 5 분간 원심분리한 상등액을 시료로 하여 생후 4주된 ICR 계열의 수컷 mouse 복강에 주사기를 사용하여 1 mL씩 주입한 후, 측정한 사망시간을 sommer's table에 준하여 독력을 계산하였다.

설사성패류독소 분석

설사성패류독(Diarrhetic Shellfish Poisoning, DSP) 함량 분석을 위한 장비는 ACQUITY UPLC H-Class (Waters, Milford, MA, USA) 및 Xevo TQ-S (Waters, Milford, MA, USA)를 사용하였다. 분석용 column은 Waters사의 ACQUITY UPLC® BEH C18 (2.1 × 100 mm, 1.7 μm)를 사용하였으며, mass의 분석조건은 capillary voltage는 3.5 kV, cone voltage는 40 V, source temp는 150°C, desolvation temp는 350°C로 설정하였다. 시료분석은 multiple reaction monitoring (MRM) 방법으로 하였고, Table 1에 각 성분분석을 위한 기기의 parameter를 나타내었다. 표준물질로 사용한 okadaic acid (OA), dinophysistoxin-1 (DTX-1), dinophysistoxin-2 (DTX-2)은 National Research Council (NRC, Halifax, Canada)로부터 구입하였다.

Table 1. LC-MS/MS parameters for detection of diarrhetic shellfish poisoning toxins

Toxins	Parent ions (*m/z*)	Fragment ions (*m/z*)	Mode	Collision energy (eV)
OA	803.20	254.91	ES-[1)]	45
DTX1	817.30	255.00	ES-	45
DTX2	803.20	254.91	ES-	45

[1)]Electrospray negative ion

설사성패류독소 분석을 위해 탈각한 시료는 90% MeOH을 이용하여 추출하였으며, 원심분리한 후, syringe filter (0.22 μm)로 여과하여 기기분석 하였다. 이동상 제조를 위해 acetonitrile 및 methanol은 Merck (Darmstadt, Germany)사의 HPLC 등급을 사용하였고, formic acid 및 ammonium formate는 Sigma (St. Louis, MO, USA)사의 mass spectormetry 등급을 사용하였다. 이동상의 제조는 formic acid와 ammonium formate를 50 mM, 2 mM 농도로 만든 A 수용액과 같은 농도의 formic acid 및 ammonium formate가 포함된 95% acetonitrile B 수용액을 사용하였다. 두 용액의 비율을 처음에는 80:20으로 흘렸으며, 1.5분 동안 B 용액의 비율을 20%에서 80%까지 올리고, 3.5분간 유지하는 과정을 통해 독성분을 용출하였다. 다시 20%로 감소하여 1.5분간 column을 평형화 시켰으며, 유속은 250 μL/min의 조건을 유지하였다.

Results and Discussion

세균학적 안전성평가

2013년 1월부터 2017년 12월까지 한산·거제만해역 내에 위치한 7개 조사지점(O-1~O-5, O-7, O-8)에서 매월 1회씩 총 60회에 걸쳐 404점의 굴 시료에 대한 세균학적 위생조사를 실시하였다. Table 2에는 각 시료에 대해 분석

Table 2. Bacteriological examination results of oyster in Hansan·Geojeman from 2013 to 2017

Station	Fecal coliform MPN/100 g					*E.coli* MPN/100 g					Plate count CFU/g					No. of samples
	Range	GM[1)]	90th[2)]	> 230		Range	GM	90th	> 230		Range	GM	90th	> 50000		
				No.	%				No.	%				No.	%	
O-1	< 18~330	73.6	25.8	2	3.3	< 18~230	25	55.2	0	0.0	70~4,800	232.8	670.9	0	0.0	60
O-2	< 18~170	43.2	21.8	0	0.0	< 18~130	23.5	44.2	0	0.0	40~1,400	193.1	510.6	0	0.0	57
O-3	< 18~230	56.9	23.8	0	0.0	< 18~170	23.8	48.8	0	0.0	10~4,900	171.2	576.6	0	0.0	59
O-4	< 18~130	41.5	21.3	0	0.0	< 18~130	22.2	39.3	0	0.0	15~2,100	191.0	560.8	0	0.0	48
O-5	< 18~230	60.0	23.4	0	0.0	< 18~230	24.5	58.3	0	0.0	40~1,800	235.2	591.9	0	0.0	60
O-7	< 18~330	58.7	24.9	1	1.7	< 18~130	24.6	47.1	0	0.0	17~2,300	201.8	641.6	0	0.0	60
O-8	< 18~230	57.6	24.1	0	0.0	< 18~230	24.5	54.7	0	0.0	30~28,000	193.5	682	0	0.0	60
Total	< 18~330	55.9	23.6	3	0.7	< 18~230	24	49.6	0	0.0	10~28,000	202.7	604.9	0	0.0	404

[1)]Geometric mean.
[2)]The estimated 90th percentile.

한 분변계대장균, 대장균, 세균수의 검출범위 및 이들의 기하평균치, 90th percentile 값에 대한 결과를 나타내었다. 분변계대장균 및 대장균의 범위는 각각 < 18~330 및 < 18~230 *E. coli* MPN/100 g 이었고, 대장균 수의 기하학적평균치의 범위는 22.2~25.0 MPN/100 g으로 낮게 나타났다.

식품공전[8]의 생식용 굴에 대한 기준규격은 대장균 230 *E. coli* MPN/100 g을 초과하지 않도록 정해져있으며, 소비자가 조리 없이 섭취할 수 있도록 위생처리하여 용기 포장한 동물성 냉동수산물은 세균수의 기준을 100,000 CFU/g로 정하고 있다. 한산・거제만해역에서 생산된 굴의 대장균은 230 *E. coli* MPN/100 g을 초과하지 않았으며, 세균수는 28,000 CFU/g 이하로 우리나라 위생기준을 만족하였다.

외국의 경우, 유럽연합은 Commission Regulation (EU) 2015/2285[6]에 준하여 해역평가를 실시하고 있다. A 등급 해역에서 생산되는 패류는 즉시 생식할 수 있는 해역으로 분류하고 있으며, 조사기간 동안 시료 중 80%가 230 *E. coli* MPN/100 g를 초과하지 않아야 한다. 또한 초과한 20%의 시료는 700 *E. coli* MPN/100 g을 넘지 않아야 한다. 따라서 한산・거제만해역은 유럽연합의 생식이 가능한 A등급의 기준을 만족하는 것으로 평가되었다.

Mok 등[13]은 자란만・사량도해역의 굴에 대한 위생학적 안전성 평가연구에서 대장균의 검출 범위가 230 *E. coli* MPN/100g을 초과하지 않는 것을 보고하였고, Ha 등[14]은 전남 가막만해역에 대한 굴의 세균학적 조사에서 대장균의 검출범위가 220 *E. coli* MPN/100 g 이하인 것으로 보고하였다. 따라서 최근 연구결과, 경남과 전남의 대표적인 굴 생산해역인 자란만・사량도, 가막만 및 한산・거제만 해역에서 생산되는 굴의 세균학적 안정성은 국내 및 외국의 기준을 만족하는 것으로 확인되었다.

수확시기에 따른 굴의 위생학적 성상

일반적으로 굴 수확시기는 10월부터 다음해 5월까지 지속되며, 나머지 6월부터 9월까지는 비수확시기로 구분한다. 수확기와 비수확기의 분변계대장균 및 대장균 값의 범위는 모두 < 18~330 MPN/100 g 및 < 18~230 *E. coli* MPN/100 g으로 동일한 범위를 나타내었다(Table 3). 또한 수확기와 비수확기 대장균의 기하학적평균치도 24.3 및 23.5 *E. coli* MPN/100 g으로 유사한 수준이었다. 따라서 2013년 1월부터 2017년 12월까지 한산・거제만해역의 굴에서 수확시기와 비수확시기 위생지표세균의 변화는 거의 없었

Table 3. Bacteriological examination results of oyster during harvest and non-harvest seasons in Hansan·Geojeman from 2013 to 2017

Station	Fecal coliform MPN/100 g					*E.coli* MPN/100 g					Plate count CFU/g					No. of samples
	Range	GM[1]	90th[2]	> 230		Range	GM	90th	> 230		Range	GM	90th	> 50000		
				No.	%				No.	%				No.	%	
(Harvest season)																
O-1	< 18~330	25.4	68.3	1	2.5	< 18~230	25.3	55.3	0	0.0	95~4,800	254.1	714.8	0	0.0	40
O-2	< 18~170	21.3	41.1	0	0.0	< 18~130	23.3	43.5	0	0.0	40~1,100	191.5	483.8	0	0.0	39
O-3	< 18~230	24.8	62.8	0	0.0	< 18~170	24.3	53.7	0	0.0	10~4,900	170.6	586.2	0	0.0	40
O-4	< 18~78	21.0	38.3	0	0.0	< 18~80	22.2	37.9	0	0.0	15~1,100	182.6	541.8	0	0.0	35
O-5	< 18~230	23.4	60.0	0	0.0	< 18~230	24.4	57.8	0	0.0	40~1,800	238.7	624.4	0	0.0	40
O-7	< 18~130	25.3	53.8	0	0.0	< 18~80	24.5	42.4	0	0.0	17~1,500	193.3	601.1	0	0.0	40
O-8	< 18~230	25.9	65.7	0	0.0	< 18~230	26.0	60.4	0	0.0	30~28,000	212.2	866.1	0	0.0	40
Total	< 18~330	23.9	55.7	1	0.4	< 18~230	24.3	50.2	0	0.0	10~28,000	206.1	631.2	0	0.0	274
(Non-harvest season)																
O-1	< 18~330	26.6	86.9	1	5.0	< 18~230	24.4	55.9	0	0.0	70~1500	195.5	585.4	0	0.0	20
O-2	< 18~130	22.9	48.8	0	0.0	< 18~130	23.7	46.5	0	0.0	45~1400	196.6	586.3	0	0.0	18
O-3	< 18~130	21.7	46.2	0	0.0	< 18~80	22.7	39.4	0	0.0	45~1800	172.4	574.8	0	0.0	19
O-4	< 18~130	22.4	51.6	0	0.0	< 18~130	22.1	43.7	0	0.0	90~2100	215.7	631.9	0	0.0	13
O-5	< 18~220	23.3	61.5	0	0.0	< 18~220	24.8	60.5	0	0.0	110~770	228.5	541.3	0	0.0	20
O-7	< 18~330	24.3	69.5	1	5.0	< 18~130	24.9	57.1	0	0.0	60~2300	219.8	746.5	0	0.0	20
O-8	< 18~230	20.7	43.0	0	0.0	< 18~230	21.8	44.4	0	0.0	35~710	160.9	389.0	0	0.0	20
Total	< 18~330	23.1	58.2	2	1.4	< 18~230	23.5	49.6	0	0.0	35~2300	198.5	579.3	0	0.0	130

[1]Geometric mean.
[2]The estimated 90th percentile.

던 것으로 확인되었다. 하지만 전남 가막만해역의 굴에서 수확기와 비수확기에 검출된 분변계대장균 범위는 < 18~130 및 < 18~230 MPN/100 g으로 분변계대장균은 비수확기에 더 높았고, 기하학적평균은 19.6 및 26.5 MPN/100 g으로 다소 큰 차이를 나타내었다[14]. 이러한 원인은 패류생산해역 해수에 대한 위생학적 안전성 평가연구[15,16]에서 비수확시기는 강우량 및 강우빈도가 많은 하절기를 포함하고 있어 창선해역 및 자란만・사량도해역의 염분이 낮아져 대장균이 생육하기 좋은 환경이 만들어지고, 육상 오염물질의 유입이 증가하면서 패류의 위생상태가 악화되기 때문으로 보고하였다.

강우가 굴의 세균학적 수질에 미치는 영향

패류에 대한 위생조사 3일전부터 조사일까지 강우량과 강우 후 경과시간이 패류의 세균학적 변화에 미치는 영향에 대한 결과를 나타내었다(Table 4). 조사기간 동안 한 개소 이상의 조사지점에서 분변계대장균 및 대장균 230 MPN/100 mL이 검출된 경우에 강우가 패류의 위생학적 안전성에 영향을 미치는 것으로 판단하여 분석에 포함하였다. 강우 영향평가 결과, 조사 3일전부터 82.2~351.0 mm의 강우가 내린 후 실시한 여섯 번의 조사에서 분변계대장균, 대장균과 세균수는 모두 증가하였다. 2016년 7월에는 조사 3일전부터 조사일까지 219.0 mm의 강우가 지속적으로 내렸으며, 10월에는 강우 2일전 174.5 mm의 강우가 집중된 후에 전체 패류채취 지점에서 대장균의 오염정도가 가장 높게 나타났고, O-1, O-2 및 O-8 지점의 대장균이 220~230 *E. coli* MPN/100 mL 범위로 확인되었다. 하지만 많은 량의 강우 후에도 한산・거제만해역에서 생산되고 있는 굴은 230 *E. coli* MPN/100 mL를 초과하지 않아 우리나라 및 EU의 대장균 기준은 만족하였다. Ha 등[14]은 가막만해역에서 생산되는 굴에 대한 세균학적 안전성 평가 보고에서 12.3~58.6 mm의 강우가 내린 후, 세 번의 조사에서 위생지표세균은 크게 증가하지 않았다. 180.9 mm의 강우가 조사 2일전에 내린 2016년 9월에는 조사지점의 대장균이 45~170 *E. coli* MPN/100 g 범위로 증가하였고, 육상의 오염물질 유입되어 패류의 체내에 농축되어 세균학적 안전성에 영향을 미친 것으로 평가하였다. 가막만 및 창선해역 해수의 세균학적 수질에 대한 연구에서 해수는 24~48 시간 내에 평소의 수질로 회복되어 가지만, 세균을 체내에 축적한 패류는 해수보다 강우영향을 오래 받는 것으로 보고하였다[16,17]. 이처럼 패류생산해역의 해수 및 패류의 위생학적 안전성에 가장 큰 영향을 미치는 요소는 강우의 량과 강우 후 조사시점으로 판단된다.

한산・거제만해역에서 생산된 굴은 냉동공정을 거쳐 미국시장에 수출되고 있다. 수입국의 위생기준에 준하여, 동해역은 강우량에 따른 조건부 허가해역으로 관리되고 있으며, 한국패류위생계획에 따라 해역별 강우량에 따른 패

Table 4. Effect of rainfall and time on the bacteriological quality of oyster in Hansan·Geojeman from 2013 to 2017

Sampling date (Total amount of rainfall)	Rainfall date	Rainfall amount (mm)	Station	MPN/100 mL		CFU/g
				Fecal coliform	*E.coli*	Plate counter
‘13.10.10 (155.5 mm)	‘13.10.07	0.5	O-1	78	80	1,440
	‘13.10.08	151.5	O-2	-[1)]	-	-
			O-3	230	130	4,900
	‘13.10.09	3.0	O-4	78	50	530
			O-5	130	80	1,800
	‘13.10.10	0.5	O-7	130	50	400
			O-8	78	50	520
‘14.05.13 (128.5 mm)	‘14.05.10	0.0	O-1	230	50	600
	‘14.05.11	10.0	O-2	20	20	250
			O-3	45	20	340
	‘14.05.12	118.5	O-4	-	-	-
			O-5	45	50	420
	‘14.05.13	0.0	O-7	< 18	< 20	410
			O-8	< 18	< 20	160
‘14.08.05 (351.0 mm)	‘14.08.02	178.5	O-1	230	50	1,400
	‘14.08.03	94.5	O-2	20	20	1,400
			O-3	78	50	600
	‘14.08.04	75.0	O-4	-	-	-
			O-5	170	130	770
	‘14.08.05	3.0	O-7	330	130	530
			O-8	20	20	600
‘15.04.07 (82.2 mm)	‘15.04.04	69.0	O-1	45	50	150
	‘15.04.05	9.5	O-2	45	50	700
			O-3	78	80	190
	‘15.04.06	13.5	O-4	78	80	170
			O-5	230	230	200
	‘15.04.07	0.2	O-7	130	80	370
			O-8	140	140	430
‘16.07.04 (219.0 mm)	‘16.07.01	89.0	O-1	330	230	1,500
	‘16.07.02	72.5	O-2	45	50	290
			O-3	130	80	1,800
	‘16.07.03	23.5	O-4	130	130	2,100
			O-5	220	220	650
	‘16.07.04	34.0	O-7	130	130	1,100
			O-8	230	230	710
‘16.10.07 (175.1 mm)	‘16.10.04	0.3	O-1	330	230	4,800
	‘16.10.05	174.5	O-2	170	130	950
			O-3	220	170	2,800
	‘16.10.06	0.0	O-4	68	70	300
			O-5	230	230	1,200
	‘16.10.07	0.3	O-7	68	20	1,000
			O-8	230	230	1,700

[1)] No sample

Table 5. Mouse bioassay results for PSP in shellfish in Hansan·Geojeman from March to May in 2013

Sample station		Toxicity (mg/kg)						
		3.26	4.2	4.9	4.16	4.23	4.30	5.7
Mussel	M-1	ND[1)]	ND	0.43	0.44	0.42	ND	ND
	M-2	ND	0.58	1.86	2.29	1.20	0.63	ND
Oyster	O-1	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	O-2	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	O-5	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	O-7	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND

[1)]Not detected or all three mice were not dead within 1 h.

류채취 금지일이 설정되어 있다. 일일 강우량 기준으로 15~38 mm의 강우가 내린 후에는 1일, 초과한 강우 시에는 7일 동안 패류채취를 금지하고 있다. 하지만 지난 2013년부터 2017년까지 조사 3일전부터 29.0~41.0 mm의 강우가 있었던 4번의 조사에서는 한산·거제만해역 패류의 위생성상에 전혀 영향을 미치지 않았다(결과 미제시). 또한 앞서 82.2~351.0 mm의 강우가 내린 후 실시한 여섯 번의 조사에도 위생지표세균은 증가하였지만, 분변계대장균 및 대장균의 기준치를 초과하지는 않은 것으로 확인되었다. 따라서 현재 한산·거제만해역의 강우량에 따른 패류채취 금지조건에 대한 재검토가 요구된다.

독물학적 안전성 평가

2013년부터 2017년까지 한산·거제만해역 굴 조사지점(O-1, O-2, O-5, O-7) 4개소 및 지중해담치 조사지점(M-1, M-2) 2개소에서 각각 532점 및 268점의 패류시료에 대한 마비성패류독소 분석을 실시하였으며, 패류독소가 검출된 2013년 3월부터 5월까지의 결과를 Table 5에 나타내었다. 통영시 한산면 봉암에 위치한 조사지점(M-2)에서 2013년 4월 9일부터 23일까지 1.20~2.29 mg/kg으로 국내외 기준을 초과하여 검출되었으며, 통영시 한산면 창좌리에 위치한(M-2)지점은 동일한 시기에 0.42~0.44 mg/kg으로 기준치 이하 검출되었다. 하지만 굴 시료에서는 마비성패류독소가 전혀 검출되지 않았다. 여수 가막만해역에서도 4월 말에서 6월초 사이 지중해담치 시료에서만 0.40~0.46 mg/kg 범위로 낮게 검출되었으며, 굴에서는 검출되지 않은 것

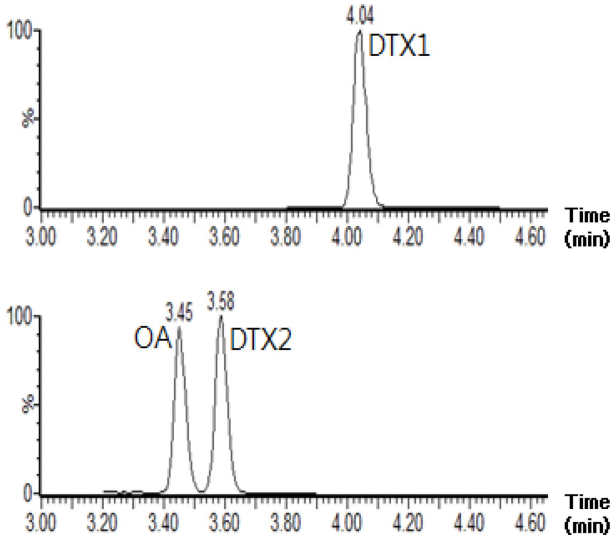

Fig. 3. Chromatograms of the standard solution.

으로 보고하였다[14]. 그리고 Shin 등[18]은 2015년 1월부터 2017년 6월까지 강진만해역의 굴, 바지락 및 새꼬막은 마비성패류독소가 검출되지 않았음을 보고하였다.

Mok[19]은 수산물 품종에 따른 마비성 패류독에 대한 축적 연구에서 패류독소 발생해역에서 여러 품종에 대한 분석한 결과, 패류독소 기준치를 초과한 품종은 지중해담치(1.59 mg/kg)와 가리비(0.95 mg/kg)였으나, 바지락(0.71 mg/kg)과 굴(0.58 mg/kg)은 기준치 이하로 검출되어 지중해담치가 마비성패류독의 지표종으로 유용함을 확인하였다.

설사성패류독소는 굴 2개 지점에서 총 120점에 대한 OA, DTX-1 및 DTX-2의 독소량을 분석하였다. LC-MS/MS로 분석한 독소성분의 결정계수(R^2)는 0.99보다 높게 나타나 높은 직선성을 확인하였고, 각 성분은 OA (3.5 분), DTX-1 (4.0 분), DTX-2 (3.6 분)에 검출되었으며(Fig. 2, 3), 각 독소성분의 정량한계는 10 μg/kg으로 확인되었다. 2016년 8월 거제시 어구리(O-7) 및 11월에 통영시 추봉리(O-2)에서 각각 1.3 및 2.3 μg/kg의 okadaic acid가 검출되었으나 정량한계 이하 수준이었고, DTX-1은 모든 시료에서 검출되지 않았다. 따라서 우리나라 식품위생법에 규정된 설사성패류독 기준치인 OA와 DTX-1 합이 160 μg/kg 이하에는 못 미치는 수준이었다. 그리고 DTX-2는 2016년

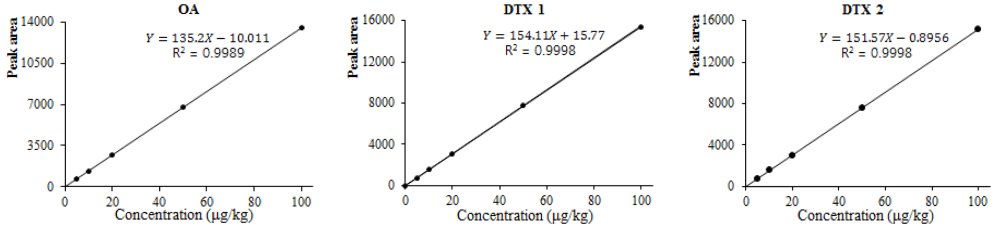

Fig. 2. The standard curve for okadaic acid, dinophysistoxin-1 and dinophysistoxin-2.

8월 추봉리(O-2)에서 1.5 μg/kg의 소량이 확인되었다. 이상의 결과, 한산·거제만해역에서 생산되는 굴은 세균학적·독물학적으로 우리나라 패류기준 및 EU의 패류생산해역 기준을 만족하는 것으로 확인되었다. 하지만 마비성패류독소 지표종인 지중해담치는 일부지점에서 기준치를 초과하여 검출되기도 하였으므로, 이에 대한 조사 및 관리는 지속적으로 이루어져야 할 것이다.

Acknowledgement

본 논문은 국립수산과학원 수산과학연구사업 중 「수출패류 생산해역 및 수산물 위생조사 R2018056)」의 지원으로 수행된 연구결과입니다.

국문요약

본 연구는 2013년부터 2017년까지 경남 한산·거제만해역에서 생산되는 패류에 대한 위생지표세균, 마비성 패류독소, 설사성 패류독소를 분석하여 세균학적·독물학적 안전성을 평가하였다. 굴 시료 404점에 대한 분변계대장균은 <18~330 MPN/100 g의 범위를 나타내었으나, 대장균 230 *E. coli* MPN/100 g을 초과한 시료는 없었다. 굴 수확시기 동안 분석한 대장균의 기하학적 평균치는 24.3 MPN/100 g으로 매우 낮게 나타났다. 한산·거제만해역에서 생산되는 굴의 세균학적 안전성을 평가한 결과, 식품위생법의 생식용 굴에 대한 위생기준을 만족하였고, EU의 패류생산해역 A등급 기준에 부합하였다. 한산·거제만해역의 독물학적 평가를 위해 굴 532개 시료와 패류독소 지표종인 지중해담치 268개 시료에 대한 분석을 실시하였다. 마비성패류독소는 2013년 4월에 지중해담치 3개 시료에서 1.20~2.29 mg/kg 범위로 기준을 초과하여 검출되었으나, 굴 시료에서는 전혀 검출되지 않았다. 총 120개 시료에서 설사성패류독소를 분석하였으나, 정량한계 이하로 매우 낮게 나타났다. 독물학적 안전성 평가결과, 굴 시료에서는 마비성 및 설사성패류독소가 전혀 검출되지 않았으나, 지표종인 지중해담치에서는 마비성패류독소 기준치를 초과한 것으로 나타나 지속적인 모니터링과 안전관리가 요구되었다.

References

1. Ha, K.S.: The evaluation of sanitary safety for Hansan·Geojeman area and developnetnt of methods to depuration for shellfish. *Ph. D. Thesis. Gyeongsang national Univ.*, 4, (2012).
2. Mallin, M.A., Ensign, S.H., McIver, M.R.: Shank, G.C., Fowler, P.K.: Demographic, landscape, and meteorological factors controlling the microbial pollution of coastal waters. *Hydrobiologia,* **460**, 185-193 (2001).
3. Hackney CR. and Potter ME. Animal-associated and terrestrial bacterial pathogens. In: Environmental Indicators and Shellfish Safety. *Hackney CR and Pierson MD*, eds. Chapman and Hall, New York, 172-209 (1994).
4. Jaykus, Lee A, Mary TH and Mark D.S.: Human Enteric Pathogenic Viruses. In: Environmental Indicators and Shellfish Safety. *Hackney CR and Pierson MD*, eds. Chapman and Hall, New York, 289-330 (1994).
5. Rippey S.: Infectious diseases associated with molluscan shellfish consumption. *Clinical Micro. Rev.,* **7**, 419-425 (1994).
6. European Commission: Commission Regulation (EU) 2015/2285 amending Annex II to Regulation (EC) No 854/2004 of the European Parliament and of the Council laying down specific rules for the organisation of official controls on products of animal origin intended for human consumption as regards certain requirements for live bivalve molluscs, echinoderms, tunicates and marine gastropods and Annex I to Regulation (EC) No 2073/2005 on microbiological criteria for foodstuffs. *Official J. Eur. Union* (2015).
7. U.S. Food and Drug Administration: National Shellfish Sanitation Program, Guide for the control of molluscan shellfish 2015 Revision. *http://www.fda.gov/Food/Guidance Regulation/FderalStateFoodPrograms/ucm2006754.htm* (2015).
8. Ministry of Food and Drug Safety.: General test method in Food Code. *http://www.foodsafetykorea.go.kr/foodcode/01_01.jsp* (2017).
9. Mok, J.S., Song, G.C., Lee, K.J., Kim, J.H.: Validation of precolumn HPLC oxidation method for analysis of paralytic shellfish poison. *Kor. J. Fish Aquat. Sci*., **46(2)**, 148 (2013).
10. Lee, T.S., Mok, J.S., Ha, K.S., Lee, K.J., Kim, P.H., Kim, Y.K.: Analysis of marine biotoxins for Korean shellfish sanitation program performance. National Institute of Fisheries Science, **57** (2017).
11. APHA (American Public Health Association): Recommended procedures for the examination of sea water and shellfish. 4th ed. American Public Health Association, Inc. Washington, D.C. 1-105 (1970).
12. International organization for standardization: Microbiology of the food chain-Horizontal method for the enumeration of beta-glucuronidase positive Escherichia coli- Part 3: Detection and most probable number technique using 5-bromo-4-chloro-3-indol-β-D-glucuronide. 16649-3. *http://www.fda.gov/Food/Guidance Regulation/FderalStateFoodPrograms/ucm2006754.htm* (2015).
13. Mok, J.S., Lee, K.J., Kim, P.H., Lee, T.S., Lee, H.J., Jung, Y.J., Kim, J.H.: Bacteriological quality evaluation of seawater and oysters from the Jaranman-Saryangdo area, a designated shellfish growing area in Korea: impact of inland pollution sources. *Marine Pollution Bulletin*, **108**, 147-154 (2016).
14. Ha, K.S., Shin, S.B., Lee, K.J., Jeong, S.H., Oh, E.G., Lee, H.J., Kim, D.W., Kim, Y.G.: Evaluation of the bacteriological and toxicological safety for the shellfish growing area in the Kamakman area, Korea. *J. Food Hyg. Saf.,* **32**, 542-549

(2017).
15. Shim, K.B., Ha, K.S., Yoo, H.D., Kim, J.H., Lee, T.S.: Evaluation of the bacteriological safety for the shellfish growing area in Jaranman-Saryangdo area, Korea. *Kor. J. Fish. Aquat. Sci.,* **42**, 442-448 (2009).
16. Yoo, H.D., Ha, K.S., Shim, K.B., Kang, J.Y., Lee, T.S., Kim, J.H.: Microbiological quality of the shellfish-growing waters and mussels in Changseon, Namhae, Korea. *Kor. J. Fish. Aquat. Sci.,* **43**, 298-306 (2010).
17. Park, J.H.: Bacteriological quality study of sea water and oyster in association with rainfall in Kamakman. M.S. *Thesis. National Fish. Univ. of Pusan*. 13-25 (1990).
18. Shin, S.B., Ha, K.S., Lee, K.J., Jeong, S.H., Lee, J.H., Oh, E.G., Kim, Y.G., Lee, H.J.: Assessment of sanitary safety of the oyster (*Crassostrea gigas*), Short neck clam (*Ruditapes philippinarum*) and Small ark shell (*Scapharca subcrenata*) in Gangjin bay, *Korean J. Malacol.,* **33**, 275-283 (2017).
19. Mok, J.S., Oh, E.G., Son, K.T., Lee, T.S., Lee, K.J., Song, K.C., Kim, J.H.: Accumulation and depuration of paralytic shellfish poisoning in marine organisms. *Kor. J. Fish Aquat. Sci*., **45(5)**, 466 (2012).