pISSN 1229-1153 / eISSN 2465-9223 *J. Food Hyg. Saf.*
Vol. 32, No. 1, pp. 20~26 (2017)
https://doi.org/10.13103/JFHS.2017.32.1.20

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

국내 생산단계 농산물의 미생물학적 안전성 조사

김원일 · 곽민규 · 조아라 · 류상돈 · 김세리 · 류송희[1] · 김황용[2] · 류재기*
국립농업과학원 농산물안전성부 유해생물팀, [1]국립농업과학원 농산물안전성부 화학물질안전과
[2]농촌진흥청 기술협력국 국외농업기술과

Investigation of Microbiological Safety of on-farm Produce in Korea

Won-Il Kim, Min-Gyu Gwak, A-Ra Jo, Sang Don Ryu, Se-Ri Kim,
Song Hee Ryu[1], Hwang-Yong Kim[2], and Jae-Gee Ryu*
Microbial Safety Team, Department of Agro-Food Safety and Crop Protection, National Institute of Agricultural Sciences, Rural Development Administration, Wanju-gun 55365, Republic of Korea
[1]Chemical Safety Division, Department of Agro-Food Safety and Crop Protection, National Institute of Agricultural Sciences, Rural Development Administration, Wanju-gun 55365, Republic of Korea
[2]Division for KOPIA (Korea Program on International Agriculture), Technology Cooperation Bureau, Rural Development Administration, Jeonju-si 54875, Republic of Korea
(Received September 13, 2016/Revised November 10, 2016/Accepted December 6, 2016)

ABSTRACT - Foodborne disease outbreaks associated with produces have been increasing in occurrence worldwide. This study investigated microbial contamination levels on thirteen kinds of agricultural products from farms stage to evaluate potential hazards associated with foodborne illness. A total of 1,820 samples were collected in major cultivating area from 2013 through 2015, and analyzed to enumerate aerobic bacterial counts, coliforms/*E. coli, Bacillus cereus* and *Staphylococcus aureus.* In addition, the prevalence study for four kinds of microorganisms (*Escherichia coli, E. coli* O157:H7, *Salmonella* spp. and *Listeria monocytogenes*) was performed on each sample. Aerobic bacterial counts ranged from 0.01 to 7.18 log CFU/g, with the highest bacterial cell counts recorded for watermelon. Coliforms were detected in 651 samples (35.8%) with a minimum of 0.01 log CFU/g and a maximum of more than 5 log CFU/g. *B. cereus* was detected in 169 samples (9.3%) ranging from < 0.01 to 2.48 log CFU/g among total samples analyzed. *S. aureus* was detected in 14 samples (0.7%) with a minimum of 0.01 log CFU/g and a maximum of 1.69 log CFU/g. *E. coli* was detected in 101 samples (5.5%) among 1,820 samples. *E. coli* O157:H7, *Salmonella* spp. and *L. monocytogenes* were not detected in any of the samples. The microbial contamination levels of several agricultural products determined in this study may be used as the fundamental data for microbiological risk assessment (MRA).

Key words : foodborne pathogen, microbial contamination, produce

농산물은 인체 건강과 균형된 식단을 위해 중요한 요소로써 섬유질과 철, 마그네슘, 구리 등의 미량원소와 비타민 등 인체 필수 원소의 주요 공급원이다. 최근에는 우리나라 국민의 소득 향상 및 건강에 대한 관심이 고조되면서 신선 농산물의 소비량이 과거에 비해 증가하였다[1)]. 한편 농산물의 유용한 영양소가 가열 등 처리과정을 통해서 일부 소실되는 것으로 인식되면서 별도의 조리과정 없이 섭취하는 형태를 선호하는 경향도 나타나고 있다[2)]. 하지만 이러한 신선 섭취 농산물의 생산・수확 후 처리 과정 중에 인체 병원성 세균 등의 생물적 위해요소가 농산물에 오염되었을 경우에는 농산물을 매개로 식중독 등 감염성 질환이 발생할 수도 있다[3)]. 현재까지 국내에서는 식중독 세균이 오염된 신선 농산물 섭취로 인한 사고 발생이 공식적으로 보고된 바는 없다. 그러나 유럽, 미국 등 국외에서는 식중독을 일으키는 병원성 미생물이 오염된 신선 농산물 섭취에 따른 식중독 사고가 가정, 외식업체 등에서 발생하여 많은 인명 및 재산 피해를 가져왔고, 미국의 경우 1998년부터 2008년까지 발생한 식중독의 원인식품 중 과일, 채소류 등 농산물에 의한 것이 전체 식품 중 45.9%를 차지하고 위해요인으로는 27%가 *Salmonella* spp.,

*Correspondence to: Jae-Gee Ryu, Microbial Safety Team, Department of Agro-Food Safety and Crop Protection, National Institute of Agricultural Sciences, Rural Development Administration, Wanju-gun 55365, Republic of Korea
Tel: 82-63-238-3403, Fax: 82-63-238-3840
E-mail: jgryu@korea.kr

Listeria monocytogenes, Escherichia coli O157:H7과 같은 병원성 세균이 차지한다고 보고되었고[4], 구토, 설사를 일으킬 수 있는 *Bacillus cereus, Staphylococcus aureus*와 같은 병원성 세균으로 인한 식중독 사고가 보고된 바 있다[5]. *Salmonella* spp., *E. coli* O157:H7 등의 인체 병원성세균이 농산물에 오염된 이 후에는 완전히 제거하기가 어려우므로, 농산물에 병원성세균이 오염되지 않도록 사전예방적으로 관리하는 것이 중요하다[6]. 각 종 병원성 세균은 작물의 생산과정 중 오염된 토양, 관개용수, 농자재, 야생동물 등에 의해 농산물로 전이될 수 있고, 수확, 수확 후 처리, 가공, 포장 등의 처리과정 중에서도 비위생적인 작업자, 작업환경 등에 의해 교차오염이 일어날 수 있다[7]. 현재까지 국내 농산물의 생물학적 위해요소 안전성에 관한 연구로는 유통단계 채소의 식중독세균 오염도 조사[8,9,10], 생산단계 들깻잎, 상추, 토마토의 식중독세균 오염도 조사[11,12], 도시텃밭용 상추, 배추의 생물학적 안전성 조사[13] 등으로 유통단계 농산물과 엽채류, 과채류 중심의 유해미생물 오염도 조사 연구가 보고된 바 있다. 본 연구는 국내 생산단계 농산물의 전반적인 생물학적 위해요소 안전성을 확인하기 위해 여러 가지 품목군별 주요 농산물을 대상으로 위생지표세균과 유해미생물의 오염도를 조사하였다.

Materials and Methods

농산물 시료 수집

2013년 6월부터 2015년 10월까지 수박(충북・충남・경남 소재 총 3 지역, 9호 농가), 참외(경북 소재 총 3 지역, 9호 농가), 고추(경북 소재 총 3 지역, 15호 농가), 당근(강원・충남・제주 소재 총 3 지역, 15호 농가), 상추(경기・전북 소재 3 지역, 15호 농가), 배추(전북 소재 총 3 지역, 15호 농가), 양배추(전남 소재 총 3 지역, 15호 농가), 셀러리(경기・강원 총 3 지역, 15호 농가), 버섯류(경북・전남 총 3 지역, 15호 농가), 보리(전북・전남 총 5 지역, 15호 농가), 옥수수(강원・충북 총 3 지역, 14호 농가), 복숭아(경북 총 3 지역, 15호 농가), 포도(경기・충북・경북 총 3 지역, 15호 농가) 시료를 수집하였다. 시험대상 작물은 완숙되어 출하가 가능한 상태 또는 수확하여 출하하기 직전인 것을 대상으로 무작위로 채취하였다. 시험대상 작물의 크기, 형태가 다양하므로 작물별 시료수집방법, 시료 1점당 분석량, 희석배수를 아래의 Table 1과 같이 진행하였다. 시료를 수집할 때에는 멸균장갑을 착용한 후 시료를 멸균시료백(Whirl-Pak® bags, Nasco, Fort Atkinson, WI, USA)에 담아 분석 전까지 아이스박스에 보관하여 이송한 후 24시간 내에 분석하였다.

위생지표세균 오염도 조사

위생지표세균인 일반호기성세균과 대장균군의 오염도를 정량적으로 분석하였다. 작물 시료가 담긴 멸균시료백에 각 각의 비율로 0.1% peptone water (OXOID, Basingstoke, Hampshire, UK)를 더해 작물의 크기와 형태에 따라 Pulsifier PUL 100E (Microgen, Camberley, Surrey, UK) 또는 Stomacher (BagMixer, Interscience, Saint Nom, FR) 또는 핸드쉐이킹으로 각 15초, 2분, 1분 동안 균질화하였다. 일반호기성세균수 측정을 위해 균질화한 희석용액 1 mL를 취해 건조배지(Aerobic Count Plant, 3M, St. Paul, MN, USA)에 분주한 후 30°C 배양기에서 48시간 동안 배양하여 나타난 colony의 수를 계수하였다. 대장균군(Coliforms)의 밀도 측정을 위해 희석용액 1 mL를 취해 건조배지(Coliforms/*E. coli* Count Plate, 3M, St. Paul, MN, USA)에 분주한 후 37°C 배양기에서 24시간 동안 배양한 후 기포를 발생한

Table 1. Sampling part and initial dilution rate of the each crop

Crops	Collected samples	Sample volume (per 1 sample)	Initial dilution rate for quantitative analysis (v/w)
Watermelon, Oriental melon	Swab the surface of the fruit with sterile gauze dipped in 0.85% NaCl solution	1 fruit	50
Pepper	fruit	3 fruits	3
Carrot	edible part	1	3
Lettuce	leaf	3 leaves	10
Chinese cabbage, Cabbage	leaf	1 leaf	5
Celery	leaf	2 leaves	4~6
Mushrooms	edible part	20~40 g	5~6
Barley	grain	25 g	5
Maize	grain	30~140 g	2
Grape	fruit	1 fruit	2
Peach	fruit	1 fruit	2

붉은색 집락을 대장균군으로 간주하여 그 수를 계수하였다.

유해미생물 오염도 조사

B. cereus 정량적 검정

각 농산물을 균질화한 희석용액을 0.25 mL씩 4개의 Mannitol Egg Yolk Polymyxin Agar (OXOID, Basingstoke, Hampshire, UK)에 각각 분주하여 도말하였다. 30ºC 배양기에서 24시간 동안 배양한 후 *B. cereus*로 의심되는 colony의 수를 세었다. 선택배지상에서 *B. cereus*와 집락형태가 유사한 *B. thuringiensis*의 구분을 위해 시료당 5개의 집락을 임의적으로 선택하여 Nutrient Agar (BD, Franklin Lakes, NJ, USA) 배지에 순수분리, 배양한 후 PCR법을 이용해 *B. cereus, B. thuringiensis*가 가지고 있는 *gyrB* 유전자와 *B. thuringiensis*가 가지고 있는 *cry* (crystal toxin) 유전자의 보유여부 확인을 통해 *B. cereus*를 최종 동정하였다(Table 2). Chromosomal DNA 추출 및 PCR 반응은 각 균주의 chromosomal DNA를 boiling 방법으로 추출하여 template DNA를 얻은 후, Thermocycler C1000 (Bio-Rad, Hercules, CA, USA)를 이용하여 ① 95ºC, 10분, ② 94ºC, 1분, ③ 55ºC, 2분, ④ 72ºC, 1분30초, ⑤ 72ºC, 5분 조건으로 (② 번에서 ④번 과정은 25 cycle) PCR을 수행하였다. PCR 반응 후 전기영동을 통하여 Target gene의 유무를 판별하여 최초에 계수하였던 *B. cereus* 수에 반영하여 최종 세균수를 산정하였다.

S. aureus 정량적 검정

각 농산물을 균질화한 희석용액을 0.25 mL씩 4개의 Baird-Parker (BP, OXOID, Basingstoke, Hampshire, UK)에 각각 분주하여 도말한 후 37ºC의 배양기에서 48시간 동안 배양하였다. *S. aureus*로 의심되는 colony를 Nutrient Agar에 순수분리한 후 VITEK® 2 (BioMérieux, Craponne, France)를 이용해 분석・동정하여 *S. aureus* 진위를 판별하였다.

E. coli, E. coli O157:H7, *Salmonella* spp., *L. monocytogenes* 정성적 검정

각 농산물 시료에 Buffered Peptone Water (OXOID, Basingstoke, Hampshire, UK)를 Table 1과 같은 비율로 더해 37ºC에서 24시간 동안 증균배양한 후 *E. coli, E. coli* O157:H7, *Salmonella* spp., *L. monocytogenes*의 선택적 증균배양액인 E. coli (OXOID, Basingstoke, Hampshire, UK), modified E. coli (OXOID, Basingstoke, Hampshire, UK), Rappaport-Vassiliadis R-10 (OXOID, Basingstoke, Hampshire, UK), Fraser Listeria (OXOID, Basingstoke, Hampshire, UK) 용액이 9 mL 담긴 유리시험관에 1차 증균배양액을 각 1 mL씩 더하여 E. coli, modified E. coli, Rappaport-Vassiliadis R-10은 42ºC, Fraser Listeria는 37ºC에서 24시간 동안 배양하였다. 각 선택적 증균배양액의 가스생성(*E. coli, E. coli* O157:H7) 및 색깔변화(*Salmonella* spp., *L. monocytogenes*)를 관찰하여 양성반응이 나온 증균용액에 대해 멸균된 백금이를 사용하여 각 세균의 선택배지인 Eosin-Methylene Blue agar (OXOID, Basingstoke, Hampshire, UK), Sorbitol Macconkey agar (OXOID, Basingstoke, Hampshire, UK), Xylose lysine deoxycholate agar (OXOID, Basingstoke, Hampshire, UK), Oxford agar (OXOID, Basingstoke, Hampshire, UK)에 분리・배양한 후, 각 선택배지별로 병원균으로 의심되는 균주를 육안으로 선별하고 의심되는 colony를 NA배지에 순수분리하였다. 분리한 균주는 VITEK® 2를 이용해 최종 동정하였다.

통계분석

각 농산물의 일반호기성세균, 대장균군, *B. cereus* 오염도 조사로부터 얻은 결과값에 대해 일원배치분산분석(one-way ANOVA)법으로 유의성을 검정하였고, 분산분석 결과가 유의하여($p < 0.05$) LSD법으로 다중검정을 실시하였다. 위의 분석은 SAS 9.2 소프트웨어(SAS Institute Inc., Cary, NC, USA)를 이용하여 실시하였다.

Results and Discussion

위생지표세균(일반호기성세균, Coliforms) 오염도

생산단계에서 채취한 수박, 참외, 고추, 당근, 상추, 배추, 양배추, 셀러리, 버섯, 보리, 옥수수, 복숭아, 포도 시료의 일반호기성세균과 대장균군의 평균 밀도는 각각 4.00 ± 1.84, 1.86 ± 1.00 log CFU/g으로 나타났다(Table 3). 일반호기성세균 평균 밀도는 수박과 보리에서 각 각 6.0 ± 1.2, 6.0 ± 0.4 log CFU/g으로 밀도가 가장 높은 것으로 나타났고, 복숭아, 포도와 같은 과일류에서 각 각 1.5 ± 0.8, 1.1 ±

Table 2. Characteristics of primers used for *B. cereus* detection

Gene amplified	Primer	Sequence (5' → 3')	Product size	References
DNA gyrase (*gyr*B)	BCFW1	GTTTCTGGTGGTTTACATGG	374 bp	Manzano *et al.,* 2003
	BCrevenew	TTTTGAGCGATTTAAATGC		
Crystal encoding gene (*cry*)	K3	GCTGTGACACGAAGGATATAGCCAC	1.6~1.7 kbp	Kuo and Chak, 1996
	K5	AGGACCAGGATTTACAGGAGG		

0.8 log CFU/g으로 가장 낮은 밀도를 나타냈다. 대장균군의 검출빈도가 상대적으로 높은 품목은 당근(98%), 양배추(93%) 등 이었다. 대장균군의 평균 밀도가 높은 작물로는 보리, 양배추, 고추가 각 각 2.7 ± 0.2, 2.6 ± 0.7, 2.3 ± 1.1 log CFU/g이었고, 수박, 버섯, 보리, 복숭아, 포도에서는 1 log CFU/g 이하의 낮은 밀도를 보였다. 이를 통해 농산물의 일반호기성세균과 대장균군의 밀도는 양의 상관관계가 낮은 것을 알 수 있고, 작물의 물리적, 화학적 특성, 시료분석시기, 작물별 재배유형, 작물별 재배적기, 토양, 관개용수 등 농업환경의 미생물 밀도, 작업자위생 등이 일반호기성세균과 대장균군의 밀도에 영향을 미칠 것으로 판단된다. 일반호기성세균과 대장균군의 검출 유무가 인체에 대한 위해성과 직접적인 관련성은 적지만, 일반호기성세균의 밀도는 식품의 생산, 가공 및 유통상의 위생조건 및 잠재적 식품 부패 등을 판정할 수 있는 지표로 사용되고 있으며, 대장균군(Coliforms)은 식품위생상 분변오염의 지표로 사용되고 있다[14]. 국내외 농산물의 위생지표세균 모니터링 연구 결과에 따르면 농산물 중에는 일반호기성세균, 대장균군이 흔히 존재하는 것을 알 수 있다[12,15,16]. 국내 농산물의 위생지표세균 오염도 조사 연구로는 생산단계 고추, 상추, 양배추와 유통단계 당근, 상추, 배추, 셀러리, 보리 등에 대해 수행된 바 있는데 일반호기성세균과 대장균군의 평균 밀도 또는 최소-최대밀도는 생산단계 고추(4.5, 3.9 log CFU/g), 상추(4.6~6.6, 0~1.67 log CFU/g), 양배추(2.6~5.4, 0~5.75 log CFU/g)이고, 유통단계 당근(5.4~6.8, 5.3~6.7 log CFU/g), 상추(5.4~6.5, 4.3~6.4 log CFU/g), 배추(5.8~6.8, 5.4~6.6 log CFU/g), 셀러리(4.4~5.9, 0~5.9 log CFU/g), 보리(4.8~8.6, 2.2~4.4 log CFU/g)로 보고되었다[8,10,11,17,18,19]. 본 연구의 결과에서 일반호기성세균과 대장균군의 평균 밀도는 각 각 고추에서 4.9, 2.3 log CFU/g, 상추에서 4.1, 1.1 log CFU/g, 양배추에서 5.3, 2.6 log CFU/g, 당근에서 4.0, 1.9 log CFU/g, 배추에서 5.5, 1.9 log CFU/g, 셀러리에서 3.9, 1.1 log CFU/g, 보리에서 6.0, 2.7 log CFU/g으로 나타났는데(Table 3), 앞선 연구결과와 비교하였을 때 생산단계 모니터링 결과와는 유사하지만 유통단계 모니터링 결과에 비해서는 다소 낮은 밀도를 보이는 것을 알 수 있

Table 3. Quantitative density of indicative bacteria, *B. cereus* and *S. aureus* in several kinds of produce collected from farms

Crops	No. of samples	Number of microorganisms (mean log CFU/g)			
		Total aerobic bacteria	Coliforms (% of positive)	*B. cereus* (% of positive)	*S. aureus* (% of positive)
watermelon	90	6.0 ± 1.2^{a}	0.8 ± 0.6^{f} (17)	0.3^{b} (1)	0
oriental melon	90	4.8 ± 1.0^{c}	1.7 ± 1.1^{cde} (53)	- (0)	0
pepper	150	4.9 ± 0.7^{c}	2.3 ± 1.1^{abc} (39)	1.0 ± 0.6^{a} (15)	0
carrot	150	4.0 ± 0.5^{d}	1.9 ± 0.6^{bcd} (98)	0.4 ± 0.4^{ab} (33)	0
lettuce	150	4.1 ± 1.0^{d}	1.1 ± 0.6^{ef} (16)	0.5 ± 0.5^{ab} (19)	0.2 (0.6)
Chinese cabbage	150	5.5 ± 0.5^{b}	1.9 ± 1.2^{bcd} (28)	0.6 ± 0.4^{ab} (19)	0
cabbage	150	5.3 ± 0.6^{b}	2.6 ± 0.7^{ab} (93)	0.6 ± 0.6^{ab} (3)	1.3 ± 0.5 (1.3)
celery	150	3.9 ± 1.0^{d}	1.1 ± 0.7^{def} (43)	- (0)	0.01 (0.6)
mushrooms	150	2.9 ± 2.1^{e}	0.5 ± 0.4^{f} (8)	0.2 ± 0.2^{b} (3)	0
barley	150	6.0 ± 0.4^{a}	2.7 ± 0.2^{a} (27)	0.3 ± 0.2^{b} (17)	0
maize	140	2.9 ± 1.2^{e}	0.9 ± 0.7^{ef} (41)	0.3 ± 0.3^{b} (3)	0
peach	150	1.5 ± 0.8^{f}	0.8 ± 0.9^{f} (1)	- (0)	0
grape	150	1.1 ± 0.8^{g}	0.7 ± 0.9^{f} (1)	- (0)	0

Table 4. Levels of foodborne pathogens in several kinds of produce collected from farms

Crops	No. of samples	Number of positive sample (%)			
		E. coli	*E. coli* O157:H7	*Salmonella* spp.	*L. monocytogenes*
watermelon	90	3(3.3)	0	0	0
oriental melon	90	14(15.5)	0	0	0
pepper	150	1(0.6)	0	0	0
carrot	150	16(10.6)	0	0	0
lettuce	150	0	0	0	0
Chinese cabbage	150	0	0	0	0
cabbage	150	5(3.3)	0	0	0
celery	150	0	0	0	0
mushrooms	150	0	0	0	0
barley	150	24(16)	0	0	0
maize	140	6(4.3)	0	0	0
peach	150	5(3.3)	0	0	0
grape	150	1(0.6)	0	0	0

다. 특히 대장균군은 생산단계 보다 유통단계에서 높은 밀도를 나타내는데, 이는 농산물의 선별, 포장 등 수확 후 처리 과정 중에 미생물의 교차오염이 발생되거나 출하 후 유통과정 중에 미생물의 증식이 이루어져 생긴 결과라고 판단된다. 농산물의 미생물 교차오염은 수확 전과 수확 후 과정으로 구분되는데, 수확 전에는 토양, 관개용수, 퇴비 등의 농자재, 먼지, 곤충, 야생동물, 작업자 등에 의해 미생물이 전이될 수 있고, 수확 후에는 작업자, 수확도구, 수확상자, 먼지, 농산물 세척수 등 농산물과 직접 접촉하는 것에 의해 미생물이 전이되는 것으로 알려져 있다[20,21]. 대장균군에 속하는 *E. coli* O157:H7가 상추 등의 농산물에서 생존이 가능하고[22], *E. coli, E. coli* O157:H7이 상추 등의 표면에서 biofilm을 형성하는 능력이 있다고 보고된 바 있다[23,24]. 또한 김 등[11]은 20ºC 이상의 온도에서 24시간이 지나면 상추와 잎들깨 표면에서 일반호기성세균과 *E. coli* O157:H7의 밀도가 유의하게 증가하는 것을 확인한 바 있다. 종합적으로 본 연구를 통해 시험대상 농산물에서 일반호기성세균은 0.1~7.2 log CFU/g, 대장균군은 0.01~5.1 log CFU/g 범위로 분포하고, 품목별로 일반호기성세균과 대장균군 밀도가 유의하게 다르게 나타나는 것을 확인하였다. 이러한 결과를 농산물 안전관리를 위한 연구와 제도를 시행함에 있어서 우선순위 설정에 활용할 수 있을 것으로 기대하며, 향후에는 작물의 위생지표세균 등의 밀도에 직접적인 영향을 미치는 요인에 대한 연구 수행을 통해 재배 과정 중 유해미생물의 오염 최소화를 위한 재배법 개발이 이루어져야 한다.

유해미생물 오염도

국제적으로 농산물을 매개로 한 병원성 세균에 의한 식중독 사고는 병원성 대장균(*E. coli* O157:H7 등), *Salmonella* spp., *L. monocytogenes*, *B. cereus, S. aureus* 등에 의해 발생한 것으로 보고되었다[25]. *B. cereus*와 *S. aureus*는 일반적으로 식품 내 1 gram 당 10^5 이상이 Infective dose인 것으로 알려져 있다. *E. coli* O157:H7의 Infective dose는 10~100 cells로 알려져 있고, *Salmonella* spp., *L. monocytogenes*는 정확한 Infective dose는 알려져 있지 않지만 상대적으로 매우 낮은 것으로 보고되고 있다[26]. 본 연구의 생산단계 수박, 참외, 고추, 당근, 상추, 배추, 양배추, 셀러리, 버섯, 보리, 옥수수, 복숭아, 포도 시료의 *B. cereus, S. aureus*의 정량적 밀도와 *E. coli, E. coli* O157:H7, *Salmonella* spp., *L. monocytogenes*의 정성적 결과로는 *B. cereus, S. aureus, E. coli*가 각 각 검출되었고 *E. coli* O157:H7, *Salmonella* spp., *L. monocytogenes*는 음성인 것으로 나타났다(Table 3~4). 시험대상 작물별 *B. cereus* 오염 빈도는 당근, 상추, 배추, 보리, 고추가 각 각 33, 19, 19, 17, 15%로 나타났고, 참외, 셀러리, 복숭아, 포도에서는 불검출로 나타났다(Table 3). *S. aureus*는 양배추, 상추, 셀러리에서 각 각 1, 0.6, 0.6% 비율로 검출되었고 밀도 범위는 양배추 0.9~1.7 log CFU/g, 상추 0.15 log CFU/g, 셀러리 0.01 log CFU/g로 나타났다. 남 등[18]은 국내 생산단계 고추 과실에서 *B. cereus, S. aureus*가 검출되지 않았지만 재배 토양과 작업자의 옷에서 *B. cereus*와 *S. aureus*가 각 각 1.5 log CFU/g, 0.3 log CFU/100 cm^2로 검출되어 작물의 재배환경으로부터 교차오염의 가능성을 시사한 바 있다. 또한 김 등[11]은 국내 생산단계 상추에서 *B. cereus*가 1.23~2.18 log CFU/g 범위로 검출되었다고 보고하였는데 본 연구의 상추 *B. cereus* 오염범위인 0.48~2.48 log CFU/g과 유사한 것을 알 수 있다. 최 등[19]은 국내 생산단계 양배추에서 *B. cereus*는 불검출, *S. aureus*는 분석시료 중 1.6% 비율로 검출되고, 1.0~4.0 log CFU/g 범위의 밀도를 나타낸다고 보고하였는데, 본 연구의 양배추의 *S. aureus*는 분석시료 중 1.3% 비율로 검출되어 선행연구 결과와 유사하게 나타났

지만, 밀도 범위는 0.94~1.69 log CFU/g로 선행 연구결과와 유의한 차이가 나는 것을 알 수 있다. *S. aureus*는 재배환경, 작업자 등에 의해 주로 교차오염되므로 위와 같은 밀도 차이는 분석 시료의 재배환경 및 작업자 위생의 정도 차이에 의해 기인된 것으로 판단된다. 정성적 검정에서는 *E. coli*의 검출비율은 보리 16%, 참외 15.5%, 당근 10.6%, 옥수수 4.3%, 수박, 양배추, 복숭아에서 3.3%, 고추, 포도에서 0.6%로 나타났다. 비병원성 *E. coli*의 경우 인체 병원성과는 직접적인 관계가 없지만[27], 분변 오염의 위생지표로 사용되므로 *E. coli* 등 미생물 오염을 최소화하는 재배법 실천이 중요하다 할 수 있다. 국내의 경우 *E. coli* O157:H7, *Salmonella* spp., *L. monocytogenes*에 오염된 농산물 섭취로 인한 식중독 사고가 보고된 바 없지만 국외에서는 수박, 고추, 당근, 상추, 양배추, 셀러리 등 농산물을 매개로 한 *E. coli* O157:H7, *Salmonella* spp., *L. monocytogenes* 등에 의한 식중독 사고가 보고되었고[28,29,30], 유통 중인 버섯에서 *E. coli* O157:H7, *Salmonella* spp., *L. monocytogenes* 등의 식중독 세균이 검출되었고[31] 수확 후 저장기간 동안 증식이 가능하다고 보고된 바 있다[32]. *E. coli* O157:H7, *Salmonella* spp., *L. monocytogenes* 등의 식중독 세균이 농산물에서 생존 또는 증식이 가능한 것으로 알려져 있는데 농산물에서의 식중독 세균의 생존과 증식은 가용 영양원, UV, 식물유래 물질, microflora 등 여러 가지의 영향을 받는 것으로 알려져 있다[33]. 수박의 가식부에 *Salmonella* spp.를 접종하였을 때 25°C에서 24시간 이내에 4 log CFU/g 이상 밀도가 증가하는 것으로 나타났고[34], 상추잎 표면에서 *E. coli* O157:H7이 25일 이상 생존이 가능한 것으로 알려져 있다. 또한 Berrada 등[35]은 상추, 당근, 양배추 등 농산물 표면에서 *L. monocytogenes*가 장기간 생존 가능하다고 보고하였다. *Salmonella* spp., *E. coli* O157:H7 등 식중독 세균이 상추, 배추, 셀러리 등의 농산물 표면에서 biofilm을 형성하여 보다 생존에 유리하게 작용한다는 결과가 있다[36]. 본 연구결과를 바탕으로 국내 생산단계 농산물에서는 *Salmonella* spp., *E. coli* O157:H7, *L. monocytogenes*와 같은 고위험성의 식중독 세균이 검출되지 않았지만, *E. coli*가 검출되는 것으로 보아 식중독 세균의 오염 잠재성이 있다고 볼 수 있어 이러한 식중독 세균의 오염을 최소화하는 농법 실천이 중요하다고 할 수 있다.

Acknowledgement

본 연구는 농촌진흥청 국립농업과학원 농업기초기반연구(과제번호: PJ009533)의 지원에 의해 이루어진 것입니다. 본 연구가 수행됨에 있어 많은 도움을 주신 관련 시・군 농업기술센터에 감사드립니다.

국문요약

국제적으로 식중독 세균이 오염된 농산물의 신선 섭취에 따른 식중독 사고가 빈번하게 발생되고 있다. 본 연구는 국내 생산단계 수박, 참외, 고추, 당근, 상추, 배추, 양배추, 셀러리, 버섯, 보리, 옥수수, 복숭아, 포도를 대상으로 위생지표세균과 식중독 세균의 오염도를 분석하였다. 2013년부터 2015년까지 각 작물별로 3곳 이상의 주산지에서 총 1,820점의 시료를 수집하여 일반호기성세균, 대장균군, *B. cereus, S. aureus*의 정량적 분석과 *E. coli, E. coli* O157:H7, *Salmonella* spp., *L. monocytogenes*의 정성적 분석을 수행하였다. 일반호기성세균은 전체 시험대상 농산물에서 0.01~7.18 log CFU/g 범위의 밀도를 나타냈고, 대장균은 총 651점의(35.8%) 시료에서 나타났다. *B. cereus*는 0.01~2.48 log CFU/g 범위로 총 169점의(9.3) 시료에서 나타났고, *S. aureus*는 총 14점의(0.7%) 시료에서 0.01~1.69 log CFU/g 범위로 나타났다. 정성적 분석에서 *E. coli*는 총 101점의(5.5%) 시료에서 양성인 것으로 나타났고, *E. coli* O157:H7, *Salmonella* spp., *L. monocytogenes*는 모두 음성인 것으로 나타났다. 본 연구 결과를 통해 국내 생산단계 농산물의 전반적인 미생물학적 오염도를 파악할 수 있고 농산물 중 미생물 기준 설정 등에 대한 과학적 근거로써 미생물위험평가(Microbiological Risk Assessment)의 기초자료로써 활용이 가능할 것으로 기대한다.

References

1. Lee, K.I., Han, H.S. and Son, E.Y.: Analysis of Korean food consumption trends. Korea Rural Economic Institute, R560 (2007).
2. Rickman, J.C., Bruhn, C.M. and Barrett, D.M.: Nutritional comparison of fresh, frozen, and canned fruits and vegetables II. Vitamin A and carotenoids, vitamin E, minerals and fiber. *J Sci Food Agric*, **87**, 1185-1196 (2007).
3. Berger, C.N., Sodha, S.V., Shaw, R.K., Griffin, P.M., Pink, D., Hand, P. and Frankel, G.: Fresh fruit and vegetables as vehicles for the transmission of human pathogens. *Environ Microbiol*, **12**, 2385-2397 (2010).
4. Painter, J.A., Hoekstra, R.M., Ayers, T., Tauxe, R.V., Braden, C.R., Angulo, F.J. and Griffin, P.M.: Attribution of foodborne illnesses, hospitalizations, and deaths to food commodities by using outbreak data, United States, 1998-2008. *Emerg Infect Dis*, **19**, 407-415 (2013).
5. Bennett, S.D., Walsh, K.A. and Gould, L.H.: Foodborne disease outbreaks caused by Bacillus cereus, Clostridium perfringens, and Staphylococcus aureus--United States, 1998-2008. *Clin Infect Dis.: an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, **57**, 425-433 (2013).
6. Beuchat, L.R. and Scouten, A.J.: Combined effects of water activity, temperature and chemical treatments on the survival of Salmonella and Escherichia coli O157:H7 on alfalfa

seeds. *J Appl Microbiol*, **92**, 382-395 (2002).
7. Koseki, S. and Isobe, S.: Prediction of pathogen growth on iceberg lettuce under real temperature history during distribution from farm to table. *Int J Food Microbiol*, **104**, 239-248 (2005).
8. Won, Y.J., Yoon, C.Y., Seo, I.W., Nam, H.S., Lee, D.M., Park, D.H., Lee, H.M., Kim, S.S. and Lee, K.Y.: The study for the occurrence of food poisoning bacteria in organic vegetables, Kwangju regional FDA, pp. 99-117 (2002).
9. Choi, J.W., Park, S.Y., Yeon, J.H., Lee, M.J., Chung, D.H., Lee, K.H., Kim, M.G., Lee, D.H., Kim, K.S. and Ha S.D.: Microbial contamiantion levels of fresh vegetables distributed in markets. *J. Fd Hyg. Safety*, **20**, 43-47 (2005).
10. Hong, C.K., Seo, Y.H., Choi, C.M., Hwang, I.S. and Kim, M.S.: Microbial quality of fresh vegetables and fruits in Seoul, Korea. *J. Fd Hyg. Safety*, **27**, 24-29 (2012).
11. Kim, W.I., Jung, H.M., Kim, S.R., Park, K.H., Kim, B.S., Yun, J.C. and Ryu, K.Y.: Investigation of microbial contamination levels of leafy greens and its distributing conditions at different time -focused on perilla leaf and lettuce-. *J. Fd Hyg. Safety*, **27**, 277-284 (2012).
12. Kim, W.I., Jo, A.R., Lee, J.H., Kim, S.R., Park, K.H., Nam, K.W., Yoon, Y., Yoon, D.H., Oh, S.Y., Lee, M.H., Ryu, J.G. and Kim, H.Y.: Survey of microbial contamination of tomatoes at farms in Korea. *J. Fd Hyg. Safety*, **28**, 324-329 (2013).
13. Kim, J.W., Yu, Y.M., Na, W.S., Baljii, E., Choi, I.W., Youn, Y.N. and Lee, Y.H.: Monitoring of biosafety of agricultural products from urban community gardens and roof gardens in Korea. *Kor. J. Hort. Sci. Technol.*, **32**, 400-407 (2014).
14. Forsythe, S.J.: The microbiology of safe food, 2nd edition, Wiley-Blackwell (2010).
15. Johnston, L.M., Jaykus, L.A., Moll, D., Martinez, M.C., Anciso, J., Mora, B. and Moe, C.L.: A field study of the microbiological quality of fresh produce. *J Food Prot*, **68**, 1840-1847 (2005).
16. Allen, K.J., Kovacevic, J., Cancarevic, A., Wood, J., Xu, J., Gill, B., Allen, J.K. and Mesak, L.R.: Microbiological survey of imported produce available at retail across Canada. *Int J Food Microbiol*, **162**, 135-142 (2013).
17. Kim, J.H., Lee, Y.K. and Yang, J.Y.: Analysis on hazard microorganisms in raw materials and processing environment for Sunsik manufacture. *J. Fd Hyg. Safety*, **26**, 410-416 (2011).
18. Nam, M.J., Heo, R.W., Lee, W.G., Kim, K.Y., Chung, D.Y., Kim, J.S., Shim, W.B. and Chung, D.H.: Microbiological hazard analysis of hot pepper farms for the application of Good Agricultural Practices (GAP) system. *Journal of Agriculture & Life Science*, **45**, 163-173 (2012).
19. Choi, N.J., Bahk, G.J., Ha, S.D., Chung, M.S., Lee, S.H., Hwang, I.G., Park, J.H., Kim, G.H. and Oh, D.H.: Analysis of microbiological contamination levels of cabbage and fresh-cut produce on difference area toward climate in Korea. *J. Fd Hyg. Safety*, **27**, 209-214 (2012).
20. Beuchat, L.R. and Ryu, J.H.: Produce handling and processing practices. *Emerg Infect Dis*, **3**, 459-465 (1997).
21. Beuchat, L.R.: Ecological factors influencing survival and growth of human pathogens on raw fruits and vegetables. *Microbes and infection / Institut Pasteur*, **4**, 413-423 (2002).
22. Islam, M., Doyle, M.P., Phatak, S.C., Millner, P. and Jiang, X.: Persistence of enterohemorrhagic Escherichia coli O157: H7 in soil and on leaf lettuce and parsley grown in fields treated with contaminated manure composts or irrigation water. *J Food Prot*, **67**, 1365-1370 (2004).
23. Niemira, B.A. and Cooke, P.H.: Escherichia coli O157:H7 biofilm formation on Romaine lettuce and spinach leaf surfaces reduces efficacy of irradiation and sodium hypochlorite washes. *J Food Sci*, **75**, M270-277 (2010).
24. Ölmez, H. and Temur, S.D.: Effects of different sanitizing treatments on biofilms and attachment of Escherichia coli and Listeria monocytogenes on green leaf lettuce. *LWT - Food Science and Technology*, **43**, 964-970 (2010).
25. Scharff, R.L.: Health-related costs from foodborne illness in the United States, The produce safety project at Georgetown University, (2010).
26. U.S. Food and Drug Administration (FDA): Bad Bug Book, Foodborne pathogenic microorganisms and natural toxins. 2nd edition, pp. 9-100 (2012).
27. Centers for Disease Control and Prevention (CDC): http://www.cdc.gov/ecoli/general
28. Walsh, K.A., Bennett, S.D., Mahovic, M. and Gould, L.H.: Outbreaks associated with cantaloupe, watermelon, and honeydew in the United States, 1973-2011. *Foodborne Pathog Dis*, **11**, 945-952 (2014).
29. Food standards agency: Health protection agency advisory committee on the microbiological safety of food information paper 'Microbiological status of RTE fruit and vegetables' (2005).
30. Centers for Disease Control and Prevention (CDC): Foodborne outbreak tracking and reporting (available at http://wwwn.cdc.gov/foodborneoutbreaks/Default.aspx (2015).
31. Samadpour, M., Barbour, M.W., Nguyen, T., Cao, T.M., Buck, F., Depavia, G.A., Mazengia, E., Yang, P., Alfi, D., Lopes, M. and Stopforth, J.D.: Incidence of enterohemorrhagic Escherichia coli, Escherichia coli O157, Salmonella, and Listeria monocytogenes in retail fresh ground beef, sprouts, and mushrooms. *J Food Prot*, **69**, 441-443 (2006).
32. Chikthimmah, N., LaBorde, L.F. and Beelman, R.B.: The effect of washing and slicing operations on the survival behavior of Listeria monocytogenes and Salmonella sp in fresh mushrooms during postharvest storage. *Mushroom News*, **9**, 4-13 (2007).
33. Whipps, J.M., Hand, P., Pink, D.A. and Bending, G.D.: Human pathogens and the phyllosphere. *Adv Appl Microbiol.*, **64**, 183-221 (2008).
34. Li, D., Friedrich, L.M., Danyluk, M.D., Harris, L.J. and Schaffner, D.W.: Development and validation of a mathematical model for growth of pathogens in cut melons. *J Food Prot*, **76**, 953-958 (2013).
35. Berrada, H., Soriano, J.M., Picó, Y. and Mañes, J.: Quantification of Listeria monocytogenes in salads by real time quantitative PCR. *Int J Food Microbiol*, **107**, 202-206 (2006).
36. Morris, C.E. and Monier, J.M.: The ecological significance of biofilm formation by plant-associated bacteria. *Annu Rev Phytopathol.*, **41**, 429-453 (2003).