pISSN 1229-1153 / eISSN 2465-9223 *J. Food Hyg. Saf.*
Vol. 32, No. 1, pp. 1~7 (2017)
https://doi.org/10.13103/JFHS.2017.32.1.1

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

재배환경 및 과실 숙도가 오디의 미생물학적 부하량에 미치는 영향

류송희[1] · 윤보현 · 김혜영[2] · 최아현 · 김세리 · 김원일 · 류재기 · 한상현*

농촌진흥청 국립농업과학원 농산물안전성부 유해생물팀
[1]농촌진흥청 국립농업과학원 농산물안전성부 화학물질안전과
[2]전라북도생물산업진흥원 연구개발실 소재연구팀

Effects of Cultivation Environment and Fruit Ripeness on Microbial Load in Mulberry

Song Hee Ryu[1], Bohyun Yun, Hye-Young Kim[2], Ah-Hyun Choi, Se-Ri Kim, Won-Il Kim, Jae-Gee Ryu, and Sanghyun Han*

Microbial Safety Team, Agro-Food Safety & Crop Protection Department, National Institute of Agricultural Sciences (NAS), Rural Development Administration (RDA), Wanju 55365, Republic of Korea
[1]Chemical Safety Division, Agro-Food Safety & Crop Protection Department, NAS, RDA, Wanju 55365, Republic of Korea
[2]Jeonbuk Institute for Bioindustry, Jeonju 54810, Republic of Korea

(Received October 12, 2016/Revised November 9, 2016/Accepted December 12, 2016)

ABSTRACT - This study was conducted to investigate the microbial loads in mulberry fruits depending on cultivation environment and fruit ripeness. The population levels of total aerobic bacteria in mulberry fruits collected from open field orchards were higher than those from three plots protected within plastic green houses. In regards to fruit ripeness, the levels of total aerobic bacteria in ripe black fruits were higher than those in unripe green and red mulberry. From the farms into where livestock animals were allowed to enter, *Escherichia coli* was detected in soil at a level of 4.26~4.94 log CFU/g and in mulberry fruits at 5.03~6.07 log CFU/g, while no coliform and *E. coli* were detected from where the intrusion of livestock was prevented. We also examined the density change of inoculated *E. coli* in mulberry fruits as they were becoming mature. While *E. coli* did not increase in green fruits, two and four log CFU/g increases at 20°C and 37°C, respectively, were observed with red and fully mature black mulberries during 48 hours incubation. To ensure the food safety of mulberry, it is suggested that the introduction of *E. coli* into a farm through livestock should be prevented and more hygienic caution should be taken especially when the fruits are ripe.

Key words : mulberry, cultivation environment, ripeness, microbial load

농산물은 주로 수확후처리 과정에서 비위생적인 작업이나 오염원 노출을 통해 교차오염이 일어나지만[1] 수확전 재배단계에서도 오염된 토양이나 관개용수, 야생동물에 의해 식중독세균 오염이 발생할 수 있는 것으로 알려져 있다[2-5]. 실제로 재배중인 농산물에 오염된 식중독세균의 일부가 최종 유통 및 판매 단계까지 생존하여 대형 식중독 사고로 이어지는 사례가 보고된 바 있어[6] 농산물의 식중독세균 오염에 대한 우려는 그 어느 때보다도 높은 상황이다. 농산물 재배단계의 오염원으로는 주로 축산분뇨나 이를 원료로 한 축분퇴액비, 하수오니 또는 야생동물이 가능성이 높은 것으로 제기된 바 있고[7,8], 축산지역의 토양 유실로 인하여 분원성 오염에 노출된 관개용 농업용수를 통해서도 식물체 오염이 발생될 수 있는 것으로 알려져 있다[9].

재배중인 농산물이 식중독세균에 의해 오염이 되면 식중독세균은 자신들의 생존에 유리한 동물의 장관내 환경이 아닌 식물체 환경에서 여러 가지 다양한 요인에 의해 생존에 영향을 받게 된다. 식물체의 엽권은 온습도 변화의 직접적인 영향뿐만 아니라 UV, 건조 등 다양한 환경요인이 복합적으로 존재하는 생태적 서식처로 이곳에 오염된 식중독세균의 생존은 1차적으로 환경요인에 따라 달라지게 된다[10]. 그러나 실내실험이 아닌 실제 재배단계에서 다양한 환경요인의 총합이 식물체에 오염된 식중독세균에 어떠한 영향을 주는지에 대한 실험결과는 그리 많지

*Correspondence to: Sanghyun Han, Agro-Food Safety & Crop Protection Department, NAS, RDA, Wanju 55365, Republic of Korea
Tel: 82-63-238-3397, Fax: 82-63-238-3840
E-mail: sanghyun.han@korea.kr

않은데 환경요인별 영향을 분석하기가 쉽지 않기 때문이다. Marvasi 등[11]은 토마토 수확기의 날씨가 수확후 토마토에 오염된 *Salmonella* spp.의 생존에 가장 큰 영향을 주는 요인이라고 하면서, 날씨 요인 외에도 토마토 과실의 숙도 및 품종, 접종한 *Salmonella* spp.의 유전자형과 같은 다른 요인과의 상호작용이 있었다고 보고하였다. Reed-Jones 등[12]은 피복작물의 종류가 작물 재배토양의 *Escherichia coli*와 *Listeria innocua*의 개체군 밀도변동에 영향을 주는 요인이었다고 하면서, 이러한 영향도 토양의 종류, 세균의 종류, 접종후 시간, 토양 온도, 강우, 경운 여부에 따라 달라진다고 하였다.

식물체에 오염된 식중독세균이 생존하고 증식하기 위해서는 양분을 공급받아야 한다. 식물은 매우 다양한 종류의 화학물질을 분비하는데[13], 이 중 당과 당알코올은 미생물이 곧바로 이용할 수 있는 탄소 공급원이 된다. Mercier과 Lindow[14]은 식물체 엽권의 미생물 개체군 크기는 glucose, fructose, sucrose와 같은 저분자 당분의 가용량이 결정한다고 하였다. Han과 Micallef[15]은 토마토 과실 표면의 당 및 당알코올의 양과 *Salmonella* spp.의 증식률에 정의 상관관계가 있었다고 보고하였다.

본 연구에서는 최근 기능성 식품으로 각광을 받아 재배면적이 늘어나고 있는[16,17] 오디를 대상으로 재배포장의 비가림 여부와 가축의 출입 여부가 오디의 미생물학적 부하량(microbial load)에 어떤 영향을 주는지 알아보고자 실험을 수행하였다. 오디 생과는 과육이 연하고 수분을 다량 함유하고 있어 미생물이 증식하기 쉽고, 냉동베리에서의 간염A 바이러스 식중독 발생 사건이 보고되고 있어[18,19] 위생관리가 중요한 품목이다. 연구에서 조사한 미생물학적 부하량은 오염의 지표는 될 수 없으나 어떠한 조건이 미생물이 증식하기 좋은 조건인지는 알려줄 수 있으므로 이를 통해 미생물학적으로 오염에 취약한 조건을 판별하여 오염예방을 위한 위생관리지침 개발에 활용하고자 하였다. 또한 오디는 익을수록 당도가 급격히 높아지는 품목이므로 과실 숙도가 미생물학적 부하량에 미치는 영향을 조사하여 안전하고 위생적인 오디 생산을 위한 기초자료를 확보하고자 하였다.

Materials and Methods

재배포장의 비가림 여부와 숙도에 따른 오디의 미생물 부하량 조사

재배포장의 비가림 여부에 따른 미생물 부하량을 조사하기 위하여 오디 주산지역의 하우스재배농가 3농가, 노지재배농가 3농가를 방문하여 숙기별로 총 세차례에 걸쳐 오디를 수집하였다. 실험에 사용할 오디는 멸균팩에 200 g씩 채취하였다.

채취한 시료에 대해서는 위생지표세균 (총호기성 세균, 대장균군, 대장균)을 분석하였다. 총호기성세균과 대장균군은 정량분석하였고, 대장균(*E. coli*)에 대해서는 정량분석뿐만 아니라 정성분석도 실시하였다. 위생지표세균의 정량분석을 위하여 시료 25 g을 취하여 0.1% peptone water (PW) 225 mL와 혼합하고 stomacher (Bagmixer 400VW, Interscience®, Paris, France)에서 2분간 균질화시켰다. 그 중 1 mL을 취하여 9 mL의 멸균된 0.1% PW에 10배 단계희석한 다음, 총 호기성세균은 Petrifilm aerobic count plate (3M, USA), 대장균군은 Petrifilm *E. coli*/coliform plate (3M, USA)에 1 ml씩 분주한 후 37ºC에서 24시간 배양하여 계수하였다. 대장균의 정성분석은 buffered peptone water (BPW)에서 증균한 시료 1 mL를 *Escherichia coli* broth (EC broth) 10 mL에 접종하여 42ºC에서 24시간 증균 배양한 후 가스가 포집된 것을 eosin methylene blue agar (EMB agar)에서 분리배양한 후 녹색의 광택을 띄는 집락을 선택하여 tryptic soy agar (TSA)에 streaking하고 37ºC에서 24시간 배양 후 VITEK (VITEK-2 compact, Biomerieux, France)을 이용하여 동정하였다.

토양의 미생물 오염여부에 따른 오디의 미생물 부하량 조사

가축출입여부에 따른 오디의 미생물 오염 가능성을 조사하기 위하여 가축출입이 없는 구역과 가축출입이 있는 구역으로 나누어져 있는 한 농가를 별도로 방문하여 시료를 수집하였다. 가축의 출입이 없는 구역은 일반적인 노지재배방식으로 오디를 재배하는 농장이었고, 가축의 출입이 있는 오디나무 밑에 닭을 키우고 있었으며, 바로 옆에 있는 염소 축사에서 염소의 출입이 가능한 구역이었다. 각각의 구역에서 토양과 오디를 약 200 g씩 멸균백에 채취하였다. 채취한 시료의 미생물 분석은 앞서 재배포장의 비가림여부와 숙도에 따른 오디의 미생물 부하량 조사에서와 같은 방법으로 하였다.

숙도별 오디의 대장균 밀도 변화

사용 균주

본 연구를 위하여 사용한 균주는 *Escherichia coli* (KACC 11930)를 사용하였다. 시료 중 존재하는 background microflora의 생육을 억제하고자 대상균주를 rifampicin 저항성 유도하여 사용하였다. Rifampicin 저항성 유도방법은 Kim 등[20]의 방법과 같다. 배양된 균은 4,000 rpm, 10분간 원심분리 후 phosphate buffer pH 7.0에 시험균을 현탁하였다. 이후 생균수가 7.0~8.0 log CFU/mL이 되도록 희석하여 본 연구에 사용하였다.

대장균 접종

숙도에 따른 대장균 밀도변화를 분석하기 위하여 농가에서 수집한 초록색 (미숙과), 빨간색, 검은색 (완숙과) 오디시료를 사용하였다. 균액을 오디의 각 시료 5 g에 균일

하게 접종하여 접종농도가 1.0~2.0 log CFU/mL 수준이 되게 하였다. 대장균이 접종된 오디를 5~6월의 평균온도인 20°C와 대장균의 증식 최적온도인 37°C에 보관하면서 접종 후 0, 12, 24, 30, 48시간의 대장균 밀도 변화를 50 μg/ml rifampicin을 첨가한 tryptic soy agar (TSA-R)에 도말하여 3회 반복확인하였다.

이화학적 특성 분석

오디는 숙도에 따라 당도와 pH, 총산도, 수분활성도가 변화하는데 이러한 이화학적 특성 변화가 오디에서 미생물이 증식하는데 영향을 미칠 가능성이 높다. 따라서 오디에서 미생물 증식에 관여하는 이화학적 특성 (당도, pH, 총산도, 수분활성도)을 조사하였다. 이화학적 특성 조사를 위하여 오디는 착즙기(Juice Maker, FruX80, Seoul, Korea)를 이용하여 오디즙 형태로 조제하였다. 당도는 오디즙을 당도계(PAL-3, ATAGO, Tokyo, Japan)로 측정하였으며, pH는 pH meter (ORION STAR A211, Thermo, Waltham, MA, USA)를 이용하여 측정하였다. 총산도는 오디즙을 증류수로 5배 희석한 다음 0.01 N NaOH로 pH 8.2가 될 때까지 적정한 후 소요된 0.01 N NaOH의 양을 citric acid 함량(%)으로 환산하여 나타내었다. 수분활성도는 오디 3 g을 수분계(LabMaster aw advanced, novasina, Pfäffikon, Switzerland)를 이용하여 측정하였다. 당도, pH, 총산, 수분활성도는 모두 3번 반복 측정한 평균값으로 나타내었다.

통계분석

통계분석은 SAS 9.2 소프트웨어(SAS Institute Inc., Cary, NC, USA)를 이용하였다. 재배형태와 숙도에 따른 총 호기성세균 수는 요인분석(Two-factor factorial, two-way ANOVA)법으로 분석한 뒤 각 측정군 간의 차이 유무를 tukey's multiple range test를 이용하여 $P < 0.05$ 수준에서 유의성을 검정하였다. 가축출입여부에 따른 토양 및 오디의 총 호기성세균 수는 t-test법으로 각 측정군 간의 차이를 비교하였다. 숙도별 오디의 대장균 밀도변화와 숙도별 오디의 이화학적 특성에서 각 측정군 간의 차이 유무는 일원배치분산분석(one-way ANOVA)법으로 분석한 뒤 tukey's multiple range test를 이용하여 $P < 0.05$ 수준에서 유의성을 검정하였다.

Results and Discussion

재배형태와 숙도에 따른 오디의 미생물 부하량 조사

오디의 재배형태와 숙도에 따라 미생물 부하량에 영향이 있는지를 알아보기 위하여 숙도별 오디 (초록색 오디, 빨간색 오디, 검은색 오디) 시료를 각각 하우스 재배와 노지재배로 나누어 수집한 후 각각의 위생지표세균 수를 조사하였다. 오디의 총 호기성 일반세균의 수를 요인분석한 결과, 재배형태와 숙도의 상호작용은 없지만 재배형태와 숙도가 각각 오디의 총 호기성세균의 수에 영향을 미치는 것으로 확인되었다.

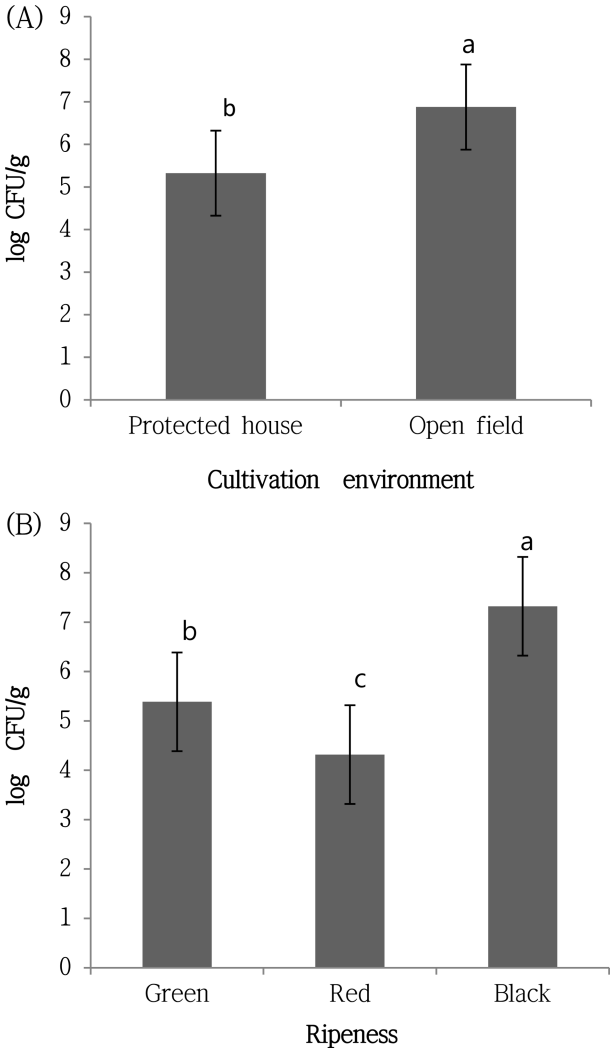

Fig. 1. The number of total aerobic bacteria in mulberry fruits affected by cultivation environment (A) and fruit ripeness (B). Values are mean of samples collected from six farms. Means with different letters are significantly different ($p < 0.05$).

재배형태에 따라 오디의 총 호기성세균 수를 조사한 결과 하우스에서 재배한 오디에서는 평균 5.32 log CFU/g, 노지에서 재배한 오디에서는 평균 6.88 log CFU/g이 검출되어 하우스재배에 비해 노지재배에서 총 호기성세균의 수가 유의적으로 높은 것을 알 수 있다($p < 0.05$, Fig. 1A). 이는 Lee 등[21]의 연구에서 총 호기성세균이 하우스재배에서 5.27~6.70 log CFU/g, 노지재배에서 7.28~7.98 log CFU/g 수준으로 검출되어 하우스재배에 비해 노지재배에서 유의적으로($P < 0.05$) 높은 수준으로 검출된 결과와 유사하게 나타났다. 노지 재배의 경우 하우스 재배에 비해 비, 바람, 먼지 등 외부 오염원에 노출되기 쉽기 때문으로 생각된다.

Table 1. The number of coliform and incidence of *E. coli* in mulberry fruit affected by cultivation environment and fruit ripeness

Sample		Log CFU ± S.D. / g	Frequency of detection
Ripeness	Cultivation Environment	Coliform	*E. coli*
Green	Protected house	ND [1)]	1/9 [4)]
	Open field	ND	2/9
Red	Protected house	ND	0/9
	Open field	- [2)]	-
Black	Protected house	1.63 ± 2.82 [3)]	1/9
	Open field	ND	4/9

[1)]ND : Not detected.
[2)]- : Not tested.
[3)]Values are expressed as Log CFU per gram ± standard deviation; values are the average of samples from three farms.
[4)]Confirmed positive samples/Total samples

숙도에 따라 오디의 총 호기성세균 수를 조사한 결과 초록색 오디에서 평균 5.39 log CFU/g, 빨간색 오디에서 평균 4.32 log CFU/g, 검은색 오디에서 평균 7.32 log CFU/g이 검출되었다. 빨간색 오디에서 초록색 오디보다 총 호기성세균의 수가 낮은 것은 초록색오디와 검은색 오디와는 달리 빨간색 오디 시료는 하우스재배에서 얻은 시료만이 분석되었기 때문이라고 판단된다. 통계분석 결과 초록색 오디와 빨간색 오디에 비해 검은색 오디에서 총 호기성세균의 수가 유의적으로 높았다($p < 0.05$, Fig. 1B).

대장균 조사 결과 초록색 오디의 경우 9점의 시료 중 하우스 재배에서 1점, 노지재배에서 2점이 검출되었고, 검은색 오디의 경우 9점의 시료 중 각각 1점, 4점의 시료에서 검출되어 총 호기성세균과 유사한 경향을 보였다(Table 1).

토양의 미생물 오염여부에 따른 오디의 미생물 부하량 조사

축산분뇨는 다양한 병원성 미생물을 포함하고 있어 농산물 오염의 주된 원인이 될 수 있다[22,23]. 따라서 노지재배에서 외부환경에 오염원이 있을 경우 오디의 미생물 부하량에 미치는 영향을 조사하기 위하여 가축출입이 없는 구역과 가축출입이 있는 구역의 토양과 오디 시료의 미생물 부하량을 조사하였다.

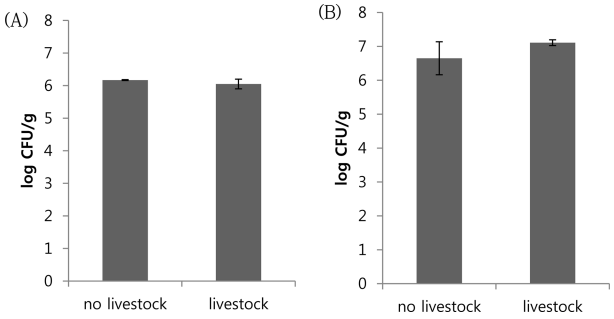

Fig. 2. The number of total aerobic bacteria in soli (A) and mulberry fruits (B) detected from where livestock animal could enter in comparison with where the access of animal was prevented. Values are mean of triplicate experiments. Significant values are expressed by t-test (*$p < 0.05$).

총 호기성 일반세균수를 분석한 결과, 토양시료의 경우 가축 출입이 없는 구역에서 평균 6.17 log CFU/g, 가축 출입이 있는 구역에서 평균 6.05 log CFU/g이 검출되었으며 오디시료의 경우 가축 출입이 없는 구역에서 평균 6.65 log CFU/g, 가축 출입이 있는 구역에서는 7.11 log CFU/g가 검출되었다. 토양시료와 오디시료에서 모두 가축출입여부에 따른 총 호기성세균의 수는 유의적인 차이가 없었다(Fig. 2). 따라서 총 호기성세균의 경우 가축출입 여부에 따라 토양과 오디의 오염에 미치는 영향은 없는 것으로 보인다.

대장균군과 대장균을 분석한 결과, 토양시료의 경우 가축출입이 없는 구역에서는 검출되지 않은 반면에 가축 출입이 있는 구역에서는 대장균군이 평균 4.80 log CFU/g, 대장균이 4.63 log CFU/g 수준으로 검출되었다(Table 2). 식중독을 일으키는 병원성 미생물은 장내세균이지만 외부로 노출되었을 때 생존할 수 있으며[24], *E. coli* O157:H7이 25ºC 토양에서 최소 8주 동안 생존할 수 있는 것으로 보아[25] 토양 시료에서 검출된 대장균군 및 대장균이 가축의 분변에 의해 오염되었을 가능성이 있다.

오디 시료의 경우도 가축출입이 없는 구역에서는 대장균군과 대장균 모두 검출되지 않았으나 가축 출입이 있는

Table 2. Microbiological analysis of soil, mulberry cultivated under livestock accessed condition and not accessed condition

Samples	Sampling conditions	Log CFU ± S.D. / g		Frequency of detection
		Coliform	*E. coli*	*E. coli*
Soil	no livestock	ND [1)]	ND	1/3 [3)]
	livestock	4.80 ± 0.26 [2)]	4.63 ± 0.35	2/3
Mulberry	no livestock	ND	ND	0/3
	livestock	5.88 ± 0.56	5.69 ± 0.57	3/3

[1)]ND : Not detected.
[2)]Values are expressed as Log CFU per gram ± standard deviation; values are the average of samples from each sampling sites.
[3)]Confirmed positive samples per total samples.

농가에서는 대장균군이 평균 5.88 log CFU/g, 대장균이 평균 5.69 log CFU/g 수준으로 검출되었다(Table 2). Solomon 등[26]은 *E. coli* O157:H7이 오염된 퇴비를 토양에 시용하고 상추를 이식했을 때 상추 잎에서도 *E. coli* O157:H7이 발견되었다고 보고하였다. 또한 Oliveria 등[27]은 *L. innocua*로 오염된 토양에 이식한 상추에서도 *L. innocua*가 발견되어 토양 중 유해미생물이 작물로 이행될 수 있음을 확인하였다. 이를 통해 오디의 대장균 오염이 토양에서 유래되었을 가능성이 있다고 추정되며, 오디 수확을 목적으로 뽕나무를 재배할 때에는 농장 내에 가축 출입을 제한하고 토양이 오염되지 않도록 관리해야 할 필요가 있다.

오디의 숙도에 따른 대장균의 밀도 변화

숙도가 증가할수록 오디의 미생물 오염도가 높아지는지를 분석하기 위해 숙도별 오디 (초록색, 빨간색, 검은색 오디)에 각각 대장균을 접종하여 시간의 흐름에 따른 대장균의 밀도변화를 조사하였다.

접종 후 20°C에서 배양한 결과, 초록색 오디 시료는 접종 시 평균 1.48 log CFU/g 수준에서 48시간 후에도 평균 0.70 log CFU/g 수준으로 거의 증가하지 않은 것을 관찰할 수 있었고, 빨간색 오디의 경우 초기 접종 농도 평균 1.60 log CFU/g에서 48시간 이후 3.87 log CFU/g로 약 2.27 log CFU/g 증가하였다. 또한 검은색 오디의 경우 초기농도 평균 2.45 log CFU/g에서 48시간 이후 4.31 log CFU/g로 1.86 log CFU/g 증가하였다. 시간대별로 접종 시에는 평균 1.84 log CFU/g 수준에서 유사하게 접종되었으나 접종 후 12시간 후에는 초록색오디에 비해 빨간색오디와 검은색 오디의 대장균 밀도가 유의적으로 높게 나타났다($p < 0.05$).

접종 후 37°C에서 배양하여 분석한 결과 초록색은 20°C에서와 마찬가지로 2.03 log CFU/g에서 1.33 log CFU/g로 거의 증가하지 않았으나 빨간색 오디는 30시간 이후부터 급격히 증가하여 접종 후 48시간에는 6.46 log CFU/g로 증가하였다. 검은색 오디는 24시간 내에 6.43 log CFU/g까지 급격히 증가한 후 접종 후 48시간까지는 6.79 log CFU/g로 유지되는 곡선을 관찰할 수 있었다. 시간대별로 접종 직후에는 숙도에 따른 차이가 없었으나 접종 후 12시간부터 초록색오디와 빨간색 오디에 비해 검은색 오디가 대장균 밀도가 유의적으로 높았으며 접종 후 48시간 후에는 빨간색 오디도 초록색오디에 비해 대장균 밀도가 유의적으로 높아지는 것을 확인하였다($p < 0.05$, Fig. 3).

이를 통해 초록색 오디에 대장균이 오염되었을 경우에는 그 수는 시간이 지나도 거의 증식하지 않지만, 빨간색에서 검은색으로 익어갈수록 대장균이 증식할 수 있다는 것을 볼 수 있었고, 특히 대장균의 최적온도인 37°C에서는 약 4 log CFU/g까지 증가할 수 있는 것으로 보여진다. Park 등[28]에서도 숙도 80% 오디의 생균수가 숙도 90% 및 100% 오디에 비해 유의적으로 낮았고, 숙도 80% 오디의 곰팡이 수가 숙도 100% 오디에 비해 유의적으로 낮은 결과가 나타나 숙도가 증가할수록 미생물 오염도가 증가할 수 있는 것으로 보인다.

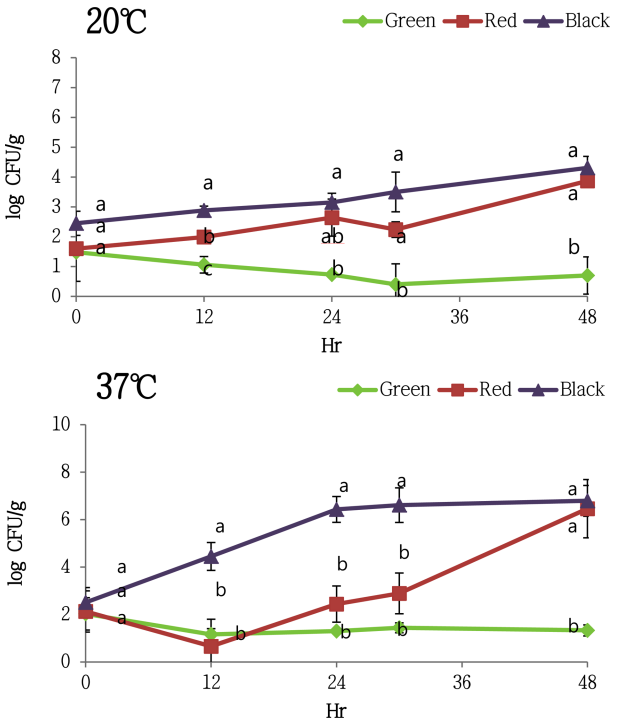

Fig. 3. Changes of inoculated *E. coli* density following mulberry during storage at 20°C and 37°C for 48 hours. Means with different letter are significantly different among same hour ($p < 0.05$).

Table 3. Soluble solids, pH, total acidity, water activity of mulberry depending on degree of maturity

	Green	Red	Black
Soluble solids (°Brix)	5.58 ± 0.46^{b}	7.49 ± 1.08^{b}	15.88 ± 3.29^{a}
pH	4.21 ± 0.36^{b}	3.60 ± 0.08^{c}	4.95 ± 0.62^{a}
Total acidity (%)	1.03 ± 0.44^{a}	0.62 ± 0.44^{ab}	0.42 ± 0.19^{b}
Water activity	0.984 ± 0.008^{a}	0.983 ± 0.006^{a}	0.973 ± 0.004^{b}

Values are the mean ± standard deviation of triplicate experiments. Means with different letter in the same horizontal line are significantly different ($p < 0.05$).

오디의 숙도에 따른 이화학적 특성 변화

숙도별 오디 (초록색, 빨간색, 검은색 오디)의 당도, pH, 산도, 수분활성도 등을 분석한 결과, pH는 숙도에 따라 경향을 보이지 않았으며 총산도는 오디가 익을수록 점점 감소하는 것을 볼 수 있었다. 수분활성도는 미숙과인 초록색 오디와 빨간색 오디에 비해 검은색 오디에서 유의적으로 낮았고, 당도는 초록색에서 5.58 °Brix에서 검은색 15.88 °Brix까지 크게 증가하는 것을 관찰할 수 있었다(Table 3).

따라서 초록색 오디보다 검은색 오디에서 대장균이 급속히 증식하는 가장 큰 원인은 높은 당도 때문인 것으로 생각된다. 따라서 오디가 익어가는 도중에 대장균에 오염될 경우 증식할 수 있으므로 오디가 유해 미생물에 오염되지 않도록 사전에 예방하는 것이 중요하다.

Acknowledgement

본 연구는 농촌진흥청 국립농업과학원 농업과학기술 연구개발사업(과제번호: PJ010005)의 지원에 의해 이루어진 것이며, 이에 감사드립니다.

국문요약

본 연구는 안전하고 위생적인 오디 생산을 위한 기초자료를 확보하고자 수행하였다. 오디 재배 농가 6개소를 방문하여 숙도별 오디 시료를 재배형태에 따라 수집하여 미생물 부하량을 분석하였다. 오디의 총 호기성 일반세균수를 요인분석한 결과 재배형태와 숙도의 상호작용은 없었고, 재배형태와 숙도가 각각 총 호기성세균 수에 영향을 미치는 것으로 확인되었다. 재배형태에 따라서는 하우스 재배 오디에서 평균 5.32 log CFU/g, 노지 재배 오디에서 평균 6.88 log CFU/g이 검출되어 하우스 재배에 비해 노지 재배에서 총 호기성세균의 수가 유의적으로 높은 것을 알 수 있었다. 숙도에 따라서는 초록색 오디에서 5.39 log CFU/g, 빨간색 오디에서 평균 4.32 log CFU/g, 검은색 오디에서 평균 7.32 log CFU/g로 검출되어 초록색 오디와 빨간색 오디에 비해 검은색 오디에서 총 호기성세균의 수가 유의적으로 높게 나타났다.

노지재배에서 외부환경에 오염원이 있을 경우 오디의 미생물 부하량에 미치는 영향을 조사하기 위하여 가축출입이 없는 구역과 가축출입이 있는 구역의 토양과 오디 시료의 위생지표세균 수를 조사하였다. 가축출입이 없는 구역에서는 대장균군 및 대장균이 검출되지 않았으나 가축출입이 있는 구역의 경우 대장균이 토양에서 4.26~4.94 log CFU/g, 오디에서 5.03~6.07 log CFU/g 수준으로 검출되었다. 뽕나무 밑에 닭을 키우거나 염소가 출입할 경우 가축분변에 의해 토양이 오염될 수 있고, 오염된 토양과의 접촉을 통해 오디에도 미생물이 오염될 가능성이 있다고 보인다. 따라서 생과용 오디 생산을 목적으로 뽕나무를 재배할 경우에는 농장 내에 가축 출입을 제한하고 토양이 오염되지 않도록 관리할 필요가 있다.

숙도가 증가할수록 오디의 미생물 오염도가 높아지는지를 분석하기 위해 숙도별 오디 (초록색, 빨간색, 검은색 오디)에 각각 대장균을 접종하여 시간의 흐름에 따른 대장균의 밀도변화를 조사하였다. 초록색 오디는 두 온도에서 모두 대장균이 증식하지 않았지만, 빨간색 오디와 검은색 오디 시료에서는 20°C 약 2 log CFU/g, 37°C 약 4 log CFU/g 증가하였고, 빨간색 오디보다 검은색 오디에서 더 빠른 시간 내에 증가하는 것을 볼 수 있었다. 따라서 오디 열매가 익어갈수록 당도가 높아져 대장균이 증식하기 쉬우므로 오디가 유해 미생물에 오염되지 않도록 사전에 예방하는 것이 중요하다.

Referances

1. Beuchat, L.R.: Pathogenic microorganisms associated with fresh produce. *J. Food Prot.*, **59**, 204-216 (1996).
2. Santamaria, J., Toranzos, G.A.: Enteric pathogens and soil: a short review. *Int. Microbiol.*, **6**, 5-9 (2003).
3. 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).
4. Weis J, Seeliger H.P.R.: Incidence of *Listeria monocytogenes* in nature. *Appl. Microbiol.*, **30**, 29-32 (1975).
5. Barak, J.D., Liang, A.S.: Role of soil, crop debris, and a plant pathogen in *Salmonella enterica* contamination of tomato plants. *PloS One*, **3**, e1657 (2008).
6. CDC: Update on Multi-State Outbreak of *E.coli* O157:H7 Infections From Fresh Spinach, October 6, 2006. Available from: http://www.cdc.gov/ecoli/2006/september/updates/100606.htm. Accessed November **15**, 2016 (2006).
7. Food and Drug Administration: Analysis and evaluation of preventive control measures for the control and reduction/elimination of microbial hazards on fresh and fresh-cut produce. Available at http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/SafePracticesforFoodProcesses/ucm090977.htm. Accessed November 15, 2016 (2001).
8. Beuchat, L.R.: Vectors and conditions for preharvest contamination of fruits and vegetables with pathogens capable of causing enteric diseases. *BFJ*, **108**, 38-53 (2006).
9. Steele, M., Odumeru, J.: Irrigation water as source of foodborne pathogens on fruit and vegetables. *J. Food Prot*., **67**, 2839-2849 (2004).
10. Lindow, S.E., Brandl, M.T.: Microbiology of the phyllosphere. *Appl. Environ. Microbiol.*, **69**, 1875-1883 (2003).
11. Marvasi, M., Hochmuth, G.J., Giurcanu, M.C., George, A.S., Noel, J.T., Bartz, J., Teplitski, M.: Factors that affect proliferation of *Salmonella* in tomatoes post-harvest: the roles of seasonal effects, irrigation regime, crop and pathogen genotype. *PloS one*, **8**, e80871 (2013).
12. Reed-Jones, N.L., Marine, S.C., Everts, K.L., Micallef, S.A.: Effects of Cover Crop Species and Season on Population Dynamics of *Escherichia coli* and *Listeria innocua* in Soil. *Appl. Environ. Microbiol.*, **82**, 1767-1777 (2016).
13. Bais, H.P., Weir, T.L., Perry, L.G., Gilroy, S., Vivanco, J.M.: The role of root exudates in rhizosphere interactions with plants and other organisms. *Annu. Rev. Plant Biol.*, **57**, 233-266 (2006).
14. Mercier, J., Lindow, S.E.: Role of leaf surface sugars in colonization of plants by bacterial epiphytes. *Appl. Environ.*

Microbiol., **66**, 369-374 (2000).
15. Han, S., Micallef, S.A.: Environmental Metabolomics of the Tomato Plant Surface Provides Insights on *Salmonella enterica* Colonization. *Appl. Environ. Microbiol.*, **82**, 3131-3142 (2016).
16. Statistical Data of Sericultural Industry, Ministry for Food, Agriculture, Forestry, and Fisheries, Seoul, Korea. Seed and Life Industry Division (2011).
17. Ministry of Agriculture, Food and Rural Affairs. 2013년 기능성 양잠산업현황 조사 결과 (2014).
18. CBC news: Costco berry recall and hepatitis A - What you need to know. Available from: http://www.cbc.ca/news/health/costco-berry-recall-what-you-need-to-know-1.3553237. Accessed November 15, 2016 (2016).
19. Food Safety Authority of Ireland: Berries-Hepatitis A Virus linked to Imported Frozen Berries. Available from: https://www.fsai.ie/faqs/berries_hepatitis_a.html. Accessed November 15, 2016 (2014).
20. Kim, S.R., Lee, S.H., Kim, W.I., Kim, B.S., Kim, J.H., Chung, D.H, Yun, J.C. Ryu, K.Y.: Effect of Medium, Soil, and Irrigation Water Contaminated with *Escherichia coli* and *Bacillus cereus* on the Microbiological Safety of Lettuce., *Kor. J. Hort. Sci. Technol.,* **30**, 442-448 (2012).
21. Lee, J.Y., Hwang, I.G., Kim, H.Y., Yoo, S.M. Park, J.T.: Quality Characteristics of Mulberry Cultivated under Greenhouse and Open Field Conditions. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **43**, 1964~1968 (2014).
22. Turner, C.: The thermal inactivation of *E. coli* in straw and pig manure. *Bioresour. Tech.*, **84**, 57-61 (2002).
23. Beuchat, L.R.: Pathogenic microorganisms associated with fresh produce. *J. Food Prot.*, **59**, 204-216 (1996).
24. Unc, A., Goss, M.J.: Transport of bacteria from manure and protection of water resources. *Appl. Soil. Ecol.*, **25**, 1-18 (2004).
25. Kudva, I.T., Blanch, K., Hovde, C.J.: Analysis of *Escherichia coli* O157:H7 survival in ovine or bovine manure and manure slurry. *Appl. Environ. Microbiol.*, **64**, 3166-3174 (1998).
26. Solomon, E.B., Yaron, S., Matthews, K.R.: Transmission of *Escherichia coli* O157:H7 from contaminated manure and irrigation water to lettuce plant tissue and its subsequent internalization. *Appl. Environ. Microbiol.*, **68**, 397-400 (2002).
27. Oliveira, M., Usall, J., Vinas, I., Solsona, C., Abadias, M.: Transfer of *Listeria innocua* from contaminated compost and irrigation water to lettuce leaves. *Food Microbiol.*, **28**, 590-596 (2011).
28. Park, J.H., Hong, S.I., Jeong, M.C. Kim, D.M.: Quality characteristics and changes in mulberry (*Morus alba L.*) depending on their maturity during distribution. *Korean J. Food Presev.*, **20**, 304-316 (2013).