pISSN 1229-1153 *J. Food Hyg. Saf.*
Vol. 30, No. 3, pp. 249~257 (2015)
http://dx.doi.org/10.13103/JFHS.2015.30.3.249

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

영양부추 생산농가의 소규모 수확후 처리시설 적용과 위생교육에 따른 미생물학적 안전성 향상 효과

김세리*† · 김진배[1†] · 이효섭 · 이은선 · 김원일 · 류송희 · 하지형 · 김황용 · 류재기
농촌진흥청 국립농업과학원 농산물안전성부 유해생물팀, [1]농촌진흥청 국립농업과학원 기술지원팀

Effects of Small Scale Post-Harvest Facility and Hygiene Education on the Level of Microbial Safety in Korean Leeks Production

Se-Ri Kim*†, Jin-Bae Kim[1†], Hyo-Sup Lee, Eun-Sun Lee, Won-Il Kim, Song-Hee Ryu, Jihyung Ha, Hwang-Yong Kim, and Jae-Gee Ryu
Microbial Safety Team, Agro-Food Safety & Crop Protection Department, NAAS, RDA,
[1]Technology Services Team, NAAS, RDA
(Received May 31, 2015/Revised June 21, 2015/Accepted August 18, 2015)

ABSTRACT - The purposes of this study were to develop a small scale post-harvest facility, and consequently to evaluate the effects of applying the facility along with hygiene education on the level of microbial safety in Korean leeks production. A total of 135 samples were collected at three Korean leeks farms in Yangju, Gyeonggi province. Food safety indicators (Aerobic plate count (APC), coliform count, and *Escherichia coli*) and foodborne pathogens (*E. coli* O157:H7, *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, and *Bacillus cereus*) on/in the samples were assessed. The microbial load measured as APC with harvesting tools such as comb, chopping board, and knife, at the farms where the small scale post-harvest facility had been operated (Farms A and B) was lower than that at another farm having no post-harvest facility (Farm C) by 1.44~2.33 log CFU / 100 cm^2. Moreover, the chopping board from Farm C was observed being contaminated with *B. cereus* at 6.03 log CFU / 100 cm^2. The coliform counts from the samples increased by 0.57~1.89 log CFU/g after leeks was submerged in ground water for washing. *E. coli* was recovered from leeks, soil, and the ground water used in the washing process, while no *E. coli* O157:H7, *Salmonella* spp., and *L. monocytogenes* was detected. Our results indicated that the small scale post-harvest facility developed in this study as well as the hygiene education played an important role in enhancing the level of microbial food safety in the leeks production environment. However, a disinfection technique could be needed during the washing step in order to prevent a potential contamination.

Key words: Korean leeks, microorganisms, small scale post harvest facility

신선 채소는 인간에게 비타민, 미량원소 및 섬유소를 공급하는 중요한 농산물이다. 하지만 최근 들어 신선채소에 의한 식중독 사고가 잇따르면서, 신선채소의 안전성에 대해서 우려하는 소비자가 늘어나고 있다. 신선채소 중에서도 엽채류는 표면적이 넓고 생산 과정 중 토양, 농업용수, 작업자 손 등 주변 환경과 접촉빈도가 높아 미생물에 오염되기 쉬운 작물이다. 1996년부터 2008년까지 미국에서 발생한 식중독 가운데 농산물과 관련된 식중독이 82건 이었으며 그 중 엽채류와 관련된 사고는 28건 이었다[2]. 엽채류에 의한 식중독사고의 예로는 2006년에 *Escherichia coli* O157:H7 (*E. coli* O157:H7)에 오염된 시금치가 원인이 되어 발생한 식중독 사고를 들 수 있으며 이 사고로 205명의 환자가 발생하였고 3명이 사망하였다[3]. 그 외에도 영국에서 발생한 *Salmonella* Thompson에 오염된 상추로 인한 식중독과 덴마크에서 발생한 *Salmonella* Anatum에 의해 오염된 바질에 의한 식중독 등이 있다[4]. 아직까지는 국내에서 엽채류가 직접적인 원인이 되어 발생한 식중

†These authors contribute equally to this work
*Correspondence to: Se-Ri Kim, Microbial Safety Team, Agro-Food Safety & Crop Protection Department, National Academy of Agricultural Science, Rural Development Administration, 166, Nongsaengmyeong-ro, Iseo-myeon, Wanju-gun, Jeollabuk-do 565-851, Republic of Korea
Tel: 82-63-238-3395, Fax: 82-63-238-3840
E-mail: seri81@korea.kr

독 사례는 보고된 바는 없다. 하지만 국내 농산물 중 식중독균 모니터링 자료에 따르면 지속적으로 *E. coli*, *Salmonella* spp., *S. aureus*, *C. perfringens*와 같은 식중독균이 검출되고 있어 국내 엽채류도 식중독으로부터 안전하다고는 할 수 없는 실정이다[5-7].

특히 부추는 일반세균수 1.6×10^7 CFU/g, 대장균군 9.8×10^6 CFU/g으로 타 농산물에 비하여 높게 검출되고 있으며 식중독 세균인 *C. perfringens* (23.1%)와 *E. coli* (7.7%)도 검출되고 있어 각별한 관리가 필요한 농산물이다[7]. 또한 부추를 겉절이 등 생식으로 이용할 경우에는 식중독균을 사멸시키거나 또는 그 수를 감소시키는 과정을 거치지 않기 때문에 생산~유통단계에 발생할 수 있는 위해요소를 분석하고 사전 관리하는 것이 식중독사고의 위험을 감소시킬 수 있는 최선의 방법이다[8,9].

최근 미생물 등 위해요소를 관리하기 위한 노력의 일환으로 식품의 원료가 되는 농축산물을 안전하고 위생적으로 공급할 수 있도록 농산물의 생산부터 수확 후 포장단계까지 농산물에 잔류할 수 있는 농약중금속 또는 미생물 등의 위해요소를 사전에 관리하여 안전성을 확보하는 제도인 Good Agricultural Practices (GAP)제도 도입을 권장하고 있다[10].

GAP 제도를 시행하는데 가장 농업인들이 어려워하는 부분이 바로 수확 후 관리 부분이다. 2012년 7월 이전까지는 GAP 농산물은 농산물우수관리인증을 받은 수확후처리시설을 경유하도록 농산물품질관리법에 명시되었다[11]. 하지만 농산물우수관리인증을 받은 쌀을 제외한 신선 농산물을 취급하는 수확후처리시설은 전국에 511개소로 지역별로는 2~3개소 설치되어 있거나 시설조차 없는 지역도 많다[12]. 특히 엽채류는 수확후 2~3시간 내에 예냉처리를 하지 않으면 신선도가 떨어지는 문제가 있기 때문에 이들 농산물을 생산하는 농가가 먼 거리에 위치한 수확후 처리시설을 활용하는 것은 큰 어려움이 있다[1]. 이러한 현실적인 어려움을 해소하기 위해서는 수확 직후에 농가인근에서 예냉, 세척, 포장할 수 있는 위생사항이 구비된 소규모 수확후 처리시설이 필요하다. 이에 정부는 2012년 7월부터 위생과 신선도를 향상시킬 수 있는 소규모 수확후 처리시설의 필요성을 인식하고 소규모 수확후 처리시설 인증기준을 마련하여 농산물관리법에 고시하였다[13]. 따라서 위생적인 수확후처리를 통하여 안전한 농산물 생산을 유도하기 위하여 엽채류 중 미생물 오염도가 높고 식중독균 검출 빈도가 높은 영양부추를 대상으로 수확후 처리시설 모델을 개발하였다. 또한 개발된 모델과 위생교육이 미생물 안전에 미치는 효과를 검증하고자 현장에서 실증연구를 수행하였으며 그 결과를 보고하고자 한다.

Materials and Methods

소규모 수확후 처리시설 모델 개발 및 적용

본 연구는 영양부추를 대상으로 소규모 수확후 처리시설 모델을 개발하였다. 수확후 처리시설은 저온창고가 수확후 처리시설 내부에 있는 I type과 수확후 처리시설이 외부에 있는 II type으로 두 가지 모델을 개발하였다(Fig. 1). 수확후처리시설은 폭 3 m, 길이 6 m의 컨테이너 박스를 활용하였으며 내부는 유해미생물 차단을 위하여 작업공간을 오염구역과 청결구역으로 구분하였다. 또한 방충망과 에어커튼을 설치하여 곤충이 유입되는 것을 차단하였고 개인위생을 향상시키기 위하여 손세척 시설을 설치하였다. 영양부추 및 농산물의 신선도 향상을 위하여 예냉시설, 저온보관 시설도 설치하였다. 개발된 수확후 처리시설을 적용하기 위하여 2013년 8월부터 12월까지 경기도 양주지역 영양부추농가 두 곳(A, B농가)을 선정하여 A농가는 수확후처리시설 I type, B농가는 II type을 각각 설치하였다. 수확후 처리시설 설치 농가를 대상으로 2회에 걸쳐 손 씻기, 작업장청소, 작업도구 세척 등 위생관리 방법을 교육하였다. 대조구(C농가)로 위생관리가 이루어지고 있지 않은 일반 영양부추 농가를 선정하여 그 효과를 비교하였다.

시료 채취

미생물 검사를 통하여 수확후 처리시설 설치와 위생가이드 실천이 영양부추의 미생물 안전성 향상에 미치는 효과를 검증하였다. 수확후 처리시설 설치농가 2곳과 비설치 농가 1곳을 대상으로 2013년 10월에 미생물 오염도를 측정하였다. 영양부추의 생산과정은 Fig. 2와 같으며 영양

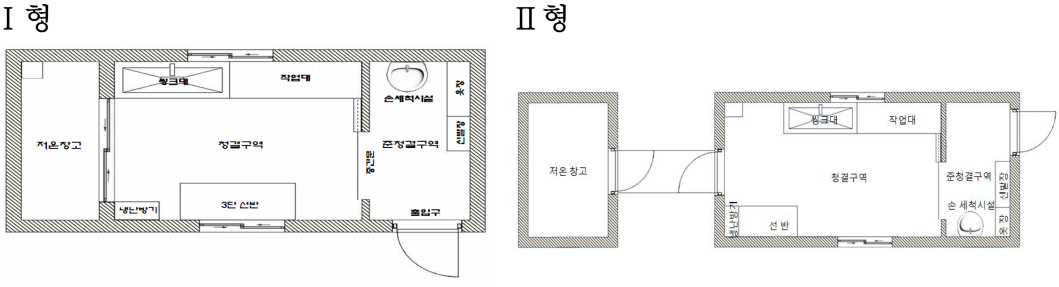

Fig. 1. Models for small scale post harvest facility for korean leeks.

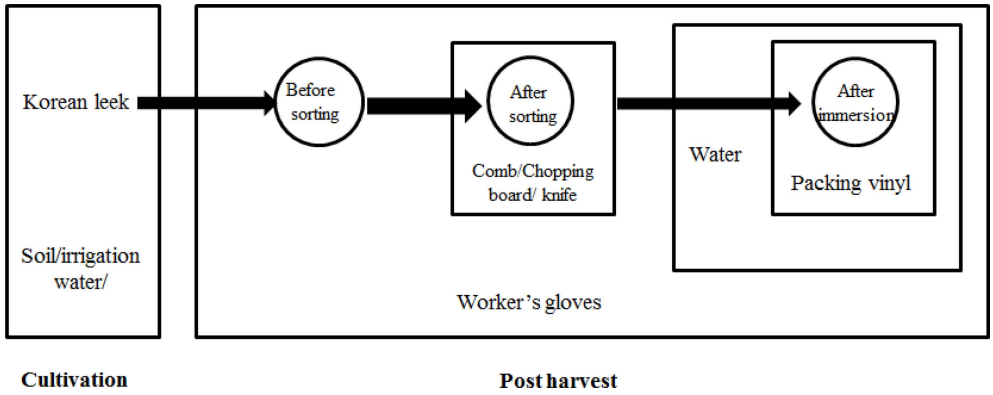

Fig. 2. Flow diagram of cultivation and small scale post harvest process of Korean leeks.

Table 1. Samples for investigation of microorganisms from three Korean leeks farms

Stage	Source	Unit of sample	No. of sample
Cultivation	Manure	200 g	9
	Compost	200 g	9
	Irrigation water	1 L	9
	Soil	200 g	9
	Korean leek	150 g	9
Post harvest	Comb	100 cm^2	9
	Chapping board	100 cm^2	9
	Knife	100 cm^2	9
	Gloves	1 hand	9
	Packing vinyl	100 cm^2	9
	Water before immersion	1 L	9
	Water after immersion	1 L	9
	Korean leek (Before sorting)	150 g	9
	Korean leek (After sorting)	150 g	9
	Korean leek (After immersion)	150 g	9
Total			135

부추의 수확후 처리 과정 중 영양부추와 접촉하는 작업자의 손, 도마, 칼, 빗, 저울, 수확후처리시설 내 물, 세척 후 물, 포장지와 작업 단계별 영양부추를 채취하여 본 연구에 사용하였고 시료채취방법은 다음과 같다. 먼저 작업자의 손은 영양부추 수확후처리시설 내에서 선별, 포장하는 작업자를 대상으로 채취하였으며 glove juice법으로 채취하였다[14]. Glove juice법은 0.85% 생리식염수 50 mL를 멸균 팩에 붓고 손을 넣어 30초간 씻어서 손에 있는 미생물을 채취하는 방법이다[14]. 영양부추는 농장에서 수확하여 수확후 처리시설로 이송한 후 이물질, 상품성이 낮은 잎들을 제거하는 과정을 거친다. 이때 빗, 칼, 도마를 사용하는데 이들 시료는 작업 중의 것을 대상으로 채취하였다. 수확 과정 중 사용되는 포장지는 수확 상자 내부에 있는 포장 비닐을 대상으로 하였다. 이들 시료는 10 cm × 10 cm 크기의 면적대를 사용하여 100 cm^2의 면적을 면봉으로 문질러 채취하였다[11]. 영양부추는 수확 후 이물질을 제거하고 단작업을 마친 후 품온을 떨어뜨릴 목적으로 지하수에 담그는 과정을 거친다. 이 때 사용하는 지하수와 영양부추를 담그어 놓은 상태의 물을 채취하여 미생물 조사를 하였다. 지하수는 수원으로부터 퍼 올려 1분간 흘려낸 후 2 L 채수병에 채취하였고 예냉조에 담긴 물은 멸균된 핏펫을 사용하여 1 L 채수병에 채취하였다. 영양부추는 수확 후 처리 시설에 입고된 후, 이물질을 제거한 후, 예냉조에 담근 후의 부추를 약 150 g씩 멸균된 시료채취용 팩에 채취하였다(Table 1).

수확후 처리단계의 미생물을 조사한 결과 수확 직후의 영양부추의 미생물 오염도가 높고, *E. coli*가 검출되어 오염원을 조사하기 위하여 농가들을 재방문하여 재배환경과 재배단계의 영양부추의 미생물 오염도를 추가로 조사하였다. 재배단계에서는 영양부추와 직접적으로 접촉할 수 있는 관개용수, 퇴비, 토양, 수확용기와 재배 중인 영양부추를 채취하여 연구에 사용하였다. 관개용수는 하우스 내에서 사용하는 지하수 2 L를 채수병에 채취하였다. 토양은 영양부추 주변에서 약 200 g씩을 취하여 시료채취용 멸균

팩에 채취하였고 농가에서 사용하는 퇴비는 퇴비 포장지를 멸균 가위로 절단 한 후 멸균된 모종삽을 이용하여 약 200 g정도 취하여 시료채취용 멸균팩에 채취하였다. 또한 수확용기는 10 cm × 10 cm 크기의 면적대를 사용하여 100 cm^2의 면적을 면봉으로 문질러 채취하였다.

이들 시료를 대상으로 위생지표세균(일반세균, 대장균군, *E. coli*)과 병원성미생물(*E. coli* O157:H7, *L. monocytogenes*, *B. cereus*, *S. aureus*)을 분석하였다.

위생지표세균의 측정

위생지표세균의 분석을 위하여 영양부추, 퇴비, 토양, 상토는 25 g을 취하여 0.85% 생리식염수 225 mL과 혼합하고 stomacher에서 2분간 균질화시켰다. Glove juice법과 swab법으로 채취된 시료는 30초간 vortex한 후 사용하였다. 균질화된 시료는 그 중 1 mL를 취하여 10배 단계희석한 후 일반세균 및 coliform 측정용 petrifim (3M, St. Paul, MN, USA)에 접종하고 37ºC 24시간 배양하였다[15]. 또한 *E. coli*의 측정은 정량과 정성을 동시에 수행하였다. 정량분석은 3M사의 petrifilm™ (3M, St. Paul, MN, USA)을 이용하였으며 각 농도별로 1 mL씩 취하여 film에 접종하고 37ºC에서 24시간 배양 후 기포를 가진 blue colony만을 *E. coli*로 인정하였다. 최종균수는 전형적인 집락을 보이는 균주 × 희석배수로 계산하였다. 또한 정성분석은 상추를 비롯한 고체 시료의 경우 25 g을 취하여 225 mL의 EC broth에서 37ºC에서 24시간 증균 배양하였고, glove juice법과 swab법으로 채취한 시료는 1 mL을 채취하여 10 mL의 발효관이 든 EC broth (Oxoid, Hampshire, UK)에서 증균하였다. 배양액 1 loop를 취하여 EMB agar (Oxoid, Hampshire, UK)에 재접종하였다. 이 후 37ºC, 24시간 배양 후 금속광택을 나타내는 집락을 VITEK (VITEK-2 compact, Biomerieux, l'Etoile, France)으로 최종 동정하였다[15].

병원성 미생물 분리 · 동정

E. coli O157:H7

E. coli O157:H7의 증균을 위해 고체 시료는 25 g을 취하여 225 mL의 mEC broth (Oxoid, Hampshire, UK)에서 37ºC에서 24시간의 배양하였고, glove juice법과 swab법으로 채취한 시료는 1 mL를 채취하여 10 mL의 mEC broth (Oxoid, Hampshire, UK)에서 증균하였다. 배양액 1 loop를 취하여 *E. coli* O157:H7의 선택배지인 sorbitol MacConkey agar (SMA, Oxoid, Hampshire, UK)에 도말한 후 37ºC에서 24시간 배양하였다. 이후 sorbitol MacConkey agar 상에서 무색의 단일 집락을 취하여 EMB agar에 접종하고 37ºC, 24시간 배양하였다. EMB agar상에서 금속광택을 나타내는 집락을 취하여 Nutrient agar (NA, Oxoid, Hampshire, UK)에 접종한 후 37ºC, 24시간 재배양하였다. *E. coli* O157:H7의 동정은 PowerCheck™ *E. coli* O157:H7 Detection Kit (Power check PCR kit, Kogen, Seoul, Korea)를 이용하여 PCR로 1차 확인을 거친 후, 양성으로 의심되는 시료는 VITEK (VITEK-2 compact, Biomerieux, l'Etoile, France)으로 최종 동정하였다[15]. 대조군으로 *E. coli* O157:H7 ATCC 43894를 사용하였다.

Salmonella spp.

Salmonella spp. 분리는 식품공전[15]에 준하여 실험하였다. 상추를 비롯한 고체 시료는 25 g을 225 mL의 buffered peptone water에 glove juice법과 swab법으로 채취한 시료는 1 mL을 채취하여 10 mL의 buffered peptone water에서 증균하였다. 1차 증균한 후 10 mL의 Rappaport Vassiliadis R10 Broth (Difco, MD, USA)에 1차 증균액 100 μL를 접종하여 37ºC, 24시간 배양한 후 균액 1 loop를 취하여 선택배지인 XLD (Oxoid, Hampshire, UK)에 도말하였다. 이후 37ºC에서 24시간 배양하여 전형적인 *Salmonella* spp. 의심집락을 취하여 NA (Oxoid, Hampshire, UK)에 접종한 후 37ºC, 24시간 재배양하였다. 동정은 PowerCheck™ *Salmonella* spp. Detection Kit (Power check PCR kit, Kogen, Seoul, Korea)를 이용하여 PCR로 1차 확인을 거친 후, 양성으로 의심되는 시료는 VITEK (VITEK-2 compact, Biomerieux, l'Etoile, France)으로 최종 동정하였다[15]. 또한 대조군으로 *S.* Typhimurium ATCC 13314를 사용하였다.

L. monocytogenes

*L. monocytogenes*균주의 분리를 위해 영양부추, 퇴비, 토양 및 상토는 25 g을 225 mL의 *Listeria* enrichment broth (Oxoid, Hampshire, UK)에 swab한 시료와 glove juice법으로 채취한 시료는 1 mL을 채취하여 10 mL의 *Listeria* enrichment broth에 접종 후 30ºC에서 24시간 배양하였다. 배양된 균액을 100 μL 취하여 다시 2차 증균 배지인 Fraser broth (Difco, MD, USA)에 넣고 30ºC, 24시간 증균하였다. 이후 선택배지인 Oxford agar (Oxoid, Hampshire, UK)에 획선 도말하고 30ºC, 24~48시간 배양한 다음 black halo에 brown-green의 특이성을 보인 집락을 취하여 다시 0.6% yeast extract가 첨가된 trypticase soy agar에 접종하고 30ºC, 24시간 배양하였다. 최종 동정은 PowerCheck™ *Listeria monocytogenes* Detection Kit (Power check PCR kit, Kogen, Seoul, Korea)를 이용하여 PCR로 1차 확인을 거친 후, 양성으로 의심되는 시료는 VITEK (VITEK-2 compact, Biomerieux, l'Etoile, France)으로 최종 동정하였으며 대조군으로 *L. monocytogenes* ATCC 15313을 사용하였다[15].

S. aureus

*S. aureus*는 정성과 정량 검사를 실시하였으며 정성검사

의 경우 고체시료 25 g을 225 mL의 10% NaCl이 첨가된 tryptic soy broth (Difco, MD, USA)에 넣고 2분간 stomacher에서 균질하였고 glove juice법과 swab법으로 채취한 시료는 1 mL를 10 mL의 10% TSB에 접종 하였다. 이후 37ºC 16시간 증균하고 배양액을 Baird-Parker agar (Oxoid, Hampshire, UK)에 37ºC, 24-48시간 배양한 후 검고 lethicinase 작용으로 집락주위에 밝은 환(clear zone)이 나타나는 단일 집락을 취하여 확인실험에 사용하였다. 또한 정량시험은 위생지표세균을 위해 전 처리된 검액을 단계희석 한 후 각 희석농도에 대하여 250 µL씩 Baird-Parker agar 4 plate에 접종한 후 37ºC, 48시간 배양한 후 전형적인 형태를 나타내는 집락을 계수하였다. 계수한 평판에서 5개 이상의 전형적인 집락을 선발하여 NA배지에 접종하고 37ºC에서 24시간 배양한 후 확인 동정하였다. 최종균수는 *S. aureus*의 수치는 전형적인 집락을 보이는 균주 × (양성균주수 / 5주의 test균주) × 희석배수로 계산하였다. 정성, 정량검사의 확인실험은 PCR kit (Powercheck kit, Kogen, Seoul, Korea)를 이용한 PCR법과 VITEK (VITEK-2 compact, Biomerieux, l'Etoile, France)을 사용한 생화학적 방법으로 수행하였고 대조군으로 *S. aureus* 표준 균주 ATCC 25923을 사용하였다[15].

B. cereus

*B. cereus*의 오염도를 조사하기 위하여 영양부추, 토양, 퇴비 및 상토는 25 g을 취하여 225 mL의 phosphate buffered dilution water을 가하여 2분간 stomacher에서 균질화하였다. 또한 glove juice법과 swab법으로 채취한 시료는 30초간 vortex하였다. 균질화한 검액은 단계희석 한 후 250 µL씩 MYP agar (Oxoid, Hampshire, UK) 4 plate에 접종한 후 30ºC, 24~48시간 배양한 후 전형적인 형태를 나타내는 집락을 계수하였다. 계수한 평판에서 5개 이상의 전형적인 집락을 선발하여 NA배지에 접종하고 30ºC에서 24시간 배양한 후 PCR법에 의하여 확인하였다. 최종균수는 전형적인 집락을 보이는 균주 × (양성균주수 / 5주의 test균주) × 희석배수로 계산하였다. *B. cereus*의 동정은 PCR 법으로 확인하였다. *B. cereus*를 검출하기 위한 PCR 조건은 Choo 등[16]의 방법으로 *gryB*유전자 *cry*유전자를 대상으로 multiplex PCR을 수행하였다. PCR 반응은 intron사의 i-star Taq PCR kit을 사용하였으며 DNA 5 µL primer는 10 pM 농도로 2쌍 첨가하고 3차 멸균 증류수로 최종 반응용액을 20 µL로 조절하였다. 또한 PCR thermal cycler의 반응 조건은 94ºC에서 5분간 pre-denaturation을 실시한 후, 94ºC에서 30초간 denaturation, 55ºC에서 2분간 primer annealing, 72ºC에서 1.5분간 extension의 조건으로 30 cycle을 수행하고, final extension을 72ºC에서 7분간 실시하였다. PCR에 의한 증폭생성물은 1.0% agarose gel 전기영동에 의해 확인하였다. 대조군으로는 *Bacillus cereus* ATCC 10876와 *Bacillus thuringenesis* ATCC 29730을 사용하였다.

통계 처리

미생물 균수는 log colony forming unit(CFU)/mL, 100 cm^2, g, hand으로 나타내었으며, 토양과 영양부추의 결과에 대해서는 SPSS 통계처리 프로그램 version 11을 사용하여 ANOVA와 LSD test를 실시하여 $\alpha = 0.05$에서 유의성을 검증하였다.

Results and Discussion

영양부추의 수확 후 처리시설 설치에 따른 미생물 오염도 비교

영양부추농가의 소규모 수확후 처리시설 설치와 위생 교육 실시가 미생물 안전성에 미치는 효과를 분석하고자 수확후 처리시설 내 환경과 수확후 처리 단계별 영양부추 중 미생물 오염도를 조사하였으며 그 결과는 Table 2 와 같다. 전반적으로 수확 후 과정에서는 장갑, 빗, 칼, 도마 등 영양부추와 접촉하는 시료에 대한 미생물학적 오염도는 수확후처리시설 설치농가와 비설치 농가간의 차이가

Table 2. Populations of microorganisms in the samples collected from post harvest facility (Unit : log CFU/mL, 100 cm^2)

Sample	Farm	Microorganisms		
		APC	Coliform	*B. cereus*
Comb	A	4.98 ± 1.06[ab2)]	1.49 ± 1.31[a]	N.D.[b]
	B	4.85 ± 0.60[b]	2.24 ± 2.24[a]	1.66 ± 1.44[b]
	C	6.53 ± 0.68[a]	3.02 ± 0.87[a]	2.50 ± 0.34[a]
Chapping board	A	4.14 ± 0.78[b]	1.30 ± 1.18[b]	N.D.[c1)]
	B	4.58 ± 0.44[b]	3.02 ± 0.22[a]	2.23 ± 0.19[b]
	C	6.48 ± 0.60[a]	3.26 ± 0.84[a]	6.03 ± 0.70[a]
Knife	A	5.26 ± 1.13[a]	2.89 ± 0.48[b]	1.51 ± 1.33[a]
	B	4.52 ± 1.89[a]	4.52 ± 1.89[b]	2.92 ± 0.55[a]
	C	6.68 ± 0.11[a]	4.14 ± 0.58[a]	2.29 ± 2.29[a]
Water before immersion	A	N.D.[c]	N.D.[a]	N.D.[a]
	B	1.67 ± 0.15[b]	N.D.[a]	N.D.[a]
	C	2.22 ± 0.03[a]	N.D.[a]	N.D.[a]
Water after immersion	A	4.94 ± 0.14[b]	2.53 ± 0.12[b]	N.D.[a]
	B	3.79 ± 0.47[c]	1.56 ± 0.03[c]	N.D.[a]
	C	6.09 ± 0.06[a]	3.48 ± 0.02[a]	1.00 ± 1.82[a]
Gloves	A	5.69 ± 0.50[b]	2.39 ± 2.07[b]	2.57 ± 2.25[b]
	B	6.04 ± 0.50[b]	1.83 ± 2.58[b]	N.D.[c]
	C	7.32 ± 0.71[a]	4.02 ± 0.80[a]	5.50 ± 0.36[a]
Packing vinyl	A	1.08 ± 1.87[a]	N.D.[a]	N.D.[a]
	B	0.90 ± 0.85[a]	N.D.[a]	N.D.[a]
	C	1.73 ± 0.44[a]	N.D.[a]	N.D.[a]

[1)]N.D.: Not detected (Detection limit: irrigation water: < 1 CFU/mL, other samples: < 10 CFU / 100 cm^2)

[2)]Values on the same column followed by different letters are significantly different ($P < 0.05$)

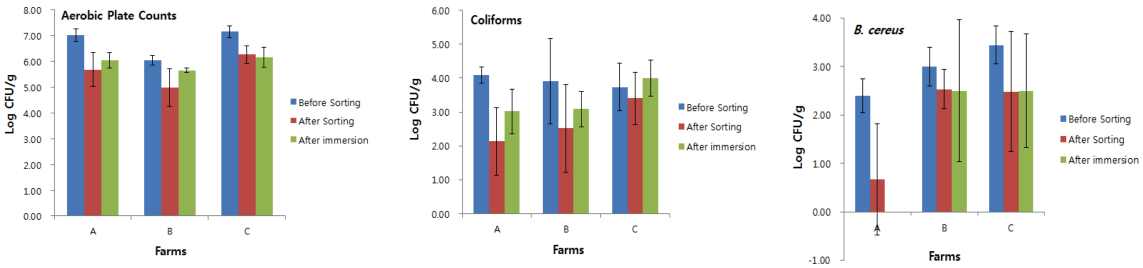

Fig. 3. Populations of microorganisms in the Korean leeks according to post harvest processes.

있었다($P < 0.05$). 빗, 칼, 도마의 경우 수확후 처리시설 설치농가(A, B)의 일반세균수 오염수준은 4.14~5.26 log CFU / 100 cm^2 수준이었으나 수확후 처리시설 비설치농가(C)의 경우는 6.48~6.68 log CFU / 100 cm^2이었다. 대장균군은 수확 후 처리시설 설치농가(A, B)의 경우는 1.30~3.02 log CFU / 100 cm^2 수준이었으나 수확후 처리시설 비설치농가(C)의 경우는 3.02~4.14 log CFU / 100 cm^2로 수확후처리시설 설치 농가에 비해 다소 높게 검출되었다. *B. cereus*도 수확후 처리시설 설치 농가와 비 설치 농가 간의 차이가 있었으며 특히 도마의 경우 A농가에서 1.00 log CFU / 100 cm^2이하, B 농가에서 2.23 log CFU / 100 cm^2인데 반해 C 농가에서는 6.03 log CFU / 100 cm^2로 농가간의 위생 상태에 따라 *B. cereus*의 오염수준이 차이가 크게 나타났다. 또한 C 농가의 칼에서 *S. aureus*가 검출되었다(data not shown). Kim[17]등이 수행한 위생관리가 이루어지지 않는 들깻잎의 수확 후 처리시설 내의 포장대에서도 일반세균수가 평균 4.94 log CFU / 100 cm^2였고 대장균군은 2.52 log CFU / 100 cm^2, *B. cereus*는 2.00 log CFU / 100 cm^2 내외로 본 연구와 비슷한 수준이었다. 이와 같은 수확후처리시설 내 환경의 미생물오염도 결과는 농가의 수확후 처리시설의 환경과 위생 관리가 미생물 오염도 수준에 밀접한 관련이 있음을 알 수 있다. 따라서 위생적인 수확후 처리시설 내부의 환경개선과 위생 교육은 수확후 처리시설의 위생수준을 향상시키는 데 기여할 수 있다고 판단된다.

또한 개인위생과 직접 관련이 있는 작업자의 장갑의 경우, A와 B농가의 일반세균수 오염수준은 각각 5.69, 6.04 log CFU/hand 수준이었으나 C 농가의 경우는 7.32 log CFU/hand였다. 대장균군은 A와 B농가의 경우는 2.39, 1.83 log CFU/hand 수준이었으나 C농가의 경우는 4.02 log CFU/hand로 수확후처리시설 설치 농가에 비해 다소 높게 검출되었다. 또한 *B. cereus*의 오염수준은 각각 2.57, 불검출, 5.50 log CFU/hand로 위생에 대한 지속적인 교육과 의식수준에 따른 차이로 판단된다. 특히 작업자의 손이나 장갑의 미생물 오염도가 타 시료에 비해 높다는 사실은 다른 연구자들의 연구결과에서도 지속적으로 보고되고 있으며 엽채류의 수확후 작업은 대부분 수작업으로 이루어지고 있어 작업자의 손에 의한 엽채류의 미생물 오염이 예상되므로 대한 관리는 대단히 시급하고 필요하다[17-18]. 작업자의 손이나 장갑에 의한 농산물로의 교차오염을 예방하기 위해서는 작업자를 대상으로 한 주기적인 위생교육이 필요하고 작업 전 후로 손을 씻고 소독하는 행위와 장갑의 착용이 필수적이다. 또한 장갑은 자주 교체하는 것도 작업자에 의한 오염을 예방하는 중요한 방법이라 생각된다.

영양부추는 신선도 향상 측면에서 지하수에 1시간정도 담근 후 물기를 일부 제거하고 저온저장하는 과정을 거치는데 영양부추를 침지하기 전의 지하수와 침지한 이후 침지통에 담긴 물의 미생물 오염도를 조사하였다. 그 결과, Table 2에서 보는 바와 같이 침지하기 전의 지하수의 일반세균수는 각각 0~2.22 log CFU/mL으로 오염수준이 매우 낮은데 반해 침지 후의 물에서는 각각 4.94, 3.79, 6.09 log CFU/mL이었다. 또한 대장균군은 침지하기 전의 지하수에서는 검출되지 않았지만 영양부추를 침지한 후의 물에는 각각 2.53, 1.56, 3.48 log CFU/mL가 검출되었다. *B. cereus*는 침지후의 물에서 A와 B농가에서는 불검출 되었으나 C농가에서는 1.00 log CFU/ml이 검출되었으며 C농가의 영양부추 침지 후 물에서 *E. coli*가 검출되었다(data not shown).

수확후 처리 단계별 영양부추의 미생물 오염도를 조사한 결과(Fig. 3), 일반세균수는 수확 후에 비해 이물질 제거 후에 약 1.34, 1.05, 0.89 log CFU/g이 감소한데 비해 침지 후에는 이물질제거 후와 차이가 없었다. 또한 대장균군의 경우는 수확 후에 비해 이물질 제거 후에 약 2.96, 1.38, 0.34 감소하였으나 침지 후 에는 오히려 이물질 제거 후에 비해 1.89, 0.57, 0.60 log CFU/g이 증가하였다. *B. cereus*는 A, B 농가에서는 처리 단계를 거칠수록 감소하였으나 C 농가는 수확 후에 3.44 log CFU/g, 이물질 제거 후 2.48 log CFU/g, 침지후 2.50 log CFU/g로 나타났다. 또한 B 농가의 수확 직후 영양부추와 이물질 제거 후 영양부추, C농가의 침지 후 영양부추에서 *E. coli*가 검출되었다. 수확 직후의 영양부추의 높은 일반세균수와 *E. coli* 검출은 재배단계에서 미생물에 오염되었기 때문이라고 판단된다. 또한 침지 후에 대장균군수의 증가와 수확직후의 영양부추, 침지한 이후의 물, 침지한 후의 영양부추에서 *E. coli* 검출은 재배단계에서부터 *E. coli*에 오염된 영양부추가 침지과정 중 물을 오염시키고 오염된 물로 인하여 오염되지

Table 3. Populations of microorganisms in irrigation water, soil, compost and Korean leek during the cultivation stage (Unit : log CFU/mL, g)

Sample	Farm	Microorganisms		
		APC	Coliform	*B. cereus*
Irrigation water	A	0.59 ± 0.26[a]	N.D.[a1)]	N.D.[a]
	B	1.41 ± 0.45[a2)]	N.D.[a]	N.D.[a]
	C	0.91 ± 0.19[a]	N.D.[a]	N.D.[a]
Manure	A	7.24 ± 0.22[a]	N.D.[a]	3.42 ± 0.16[c]
	B	7.95 ± 0.21[a]	N.D.[a]	4.28 ± 0.08[a]
	C	7.10 ± 0.23[a]	1.42 ± 1.24[a]	3.71 ± 0.06[b]
Compost	A	6.82 ± 0.03[a]	N.D.[a]	0.77 ± 1.33[b]
	B	4.49 ± 0.61[b]	N.D.[a]	N.D.[b]
	C	4.36 ± 0.32[b]	N.D.[a]	2.97 ± 0.19[a]
Soil	A	6.57 ± 0.19[b]	1.89 ± 1.30[a]	4.17 ± 0.23[a]
	B	7.32 ± 0.11[a]	2.10 ± 0.38[a]	4.28 ± 0.23[a]
	C	6.47 ± 0.38[b]	1.16 ± 1.04[a]	4.23 ± 0.09[a]
Korean leek	A	6.04 ± 0.33[a]	3.09 ± 0.82[a]	2.65 ± 0.51[a]
	B	6.59 ± 0.68[a]	3.69 ± 0.51[a]	2.50 ± 0.11[a]
	C	5.79 ± 0.05[a]	1.43 ± 0.23[a]	2.76 ± 0.29[a]

[1)]N.D.: Not detected (Detection limit: irrigation water: < 1 CFU/mL, other samples: < 10 CFU/g)
[2)]Values on the same column followed by different letters are significantly different (P < 0.05)

않은 영양부추로 교차오염된 것으로 판단된다. 이러한 결과는 Jensen[19)]등의 연구결과와 동일하다. Jensen 등은 *E. coli* O157:H7를 접종한 상추를 물로 세척했을 때 세척된 물 속에 2.0 log CFU/ml이 검출되었으며 이 세척수로 *E. coli* O157:H7로 오염되지 않은 상추를 세척하였을 때 상추에서 *E. coli* O157:H7이 검출되었다고 보고하였다. 또한 Johnston[20)]등과 Ailes[21)]등의 연구결과에 따르면 수확 당시보다 수확 후 세척, 포장 절차를 마친 농산물에서 일반세균수와 대장균군의 농도가 유의하게 증가하는 것으로 나타나 오염된 수확 후 처리 환경은 농산물의 안전성에 직접적인 영향을 끼칠 수 있음을 보고하였다. 영양부추의 미생물 안전성 확보를 위해서는 위생적인 환경과 함께 침지과정 중 미생물 오염을 예방할 수 있는 소독 등의 저감화 방안 마련이 시급하다.

영양부추 재배단계의 미생물 분포

영양부추의 수확 후 높은 일반세균수와 *E. coli*의 오염원을 구명하고자 영양부추 생산 농가의 재배과정 중 미생물오염도를 조사하였다. 영양부추의 재배과정 중 미생물 오염도는 전반적으로 세 농가 간 차이가 없었다(Table 3). 영양부추의 재배과정에 사용되는 퇴비의 일반세균수는 4.36~7.95 log CFU/g, 대장균군 0~1.42 log CFU/g이었으며 *B. cereus*는 0.59~4.28 log CFU/g이었다. 퇴비는 종류에 따라 미생물의 오염수준이 차이가 있었으나 병원성미생물은 검출되지 않았다. 관개용수의 일반세균수는 0.59~1.41 log CFU/mL으로 일반세균수가 낮으며 유해미생물이 검출되지 않아 수질의 안전성은 확보되어 있었다. 토양의 일반세균수는 6.47~7.32 log CFU/g이었고, 대장균군 1.16~2.10 log CFU/g이었으며 *B. cereus*는 4.17~4.23 log CFU/g이었다. 또한 B 농가의 토양에서 *E. coli*가 검출되었다(data not shown). 영양부추의 경우 일반세균수는 5.79~6.59 log CFU/g, 대장균군 1.43~3.69 log CFU/g이었으며 *B. cereus*는 2.50~2.76 log CFU/g이었다. 영양부추에서는 검출되지 않았지만 토양에서 *E. coli*가 검출된 본 연구 결과로 미루어 볼 때 영양부추는 재배단계의 토양과의 접촉에 의해 오염되었을 것으로 추정된다.

또한 본 연구에서는 *E. coli* 외에 병원성이 높은 유해세균은 검출되지 않았지만 Solomon[22)]등의 연구에 따르면 토양에서 *E. coli* O157:H7 등의 식중독균이 검출된바 있으며 이들 유해세균이 토양 중에 존재할 때 작물의 안전성에 영향을 준다고 보고하였다. Oliveria[23)]등에 따르면 *L. innocua*의 경우 토양 속에서 총 실험 기간인 9주 동안 계속 생존하고 있었으며 *L. innocua*로 오염된 토양에 이식한 상추에서도 *L. innocua*가 발견되어 토양 중 식중독균은 작물로 이행 될 수 있음을 확인하였다. Solomon[24)]등과 Liu[25)]등의 연구에서는 토양을 인위적으로 *E. coli*로 오염시키고 상추를 심었을 때 *E. coli*는 작물 외부뿐만 아니라 root system을 통해 작물로 내부로 들어와서 가식부위까지 이동한다고 보고하였다. 따라서 토양 중 유해미생물은 작물 오염에 크게 영향을 끼치므로 오염된 토양에 의한 작물로 이행을 예방하는 것이 필요하다. 병원성 미생물의 토양 유입을 차단하기 위해서는 우선 퇴비는 완전하게 부숙된 것을 사용하고 야생동물의 출입을 차단하는 것이 필요하다. 또한 멀칭을 통하여 영양부추의 토양과 접촉을 최소화하는 것이 효과적일 것으로 판단된다.

Acknowledgement

본 연구는 농촌진흥청 공동연구사업(과제번호 : PJ011418)의 지원에 의해 이루어진 것임.

국문요약

위생적인 수확후처리를 통하여 안전한 농산물 생산을 유도하기 위하여 영양부추를 대상으로 수확후 처리시설 모델을 개발하였으며 개발된 수확후 처리시설 설치와 위생교육이 미생물 안전에 미치는 효과를 검증하고자 본 연구를 수행하였다. 이를 위하여 양주지역 영양부추 생산 농가의 수확 후 처리시설 환경과 영양부추에서 위생지표세균(일반세균수, 대장균군, *E. coli*)과 병원성미생물(*Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus*,

Listeria monocytogenes, *Bacillus cereus*)을 조사하였다. 그 결과, 빗, 칼, 도마 등 수확후 처리시설에서 사용하는 작업도구의 일반세균수 오염수준은 수확후 처리시설 설치농가(A, B)에서 수확후 처리시설 비설치농가(C) 보다 1.44~2.33 log CFU / 100cm^2 정도 낮았다. 특히 도마의 경우 A농가에서 1.00 log CFU / 100cm^{2}이하, B 농가에서 2.23 log CFU / 100 cm^{2}인데 반해 C 농가에서는 6.03 log CFU / 100 cm^{2}로 농가간의 위생 상태에 따라 *B. cereus*의 오염수준이 차이가 크게 나타났다. 또한 지하수에 침지 한 영양부추에서 침지 전 보다 대장균군이 0.57~1.89 log CFU/g이 증가하였다. *E. coli*는 영양부추, 침지한 후 지하수, 토양에서 검출되었으며, *E. coli* O157:H7, *Salmonella* spp., *L. monocytogenes*는 검출되지 않았다. 따라서 본 연구의 결과를 통하여 소규모 수확 후 처리시설 설치와 위생교육을 통하여 농가 내 수확후처리 환경의 위생을 개선하는데 효과적이라 판단된다. 이와 더불어 유해미생물에 의한 식중독사고를 사전에 예방하기 위해서는 수확 후에 오염된 유해미생물을 저감화 할 수 있는 세척, 소독 기술의 개발과 도입이 필요할 것으로 사료된다.

References

1. Kim S.R., Lee H.S., Kim W.I., Ryu S.H., Kim H.Y., Ryu J.G.: Perspectives on the research to enhance microbial safety of agricultural produce in post harvest Management. *Safe Food,* **9**, 13-19 (2014).
2. FDA: Guidance for Industry: Guide to Minimize Microbial Food Safety Hazards of Leafy Greens; Draft Guidance Available from: http://www.fda.gov/Food/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/GuidanceDocuments/ProduceandPlanProducts/ucm174200.htm Accessed January **15**, 2010 (2009).
3. CDC: Update on Multi-State Outbreak of E.coliO157:H7 Infections From Fresh Spinach, October 6, 2006. Available from: http://www.cdc.gov/ecoli/2006/september/updates/100606.htm Accessed Febrary 20, 2010 (2006).
4. Patel J. and Sharma M.: Differences in attachment of *Salmonella enteric* serovars to cabbage and lettuce leaves. *Int. J. Food Microbiol.*, **139**, 41-47 (2010).
5. 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, *Korean J. Fd Hyg. Safety*, **27**, 24-29 (2012).
6. Bae Y.M. and Lee S.Y.: Microbial quality of fresh produce in Korea and decontamination technologies, *Safe Food,* **4**, 33-39 (2009).
7. Jung S.H., Hur M.J, Ju J.H., Kim K.A., Oh S.S., Go J.M., Kim Y.H., and Im J.: Microbiological evaluation of raw vegetables. *Korean J. Fd Hyg. Safety*, **21**, 250-257 (2006).
8. 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).
9. Burnett S.L. and Beuchat L.R.: Human pathogens associated with raw produce and unpasteurized juices and difficulties in decontamination. *J. Int. Microbiol. Biotechnol.*, **27**, 104-110 (2001).
10. Kim S.Y.: Indication system for the verification in agricultural food safety. In: Symposium on GAP application strategy for the safety agricultural production. July 29, Gyeongsang National University, Jinju, Korea. The Center of Agri-food Safty. Jinju, Korea pp. 23-42 (2004).
11. Rural development Administration: Good Agricultural Practices Standard: Notification No. 2010-32 of the Rural development Administration. Available From: http://www.rda.go.kr/ Accessed Oct. 26 2014, (2010).
12. National Agricultural Products Quality Management Service: Good Agricultural Practices certification system. Available From: http://www.gap.go.kr. Accessed April. 26 2015, (2015).
13. Rural development Administration: Good Agricultural Practices Standard: Notification No. 2014-33 of the Rural development Administration. Available From: http://www.rda.go.kr. Accessed Oct. 26 2014, (2014).
14. Anonymous: Guidelines for effectiveness testing of surgical hand scrub (glove juice test). *Fed. Regist*. **43**, 1242-1243 (1978).
15. KFDA: Korean Food code. Korea Food and Drug Administration, Seoul, Korea. pp.75-105 (2002).
16. Choo E.Y., Jang S.S., Kim K.S., Lee K.G., Heu S.G. and Ryu, S.R.: Prevlence and genetic diversity of *Bacillus cereus* in dried red pepper in Korea. *J. Food Prot.*, **70**, 917-922 (2007).
17. Kim S.R., Lee J.Y., Lee S.H., Ko H.S., Yoon Y.H., Kwon S.H., Ryu K.Y., Yun H.J., Kim W.I., Yun J.C., Kim D.H. and Chung D.H.: Distribution of Hazardous Microorganisms in Perilla Leaf Cultivation Areas. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **43**, 243-248 (2001).
18. Park S.H., Kim J.S., Kim K.Y., Chung D.H. and Sim W.B.: Identification of toxin gene and antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* isolated from agricultural product cultivation environments. *J. Environ Health Sci.*, **39**, 465-473 (2013).
19. Jensen D.A., Friedrich L.M., Harris L.J., Danyluk M.D., and Schaffner D.W.: Cross contamination of *Escherichia coli* O157:H7 between lettuce and wash water during home-scale washing. *Food Microbiol*., **6**, 428-433 (2015).
20. 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).
21. Ailes E.C., Leon J.S. Jaykus L.A., Johnston L.M., Clayton H.A., Blanding S., Kleinbaum D.G., Backer L.C., and Moe C.L.: Microbial concentrations on fresh produce are affected by postharvest processing, importation, and season. *J. Food Prot.*, **71**, 2389-2397 (2008).
22. Solomon E.B., Yaron S. and Mattews 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).
23. Oliveira M., Usall J., Vinas I., Solsona C. and Abadias M.:

Transfer of *Listeria innocua* from contaminated compost and irrigation water to lettuce leaves. *Food Microbiol.*, **28**, 590-596 (2011).
24. Solomon E.B., Potenski C.J. and Mattews K.R.: Effect of irrigation method on transmission to and persistence of *Escherichia coli* O157:H7 on lettuce. *J. Food. Prot.*, **65**, 673-676 (2002).
25. Liu C., Hofstra N., and Franz E.: Impacts of climate change on the microbial safety of pre-harvest leafy green vegetables as indicated by *Escherichia coli* O157 and *Salmonella* spp. *Int. J. Food Microbiol.*, **163**, 119-128 (2013).