

초등학교에 공급되는 급식용 식재료 및 조리식품의 미생물학적 품질평가

신원선^{1*} · 홍완수² · 이경은³

¹한양대학교 식품영양학과

²상명대학교 외식영양학과

³서울여자대학교 식품영양학과

Assessment of Microbiological Quality for Raw Materials and Cooked Foods in Elementary School Food Establishment

Weon-Sun Shin^{1*}, Wan-Soo Hong², and Kyung-Eun Lee³

¹Hanyang University, Seoul 133-791, Korea

²Sangmyung University, Seoul 110-743, Korea

³Seoul Women's University, Seoul 139-774, Korea

Abstract

This study was conducted to assess the microbiological quality of raw and cooked foods served in the elementary school food service. Raw and cooked food samples were collected from 11 selected elementary schools in both June to July and September to October of 2005. Petrifilm plates were used to determine (in duplicate) total aerobic colony counts (PAC), *Enterobacteriaceae* (PE), coliform counts (PCC), and *E. coli* counts (PEC). Heavy contamination of *Enterobacteriaceae* (from 0.08 to 7.40 log CFU/g) and total coliform (0.50 to 6.52 log CFU/g) were observed in raw materials and cooked foods. *Escherichia coli* (*E. coli*) were detected in the sample of currant tomato (3.70 log CFU/g), sesame leaf (3.59 log CFU/g), dropwort (0.20 log CFU/g), crown daisy (3.15 log CFU/g), parsley (3.00 log CFU/g), peeled green onion (1.74 log CFU/g), frozen pork (0.65 log CFU/g), frozen beef (0.20 or 1.50 log CFU/g), chicken (1.78 log CFU/g), and young radish leaf seasoned with soybean paste (1.24 log CFU/g). Multiplex PCR system was used to determine the food-borne pathogens: *Salmonella* spp., *Bacillus cereus* (*B. cereus*), *E. coli* O157:H7, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* (*L. monocytogenes*), *Vibrio parahaemolyticus*, *Campylobacter jejuni* (*C. jejuni*), *Shigella* spp., *B. cereus* was detected in 19 samples of raw materials and 8 samples of cooked foods. With regard to quantitative analysis, *B. cereus* counts exceeded 5.46, 3.48 and 1.79 log CFU/g in sesame leaf, peeled green onion and seasoned mungbean jelly, respectively. *E. coli* O157:H7 was detected on 2 samples of frozen beefs, and its biochemical characteristics of one beef sample was confirmed with API 20E kit (93.7%). *L. monocytogenes* was detected in fried rice paper dumpling, but the presumptive colonies were not detected onto the conventional plate. *C. jejuni* was detected in peeled & washed onion.

Key words: microbiological quality, food materials, cooked foods, school-food safety management

서 론

우리나라의 학교급식은 1990년대에 들어와 급격히 성장하여 2005년에는 초·중·고·특수학교의 10,845개교 중 99.4%의 10,780개교에서 급식이 제공되고 있으며 운영형태별로는 직영급식이 915개교(84.6%), 위탁급식이 1,655개교(15.4%)에 이르고 있다(1). 그러나, 학교급식의 급격한 양적 성장과 함께 식중독발생규모도 대형화하여 2004년에 56건(환자수 6,673명), 2005년에 19건(환자수 2,304명), 2006년 70건(6,992명)으로 조사되었다(2). 이들 학교급식소에서 발생한 식중독환자의 수를 식중독으로 인한 전체 환자수와 비교

해보면 연도별로 2004년에 64.2%, 2005년에 40.3%, 2006년에 64.5%로 매년 높은 비율을 차지하는 것으로 나타났다(2). 이에 교육인적자원부는 학교급식의 질적 개선을 위한 대책으로 학교급식법을 2007년 1월 전면개정(3)하여 '학교급식 식재료의 품질관리 기준'(제4조 1항)으로 농산물(전처리 농산물 포함), 축산물, 수산물(전처리 수산물 포함), 가공식품 및 기타 등으로 학교급식용 식재료에 대한 품질세부 지침을 명시하였다. 학교급식 위생관리지침서(4)에서는 잠재적으로 위험성이 있는 식재료의 규격기준을 정하여 이를 준수하고 식재료를 공급하는 업체의 선정 및 관리기준을 마련, 위생관리 능력과 운영능력이 있는 업체를 선정함으로써 보다

*Corresponding author. E-mail: hime@hanyang.ac.kr
Phone: 82-2-2220-1204, Fax: 82-2-2292-1226

신선하고 질이 좋으며 위생적으로 안전한 식재료를 구입하여야 한다고 규정하고 있다. 단체급식 메뉴에 제공되는 식품의 재료와 조리식품의 위해분석에 관련된 선행연구 결과(5)에 따르면, 생채류의 일부 원·부재료의 일반세균수는 조리 후 음식의 일반세균수와 비슷하여 생채류의 조리특성상 원·부재료의 위생상태가 그대로 전이되어 전반적으로 위생상태가 문제시 될 수 있으며 숙채류의 경우 조리과정 중 한번 뜨거운 물에 데침에도 불구하고 미생물 오염수준이 감소하지 않은 것은 조리시 사용된 양념, 사용된 그릇, 조리사의 손 등 다른 오염원으로부터 기인한 교차오염의 가능성으로 제시하였다.

본 연구에서는 대부분이 직영체제로 운영되고 있는 초등학교의 급식용 식재료와 조리식품의 미생물적 품질을 평가하기 위하여 초등학교 점심식사용으로 공급되는 식재료 및 조리식품을 수거하여 위생지표균과 식중독 유발균의 오염도를 조사하였다.

재료 및 방법

대상학교 선정 및 시료의 채취

학교선정은 서울지역을 동서남북으로 사등분하고, 각 지역에서 2004년 하반기에 서울특별시 학교보건원에서 실시한 위생점검 결과에서 도출된 평점의 상, 중, 하위가 고루 분포되도록 하였다. 시료채취는 2005년 6월 7일~7월 8일과 9월 6일~10월 7일에 걸쳐 초등학교 11개교를 대상으로 하여 각 1회 실시하였다. 식품은 증식에 사용된 식재료 및 조리된 식품을 수거하였고, 조리된 식품 가운데 밥, 국을 제외한 생채류, 숙채류, 볶음류, 튀김류, 조림류를 중심으로 수거하였다. 식재료는 조리된 식품의 재료를 위주로 수거하였으며, 전처리 및 비전처리 식재료, 가공식품으로 나누어 조사하였다.

위생지표 세균 및 *Staphylococcus aureus*(*S. aureus*), *Bacillus cereus*(*B. cereus*) 정량분석용 전처리

조리시작 전의 식재료와 배식준비가 된 음식을 각각 150 g씩 멸균된 시료채취용 플라스틱 백에 채취하고, 즉시 아이스박스에 담아 가능한 빠른 시간 내에 실험실로 운반하여 분석하였다. 정량검사를 위한 시료는 25 g을 sterile sampling bag(Whirl-Pak, Fort Atkinson, WI, USA)에 무균적으로 취하여 10배의 생리식염수를 넣고 시료균질기(Pulsifier, Microgen, Surrey, UK)로 균질화한 원액을 시험원액으로 하였다.

PCR을 이용한 식중독균 검출

8종의 식중독 유발세균의 정성검출 실험을 위하여 수거한 식재료 및 조리식품을 각각 25 g씩 취하여 225 mL의 0.1% BPW(Difco Laboratories, Detroit, MI, USA)를 가한 후 균질화시킨 다음 37°C에서 18~24시간 동안 증균 배양한다. 각 증균배양액에서 1 mL씩 취하여 원심분리(15,000 rpm,

4°C, 15분)하고 상층액을 제거한다. 이 과정을 2회 반복한 다음, cell pellet에 0.1 mL의 증류수를 가하여 resuspension 시킨 후 95°C의 heating block에서 5분간 열처리하고 원심분리(15,000 rpm, 4°C, 15분)하여 얻어진 상층액 10 µL을 취하여 PCR 검출용 시료로 하였다. PCR 검출은 8종의 식중독균 독소 유전자가 혼합된 PowerCheck™ Multiplex-Pathogen Detection kit(코젠바이오텍, 서울, 대한민국)를 사용하였다. 즉, 상층액 10 µL에 적량의 primer mixture, Taq polymerase, reaction buffer를 섞은 후 thermocycler(T3000, Biometra, Goettingen, Germany)에서 94°C에서 5분 동안 초기 변성 시킨 후, 94°C에서 30초 동안 변성, 60°C에서 30초간 아닐링, 72°C에서 30초 동안 연장반응을 35 cycle 반복하였으며, 72°C에서 5분간 최종 연장반응을 시킨 후 종료하였다. PCR 시험 후 *Escherichia coli*(*E. coli*) O157:H7, *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes*(*L. monocytogenes*), *Staphylococcus aureus*(*S. aureus*), *B. cereus*가 검출된 경우, 각각의 식중독 균을 선택배지로 증식하여 확인실험을 수행하였다(Fig. 1). PCR 증폭산물은 2% agarose gel 상에서 110 V로 1시간 전기영동을 하여 분리하였으며, ethidium bromide로 염색하고 자외선 투사기 상에서 polaroid film으로 사진을 찍어 관찰하였다.

일반세균, 장내세균, 대장균군, 대장균 수

일반세균, 장내세균, 대장균군, 대장균 수 측정을 위하여 시료의 균질액을 0.85% saline에 십진 희석한 후, 건조필름인 Petrifilm™ aerobic count plate(PAC), Petrifilm™ coliform count plate(PCC), Petrifilm™ *E. coli*/coli form count plate(PEC)(3M, St. Paul, USA)에 무균적으로 접종하여 35°C에서 48시간 배양한 뒤 계수하였다. 모든 시료는 이 반복으로 측정하였다.

E. coli O157:H7 확인 및 동정

E. coli O157:H7은 novobiocin(Sigma, St. Louis, MO, USA)을 첨가한 mEC broth(Difco, MI, USA)를 시료의 10배 부피로 가하여 35°C에서 18~24시간 증균하고, 이 증균액 1 백균이를 취해 Sorbitol McConkey agar(SMAC, Difco, MI, USA)에서 의심집락을 분리하였다. SMAC에서 중심부가 짙으면서 무색 또는 회색을 나타내는 집락을 취해 EMB agar(Difco, MI, USA)에 도말하여 초록의 금속성광택을 나타내는 집락을 API 20E(Biomerieux, Marcy l'Etoile, France)로 생화학적 동정을 하였다.

Salmonella spp. 확인 및 동정

Salmonella spp.는 BPW에서 35°C에서 18~24시간 증균하고, 증균액 0.1 mL을 10 mL의 RV broth(Oxoid, Cambridge, UK)에 접종하여 42°C에서 24시간 선택 증균하고, XLD agar(Difco, MI, USA)에서 의심집락을 분리하였다. *E. coli* O157:H7, *Salmonella* spp.는 API 20E로 생화학적 동정을 하였고, *Salmonella* spp.는 *Salmonella* latex test(Oxoid,

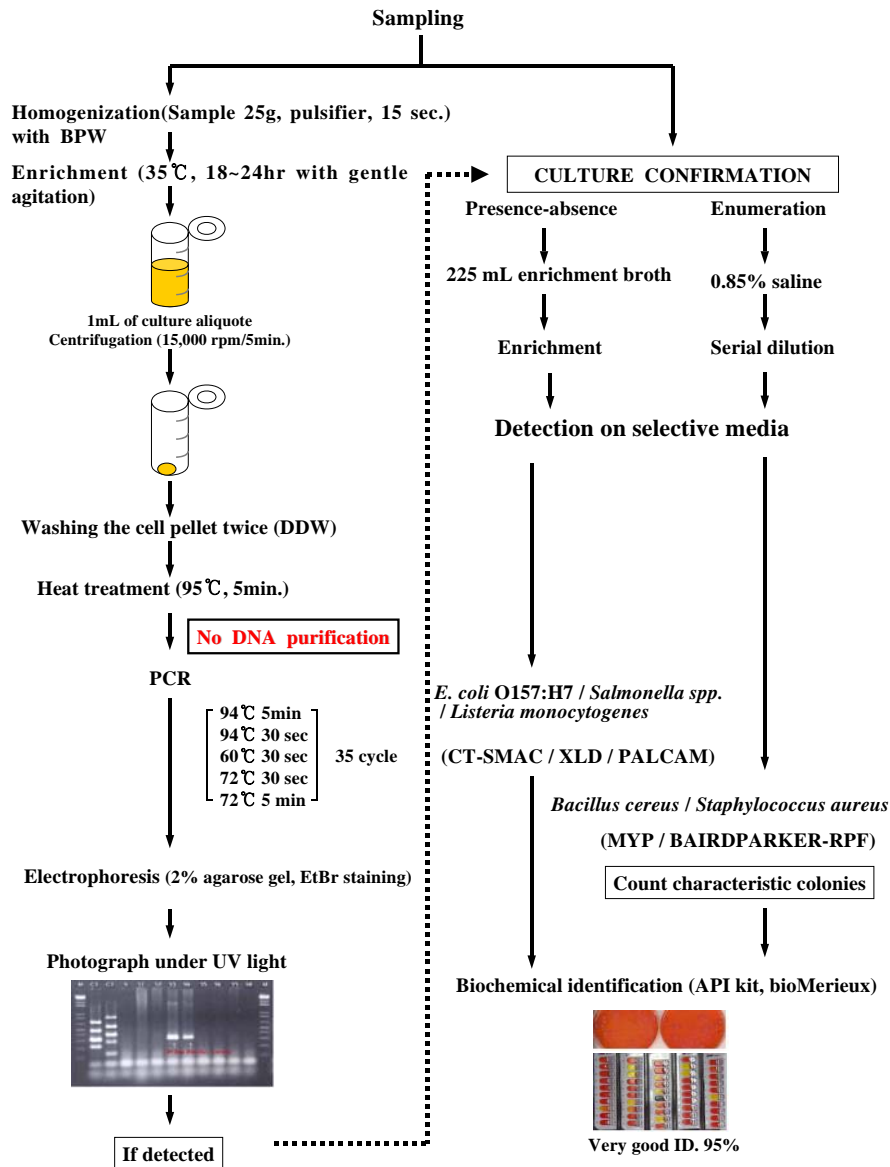


Fig. 1. Detection procedures for hazardous microbes in raw materials and cooked food samples.

Cambridge, UK)로 *Salmonella* 항혈청에 대한 응집반응 여부를 확인하였다.

L. monocytogenes 확인 및 동정

*L. monocytogenes*는 시료 25 g을 무균적으로 취하여 *Listeria* Enrichment broth(Difco, MI, USA)를 225 mL를 가하고 균질화한 후 30°C에서 24시간 배양하여 PALCAM agar(Merck, Darmstadt, Germany)에 희석 도달하여 35°C에서 24시간 배양한 후 전형적인 집락 유무를 확인하였다.

S. aureus 계수

*S. aureus*의 계수는 ISO 6888-2-1999(*Staphylococcus aureus* enumeration of coagulase-positive Staphylococci) 방법에 준하였으며, 정량검사용 시료 전처리 액을 단계적

로 희석하여 0.1 mL을 Baird-Parker RPF agar(BioMerieux, Marcy l'Etoile, France)에 도달하여 37°C에서 24시간 배양한 후 침전에 의해 불투명한 환이 생긴 회색 또는 검은 색의 coagulase 양성인 *S. aureus* 집락만을 계수하였다.

B. cereus 동정 및 계수

*B. cereus*는 정량검사용 시료 전처리 액을 단계적으로 희석하여 MYP agar(Difco, MI, USA)에 도달하여 30°C에서 24시간 배양한 후, lecithinase 양성으로 주변에 침전이 생성된 분홍색 또는 붉은 색의 깃털모양의 집락을 계수하였다. 확인 동정은 MYP agar에 나타난 집락을 선택하여 API 50CHB 및 API 20E로 동정하여 계수한 값에 *B. cereus*로 동정된 집락의 수를 곱하여 *B. cereus*로 하였다.

결과 및 고찰

조사대상 급식소의 일반사항

조사대상 초등학교 11개교를 조사한 결과, 11개 학교 가운데 10개는 직영급식이었고 1곳은 위탁급식이었다. 초등학교는 11개교 모두 중식만을 제공하고 있었으며, 교실배식이 7개교, 전용식당 배식이 3개교, 교실과 식당의 혼합배식이 1개교이었으며 영양사는 11개교 모두 1명씩 근무하고 있었다.

수거한 식재료 및 조리식품의 일반사항

본 연구를 위하여 조사한 초등학교에서 수거한 식품은 채소류, 육류, 어패류, 가공식품 등의 원재료가 34종이었으며 조리된 식품이 20종이었다. 그 중에서 채소류는 총 22종으로 전체 식재료의 64.7%를 차지하였으며, 이 중 16종이 비전처리 채소(47.0%)였으며 6종이 전처리 채소(27.3%)로 반입되었다. 비전처리 채소는 채소표면에 붙어있는 흙과 비가식부위를 제거하지 않은 상태의 채소로 하였고 전처리 채소는 최소한의 전처리 과정을 거쳐 표면에 부착된 흙과 껍질부분을 제거하였거나, 이들 채소를 세척하여 포장한 것, 세척 후 채썰기나 반달썰기 등을 거쳐 직접 조리에 이용할 수 있도록 한 것의 세 종류로 구분하였다. 이들 전처리 채소들 중 썰기 과정까지 전처리 가공되어 급식소로 반입된 채소의 종류는 양배추, 당근, 양파, 호박, 오이, 무 등이었으며, 탈피과정까지 처리되어 포장된 채소류는 감자, 알감자, 밤 등으로 이들 제품은 진공포장된 상태로 반입되었다. 또한, 쪽파, 적양배추, 양상추 등은 외부의 껍질을 제거하여 표면에 부착된 흙이 거의 없는 상태로 공급되었다. 전체 식재료 중 육류는 3종(8.8%), 어패류는 4종(11.7%), 가공식품 재료 6종(17.6%)을 차지하였다(Table 1). 각각의 시료에서 일반세균수, 장내세균수, 대장균군수 및 대장균수를 조사한 결과, 대부분의 채소류에서 장내세균이 0.70~7.40 log CFU/g의 범위로 다양하게 나타났고 오염도가 높았다. 비전처리 채소 가운데 D, C, B 교의 싹채소(콩나물, 알팔파 싹, 숙주나물)는 각각 4.56, 6.56, 7.40 log CFU/g, A, G, E 교의 엽채류(쭈갓, 깻잎, 파슬리)는 각각 5.95, 6.08, 7.02 log CFU/g 수준으로 장내세균이 검출되었다. 또한 A, E, F, I, B 교의 육류(돼지고기, 쇠고기, 닭봉)에서 2.08~5.18 log CFU/g, C, F, D 교의 어류(고등어, 코다리, 동태)에서 2.20~4.14 log CFU/g 수준으로 장내세균이 검출되었다. H, E, I, J, F 교의 전처리 채소류(간알감자, 간감자, 간밤, 간당근, 간양파, 간쪽파)의 장내세균은 0.86~6.78 log CFU/g 수준으로 나타났다. 양념된 채소인 생채류(무생채, 오이무침, 청포묵무침)와 샐러드(과일샐러드, 싹샐러드)에서는 장내세균이 2.99~5.30 log CFU/g으로 검출되었고, 숙채류(숙주나물, 콩나물, 무청된장무침, 열갈이배추무침)에서는 장내세균이 2.45~4.24 log CFU/g 수준으로 검출되었다. 반 가공식품인 J교의 떡국떡, D교의 두부에서도 각각 0.72와 2.44 log CFU/g 수준으로 장내세균이

검출되었다. 대장균은 식재료 가운데 전처리 야채인 F교 쪽파에서 1건(1.74 log CFU/g), 비전처리 야채에서 J교의 방울토마토(3.70 log CFU/g), A교의 깻잎(3.59 log CFU/g)과 쭈갓(3.15 log CFU/g), C교의 미나리(0.20 log CFU/g), E교의 파슬리(3.00 log CFU/g) 등 5건이 검출되었고, 육류는 A교의 돼지고기(0.65 log CFU/g), F, I 교의 쇠고기(1.50, 0.20 log CFU/g), B교의 닭봉(1.78 log CFU/g)에서 검출되었다. 조리된 식품에서는 숙채류인 무청된장무침에서 1건(1.24 log CFU/g)이 검출되었다. 아울러, 조리된 식품 20종을 수거하여 일반세균, 장내세균, 대장균군, 대장균을 정량적으로 검출한 결과, 생채류 4종과 숙채류 6종, 코다리조림에서 대장균군이 1.15~4.72 log CFU/g 수준으로 검출되었으며, 무청된장무침에서 대장균이 1.24 log CFU/g 수준으로 검출되었다. 식재료로 공급된 오이(비전처리), 무(비전처리), 청포묵(가공식재료)에서 대장균군이 검출되지 않았으나 조리를 거친 후, 오이무침에서 2.70 log CFU/g, 무생채 2.60 log CFU/g, 청포묵무침 4.32 log CFU/g이 검출되어 조리과정 중에 교차오염이 일어난 것으로 판단된다. 또한, 가열처리 공정이 전혀 없는 과일샐러드와 새싹채소샐러드에서 대장균군이 3.94 log CFU/g과 4.72 log CFU/g 수준으로 검출되었다. 이 결과는 “학교급식 위생관리지침서(4)”의 학교식품의 미생물 권장허용치에서 제시한 “생채소와 과일이 함유된 음식”에서 제시하고 있는 미생물 권장허용치인 대장균 검출기준(1,000 CFU/g 이하)과 비교할 때, 청포묵무침, 과일샐러드, 새싹채소샐러드 등은 미생물적 품질 기준에 크게 미치지 못하는 것으로 나타났다. 또한, 식재료로 공급된 숙주와 콩나물에서는 대장균군이 6.50 log CFU/g과 5.08 log CFU/g 수준으로 각각 검출되었으나 이들 재료를 뜨거운 물에 데친 후 무쳐서 조리한 완제품인 나물류에서는 2.84 log CFU/g과 4.36 log CFU/g의 수준으로 대장균군이 검출되어 가열처리를 거친 후 조리한 음식에서도 미생물적 품질은 크게 향상되지 않은 것으로 나타났다. 더욱이, 열갈이 배추는 원재료에서 대장균군이 3.00 log CFU/g 수준으로 검출되었으나 배추를 데친 후 조리한 무침에서 대장균군이 3.88 log CFU/g 수준으로 검출되어 미생물적 품질이 오히려 저하된 결과를 나타냈으며, 졸면무침에서는 대장균군이 3.57 log CFU/g 수준으로 검출되어 “가열 조리 후 그대로 제공하는 음식”의 대장균 검출기준을 초과하는 것으로 나타났다. 아울러, 열무를 데쳐서 무친 열무된장무침에서는 대장균이 1.24 log CFU/g수준으로 검출되어 “학교급식 위생관리지침서(2004)”의 학교식품의 미생물 권장허용치에서 제시한 “가열 조리 후 그대로 제공하는 음식”의 대장균 검출수준(<10 CFU/g)을 넘어선 결과로서 조리식품의 미생물적 품질기준에 적합하지 않은 것으로 나타났다. 또한, 냉동 동태를 이용한 코다리장정에서는 원재료에서 대장균군이 4.06 log CFU/g이었으나 조리 후에는 1.15 log CFU/g 수준으로 검출되어 “학교급식 위생관리지침서(4)”의 학교식품의 미생물 권장허용치

Table 1. Microbiological results of food samples collected from 11 elementary schools in Seoul, Korea

Preparation method	Food		Bacterial counts (log CFU/g)			
			Total aerobic count	<i>Enterobacteriaceae</i>	Total coliform	Total <i>E. coli</i>
Raw material	Cucumber	A	4.45	2.04	N.D.	N.D. ¹⁾
		H	4.69	N.D.	N.D.	N.D.
	Onion	H	5.48	4.32	3.56	N.D.
		D	5.50	2.78	N.D.	N.D.
	Tomato	B	3.60	3.30	3.30	N.D.
	Currant tomato	E	3.82	N.D.	2.35	N.D.
		J	4.91	2.20	2.20	3.70
	Radish	K	5.41	2.00	N.D.	N.D.
	Carrot	G	4.88	4.45	4.34	N.D.
	Soybean sprouts	D	6.91	4.56	5.08	N.D.
	Mungbean sprouts	C	7.86	7.40	6.50	N.D.
	Sesame leaf	A	7.14	6.08	6.02	3.59
		G	6.35	5.39	3.54	N.D.
	Young chinese cabbage	K	7.56	5.74	3.00	N.D.
	Cabbage	G	3.37	1.90	N.D.	N.D.
	Lettuce	B	5.40	4.55	0.70	N.D.
	Dropwort	C	6.61	N.D.	3.48	0.20
	Crown daisy	A	7.58	7.02	5.00	3.15
	Parsley	E	6.86	5.95	5.16	3.00
	Alfalfa sprout	B	7.10	6.56	6.52	N.D.
	Seed potato (peeled)	H	5.01	4.15	3.56	N.D.
		J	7.17	6.78	6.00	N.D.
	Potato (peeled)	I	6.94	5.12	5.91	N.D.
		E	7.09	6.26	5.87	N.D.
	Chestnut (peeled)	E	7.62	6.52	6.40	N.D.
	Carrot (peeled)	I	4.54	2.90	4.02	N.D.
	Onion (peeled)	E	4.24	3.84	3.28	N.D.
		I	3.09	0.86	2.02	N.D.
	Green onion (peeled)	F	7.44	6.67	6.07	1.74
	Mung-bean jelly	A	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	Soybean curd	D	3.07	0.72	3.15	N.D.
	Pork	A	4.66	4.28	3.16	0.65
		E	5.52	3.92	2.70	N.D.
Beef	F	8.10	3.06	4.24	1.50	
	I	5.09	2.08	2.12	0.20	
Chicken	B	5.91	5.18	4.34	1.78	
Short-necked clam	H	4.81	3.60	N.D.	N.D.	
Dried Alaska pollack	F	5.45	4.14	4.06	N.D.	
Frozen pollack	D	5.44	2.20	3.40	N.D.	
Mackerel	C	3.70	2.43	1.30	N.D.	
Dumpling	J	4.48	5.48	N.D.	N.D.	
Chicken barbecue	G	4.17	N.D.	N.D.	N.D.	
Rice paper dumpling	I	4.86	0.08	0.50	N.D.	
Rounded rice cake (sliced)	J	3.46	2.44	3.36	N.D.	

Table 1. Continued

Preparation method	Food		Bacterial counts (log CFU/g)			
			Total aerobic count	Enterobacteriaceae	Total coliform	Total <i>E. coli</i>
	Fruit salad	E	5.98	4.28	3.94	N.D.
	Sprout salad	B	5.81	5.30	4.72	N.D.
	Korean radish salad	K	5.54	2.99	2.60	N.D.
	Korean cucumber salad	H	3.21	3.13	2.70	N.D.
	Seasoned mung-bean jelly	A	5.72	4.85	4.32	N.D.
	Seasoned mungbean sprout	C	5.59	3.37	2.84	N.D.
	Seasoned soybean sprout	D	5.03	2.45	4.36	N.D.
	Young radish leaf seasoned with soybean paste	F	6.41	4.24	3.30	1.24
	Young chinese cabbage seasoned with soybean paste	K	7.34	4.16	3.88	N.D.
	Cold noodle seasoned with red pepper paste	G	6.07	3.87	3.57	N.D.
Cooked	Beef steak, cooked	E	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	Chicken barbecue, cooked	G	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	Dried Alaska pollack boiled with spices	F	2.66	1.93	1.15	N.D.
	Steamed dumpling	J	2.70	N.D.	N.D.	N.D.
	Potato baked with butter	H	1.72	N.D.	N.D.	N.D.
	Fried mackerel	C	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	Fried rice paper dumpling	I	2.40	N.D.	N.D.	N.D.
	Fried chicken	B	0.70	N.D.	N.D.	N.D.
	Fried frozen pollack	D	2.19	N.D.	N.D.	N.D.
	Stir fried rice	I	1.85	N.D.	N.D.	N.D.

¹⁾N.D.: Not detected (10¹ dilution factor).

에서 제시한 “가열 조리 후 그대로 제공하는 음식”에서의 검출기준(대장균 100 CFU/g 이하)에 적합한 것으로 나타났다.

원·부재료 및 조리식품의 식중독균의 검출 및 확인 동정 결과

유전자분석법인 PCR검출법은 증균과정을 거치지 않고도 검출할 수 있을 만큼 검출민감도가 높으며, 시료전처리에서 확인까지 검출시간이 짧아 경제적이고, 시중에 판매되고 있는 시판식품이나 미생물오염이 의심되는 식품으로부터 신속하게 미생물을 검출하기 위한 모니터링 등에 유용하게 이용될 수 있다(6,7). 본 연구에서는 수거한 급식용 식재료와 조리식품에서 신속하게 식중독유발 가능성이 있는 미생물을 검색하기 위하여 8종의 미생물을 동시에 검색할 수 있는 프라이머 세트와 DNA를 추출하지 않는 방법을 적용하였다. 이 방법은 현장에서 수거한 많은 시료에 대한 1차 검색기능으로 사용할 수 있으며 오염여부가 판단된 시료에 대해 확인·동정 시험을 수행함으로써 시간 및 노동력을 크게 절감할 수 있다. 11개 초등학교 점심급식에 공급된 식품의 원재료(전처리 및 비전처리 식재료)와 이를 이용하여 조리한 식품들에서 8종의 식중독유발 세균인 *Salmonella* spp., *E. coli*

O157:H7, *L. monocytogenes*, *S. aureus*, *B. cereus*, *Campylobacter jejuni*(*C. jejuni*), *Vibrio parahaemolyticus*(*V. parahaemolyticus*), *Shigella* spp.를 Multiplex PCR로 검사한 결과를 Table 2와 Table 3에 나타냈다. 우선, 수거한 모든 식품에서 *Salmonella* spp., *V. parahaemolyticus*와 *S. aureus*는 검출되지 않았으나, *B. cereus*는 전처리 채소를 포함한 채소류와 조리된 식품 27종에서 검출되었다. *B. cereus*가 검출된 각각의 시료에서 정량 분석한 결과, 깻잎과 쪽파에서 각각 5.46과 3.48 log CFU/g 수준으로 검출되었다. 조리식품의 경우, A교의 청포묵무침에서 1.79 log CFU/g이 검출되었는데, A교의 청포묵 무침의 원재료인 청포묵에서는 *B. cereus*가 검출되지 않았으므로 무침에 넣은 깻잎이나 오이에 오염되어 있던 *B. cereus*가 교차오염된 것으로 판단된다. 또한, F교의 코다리 조림에서 검출된 *B. cereus*는 원재료인 코다리에서는 검출되지 않았으므로 쪽파의 *B. cereus*가 조리 마지막 과정에서 양념으로 첨가된 후 교차오염된 것으로 판단된다. *E. coli* O157:H7는 초등학교 E, F 교에서 수거한 냉동 쇠고기 시료에서 검출되었으며, 이를 API kit를 이용한 생화학적 방법으로 확인 동정한 결과, E교의 쇠고기

Table 2. Detection of food-borne pathogens by culture and/or PCR method

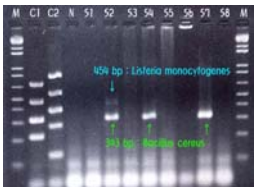
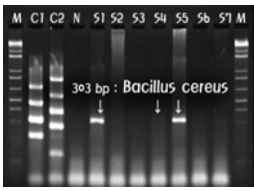
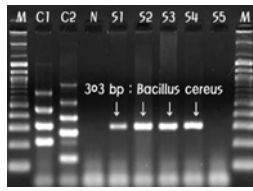
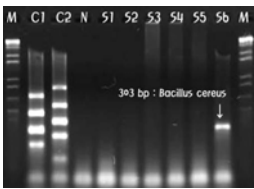
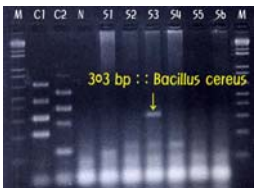
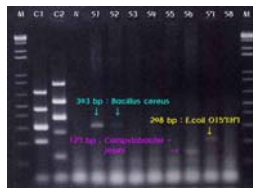
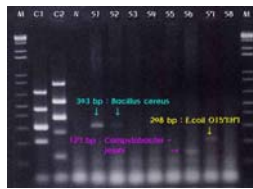
Preparation method	Food	School	Analyzed pathogen													
			<i>Salmonella</i> spp.		<i>B. cereus</i>		<i>E. coli</i> O157:H7		<i>S. aureus</i>		<i>L. monocytogenes parahaemolyticus</i>		<i>Shigella</i> spp.		<i>C. jejuni</i>	
			PCR	E ¹⁾	PCR	E ¹⁾	PCR	P/A ²⁾	PCR	E	PCR	P/A	PCR	P/A	PCR	P/A
Raw material	Beef (frozen)	F	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Beef (frozen)	E	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Sesame leaf	A	-	+	5.46	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Sesame leaf	G	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Cucumber	A	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Cucumber	H	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Cucumber	K	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Tomato	B	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Parsely	E	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Chinese cabbage	K	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Radish	K	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Currant tomato	E	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Seed potato(peeled)	H	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Potato (peeled)	J	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Carrot (peeled)	G	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Cooked	Onion (peeled)	E	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
	Onion (peeled)	I	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Green onion (peeled)	F	-	+	3.48	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Rounded rice cake (sliced)	J	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Short-necked clam	H	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Chicken barbecue	G	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Seasoned mung-bean jelly	A	-	+	1.79	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Seasoned soybean sprout	D	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Young radish leaf seasoned with soybean paste	F	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Chinese cabbage seasoned with soybean paste	K	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Rice paper dumpling	I	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
	Stir fried rice	I	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Dried Alaska pollack boiled with spices	F	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Steamed dumpling	J	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

¹⁾E: enumeration. ²⁾P/A: presence/absence. ³⁾*Enterobacteriaceae*.

Table 3. Confirmation of food-borne pathogens by biochemical and selective plate methods

		<i>E. coli</i> O157:H7				<i>L. monocytogenes</i>				<i>C. jejuni</i>					
School		E		F		I				E					
Sample		Beef (frozen)		Beef (frozen)		Fried rice paper dumpling (S2)				Onion (peeled) (S6)					
PCR						PCR				PCR					
SMAC						PALC-AM				--		--			
EMB						--		--		--		--			
API 20E						--		--		--		--			
<i>B. cereus</i>															
School		A				A				F					
Sample		Sesame leaf (S2)		Seasoned mungbean jelly (S5)		Seasoned mungbean jelly (S5)		Green onion (S2)		Green onion (S2)		Green onion (S2)			
PCR															
MYP															
API 50CHB															
<i>B. cereus</i> ¹⁾															
School		G		F				A							
Sample		Carrot (raw) (S1)	Chicken raw barbecue (S5)	Dried Alaska pollak boiled in soy with spices (S3)		Young radish seasoned with soybean paste (S4)		Cucumber (raw) (S3)		Cucumber (raw) (S3)		Cucumber (raw) (S3)			
PCR															

Table 3. Continued

School	I			J			K			
Sample	Rice paper dumpling (S2)	Onion (raw) (S4)	Stir fried rice (S7)	Rounded rice cake (sliced) (S1)	Potato (peeled) (S5)	Dumpling (S4)	Chinese cabbage (raw) (S1)	Chinese cabbage seasoned with soybean paste (S2)	Cucumber (raw) (S3)	Radish (raw) (S4)
PCR										
School	B		D		E					
Sample	Tomato (raw)		Seasoned bean sprout (S3)		Currant tomato (raw)		Parsely (raw)			
PCR										

¹⁾Samples only detected positive for *B. cereus* by PCR method.

시료는 장내세균(Table 3)으로 판명되었으며, F교의 최고기는 *E. coli*(93.7%)로 판명되었다. *L. monocytogenes*는 I교의 찜바튀김에서 미약한 수준으로 검출되었으나 선택배지(PALCAM)를 이용한 확인동정 시험에서는 의심집락이 나타나지 않았다. *C. jejuni*는 초등학교 E교에서 수건한 전처리된 간 양파에서 검출되었으나, 이에 대한 정량 및 확인실험은 수행하지 않았다.

본 연구에서 조사한 초등학교 학교급식에 공급된 식재료(34종)중에서 가장 많은 부분(22종)을 차지하고 있는 것이 채소류였다. 특히, 한국인의 부식 중에 소비량이 많은 오이, 상추, 깻잎, 무 등은 대부분 익히지 않고 그대로 먹는 비가열 식품으로 이들 식품원료의 미생물 오염이 조리한 이후에도 감소되지 않거나 가열한 식품에 교차오염되는 것으로 나타나 원·부재료인 채소류의 미생물적 품질관리가 무엇보다 중요한 것으로 나타났다.

최근, 즉석편이채소류 및 전처리채소류의 소비가 급증하고 있고 이에 대한 미생물적 품질관리의 중요성이 대두되고 있어 관련 연구도 활발히 이루어지고 있다. Kim 등(8)은 식용이 간편한 즉석섭취용 야채샐러드의 미생물적 품질을 조사하기 위하여 백화점, 대형할인점, 패밀리레스토랑에서 120품목의 시료를 수거하여 위생지표세균과 식중독 유발 미생물을 조사한 결과, 73품목에서 대장균군이 검출되었고(60.8%), 대장균이 17품목(14.2%), *S. aureus*가 3품목(2.5%), *Salmonella* spp.는 1품목(0.8%)이 검출되었다고 보고하였다. 또한, 가열과정이 없는 생채류의 경우 원재료의 미생물이 조리된 음식에 그대로 전이되므로 원재료의 구입에서 수세, 조리과정에 이르기까지의 철저한 위생관리가 요구되며,

식재료의 전처리 후 저장온도는 식품안전성에 영향을 미치게 되므로 철저한 온도관리가 요구된다고 보고하였다(9). Bae 등(10)은 건어물의 경우, 건조가공, 저장하는 동안 대부분이 공기에 노출되어 세균, 효모, 곰팡이 등에 오염되기 쉬우며 이들을 적절한 조리과정을 거치지 않을 경우, 조리된 식품에까지 존재할 수 있으며 타 조리식품에 교차오염을 시킬 수 있다고 지적하였다. Jeon과 Lee(11)는 학교급식소나 보육시설의 급식소에서 제공하는 세척·소독된 생채소류의 미생물적 품질이 낮았으며, 고춧가루, 마늘, 생강 등의 양념류의 원재료의 미생물 수치가 높게 나타났다. 또한, 가열조리 후 처리과정이나 비가열 조리과정의 경우 식재료 뿐 아니라 용기나 손에 의한 교차오염이 심각한 수준이었고, 별도의 가열조리 공정 없이 조리되는 진미채무침의 경우 검수단계에서 일반세균수가 기준치를 훨씬 초과하는 것으로 보고하였다. Tessi 등(12)은 샐러드를 조리하여 실온에서 개방된 용기에 담아두었다가 2시간 후에 제공하는 경우, 주방의 온도가 31°C임을 감안할 때 식중독 유발미생물의 증식과 포자형성 미생물의 발아(germination)에 적합한 조건이 되므로, 샐러드(숙채 및 생채)의 조리 후에 1시간 내에 빠르게 온도를 낮추거나 4°C 이하에서 보관하는 것이 바람직하다고 보고하였다. 또한, Sagoo 등(13)은 영국에서 조사한 ready-to-eat(RTE) salad vegetable 중 67%에서 *Enterobacteriaceae*가 검출되었고, 33%의 RTE salad vegetables에서 *Enterobacteriaceae*가 10⁴ CFU/g 이상으로 검출되었다고 보고하였다. 또한, *E. coli*는 7%에서 검출되었고 3%에서는 *E. coli*가 10² CFU/g 이상 검출되었으나 장내세균은 채소류에 정상적으로 존재하는 균임을 고려할 때 채소류에서 장내

세균의 기준치를 제시하는 것은 어렵기 때문에 대신 분변오염의 지표인 *E. coli*를 기준으로 채소류의 교차오염과 위생적 품질을 판단해야 한다고 지적하였다. 아울러, 양념과 이들 양념이 첨가된 즉석식품에 대한 미생물적 품질을 조사한 연구에서 수거한 750종의 양념류에서 2% 이상이 $\geq 10^5$ CFU/g 수준의 *B. cereus*와 *Bacillus* spp.가 검출되어 미생물적 품질이 불량한 것으로 나타났고, 이들이 첨가된 즉석식품에서도 $\geq 10^4$ CFU/g의 높은 수준으로 *B. cereus*가 검출되었음을 보고하였다(14). 또한, 이러한 양념들은 조리된 식품의 마지막 단계에서 첨가되어 더 이상의 열처리나 조리과정을 거치지 않기 때문에 교차오염에 의한 식중독 유발가능성이 있다고 지적하였다(14-16). 양념류는 조리식품에 소량을 첨가하여 맛을 내는데 사용되지만 조리식품에서의 *B. cereus*의 검출수준이 $\geq 10^4$ CFU/g의 높은 수준으로 나타나는 것은 적절하지 못한 온도(8°C 이상)에서 오랫동안 보관하는 동안 미생물의 증식에 기인하는 것으로 지적되어(14) 조리된 식품의 배식전 관리가 매우 중요함을 알 수 있다. 또한, 높은 수준으로 오염된 장내세균(*Enterobacteriaceae*), *E. coli*, *Bacillus* spp.는 조리 마지막 단계(post-cooking)에서 교차오염의 소지가 높으며, 이 단계에서 미생물의 증식을 억제하기 위해서는 적절한 온도관리가 필요하다고 지적하고 있다(14). *E. coli* O157:H7은 1990년대 중반부터 지난 10년 동안 19건이 발생하였으며, 일본의 경우 1996년 학교급식에 제공된 썩채소에서 비롯된 *E. coli* O157:H7에 의해 사상 최대의 식중독 사고가 발생하여 이를 법정 전염병으로 지정하였다. 일본 농림수산성은 *E. coli* O157:H7에 의한 집단 식중독의 재발을 막기 위해 식품제조업과 수경재배 농업, 축산업 등 식품 생산 현장에 HACCP 제도를 도입하여, 1회 300식 이상 또는 1일 700식 이상의 대량조리 시설에 HACCP 제도 적용을 위한 'HACCP 개념에 근거한 대량조리시설 위생관리매뉴얼'을 개발해 1997년부터 적용 실시하고 있다(17). 현재, 국내에서는 비 전처리 혹은 전처리 식재료에 대한 미생물적 품질기준은 제시된 바 없으며, 식품공전의 식품별 기준 및 규격에서 일부 가공식품(식육제품 포함)의 미생물적 품질기준을 규정하고 있다(18). 식품재료 및 조리식품에서의 미생물적 품질 기준을 마련하기 위해서는 우선 각종 식품에서의 식중독 유발 미생물을 정량적으로 분석한 결과와 위해평가를 실시한 연구결과가 필요하며 이와 관련해서 최근 활발한 연구(19,20)가 진행되고 있다. 이상에서 많은 연구자들이 제시한 바와 같이 학교급식소에서의 원료 식재료의 품질이 궁극적으로는 조리식품의 품질과 안전성을 결정하게 되므로 안전하고 고품질의 식재료를 구매하는 것이 바람직하다고 판단된다.

요 약

학교급식에 공급되는 식재료와 이를 이용하여 조리한 식

품에 대한 미생물적 품질검사를 위하여 2005년 6월~7월, 9월~10월의 2회로 나누어 서울시에 위치한 초등학교 11개 교에서 원료 식재료와 이를 이용하여 조리한 식품시료(54종 64품목)를 수거하였다. 수거한 시료 중 장내세균은 전처리 채소에서 0.86~6.78 log CFU/g, 육류(돼지고기, 쇠고기, 닭봉)에서 2.08~5.18 log CFU/g, 어류(고등어, 코다리, 동태)에서 2.20~4.14 log CFU/g 수준으로 검출되었다. 양념된 채소인 생채류와 샐러드에서 2.99~5.30 log CFU/g, 숙채류에서는 2.45~4.24 log CFU/g 수준으로 검출되었다. 반 가공식품인 J교의 떡국떡, D교의 두부에서도 각각 0.72와 2.44 log CFU/g의 장내세균이 검출되었다. 대장균은 전처리 야채인 쪽파(1.74 log CFU/g), 비전처리 야채에서 방울토마토(3.70 log CFU/g), 깻잎(3.59 log CFU/g), 쪽갓(3.15 log CFU/g), 미나리(0.20 log CFU/g), 파슬리(3.00 log CFU/g) 등 5건이 검출되었고, 육류는 돼지고기(0.65 log CFU/g), 쇠고기(0.20~1.50 log CFU/g), 닭봉(1.78 log CFU/g)에서 검출되었다. 조리된 식품에서는 숙채류인 무청된장무침에서 1건(1.24 log CFU/g)이 검출되었다. 다중검출 유전자분석법(Multiplex PCR)을 이용한 유전자분석방법으로 *Salmonella* spp., *E. coli* O157:H7, *L. monocytogenes*, *S. aureus*, *B. cereus*, *C. jejuni*, *V. parahaemolyticus*, *Shigella* spp. 8종을 검출하여 확인한 결과, 8건의 조리된 음식과 식재료 19건에서 *B. cereus*가 검출되었다. 검출된 *B. cereus*의 정량검사 결과, 깻잎 5.46 log CFU/g, 청포묵무침 1.79 log CFU/g, 쪽파(전처리) 3.48 log CFU/g 수준으로 검출되었다. 조리식품인 청포묵무침과 코다리조림은 원료에서는 검출되지 않았으나 조리된 식품에서 *B. cereus*가 검출되어 조리과정에서의 교차오염으로 판단되었다. *E. coli* O157:H7은 냉동쇠고기에서 2건이 검출되었고 1건이 API kit로 확인 동정(93.7%)되었다. *L. monocytogenes*는 유전자분석결과 튀김 1건에서 검출되었으나 전통적인 배지법으로 확인 실패한 결과, 의심 집락은 확인할 수 없었다. 또한, *C. jejuni*는 전처리한 양파에서 검출되었다.

문 헌

1. Ministry of education and human resources development (MOE). 2006. <http://www.moe.go.kr/main.jsp?idx=0306010101&pageSize=10&cp=1&mode=list>. Korea
2. Korea Food & Drug Administration (KFDA). 2006. <http://fm.kfda.go.kr>. Korea
3. 개정 학교급식법령. 2007. 법률 제7962호. 교육인적자원부
4. Ministry of education and human resources development (MOE). 2004. Manual for Safety Management in School Food Service (11-1340000-000185-14). Seoul, Korea. p 27-38.
5. Yoo HC, Park HK, Kim K. 2000. Microbiological hazard analysis for prepared foods and raw materials of foodservice operations. *Korean J Dietary Culture* 15: 123-137.
6. Moon GS, Kim WJ, Shin WS. 2003. Development of detection sensitivity of *Listeria monocytogenes* using crude ped-

- iocin-1 by polymerase chain reaction (PCR). *Food Sci Biotechnol* 12: 435-438.
7. Moon GS, Kim WJ, Shin WS. 2004. Optimization of rapid detection of *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes* by PCR and application to field test. *J Food Prot* 67: 1634-1640.
 8. Kim JS, Bang OK, Chang HC. 2004. Examination of microbiological contamination of ready-to-eat vegetable salad. *J Fd Hyg Safety* 19: 60-65.
 9. Kim HY, Cha JM. 2002. A study for the quality of vegetable dishes without heat treatment in foodservice establishments. *Korea J Soc Food Cookery Sci* 18: 309-318.
 10. Bae HJ, Lee JH, Oh SI. 2003. Effect of applying pretreatment methods before cooking for decreasing the microbiological hazard of cooked dried fish in foodservice establishments. *Korean J Soc Food Cookery Sci* 19: 555-561.
 11. Jeon IK, Lee YK. 2004. Verification of the HACCP system in school foodservice operations—Focus on the microbiological quality of foods in non-heating process. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 33: 1154-1161.
 12. Tessi MA, Aringoli EE, Pirovani ME, Vincenzini AZ, Sabbag NG, Costa SC, Garcia CC, Zannier MS, Silva ER, Moguilevsky MA. 2002. Microbiological quality and safety of ready-to-eat cooked foods from a centralized school kitchen in Argentina. *J Food Prot* 65: 636-642.
 13. Sagoo SK, Little CL, Mitchell RT. 2003. Microbiological quality of open ready-to-eat salad vegetables: effectiveness of food hygiene training of management. *J Food Prot* 66: 1581-1586.
 14. Littel CL, Omotoye R, Mitchell RT. 2003. The microbiological quality of ready-to-eat foods with added spices. *Int J Environ Health Research* 13: 31-42.
 15. Lehmacher A, Bockmuhl J, Aleksic S. 1995. Nationwide outbreak of human Salmonellosis in Germany due to contaminated paprika and paprika powdered potato chips. *Epidemiol Infect* 115: 501-511.
 16. Cameron G. 1998. Need to consider *Bacillus subtilis* as a cause of food poisoning. *N Zealand Pub HealthRep* 5: 11.
 17. Michino H, Araki K, Minami S, Takaya S, Sakai N, Miyazaki M. 1999. Massive outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infection in school children in Sakai City, Japan, associated with consumption of white radish sprouts. *Am J Epidemiol* 150: 797-803.
 18. Korea Food and Drug Administration (KFDA). 2005. Food Code. Korea.
 19. Kwak HS, Whang IK, Park JS, Kim MK, Lee KY, Gho YH, Bae YY, Moon SY, Byun JS, Kwon KS, Woo GJ. 2006. Quantitative evaluation of foodborne pathogenic bacteria in commercial Sangsik. *J Fd Hyg Safety* 21: 41-46.
 20. Bae HJ, Park HJ. 2007. Hazard analysis of *Staphylococcus aureus* in ready-to-eat sandwiches. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 36: 930-943.

(2007년 9월 11일 접수; 2008년 2월 18일 채택)