

국내 유통중인 유기농 채소류의 미생물 분포도 분석

정규석^{1,2*} · 노은정¹ · 류경열¹ · 김원일¹ · 박경훈¹ · 이동환¹ · 김계훈² · 윤종철¹ · 허성기¹

¹농촌진흥청 국립농업과학원, ²서울시립대학교 환경원예학과

Monitoring of Pathogenic Bacteria in Organic Vegetables from Korean Market

Kyu-Seok Jung^{1,2*}, Eun-Jung Roh¹, Kyung-Yeol Ryu¹, Won-Il Kim¹, Kyeong-Hun Park¹,
Dong-Hwan Lee¹, Kye-Hoon Kim², Jong-Chul Yun¹, and Sung-Gi Heu¹

¹National Academy of Agricultural Science, Suwon 441-707, Korea

²Dept. of Environmental Horticulture, The University of Seoul, Seoul 130-743, Korea

This study was undertaken to assess the microbiological quality and prevalence of pathogens in organic vegetables produced in Korea. A total of 189 organically grown vegetable samples (perilla leaf 50, lettuce 50, tomato 39, cucumber 50) were analyzed for the presence of aerobic plate count, *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, and *Yersinia enterocolitica*. The total aerobic plate counts were in the range of 4.2 to 7.7 log CFU g⁻¹ for perilla leaf, 5.0 to 8.0 log CFU g⁻¹ for lettuce, 4.0 to 7.5 log CFU g⁻¹ for tomato, and 6.6 to 8.6 log CFU g⁻¹ for cucumber. The highest counts were found in cucumber. *E. coli* O157:H7, *Salmonella* spp., *S. aureus*, *L. monocytogenes*, and *Y. enterocolitica* were not detected from any organically grown vegetable samples. This research suggests that continuous monitoring in organic vegetables is required to improve fresh produce safety.

Key words: Organic vegetables, *Salmonella* spp, *E. coli* O157:H7, Microbiological quality

서 언

최근 웰빙문화와 개인건강유지가 사회적 화두로 떠오르면서 소비자들은 특별한 열처리가 필요 없거나 간단한 열처리 등으로 최소 가공된 ready-to-eat 형태의 식품을 선호하는 경향이 증가하고 있다 (Ahn et al., 1999). 즉, 우리의 음식문화인 찜이나 서구화된 식탁에 등장한 샐러드 등 여러 종류의 채소를 가열, 조리하지 않은 채로 생식하는 일이 많아진 것이다 (Jung et al., 2006). 대표적인 비가열 농식품으로 곡류, 과채류, 엽채류 등을 들 수 있는데 이들 식품은 가열 가공공정을 거치지 않으므로 여러 가지 생리기능성이 높아지는 반면 농식품 내에 존재하는 미생물 또한 그대로 유지될 수 문제점을 내포하고 있다. 외국의 농산물 식중독 사고에서 알 수 있듯이 과일 및 채소와 같은 신선 농산물은 수확 후 소비되는 과정의 여러 단계에서 병원성 미생물을 포함한 다양한 미생물에 오염될 수 있다 (Kang et al., 2011). Beuchat (1996)은 최근 건강과 신선 식품에 대한 소비자의 관심이 지속적으로 증가하면서 신선 농산물의 병원성 미생물과 관련된 식중독 사고가 더욱 증가하는 경향을 보이고 있다고

하였다. 미국의 경우 1990년부터 2001년 사이에 오염된 신선 채소 등으로 인한 식중독 사고는 총 148건으로 이는 모든 식중독 사고 중 9%에 해당된다고 하였다 (Smith et al., 2011).

한국의 신선편의용 농산물 시장 규모는 5,900~6,900억원으로 전체 농산물 시장의 3.3~3.9% 수준으로 추정되고 있다 (Lee et al., 2009). Kim et al. (2004)은 유기농 채소의 소비가 꾸준히 증가하고 있어 유기농 식품의 시장 규모가 매년 20% 이상의 증가율을 보이며 성장하고 있다고 하였다. 현재 국내의 유기농 시장은 진입단계에 있으나 수요가 큰 외식산업 및 단체급식시장이 확대됨에 따라 점차 그 규모가 증가할 것으로 예상된다. 최근 신선 채소나 과일 등으로 인한 식중독 사고 발생이 증가하고 있는데 그 중 가축분 퇴비로 재배한 유기농 농식품의 미생물 안전성에 대한 문제가 부각되고 있다 (Stephenson, 1997). Lammerding (1997)은 유기농 채소의 경우 재배과정에서 농약과 화학비료를 사용하지 않기 때문에 유해 미생물의 오염도가 증가할 것으로 우려되고 있다. 유기농산물과 관행농산물을 비교하였을 때 유기농산물이 관행농산물보다 *Escherichia coli*의 오염도가 높게 관찰되었다 (Bohaychuk et al., 2009). Burnett et al. (2001)은 채소나 과일은 병원성 미생물에 의해 오염될 수 있는데 그 오염 원인으로는 토양, 가축분뇨, 관개수, 먼지, 미숙퇴비 등을

접수 : 2012. 7. 6 수리 : 2012. 8. 14

*연락처 : Phone: +82312900458

E-mail: win258@korea.kr

들 수 있다고 하였다. 식중독 사고를 일으키는 주요 병원성 미생물로는 *Salmonella* spp., *Escherichia coli* O157:H7, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Yersinia enterocolitica* 등이 있다.

우리나라는 농산물에 대한 병원성 미생물 관리기준이 없는 실정인데 유통단계에서 유기농산물의 병원성 미생물 오염실태를 파악하는 것은 농산물의 안전성을 확인하는데 있어 매우 중요하다고 할 것이다. 이에 본 연구는 국내 유통 중인 유기농 채소류에서의 병원성 미생물의 존재 유무를 확인하여 식중독균에 대한 잠재적인 위험성을 평가하는 기초 자료 확보를 위하여 수행하였다.

재료 및 방법

검체 채취 대상 및 방법 2011년 6월 서울과 경기도 소재 백화점과 대형 할인마트에서 유통되는 상추 (50점), 깻잎 (50점), 오이 (50점), 토마토 (39점) 등의 유기농 채소 189점을 구입하였다. 채취된 시료는 냉장상태로 보관하여 실험실로 운반한 후 냉장보관하면서 24시간 이내에 실험을 실시하였고 총 호기성균, *Salmonella* spp., *E. coli* O157:H7, *S. aureus*, *L. monocytogenes*, *Y. enterocolitica*의 정성적 분석을 수행하였다.

대상균주의 분리 및 동정방법 일반 세균의 분리는 채취한 시료를 균질화한 뒤 25 g을 취해서 buffered peptone water (Difco Co., Detroit, MI, USA) 225 mL이 담긴 멸균 stomacher bag에 넣은 후 stomacher (easyMIX, AES CHEMUNEX, France)로 2분 동안 균질화 하였다. 균질화된 시료는 9 mL의 buffered peptone water (Difco)를 이용하여 10배씩

연속 희석하였다. 이때 각 시료는 증균 과정 없이 직접 petrifilm™(3M, St. Paul, MN, USA)에 1 mL을 분주한 후 37°C에서 24시간 배양 후 생성된 붉은 집락수를 계수하고 평균 집락수에 희석배수를 곱하여 균수를 산출하였다. 병원성 미생물은 *Salmonella* spp., *E. coli* O157:H7, *S. aureus*, *L. monocytogenes*, *Y. enterocolitica* 등을 조사하고 식품공전법에 준하여 실험을 실시하였다. 채취한 시료를 무균적으로 균질화한 뒤 25 g을 취해서 각각의 증균 배양액 225 mL에 넣은 뒤 18~24시간 배양하였다. 선택배양은 증균 배양액 10 µL를 취해서 각 선택배지에 도말하고 18~24시간 배양하였다. 의심집락은 API test (bioMerieux, Marcy l'Etoile, France), Latex test (Oxoid Ltd., Hampshire, UK), PCR, 16S rRNA sequencing을 수행하여 동정하였다. Table 1은 각각의 병원성 세균의 분리 및 동정에 이용한 배지 및 방법을 보여주고 있다.

통계 처리 분석된 모든 결과들에 대해서는 SPSS 통계처리 프로그램 version 11을 사용하여 통계분석하였다. 통계분석은 ANOVA 프로그램의 Tukey's test으로 $p < 0.05$ 의 수준에서 통계학적 유의성을 검증하였다.

결과 및 고찰

유기농 채소류의 일반 세균수 분석 수거한 유기농 채소류 각각에 대한 일반 세균수를 조사한 결과는 Table 2와 같다. 유기농 채소류 4종의 일반 세균수 수준을 비교한 결과 오이의 일반 세균수 수준이 가장 높았고, 토마토의 일반 세균수는 가장 낮았다. 유기농 채소 중 깻잎의 일반 세균수는 평균 7.0 log CFU g⁻¹, 범위 4.2~7.7 log CFU

Table 1. Selective broth, selective agar and confirmation protocols for qualitative analysis of foodborne pathogens.

Pathogens	Enrichment broth (Incubation interval)	Selective agar	Confirmation
<i>Salmonella</i> spp.	Lactose broth (37°C, 24 hr) & Rappaport-Vassiliadis medium (42°C, 24 hr)	Xylose lysine deoxycholate agar (XLD)	Latex Coagulation Test & API 20E Test & PCR
<i>Escherichia coli</i> O157:H7	mEC media (37°C, 24 hr)	Macconkey sorbitol agar	Latex Coagulation Test & PCR
<i>Staphylococcus aureus</i>	Mannitol salt agar with egg yolk (37°C, 24 hr)	Baird-Parker agar	API 20E Test & PCR
<i>Listeria monocytogenes</i>	UVM-modified <i>Listeria</i> enrichment broth(37°C, 24 hr) & Fraser <i>Listeria</i> broth (37°C, 24 hr)	Oxford agar base / Oxford supplement	API <i>Listeria</i> Test & PCR
<i>Yersinia enterocolitica</i>	Peptone sorbitol bile broth (10°C, 10 d)	CIN agar / CN supplement	API 20E Test & PCR & 16S rRNA

Table 2. Population of total aerobic bacteria for organic vegetables.(Unit: log CFU g⁻¹)

Vegetables	Total aerobic bacteria		
	Mean	Minimum	Maximum
Perilla leaf	7.0 ± 0.74 ^a	4.2	7.7
Lettuce	6.2 ± 1.00 ^b	5.0	8.0
Tomato	5.6 ± 1.12 ^c	4.0	7.5
Cucumber	7.4 ± 0.35 ^a	6.6	8.6

Table 3. Incidence of food-borne pathogens from organic vegetables.

Vegetables	n [†]	Food-borne pathogens				
		<i>Salmonella</i> spp.	<i>E. coli</i> O157:H7	<i>S. aureus</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>Y. enterocolitica</i>
Perilla leaf	50	ND [‡]	ND	ND	ND	ND
Lettuce	50	ND	ND	ND	ND	ND
Tomato	39	ND	ND	ND	ND	ND
Cucumber	50	ND	ND	ND	ND	ND

[†]Number of samples analyzed[‡]ND = not detected

g⁻¹, 상추는 평균 6.2 log CFU g⁻¹, 범위 5.0~8.0 log CFU g⁻¹, 토마토는 평균 5.6 log CFU g⁻¹, 범위 4.0~7.5 log CFU g⁻¹, 오이는 평균 7.4 log CFU g⁻¹, 범위 6.6~8.6 log CFU g⁻¹ 였다. Bae et al. (2011)은 유기농 깻잎의 일반 세균수는 5.0~7.8 log CFU g⁻¹, 유기농 상추는 6.0~7.7 log CFU g⁻¹, 일반 농산물은 3.7~8.0 log CFU g⁻¹ 라고 하였는데 일반 세균수에서 관행 농산물과 유기농산물의 유의적 차이는 나타나지 않았다. 당근, 상추, 감자, 오이 등의 유기농 채소 미생물 오염도를 조사한 결과에서 일반 세균수는 4~6 log CFU g⁻¹ 수준을 확인하였고 (Cho et al., 2004), Nguz et al. (2005)은 콩, 당근, 완두 등의 유기농 채소에서 일반 세균수가 3.0~9.7 log CFU g⁻¹ 수준으로 검출된다고 하였으며, Oliveira et al. (2010)은 유기농 상추에서 일반 세균수가 5~7 log CFU g⁻¹ 수준을 보인다고 하였다. 본 연구에서도 유기농산물이 관행농산물과 비슷한 수준을 보여 미생물 오염측면에서 안전하다고 판단된다.

유기농 채소류의 병원성 미생물 오염분석 유기농 채소류의 병원성 미생물을 검출하기 위하여 각 시료를 selective enrichment broth와 selective agar에서 배양하고, 배양 후 selective agar에서 의심되는 집락은 PCR, 16s rRNA sequencing으로 확인하였다. 그 결과 유기농 채소에서 *Salmonella* spp., *E. coli* O157:H7, *S. aureus*, *L. monocytogenes*, *Y. enterocolitica* 등은 검출되지 않았다 (Table 3). Cho et al. (2011)은 유기농 상추, 깻잎, 고추 등에서 *Salmonella* spp., *L. monocytogenes*, *Vibrio parahaemolyticus* 등의 병원성 미생물은 검출되지 않았다고 하였고 Bae et al. (2011)은 유기농상추와 깻잎에서 *Salmonella* spp., *E. coli* O157:H7,

S. aureus, *Cronobacter sakazakii* 등이 검출되지 않았다고 하였는데 본 결과와 비슷하였다. 특히 *L. monocytogenes*는 패혈증과 뇌막염을 일으킬 수 있는 심각한 질병인 리스테리아 식중독을 일으킬 수 있는 세균성 식중독인데 (Wher, 1987), 4°C 정도의 냉장 온도에서도 증식이 가능하므로 저온 상태로 유통되는 채소를 매개체로 식중독을 일으킬 수 있다 (Donnelly et al., 1986). 그러나 본 결과에서 *L. monocytogenes*는 전혀 검출되지 않았다.

상추를 대상으로 유기농산물과 관행농산물의 비교에서 유기농산물이 관행농산물보다 일반세균, 대장균 등이 좀 더 높게 검출되고, *Salmonella* spp., *E. coli* O157:H7, *L. monocytogenes* 등은 어떤 농산물에도 검출이 안 된다고 보고하였고 (Oliveira et al., 2010), Mukherjee et al. (2004)은 관행 상추보다 유기농 상추에서 대장균이 더 많이 검출되고 *Salmonella* spp.는 검출되지 않았다고 하였다. 반대로 Loncarevic et al. (2005)은 유기농 상추에서 관행 상추보다 대장균이 더 적게 검출되고, *Salmonella* spp., *E. coli* O157:H7 등은 검출이 안 된다고 보고하였고, Bohaychuk et al. (2009)은 대장균을 대상으로 유기농산물과 관행농산물 비교에서 통계적으로 유의한 차이가 없다고 하였다. 또한 다양한 유기농산물에서 *Salmonella* spp.를 조사한 결과 전혀 검출이 안 된다고 하였다 (Sagoo et al., 2001). 본 실험결과와 다양한 연구결과로 보았을 때 유기농산물에서 병원성 미생물의 오염수준은 극히 낮다고 생각되며 일반 세균수와 대장균은 샘플수와 시료채취 시기 등에 따라 균수에 차이가 있을 수 있다고 생각한다.

본 연구는 한국에서 유통되는 유기농 채소의 병원성 미생물 오염실태를 조사하여 유기농 채소의 미생물학적 안전

성을 평가하는 기초자료로 활용하고자 수행되었다. 그 결과 일반 세균수는 관행 농산물과 비슷한 수준을 보였으며 병원성 미생물은 전혀 검출되지 않았기 때문에 식중독균 오염수준은 현저히 낮을 것이라고 생각한다. 또한 유기농산물의 미생물학적 위해평가의 기초자료 확보를 위해서는 지속적인 병원성 미생물 실태조사가 필요하다고 생각한다.

요 약

최근에 건강식품의 선호에 따라 신선 채소류 등의 소비가 증가하면서 농산물의 안전성에 대한 관심이 점점 증가하고 있다. 이에 본 연구는 국내 유통 중인 유기농 채소류를 구입하여 총균수, *Salmonella* spp., *E. coli* O157:H7, *S. aureus*, *L. monocytogenes*, *Y. enterocolitica* 등의 병원성 미생물의 오염도를 분석하고 유기농산물의 식중독균에 대한 잠재적인 위험성을 평가하는 기초자료에 도움을 주고자 수행하였다. 유기농 채소류 4종의 일반 세균수 수준을 비교한 결과 오이의 일반 세균수 수준이 가장 높았고, 토마토의 일반 세균수는 가장 낮았다. 유기농 채소 중 깻잎의 일반 세균수는 $4.2 \sim 7.7 \log \text{CFU g}^{-1}$, 상추는 $5.0 \sim 8.0 \log \text{CFU g}^{-1}$, 토마토는 $4.0 \sim 7.5 \log \text{CFU g}^{-1}$, 오이는 $6.6 \sim 8.6 \log \text{CFU g}^{-1}$ 범위였다. 유기농 채소에서 *Salmonella* spp., *E. coli* O157:H7, *S. aureus*, *L. monocytogenes*, *Y. enterocolitica* 등은 검출되지 않았다. 일반 세균수는 관행 농산물과 비슷한 수준을 보였으며 병원성 미생물은 전혀 검출되지 않았기 때문에 식중독균 오염수준은 극히 낮을 것이라고 생각한다. 그런데 오염될 수 있는 가능성이 있으므로 생산, 유통 단계에서 주의 깊은 관리가 필요하다고 판단된다.

사 사

본 연구는 농촌진흥청의 지원(PJ008513)에 의해 이루어진 것임.

인 용 문 헌

Ahn, Y.S. and D.H. Shin. 1999. Antimicrobial effects of organic acids and ethanol on several foodborne microorganism. Korean J. Food Sci. Technol. 31:1315-1323.
 Bae, Y.M., Y.J. Hong, D.H. Kang, S.G. Heu, and S.Y. Lee. 2011. Microbial and pathogenic contamination of ready-to-eat fresh vegetables in Korea. Korean J. Food Sci. Technol. 43:161-168.
 Beuchat, L.R. 1996. Pathogenic microorganisms associated with fresh produce. J. Food Prot. 59:204-216.

Bohaychuk, V.M., R.W. Bradbury, R. Dimock, M. Fehr, G.E. Gensler, R.K. King, R. Rieve, and P.R. Barrios. 2009. A microbiological survey of selected Alberta-grown fresh produce from farmers' markets in Alberta, Canada. J. Food Prot. 72:415-420.
 Burnett, S.L. and L.R. Beuchat. 2001. Human pathogens associated with raw produce and unpasteurized juices, and difficulties in decontamination. J. Industrial Micro. & Biotech. 27:104-110.
 Cho, J.I., G.J. Bahk, K.S. Kim, and S.D. Ha. 2004. Microbial assessment of wild cabbage and its control. Korean J. Food Sci. Technol. 36:162-167.
 Cho, M.J., A.R. Jeong, H.J. Kim, N.R. Lee, S.W. Oh, Y.J. Kim, H.S. Chun, and M.S. Koo. 2011. Microbiological quality of fresh-cut produce and organic vegetables. Kor. J. Food Sci. Technol. 43:91-97.
 Donnelly, C.W. and E.H. Briggs. 1986. Psychrotropic growth and thermal inactivation of *Listeria monocytogenes* as a function of milk composition. J. Food Prot. 49:994-998.
 Jung, S.H., M.J. Hur, J.H. Ju, K.A. Kim, S.S. Oh, J.M. Go, Y.H. Kim, and J.S. Im. 2006. Microbiological evaluation of raw vegetables. Korean J. Fd. Hyg. Safety 21:250-257.
 Kang, T.M., S.K. Cho, J.Y. Park, K.B. Song, M.S. Chung, and J.H. Park. 2011. Analysis of microbial contamination of sprouts and fresh cut salads in a market. Korean J. Food Sci. Technol. 43:490-494.
 Kim, D.M. and S.I. Hong. 2004. Current status and prospect of fresh-cut produce in Korea. Food Preserv. Proc. Ind. 4:41-61.
 Lammerding, A.M. 1997. An overview of microbial food safety risk assessment. J. Food Prot. 60:1420-1425.
 Lee, Y.S., S.H. Kim, and D.H. Kim. 2009. Current status of fresh-cut market in Korea and stimulus measures. Korea Rural Economic Institute Report. 602:16-19.
 Loncarevic, S., G.S. Johannessen, and L.M. Rorvik. 2005. Bacteriological quality of organically grown leaf lettuce in Norway. Lett. Appl. Microbiol. 41:186-189.
 Mukherjee, A., D. Speh, E. Dyck, and F. Diez-Gonzalez. 2004. Preharvest evaluation of coliforms, *Escherichia coli*, *Salmonella*, and *Escherichia coli* O157:H7 in organic and conventional produce grown by Minnesota farmers. J. Food Prot. 67:894-900.
 Nguz, K., J. Shindano, S. Samapundo, and A. Huyghebaert. 2005. Microbiological evaluation of fresh-cut vegetables produced in Zambia. Food Control. 16:623-628.
 Oliveira, M., J. Usall, I. Vinas, M. Anguera, F. Gatiús, and M. Abadias. 2010. Microbiological quality of fresh lettuce from organic and conventional production. Int. J. Food Microbiol. 27:679-684.
 Sagoo, S.K., C.L. Little, and R.T. Mitchell. 2001. The microbiological examination of ready-to-eat organic vegetables from retail establishments in the United Kingdom. Lett.

- Appl. Microbiol. 33:434-439.
- Smith, D.W., C.K. Barlow, L. Alderton, and M.F. Jacobson. 2011. Outbreak alert! Center for Science in the Public Interest. Available at: http://www.cspint.org/reports/outbreak_report.pdf Accessed Aug. 15.
- Stephenson, J. 1997. New approaches for detecting and curtailing foodborne microbial infections. J. American Med. Association. 277:1337-1339.
- Wher, M.H. 1987. *Listeria monocytogenes*-A current dilemma. J. Assoc. Off. Anal. Chem. 70:769.