

## 유통 중인 어린잎채소의 미생물 오염도 조사

김세리<sup>1</sup> · 추현진<sup>1</sup> · 이승원<sup>1</sup> · 장운정<sup>1</sup> · 심원보<sup>2</sup> · 응웬바오흥<sup>1</sup> · 김원일<sup>1</sup> · 김현주<sup>1</sup> · 류경열<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>농촌진흥청 국립농업과학원 농산물안전성부, <sup>2</sup>경상대학교 농화학식품공학과

### Investigation of Hazardous Microorganisms in Baby Leafy Vegetables Collected from a Korean Market and Distribution Company

Se-Ri Kim<sup>1</sup>, Hyeonjin Chu, Seung-Won Yi, Youn-Jung Jang, Won-Bo Shim, Nguyen Bao Hung<sup>1</sup>, Won-Il Kim<sup>1</sup>, Hyun Ju Kim<sup>1</sup>, Kyeongryul Ryu<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Microbial Safety Team, Agro-Food Safety & Crop Protection Department, National Institute of Agricultural Sciences (NAS), Rural Development Administration (RDA), Wanju, Korea

<sup>2</sup>Department of Agricultural Chemistry and Food Science & Technology, Gyeongsang National University, Jinju, Korea

(Received October 7, 2019/Revised October 22, 2019/Accepted November 1, 2019)

**ABSTRACT** - The purpose of this study was to investigate hazardous microorganisms in mixed baby leafy vegetables and various baby leafy vegetables used as raw materials for fresh-cut produce in spring and summer. To estimate microbial loads, a total of 298 samples including 181 samples of mixed baby leafy vegetables purchased in a Korean market and 117 samples of various baby leafy vegetables from distribution companies were collected. Fecal indicators (coliform and *Escherichia coli*) as well as food-borne pathogens (*E. coli* O157:H7, *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus*) were enumerated. As a result, the mixed baby leafy vegetable samples showed significantly higher ( $P < 0.05$ ) coliform bacteria numbers in summer ( $5.59 \pm 1.18$  log CFU/g) compared to spring ( $3.60 \pm 2.53$  log CFU/g). *E. coli* was detected in 1.3% (1/79) and 42.2% (43/102) of samples collected in spring and summer, respectively. Only one sample collected from a market in spring was contaminated with *S. aureus*. In the experiment with baby leafy vegetables, the number of coliforms detected in baby leafy vegetables cultivated in soil in spring was  $1.15 \pm 1.95$  log CFU/g, and that in summer was  $4.09 \pm 2.52$  log CFU/g. However, the number of coliforms recovered from baby leafy vegetables cultivated in media was above 5.0 log CFU/g regardless of season. Occurrences of *E. coli* were 44.4% (12/27) and 19.0% (4/21) for baby leafy vegetables cultivated in soil and media, respectively. However, *E. coli* O157:H7 and *Salmonella* spp. were not detected. These results are in relation to microbial loads on mixed baby leafy vegetables associated with raw materials. Therefore, it is necessary to develop and implement hygienic practices at baby leafy vegetable farms to enhance the safety of fresh produce.

**Key words** : Baby leafy vegetable, Indicator bacteria, Food borne pathogens

최근 건강한 먹거리를 찾는 소비자가 늘어나면서 미네랄과 비타민이 풍부하고 음식의 색깔까지 증진시킬 수 있는 어린잎채소의 소비가 늘어나고 있다<sup>1)</sup>. 어린잎채소란 잎이 2-3매 전개되고 잎의 길이가 10 cm 이내로 생장한 상

태를 말하는데 어린잎채소는 생육기가 짧고 농약 사용이 적기 때문에 친환경 농산물로 각광받고 있다<sup>2)</sup>.

어린잎채소는 주로 신선편의 식품과 신선편이 농산물의 원료로 많이 활용이 된다. 신선편이 식품과 신선편이 농산물의 주요한 차이점은 식품의 유형과 정의에서 볼 수 있는데, 신선편의 식품의 경우 농·임산물을 세척, 박피, 절단 또는 세절 등의 가공공정을 거치거나 이에 식품 또는 식품첨가물을 가한 것으로 그대로 섭취할 수 있는 샐러드나 새싹채소 등이다<sup>3)</sup>. 신선편이 농산물은 절단 및 세척과정을 거친 과일, 채소, 나물, 버섯류로 본래의 식품 특성을 유지하고 있으며 위생적으로 포장되어 편리하게 이용

\*Correspondence to: Kyeongryul Ryu, Microbial Safety Team, Agro-Food Safety & Crop Protection Department, National Institute of Agricultural Sciences, Rural Development Administration, 166 Nongsaengmyeong-ro, Iseo-myeon, Wanju-gun, Jeollabuk-do 55365, Korea

Tel: 82-63-238-3391, Fax: 82-63-238-3840

E-mail :kyryu@korea.kr

할 수 있는 농산물로 규정하고 있다<sup>3)</sup>. 신선편이 농산물은 구입 후 세척 혹은 가열 등 조리 후 섭취한다는 것이 신선편의 식품과의 차이점이라 할 수 있다.

하지만 어린잎채소로 신선편이 식품이나 신선편이 농산물로 생산할 때는 단순 세척 등 비가열 공정만을 거치기 때문에 어린잎채소 중의 미생물을 완벽히 제거하기는 어렵다. 이러한 이유로 신선 채소로 인한 식중독 사고가 전세계적으로 지속적으로 발생하고 있다<sup>4-6)</sup>. 대표적인 식중독사고 사례로는 2006년에 *Escherichia coli* O157:H7(*E. coli* O157:H7)에 오염된 베이비 시금치가 원인이 되어 발생한 식중독 사고를 들 수 있는데 이 사고로 205명 이상의 환자가 발생하였고 3명이 사망하였다<sup>6)</sup>. 또한 2011년에는 유럽에서 병원성 *E. coli* O104:H4에 오염된 새싹채소로 인하여 53명이 사망하는 사고가 발생하기도 하였다<sup>7)</sup>. 그 외에도 2018년에는 병원성 *E. coli* O157:H7에 오염된 로메인상추로 인하여 210명의 환자와 5명의 사망자가 발생한 사고가 있다<sup>8)</sup>.

이에 국내 식약처에서는 신선편의 식품에 대한 식중독 세균의 관리기준을 신설하였다<sup>9)</sup>. 신선편의 식품의 식중독 세균 기준은 *E. coli* O157:H7 음성, *Salmonella* spp. 음성, *Staphylococcus aureus* 100 CFU/g이하, *Clostridium perfringens* 100 CFU/g이하, *Bacillus cereus* 1000 CFU/g이하, *E. coli* n=5, c=1, m=10, M=100으로 정하고 있다<sup>9)</sup>. 신선편이 식품은 3개월마다 1회 이상 공전에서 규정하고 있는 식중독 세균 검사항목에 대한 자가 품질검사를 실시해야 하며 검사결과 해당 식품 등이 국민 건강에 위해가 발생하거나 발생할 우려가 있는 경우 식약처에 보고해야 하고, 회수 폐기 또는 부적합 원인 분석 및 개선 등의 조치를 취해야 한다<sup>10)</sup>. 하지만 신선편이 농산물의 경우 현재까지 식중독 세균에 대한 기준이 마련되어 있지는 않다. 따라서 신선편이 농산물에 대한 안전성관리의 법적 근거가 마련되어야 한다는 주장이 지속적으로 제기되고 있다<sup>3)</sup>.

단순 세척하여 신선한 상태로 제공되는 신선편의 식품, 신선편이 농산물의 안전성은 원료의 안전성과 직결될 수밖에 없는 실정이다. 하지만 국내 신선편의 식품과 신선편의 농산물에 대한 연구는 대부분 시판 중인 신선편의 샐러드를 중심으로 수행되었으며 이들 농식품의 오염원을 추정할 수 있는 원료에 대한 미생물 오염도를 조사한 결과는 부족한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 시판 중인 신선편이 어린잎채소 중 식중독세균의 오염도를 조사하고 어린잎채소 유통업체에서 그 원료가 되는 어린잎채소를 재배방법별로 채취하여 신선편이 농산물의 원료의 안전성을 조사하여 그 결과를 보고하고자 한다.

## Materials and Methods

### 시료 채취

본 연구는 유통 중인 신선편이 어린잎채소를 대상으로

유해미생물 오염도를 조사하기 위하여 2018년 4월과 2018년 8월 두 차례에 걸쳐 대형마트와 재래시장에 유통 중인 신선편이 어린잎채소를 수집하였다. 1차 조사는 제주, 세종, 대구, 대전, 경산, 부산에 소재한 대형마트에서 어린잎채소 79점을 수집하였고 2차 조사는 서울지역의 대형마트 5곳에서 63점과 가락동시장에서 어린잎채소 39점 수집하였다. 시료는 냉장고에 진열되어 있는 제품을 수집하였으며 수집 후 아이스박스에 넣어 냉장상태로 실험실에 옮겨 24시간 이내에 분석하였다.

또한 시중에 유통 중인 신선편이 어린잎채소 상품은 비트, 청경채, 적양무 등 다양한 어린잎채소가 혼합된 형태로 식중독세균 검출의 주요 원료를 확인하고자 국내 어린잎채소 유통회사 두 곳에서 2018년 5월, 2018년 9월 두 차례에 걸쳐 어린잎채소 상품 원료를 수집하였다(Table 1). 신선편이 어린잎채소에 사용되는 어린잎채소는 크게 두 가지 방식으로 생산된다. 첫 번째 방식은 토양에 파종한 후 생산하는 방식과 두 번째 방식은 포트나 베드에 상토 채우고 파종한 후 생산하는 방식이다. 상토는 농산물을 기르는 데 필요한 영양분을 혼합하여 제조한 것으로 토양 대신 사용하는 배지이다. 본 연구에서는 각 유통회사에서 토양에서 재배한 어린잎채소와 상토에서 재배한 어린잎채소를 구분하여 수집하였으며 각 유통회사에서 어린잎채소 종류별로 500 g 씩 시료채취용 멸균팩에 채취하였다. 이들 시료를 사용하여 위생지표세균(대장균군, *E. coli*)과 식중독세균(*E. coli* O157:H7, *Salmonella* spp., *S. aureus*)을 식품공전법으로 분석하였다<sup>11)</sup>.

### 대장균군 및 *E. coli* 분석

대장균군 분석을 위하여 어린잎채소 25 g을 멸균 백에 넣은 후 225 mL의 0.85% 생리식염수를 가한 후 stomacher로 균질화 하였고 균질화 된 시료 중 1 mL을 취하여 10 배 단계 희석한 coliform 측정용 petrifim (3M, St. Paul, MN, USA)에 접종하고 37°C 24시간 배양하였다. 또한 *E. coli*의 경우는 앞서 대장균군을 측정하기 위한 방법으로 시료를 균질화 한 후 각 농도별로 1 mL씩 취하여 대장균 측정용 petrifilm (3M)에 접종하고 37°C에서 24시간 배양 후 기포를 가진 blue colony만을 *E. coli*로 인정하였다. 최종균수는 전형적인 집락을 보이는 균주 × 희석배수로 계산하였다. 대장균은 정성분석도 같이 수행하였는데 그 방법은 어린잎채소 25 g을 취하여 225 mL의 EC broth에서 37°C에서 24시간 증균 배양하였고 배양액 100 µL를 취하여 10 mL의 발효관이 든 EC broth (Oxoid, UK)에서 증균하였다. 가스가 발생한 양성 시료의 배양액 1 loop를 취하여 EMB agar (Oxoid, UK)에 재접종하였다. 이후 37°C, 24시간 배양 후 금속광택을 나타내는 집락을 VITEK (VITEK-2 compact, GN test kit, Biormerieux, France)로 최종 동정하였다.

**Table 1.** Samples for the investigation of microorganisms of baby leafy vegetables collected from Korean distribution companies in spring and summer

Cultural practices	companies	Farms	Spring		Summer	
			Kind of samples	Number of samples	Kind of samples	Number of samples
Soil culture	A	1	Beet	9	Hong Hyeon Chea	3
			Bok Choy	3	Bok Choy	3
			Malaga violet radish	3		
		2	Bok Choy	3	Bok Choy	3
			Red Choy	3		
			Red Chard	3		
	B	2	Chicory	3		
			Beet	3		
			Malaga violet radish	3		
			Chicory	6	Chicory	3
		3	Beet	9		
			Malaga violet radish	3		
			-		Kohlrabi	3
			-		Bok Choy	3
Media culture	A	1	Malaga violet radish	3	Malaga violet radish	3
			Red Radish	3		
	B	3	Cabbage	3	Cabbage	3
			Kohlrabi	3	Kohlrabi	3
			Bok Choy	3	Vitamin	3
		5	-		Malaga violet radish	3
			-		Malaga violet radish	3
			-		Bok Choy	3
	Total			69	48	

또한 분리된 *E. coli*이 병원성을 갖는지 확인하기 위하여 PCR법으로 확인하였다. 병원성유전자 분석을 위한 DNA는 Intron사의 DNA추출 kit (G-spin™ Genomic DNA Extraction Kit, Intron, Gyeonggi, Korea)를 사용하여 제조사 매뉴얼에 따라 추출하였으며 이를 병원성유전자 검출을 위한 template DNA로 사용하였다. 대장균의 병원성유전자 생성여부 검색에 양성 대조균으로 사용된 표준 균주는 *E. coli* NCCP 13719 (EIEC), *E. coli* ATCC 48395 (EHEC), *E. coli* NCCP 13715 (EPEC), *E. coli* NCCP 13721 (EAEC, EHEC), *E. coli* ATCC 43890 (EHEC), *E. coli* NCCP 13717 (ETEC)이다. 병원성유전자 검색은 Kogen bio사의 power check diarrheal *E. coli* 4-plex I, II kit를 활용하여 kogen사에서 제공하는 매뉴얼에 따라 분석하였다. PCR에 의한 증폭생성물은 1.8% agarose gel 전기영동에 의해 확인하였다.

#### *E. coli* O157:H7

*E. coli* O157:H7의 증균을 위해 어린잎채소는 25 g을 취하여 225 mL의 mTSB broth (Oxoid, UK)에서 37°C에서 24시간의 배양하였고, 배양액 1 loop를 취하여 *E. coli* O157:H7의 선택배지인 CHROMagar O157 agar (CHROMagar, Paris, France)에 도달한 후 37°C에서 24시간 배양하였다. 이후 Chrom O157 agar 상에서 분홍색의 단일 집락을 취하여 EMB agar에 접종하고 37°C, 24시간 배양하였다. EMB agar상에서 금속광택을 나타내는 집락을 취하여 TSA에 접종한 후 37°C, 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, GN test kit, Biomerieux,

France)로 최종 동정하였다. 대조군으로 *E. coli* O157:H7 ATCC 43894를 사용하였다.

#### *Salmonella* spp.

*Salmonella* spp. 분리는 식품공전<sup>11)</sup>에 준하여 실험하였다. 어린잎채소 25 g을 225 mL의 buffered peptone water에서 증균하였다. 1차 증균한 후 10 mL의 Rappaport Vassiliadis Broth (Oxoid, UK)에 1차 증균액 100 µL를 TT broth (Oxoid, UK)에 1 mL 접종하여 37°C, 24시간 배양한 후 각 증균 배지에서 배양한 균액 1 loop를 취하여 선택배지인 XLT (Oxoid, UK)에 도말하였다. 이후 37°C에서 24시간 배양하여 전형적인 *Salmonella* spp. 의심집락을 취하여 TSA (Oxoid, UK)에 접종한 후 37°C, 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, GN test kit, Biomerieux, France)으로 최종 동정하였다. 또한 대조군으로 *S. Typhimurium* ATCC 13314를 사용하였다.

#### *S. aureus*

*S. aureus*는 정성과 정량 검사를 실시하였으며 정성검사의 경우 어린잎채소 25 g을 225 mL의 10% NaCl이 첨가된 tryptic soy broth (Oxoid, UK)에 넣고 2분간 stomacher에서 균질하였다. 이후 37°C 16시간 증균하고 배양액을 Baird-Parker agar (Oxoid, UK)에 37°C, 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 37°C, 48시간 배양한 후 전형적인 형태를 나타내는 집락을 계수하였다. 계수한 평판에서

5개 이상의 전형적인 집락을 선별하여 TSA배지에 접종하고 37°C에서 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, GP test kit, Biomerieux, France) 사용한 생화학법으로 수행하였고 대조군으로 *S. aureus* 표준 균주 ATCC 25923을 사용하였다.

#### 통계처리

모든 실험은 3반복으로 수행되었으며 관찰된 실험결과 는 SAS 통계 프로그램(version 9.1, SAS Institute, NC, USA)의 분산분석(ANOVA procedure)을 이용하여 분석하였다.  $P < 0.05$  수준에서 처리효과가 유의적인 경우에는 Tukey's HSD test를 이용하여 평균간 다중비교를 하였다.

## Results and Discussion

### 유통 중 신선편이 어린잎채소의 유해미생물 오염도 조사

유통 중 신선편이 어린잎채소의 유해미생물 오염도 조사 결과는 Table 2과 Table 3에서 나타난 바와 같다. 대장균군은 계절 간 유의한 차이를 보였다( $P < 0.05$ ). 봄철과 여름철의 어린잎채소의 대장균군 평균 오염 농도는 각각  $3.60 \pm 2.53$  log CFU/g,  $5.59 \pm 1.18$  log CFU/g로 여름철이 유의하게 높게 나타났다( $P < 0.05$ ). 수집된 장소별로는 봄철에 대장균군의 오염 범위가 1.91-4.95 log CFU/g였으며 장소별 유의한 차이가 있었다( $P < 0.05$ ). 여름철에는 대장균군의 오염수준이 5.33-6.50 log CFU/g로 장소별로 유의한 차이가 나타나지 않았다( $P > 0.05$ ). 봄철에 비하여 여름철에 대장균군의 오염수준이 높은 이유는 온도 상승에 따른 대장균군의 증식으로 판단된다. 대장균군의 검출은 식중독세

**Table 2.** Contamination level of hazardous microorganisms of baby leafy vegetables collected from Korean market in spring

Places	The number of samples	Indicator bacteria			Pathogens		
		Coliform (log CFU/g)	<i>E. coli</i>	<i>E. coli</i> O157:H7	<i>Salmonella</i> spp.	<i>S. aureus</i>	
Big retailer	A	9	$4.93 \pm 1.41^a$ <sup>1)</sup>	11.1%(1/9)	0	0	0
	B	9	$4.17 \pm 3.15^{ab}$	0	0	0	0
	C	15	$4.52 \pm 2.67^a$	0	0	0	0
	D	18	$1.91 \pm 2.27^b$	0	0	0	0
	E	10	$2.21 \pm 1.91^{ab}$	0	0	0	10%(1/10)
	F	9	$3.77 \pm 2.50^{ab}$	0	0	0	0
	G	9	$4.95 \pm 1.30^a$	0	0	0	0
Total	79		$3.60 \pm 2.53^{ab}$	1.3%(1/79)	0	0	1.3%(1/79)

<sup>1)</sup> The same letter are not significantly different in the number of coliform among markets at  $P < 0.05$  according to Tukey's test.

**Table 3.** Contamination level of hazardous microorganisms of baby leafy vegetables collected from Korean market in summer

Places	The number of samples	Indicator bacteria			Pathogens		
		Coliform (log CFU/g)	<i>E. coli</i>	<i>E. coli</i> O157:H7	<i>Salmonella</i> spp.	<i>S. aureus</i>	
Big retailer	H	12	6.18±0.44 <sup>a 1)</sup>	50.0%(6/12)	0	0	0
	I	9	6.50±0.32 <sup>a</sup>	66.7%(6/9)	0	0	0
	J	15	5.33±1.64 <sup>a</sup>	6.7%(1/15)	0	0	0
	K	15	5.34±1.66 <sup>a</sup>	33.3%(5/15)	0	0	0
	L	12	5.45±0.50 <sup>a</sup>	41.7%(5/12)	0	0	0
Total	63	5.68±1.24 <sup>a</sup>	36.5%(23/63)	0	0	0	
Traditional Market	M	39	5.45±1.08 <sup>a</sup>	51.3%(20/39)	0	0	0
Total	102	5.59±1.18 <sup>a</sup>	42.2%(43/102)	0	0	0	

<sup>1)</sup> The same letter are not significantly different in the number of coliform among markets at  $P<0.05$  according to Tukey's test

균의 오염과 반드시 일치하는 것은 아니지만 여름철에 위생지표세균인 대장균군 수의 증가는 채소의 생산-유통관리에서 온도 관리 등 보다 철저한 관리가 필요하다는 것을 의미한다.

또한 기존 어린잎채소를 대상으로 한 연구와 본 연구의 결과를 비교해 보면, Oh 등<sup>12)</sup>은 어린잎채소의 생산에서부터 가공까지 미생물 오염도를 조사하였으며 그 결과, 농장에서 수확 직후 어린잎 채소의 대장균군의 오염수준은 2.9-3.5 log CFU/g이었고, 가공 공정 중 세척 전 어린잎채소의 대장균군 오염 수준은 3.4 log CFU/g였으나 세척 및 탈수 공정을 거쳐 최종제품에서는 1.6 log CFU/g로 감소되는 경향을 보였다고 보고하였다. Oh 등<sup>12)</sup>의 연구와 오염 수준에 차이를 보이는 이유는 시료 채취 시기, 장소, 세척 여부 등에 의한 것으로 보인다.

어린잎채소와 그 외 신선채소의 대장균군 오염수준을 비교하면, Bac 등<sup>13)</sup>은 시중에 유통되는 20종의 신선채소를 대상으로 미생물 오염도를 조사하였는데 상추, 미나리, 새싹, 도라지에서 대장균군이 3.0 log CFU/g 이상으로 어린잎채소의 오염수준과 유사하였고, 배추, 양배추, 양상추, 오이, 파프리카, 고추 등은 대장균군이 2.0 log CFU/g 이하로 상대적으로 낮게 검출되었다.

농산물 간 대장균군 오염수준의 차이는 토양 및 농업용수와의 접촉 빈도, 계절, 유통 온도 등이 영향을 미칠 것이다. 특히 어린잎채소는 재배 과정 중 지면과의 거리가 가까워 토양이나 상토와 접촉 빈도가 높고, 일일 1회 이상 수분을 공급하기 때문에 작물 표면에 수분함량이 높아 상대적으로 대장균군 등 미생물 번식에 유리하기 때문에 타 채소보다 오염수준이 높다고 판단된다.

*E. coli*의 경우 계절적 차이가 뚜렷하게 나타났다. 봄철에는 A마트에서 수집된 시료 1점에서 검출되었으나 여름철에는 수집된 시료의 42.2%(43/102)점에서 검출되었다. *E. coli*도 대장균군에 포함되기 때문에 여름철에 *E. coli*의

높은 검출율은 대장균군의 높은 수준과도 관계가 있을 것으로 보인다. 하지만 봄철과 여름철에 검출된 *E. coli*을 대상으로 PCR법으로 병원성 여부를 조사하였을 때는 병원성 유전자가 발견되지 않아 병원성 *E. coli*는 아닌 것으로 나타났다. *S. aureus*의 경우는 봄철에 E 마트 1점에서만 검출되었고, *E. coli* O157:H7과 *Salmonella* spp.는 모든 시료에서 검출되지 않았다. Oh 등<sup>12)</sup>은 6-7월에 어린잎채소 생산 농장에서 수집된 어린잎채소의 17%에서 *E. coli*가 검출되었다고 보고하였는데, 이는 본 연구의 여름철에 유통단계에서 수집된 어린잎채소의 *E. coli*의 검출률 보다 낮았다. 이상의 결과로 미루어 볼 때 기온이 높은 여름철에 대장균군의 오염수준이 높고 *E. coli*의 검출빈도가 높아 유통단계 신선편이 어린잎채소의 미생물 관리가 필요하다.

#### 신선편이 어린잎채소 원료의 유해미생물 오염도 조사

시중에 판매중인 신선편이 어린잎채소는 어린잎채소와 여러 가지 혼합된 형태로 판매되고 있어 미생물 오염에 주요한 원료를 파악하기 어렵다. 따라서 어린잎채소를 혼합하고 포장하여 판매하고 있는 어린잎채소 유통회사를 방문하여 어린잎채소 원료별, 재배방식별로 구분하여 봄철과 여름철 두 차례에 걸쳐 시료를 수집하여 미생물 오염도를 분석하였으며 그 결과는 Table 4와 Table 5과 같다. 먼저 대장균군의 경우 재배 방식과 조사 시기에 따라 오염수준에 차이가 있었다. 토양에서 재배되는 어린잎채소의 경우, 봄철에는 39%의 어린잎채소에서 대장균군이 검출되었으며 대장균군의 평균 오염도도 1.15 ± 1.95 log CFU/g로 낮았다. 하지만 여름철에는 모든 어린잎채소에서 대장균군이 검출되었고, 봄철 보다 약 1,000배 증가한 4.09 ± 2.52 log CFU/g 수준이었다( $P<0.05$ ). 한편 상토재배의 경우는 계절에 따른 유의한 차이가 나타나지 않았다( $P>0.05$ ). 봄철과 여름철 상토에서 생산한 어린잎채소의 대장균군은 각각 5.27 ± 0.87 log CFU/g였으며, 5.52 ± 0.87 log CFU/g이었다.

**Table 4.** Contamination level of hazardous microorganisms of baby leafy vegetables collected from Korean distribution companies in spring

Cultural practices	Distribution companies	Farms	Baby leafy vegetables	Coliform	<i>E. coli</i>	<i>E. coli</i> O157:H7	<i>Salmonella</i> spp.	<i>S. aureus</i>
Soil culture	A	1	Beet	N.D. <sup>1)</sup>	0	0	0	0
			Bok Choy	N.D.	0	0	0	0
			Malaga violet radish	N.D.	0	0	0	0
			Red Chard	N.D.	0	0	0	0
			Red Choy	N.D.	33.3%(1/3)	0	0	0
	B	2	Bok Choy	4.40±0.54	0	0	0	0
			Chicory	N.D.	0	0	0	0
			Beet	4.31±0.39	0	0	0	0
			Bok Choy	3.27±2.83	0	0	0	0
			Beet	2.00±2.40	0	0	0	0
Total			Malaga violet radish	N.D.	0	0	0	0
			Bok Choy	N.D.	0	0	0	0
			Chicory	N.D.	0	0	0	0
			Beet	4.31±0.39	0	0	0	0
			Bok Choy	3.27±2.83	0	0	0	0
Total				1.15±1.95 <sup>a 2)</sup>	1.9%(1/54)	0%(0/54)	0%(0/54)	0%(0/54)
Media culture	A	1	Red Radish	4.53±0.20	33.3%(1/3)	0	0	0
			Malaga violet radish	4.23±0.20	100%(3/3)	0	0	0
	B	3	Cabbage aisun	6.01±0.31	0	0	0	33.3%(1/3)
			Bok Choy aisun	5.26±0.33	0	0	0	0
			Kohlrabi aisun	6.33±0.14	33.3%(1/3)	0	0	0
Total				5.27±0.87 <sup>b</sup>	33.3%(5/15)	0%(0/15)	0%(0/15)	6.7%(1/15)

<sup>1)</sup> N.D.: Not detected (Detection limit: <10 CFU/g)

<sup>2)</sup> The same letter are not significantly different in the number of coliform between soil culture and media culture at  $P < 0.05$  according to Tukey's test.

이 결과와 신선편이 어린잎채소의 대장균군의 오염수준과 연계해 보면 봄철에 상품에 따라 대장균군 오염수준이 다양한 것은 혼합된 원료의 재배방식에 영향이 있을 것으로 판단된다.

또한 *E. coli*의 경우, 토양 재배한 어린잎채소의 경우 봄철에는 적청경채 1점에서 검출이 되었으나 여름철에는 44.4%의 시료에서 *E. coli*가 검출되어 계절적인 영향이 큰 것으로 나타났다. 한편 상토재배로 생산된 어린잎채소의 경우 봄철과 여름철에 수집된 시료의 33%, 19%에서 각각 검출되어 시기에 관계없이 지속적으로 검출되는 것으로 나타났다.

*S. aureus*의 경우, 봄철 상토 재배한 어린잎채소 1점에서 검출되었으며 *E. coli* O157:H7과 *Salmonella* spp.는 검출되지 않았다.

어린잎채소에서 대장균군, *E. coli*가 검출된 것은 재배 단계에서부터 오염된 것으로 추정된다. Lee 등<sup>14)</sup>은 어린잎채소 재배 및 수확 후 과정에 사용되는 상토, 농업용수, 작업자 장갑 등에 대하여 조사하였는데 상토에서 대장균

군이 불검출-4.27 log CFU/g까지 검출되었다. 또한 조사대상인 세 농가 중 한 농가의 상토에서 *B. cereus*가 3.36 log CFU/g으로 검출되었고, *E. coli*도 검출되었다. 또한 Kim 등<sup>15)</sup>이 상추 육묘과정에 사용되는 상토와 상추의 미생물 오염도 모니터링을 수행한 결과, 상추와 상토에 오염된 미생물의 종류와 오염도 농도가 유사하여 상토의 안전성은 농산물의 안전성에 미치는 영향이 크다고 보고한 바 있다. 또한 Kim 등<sup>16)</sup>은 상토의 미생물 오염이 육묘기 상추의 미생물 안전성에 미치는 영향을 조사하였는데 그 결과, 상토의 *E. coli* 초기 오염농도는 7.54 log CFU/g이었으며 시간이 경과하면서 점차 감소하였지만 육묘기 끝무렵인 28일까지도 4.66 log CFU/g로 존재하고 있었다고 보고하였다. *E. coli*로 오염된 상토에서 자란 상추의 오염도를 조사한 결과, 상추의 출아하는 시점인 6일째에 상추에서 *E. coli*가 4.92 log CFU/g가 검출되어 오염된 상토에서 상추로 병원성미생물이 출아시점부터 직접 이행될 수 있음을 확인하였다. 뿐만 아니라 상추 중 *E. coli*는 시간이 경과함에 따라 점차 감소하였지만 육묘기 내내 생존 가능하였다고

**Table 5.** Contamination level of hazardous microorganisms of baby leafy vegetables collected from Korean distribution companies in summer

Cultural practices	Distribution companies	Farms	Baby leafy vegetables	Coliform	<i>E. coli</i>	<i>E. coli</i> O157:H7	<i>Salmonella</i> spp.	<i>S. aureus</i>	
Soil culture	A	1	Bok Choy	6.25±0.39	66.6%(2/3)	0	0	0	
			Hong Hyeon Chea	1.60±2.77	66.6%(2/3)	0	0	0	
		2	Bok Choy	3.82±3.40	0	0	0	0	
	B	1	Amaranth	3.80±3.37	0	0	0	0	
			Bok Choy	5.94±0.11	0	0	0	0	
		2	Bok Choy	1.82±3.15	66.6%(2/3)	0	0	0	
			Chicory	3.48±3.03	66.6%(2/3)	0	0	0	
		3	Kohlrabi	3.30±2.86	33.3%(1/3)	0	0	0	
		4	Bok Choy	5.70±0.54	100%(3/3)	0	0	0	
		Total				4.09±2.52 <sup>a 1)</sup>	44.4%(12/27)	0%(0/27)	0%(0/27)
Media culture	A	2	Malaga violet radish	4.94±0.50	0	0	0	0	
			Cabbage	5.76±0.27	0	0	0	0	
	B	3	Vitamin	5.75±0.18	0	0	0	0	
			Malaga violet radish	5.01±0.61	66.6%(2/3)	0	0	0	
			Kohlrabi	6.09±0.10	66.6%(2/3)	0	0	0	
			Malaga violet radish	6.41±0.03	0	0	0	0	
		5	Bok Choy	5.81±0.33	0	0	0	0	
		Total				5.52±1.37 <sup>a</sup>	19.0%(4/21)	0%(0/21)	0%(0/21)

<sup>1)</sup> The same letter are not significantly different in the number of coliform between soil culture and media culture at  $P < 0.05$  according to Tukey's test.

보고하였다. Oh 등<sup>12)</sup>도 어린잎채소 생산 농가에서 토양 등 재배환경과 어린잎채소의 미생물 오염도를 조사하였는데 그 결과 어린잎채소와 토양에서 *E. coli*가 검출되어 토양으로부터 어린잎채소로 오염이 전이되었을 것으로 보고하였다. 이상의 결과로 볼 때 상토와 토양의 미생물 오염은 작물 오염에 크게 영향을 끼치므로 상토와 토양의 안전성 확보가 필요하다. 이를 위해서는 농가로 오염된 상토가 유입되지 않도록 상토를 생산하는 업체에서부터 철저한 관리가 필요하며 토양 재배에 사용되는 퇴비도 안전한 생산과 관리가 필요하다.

또한 어린잎채소 재배시 하루에 한번 이상 물을 주기 때문에 농업용수는 지속적으로 어린잎채소와 접촉이 가능하여 농업용수의 미생물 오염은 어린잎채소의 안전성에 영향을 미칠 수 있다. Lee 등<sup>14)</sup>은 어린잎채소 생산 농가의 관개용수의 미생물을 조사하였는데 한 농가의 관개용수에서 *E. coli*가 검출되어 어린잎채소의 *E. coli* 검출은 상토, 토양 외에도 관개용수도 관련이 있을 것으로 보고하였다. 뿐만 아니라 2018년에 발생한 미국에서 병원성 *E. coli*에 오염된 로메인상추로 인한 식중독사고의 원인도 미국 질병통제예방센터는 관개용수로 추정하였다<sup>8)</sup>. 이에 미국은 미국식품현대화법을 발효하고 농업용수의 미생물기

준을 대장균 126 CFU/100 ml로 정하고 있다<sup>17)</sup>. 하지만 국내에서는 농업용수에 대한 기준을 하천, 호소수의 경우 생활환경 4급 기준, 지하수는 농업용수 기준으로 설정하고 있는데 이들 기준에는 미생물에 대한 규격이 설정되어 있지 않고 있다<sup>18)</sup>. 따라서 국내에서도 농작물로 직접 살포되어 농산물 안전성에 영향을 미칠 수 있는 농업용수에 대해서는 농업용수의 모니터링과 위해성 평가를 통하여 미생물 관리 기준 설정과 안전관리가 필요할 것으로 사료된다.

따라서 본 연구의 결과를 종합해 보면 어린잎채소 상품의 안전성 확보는 어린잎채소 원료의 안전관리에서부터 시작된다고 할 수 있으며 원료의 안전성을 확보를 위해서는 토양, 관개용수와 같은 농업환경, 상토 등 농자재의 위생관리에 필요한 기술개발, 농업인에 대한 위생관리 교육이 필요하다.

## 국문요약

본 연구에서는 시판 중인 신선편이 어린잎채소의 식중독세균 오염도를 조사하고 신선편이 어린잎채소에 사용되는 원료를 재배방법별(토양재배, 상토재배)로 채취하여 재배방법이 어린잎채소의 안전성에 미치는 영향을 조사하였

다. 이를 위하여 시판 중인 어린잎채소 상품 181점과 어린잎채소 상품 원료를 재배방법별로 구분하여 117점을 채취하여 위생지표세균(대장균군, *E. coli*)와 병원성미생물(*E. coli* O157:H7, *Salmonella* spp., *S. aureus*)를 조사하였다. 그 결과, 시판 중 어린잎채소의 대장균군은 봄철과 여름철에 각각  $3.60 \pm 2.53$  log CFU/g,  $5.59 \pm 1.18$  log CFU/g로 여름철이 유의하게 높게 나타났다( $P < 0.05$ ). 또한 *E. coli*의 경우, 봄철에는 A마트에서 수집된 시료 1점에서 검출되었으나 여름철에는 수집된 시료의 42.2%(43/102)점에서 검출되었다. *S. aureus*의 경우는 봄철에 1점에서만 검출되었고, *E. coli* O157:H7과 *Salmonella* spp.는 모든 시료에서 검출되지 않았다. 어린잎채소 원료의 대장균군의 오염도는 토양 재배한 경우 봄철에  $1.15 \pm 1.95$  log CFU/g, 여름철에는  $4.09 \pm 2.52$  log CFU/g 수준이었다. 한편 상토 재배한 경우는 계절에 관계없이 5.0 log CFU/g 이상이었다. *E. coli*는 토양 재배한 어린잎채소의 경우 봄철에는 적청경채 1점에서 검출 되었으나 여름철에는 44.4%의 시료에서 *E. coli*가 검출되어 계절적인 영향이 큰 것으로 나타났다. 한편 상토 재배한 어린잎채소의 경우 봄철과 여름철에 수집된 시료의 33%, 19%에서 각각 검출되어 시기에 관계없이 지속적으로 검출되는 것으로 나타났다. *S. aureus*의 경우, 봄철 상토 재배한 어린잎채소 1점에서 검출되었으며 *E. coli* O157:H7과 *Salmonella* spp.는 검출되지 않았다. 따라서 어린잎채소 상품의 안전성은 원료의 안전성과 밀접한 관련이 있으며 원료의 안전성을 확보를 위해서는 농업 생산환경 위생관리 기술 개발과 보급이 필요하다.

### Acknowledgement

본 연구는 농촌진흥청 국립농업과학원 농업과학기술 연구개발사업(과제번호: PJ01357802)의 지원에 의해 이루어진 것임.

### References

1. Kwack Y., Kim D.S., Chun C., Growth and Quality of Baby Leaf Vegetables Hydroponically Grown in Plant Factory as Affected by Composition of Nutrient Solution. *Protected Hort. Plant Fac.*, **24**, 271-274 (2015).
2. Lee J.S., Kim J.G., Park S., Effects of Chlorine Wash on the Quality and Microbial Population of 'Tah Tasai' Chinese Cabbage (*Brassica campestris* var. *narinosa*) Microgreen. *Kor. J. Hort. Sci. Technol.*, **27**, 625-630 (2009).
3. Korea Agro-Fisheries & Food Trade Corporation, 2016, 2016 Status of processed food market(Ready to eat food market). Korea Agro-Fisheries & Food Trade Corporation, Naju Jeollanam do, pp. 15-29.
4. Burnett, S.L., Beuchat, L.R., Human pathogens associated with raw produce and unpasteurized juices and difficulties in decontamination. *J. Int. Microbiol. Biotechnol.*, **27**, 104-110 (2001).
5. Beuchat L.R., Pathogenic microorganisms associated with fresh produce. *J. Food Prot.*, **59**, 204-216 (1996).
6. Centers for Disease Control and Prevention, (2006, October 6). Update on Multi-State Outbreak of *E. coli* O157:H7 Infections From Fresh Spinach. Retrieved from: <http://www.cdc.gov/ecoli/2006/september/updates/100606.htm>
7. Uphoff H., Hedrich B., Strotmann I., Arvand M., Bettge-Weller G., Hauri A., A prolonged investigation of an STEC-O104 cluster in Hesse, Germany, 2011 and implications for outbreak management. *J. Public Health*, **22**, 41-48 (2014).
8. Centers for Disease Control and Prevention, (2018, June 28). Multistate outbreak of *E. coli* O157:H7 infections linked to romain lettuce. Retrieved from: [www.cdc.gov/ecoli/2018/0157h7-04-18](http://www.cdc.gov/ecoli/2018/0157h7-04-18)
9. Ministry of food and drug safety, (2018, March 20). Chapter 5. Food Standards and Specifications, 22. Ready to eat foods, Korean Food code. Retrieved from: <http://www.foodsafetykorea.go.kr/foodcode/>
10. Ministry of food and drug safety, 2018, Food quality inspection manual, Cheongju-si Chungcheongbuk-do, pp. 5-6.
11. Ministry of food and drug safety, (2018, March 20). Chapter 8. General test method 4. Microbial analysis method. Korean Food code. Retrieved from: <http://www.foodsafetykorea.go.kr/foodcode/>
12. Oh T.Y., Baek S.Y., Choi J.H., Jeong M.C., Koo O.K., Kim S.M., Kim H.J., Analysis of Food borne Pathogens in Brassica campestris var. narinosa microgreen from Harvesting and Processing Steps. *J. Appl. Biol. Chem.*, **59**, 63-68 (2016).
13. Bae Y.M., Hong Y.J., Kang D.H., Heu S., Lee S.Y., Microbial and Pathogenic Contamination of Ready-to-eat Fresh Vegetables in Korea. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **43**, 161-168 (2011).
14. Lee E.S., Kwak M.G., Kim W.I., An H.M., Lee H.S., Ryu S.H., Kim H.Y., Ryu J.G., Kim S.R., Investigation of Microbial Contamination Level during Production of Baby Leafy Vegetables. *Korean J. Fd. Hyg. Safety*, **31**, 264-271 (2016).
15. Kim S.R., Lee, J.Y., Lee, S.H., Kim, W.I., Park, K.H., Yun, H.J., Kim, B.S., Chung, D.H., Yun, J.C., Ryu, K.Y., Evaluation of microbiological safety of lettuce and cultivation area. *Korean J. Fd. Hyg. Safety*, **26**, 289-295 (2011).
16. 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).
17. U.S. Food and Drug Administration, Standards for the growing, harvesting, packing, and holding of produce for human consumption. *Fed Regist.*, **80**, 74353-74642 (2015).
18. An, Y.J., Lee, W.M., Yoon, C.G., Evaluation of Korean water quality standards and suggestion of additional water parameters. *Korean J. Limnol.*, **39**, 285-295 (2006).