

부추와 부추 재배 토양의 미생물 오염도 조사

양수인 · 서승미 · 노은정 · 류재기 · 류경열 · 정규석*

국립농업과학원 농산물안전성부 유해생물팀

Evaluation of Microbial Contamination in Leek and Leek Cultivated Soil in Korea

Suln Yang, Seung-Mi Seo, Eunjung Roh, Jae-Gee Ryu, Kyoung-Yul Ryu, Kyu-Seok Jung*

Microbial Safety Team, Agro-Food Safety & Crop Protection Department, National Institute of Agricultural Sciences (NIAS), Rural Development Administration (RDA), Wanju, Republic of Korea

(Received May 29, 2019/Revised July 16, 2019/Accepted December 4, 2019)

ABSTRACT - This study assessed microbial contamination of leeks and leek-cultivated soil. Leeks and leek-cultivated soil were collected in A and B regions and accounted for 39 and 33 samples, respectively. All of the samples were analyzed for the presence of sanitary indicator bacteria (total aerobic bacteria, coliforms and *Escherichia coli*), *Salmonella* spp., *E. coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes*, and *Bacillus cereus*. In A and B region, the total aerobic bacteria was in the range of 5.87-8.78 log CFU/g for leeks and 5.94-8.45 log CFU/g for leek-cultivated soil. The coliform in leeks and leek-cultivated soil was in the range of 1.20-7.36 log CFU/g and 2.45-5.87 log CFU/g, respectively. *B. cereus* was detected from some of the samples while other pathogens were not detected. This study provides important background information on the microbiological safety of fresh vegetable cultivation environments.

Key words : Leek, Leek cultivated Soil, Microbial contamination, *Salmonella* spp., *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus*

국민의 경제성장에 따라 소비자들의 건강에 대한 관심이 높아지면서 신선 채소의 소비가 채소의 78.4%를 차지할 정도로 크게 증가하고 있다¹⁾. 하지만 채소류의 소비가 증가되면서 식중독 발생도 가장 큰 비중을 차지하고 있다. 지난 2012년부터 2016년까지 식중독 발생 통계 분석 결과 보고에 따르면 국내의 다양한 식중독 사고 원인 중 채소류로 인한 식중독 발생은 16.0%로 닭, 오리 등 육류로 인한 식중독(14%), 수산물 등 그 가공품으로 인한 식중독(5%)보다 높은 것으로 나타났다²⁾. 미국에서도 세균성 식중독 환자가 약 480만명 정도 매년 발생되고 있으며 1998년부터 2008년까지 농산물에 의한 식중독이 82건으로 전체 46%를 차지하고 그 중 신선 잎채소로 인한 식중독이 28건으로 22%를 차지한다고 확인되었다³⁾. 독일에서는 약

3000여 명이 유기농 채소 섭취 후 *Escherichia coli* O104:H4에 감염되었고 46명이 사망하는 식중독 사고가 발생되었다⁴⁾. 채소류에 미생물 오염도를 조사한 결과 *Clostridium perfringenes*, *Bacillus cereus* 등이 검출되었고⁵⁾ 전처리 채소에서 *B. cereus*, *Campylobacter jejuni*, *Vibrio parahaemolyticus* 등이 검출되었다고 보고되었고⁶⁾ Ready-to-eat 샐러드 제품에서 *E. coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* spp.가 검출되었다고 보고하였다⁷⁾. 이와 같이 농산물에 의한 식중독 사고가 발생되고 있으며 채소류에서 병원성 미생물이 검출되고 있다. 특히, 채소류 중 부추는 재배과정 중 2-3주간격으로 연속 수확하는 다비성 작물로 재배 전과 재배기간 중 다량의 미부숙 퇴비 사용 시 유해미생물에 오염되기 쉬우며, 가열하지 않고 생으로 섭취하여 식중독사고가 발생할 우려가 있어 잠재적 위해 식품으로 선정하였다⁸⁾.

*B. cereus*는 그람 양성 세균이며 포자-를 형성하는 토양 서식균의 일종으로 토양과 공기 중에서 흔히 발견되는 병원성 미생물이다. 채소류를 비롯한 신선 농산물의 생산 과정에서 주요 오염원은 토양으로 알려져 있다⁹⁾.

부추는 토양과 접촉하여 자라는 작물로 토양에 오염되

*Correspondence to: Kyu-Seok Jung, Researcher, Microbial Safety Team, Agro-Food Safety & Crop Protection Department, National Institute of Agricultural Sciences, Rural Development Administration, Nongsaeongmyeong-ro 166, Iseo-myeon, Wanju-gun, Jeollabuk-do 55365, Korea
Tel: 82-63-238-3405 Fax: 82-63-238-3840
E-mail: win258@korea.kr

어 있는 *B. cereus*에 쉽게 오염 될 수 있다. 또한, 다비성 작물인 부추의 경우 재배 토양에 가축분 퇴비 등의 사용으로 동물의 장 속에 사는 병원성 *E. coli* 등 식중독병원균이 오염될 수 있다. 실제로 Burnett 등¹⁰⁾은 토양, 먼지, 퇴비 등으로 인해 채소와 과일에 *E. coli*, *B. cereus*, *Salmonella* spp., *E. coli* O157:H7 등에 오염이 될 수 있고, 오염된 병원성 미생물에 의한 식중독 사고가 발생할 수 있다고 보고 하였다. Soriano 등¹¹⁾은 소의 분변에서 *E. coli* O157:H7을 분리하였고 오염된 토양으로 인해 농산물이 오염될 수 있으므로 재배단계에 퇴비, 가축의 분변에 오염되지 않도록 주의해야 한다고 보고하였다.

식품공전에 의하면 더 이상의 가공 및 가열조리를 하지 않고 그대로 섭취하는 가공식품에서 *S. aureus*, *V. parahaemolyticus*, *C. jejuni*, *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes*, *E. coli* O157:H7, *B. cereus*, *Yersinia enterocolitica*, *C. perfringens* 등 식중독세균이 검출되어서는 안 된다고 명시되어 있다¹²⁾. 그러나 이러한 병원성 미생물은 농산물의 재배, 수확, 수확 후 과정에서 오염이 될 수 있다.

일반적으로 우리나라의 부추재배는 남부지방을 중심으로 10월에서 이듬해 5월까지 하우스재배하는 겨울재배지역과 중부지방을 중심으로 5월에서 11월까지 재배하는 여름재배지역으로 크게 구분되고 있다. 따라서, 본 연구에서는 겨울재배와 여름재배 부추 주산지별로 각각 3개 농가에서 부추와 부추재배 토양을 수집하여 위생지표세균과 *E. coli*, *B. cereus*, *L. monocytogenes* 등의 병원성 미생물을 분석을 수행하여, 재배지역별 식중독세균에 의한 잠재적인 위험성을 평가하고 미생물 위해성평가의 기초자료로 활용하고자 본 연구를 수행하였다.

Materials and Methods

검체 채취 대상 및 방법

전국 주요 부추 재배지 중 겨울재배지인 A지역 3개(I, II, III) 농가에서 2018년 4월에서 5월과 10월까지 부추 30점과 부추가 재배되고 있는 토양 24점을 채취하였고, 여름재배지인 B지역 3개(I, II, III) 농가에서 2018년 7월에 부추 9점과 부추가 재배되고 있는 토양 9점을 채취하였다. 부추 채취 시 2차 오염을 방지하기 위해 라텍스장갑과 멸균된 가위를 이용하여 부추를 수집하였으며 수집한 부추는 멸균 백에 넣어 냉장상태로 실험실로 운반한 후 냉장보관 하면서 24시간 이내에 실험을 실시하였다.

위생지표세균 정량적 분석

위생지표세균(일반세균수, 대장균군, 대장균)의 정량적 분석을 위해서 검체 25 g을 취하여 Buffered Peptone Water (BPW, Difco, Sparks, MD, USA) 225 mL와 혼합하고 2분

간 균질화 하였다. 각 희석농도 별로 준비된 시료 1 mL를 일반세균 건조필름배지(Aerobic count plate 3M petrifilm, 3M, St. Paul, MN, USA)에 분주하여 35±1°C에서 48±2시간 배양하였다. 배양 후 건조필름배지 위에 형성된 붉은색 집락을 계수하였다. 또한 대장균군 및 대장균의 정량적 분석을 위해 대장균/대장균군 건조필름배지(*E. coli*/Coliform Count Plate 3M Petrifilm, 3M, St. Paul, MN, USA)에 시료 1 mL를 분주하여 35±1°C에서 24±2시간 배양하였다. 배양 후 기포를 가진 푸른색 집락을 대장균 양성으로, 기포를 가진 붉은색과 기포를 가진 푸른색 집락을 대장균군 양성으로 계수하였다. 생성된 집락수에 희석배수를 곱하여 colony-forming unit (CFU)/g으로 나타내었다.

*B. cereus*의 정량 및 정성적 분석

*B. cereus*의 정Oxid량분석과 정성분석은 동시에 수행하였다. 검체 25 g을 취하여 BPW 225 mL와 혼합하고 균질화 한 다음 Mannitol Egg Yolk Polymyxin agar (MYP, Oxoid, Basingstroke, Hampshire, UK)에 도말하여 30°C에서 24시간 동안 배양하였다. 배양 후 혼탁한 환을 갖는 분홍색 집락을 계수하였다. 정성시험을 동시에 진행하기 위하여 계수한 배지에서 5개 이상의 전형적인 집락을 선별하여 Tryptic Soy Agar (TSA, Difco, Sparks, MD, USA)에 계대한 후 PCR을 통해 최종확인 하였다.

E. coli O157:H7, *Salmonella* spp., *L. monocytogenes*의 정성 분석

E. coli O157:H7를 분리하기 위하여 검체 25 g을 Modified Tryptone Soy broth (mTSB, Oxoid, Basingstroke, Hampshire, UK) 225 mL에 넣어 균질한 후 37°C에서 24시간 동안 배양하였다. 이후 배양액을 Sorbitol MacConkey agar (SMAC, Oxoid, Basingstroke, Hampshire, UK)에 도말하여 37°C에서 24시간 배양하였다. 배양 후 sorbitol을 분해하지 않는 무색 집락을 선별하여 TSA에 계대한 후 PCR을 진행하였다.

Salmonella spp.를 분리하기 위해, 검체 25 g을 BPW 225 mL에 넣어 균질화 한 다음 37°C에서 24시간 배양하였다. 배양액 1 mL를 Rappaport-Vassiliadis broth (RV, Difco, Sparks, MD, USA) 9 mL에 넣어 42°C에서 24시간 동안 2차 배양하였다. 2차 배양액을 Xylose Lysine Desoxycholate agar (XLD, Difco, Sparks, MD, USA)에 도말 한 후 37°C에서 24시간 배양하였다. 배양 후 검은색 집락을 선별하여 TSA에 계대한 후 PCR을 진행하였다.

*L. monocytogenes*를 분리하기 위해, 검체 25 g을 UVM (University of Vermont Medium)-Modified Listeria (Difco, Sparks, MD, USA) 225 mL에 넣어 균질화 한 다음 37°C에서 24시간 배양하였다. 배양액 1 mL를 Fraser Listeria broth (FB, Difco, Sparks, MD, USA) 9 mL에 넣은 후

37°C에서 24시간 동안 2차 배양하였다. 2차 배양액은 Oxford agar base (OAB, Difco, Sparks, MD, USA)에 도말하여 37°C에서 24시간 동안 배양하였다. 배양 후 검은색 환으로 둘러싸인 갈색의 집락을 선별하여 TSA에 계대한 후 PCR을 진행하였다.

모든 병원성 미생물의 PCR은 Jeong 등¹³⁾의 방법을 따라 실시 하였으며 PCR에 의한 증폭생성물은 2.0% agarose gel 전기영동에 의해 확인하였다.

Results and Discussion

부추와 부추 재배 토양 중의 일반세균수 오염도

부추와 부추 재배 토양 시료는 겨울재배지인 A지역 3농가(I, II, III)에서 2018년 4월과 5월, 그리고 10월에 채집하였고, 여름재배지인 B지역 3농가(I, II, III)에서는 2018년 7월에 채취하였다. 부추의 일반세균수를 조사한 결과 Table 1과 같다. A지역 I, II, III농가 부추의 일반세균수는 각각 7.77±0.93 log CFU/g, 8.12±0.39 log CFU/g, 7.91±0.51 log CFU/g으로 검출되었으며, B지역 I농가, II농가, III농가 부추에서는 7.37±0.71 log CFU/g, 7.37±0.47 log CFU/g, 6.49±0.29 log CFU/g으로 검출되었다. Seol 등¹⁴⁾은 유치원 급식 식재료 중 부추에서 일반세균이 4.76-5.93 log CFU/g 수준으로 검출되었고, 국내 유통중인 신선편이 채소류의 미생물 오염도를 조사한 Bae 등¹⁵⁾이 도출한 결과에 따르면 부추의 일반세균수는 4.15-7.91 log CFU/g으로 평균 6.36±1.50 log CFU/g 검출되었다고 보고하였다. 조사한 자료와 비교하여 본 연구결과 부추의 일반세균수는 약 1-2 log CFU/g정도 높은 수준으로 검출되었다. 부추가 재배되고 있는 토양의 일반세균수를 조사한 결과(Table 1), A지

역 3농가(I, II, III)의 부추재배 토양에서 일반세균수는 각각 7.01±0.69 log CFU/g, 6.66±0.48 log CFU/g, 6.99±0.39 log CFU/g 수준으로 나타났으며, B지역의 I농가, II농가, III농가에서는 6.37±0.17 log CFU/g, 6.54±0.14 log CFU/g, 6.80±0.53 log CFU/g 수준으로 나타났다. Park 등¹⁶⁾은 부추 재배 토양의 미생물 오염도 조사를 위해 부추 재배 전 토양, 부추 재배 시 토양, 부추 수확 후 토양 3단계로 구분하여 미생물을 분석한 결과 일반세균수 6.40-6.70 log CFU/g으로 검출되었다고 보고하였다. Choi 등¹⁷⁾은 부추와 같이 토양과 직접 접촉하여 자라는 양파 재배 토양에서 일반세균수 6.80-7.10 log CFU/g으로 검출되었다고 보고하였다. 또한 Jung 등¹⁸⁾은 비가열 섭취 채소류의 미생물 오염도를 분석한 결과에 따르면 치커리(7.78 log CFU/g), 부추·미나리(7.20 log CFU/g), 쪽갓(6.98 log CFU/g), 배추(6.94 log CFU/g), 상추(6.84log CFU/g), 깻잎(6.48 log CFU/g) 순으로 일반세균수가 높게 나타났으며 채소류의 가식부위가 토양과 접촉하는 정도에 따라 미생물의 오염수준에 차이가 있다고 보고하였다. 일반적으로 일반세균수는 식중독 병원균의 오염과는 연관성이 없으나 작물 재배환경과 수확작업 등 농작업 관행을 알 수 있는 환경지표미생물이다¹⁹⁾. 부추 재배는 재배기간 중 7-8회 연속수확을 위해 재배 전 퇴비시용 외에도 수확 후 재배 중에 퇴비를 추가로 토양 표면에 시비하고 있다. 겨울재배지인 A지역의 3개 농가의 부추와 토양시료는 재배 종료직전 4월과 5월, 그리고 재배 초기인 10월에 채집한 시료로 토양 멀칭재배를 하지 않은 시료이었고, 여름재배지인 B지역의 3개 농가는 재배 전에 토양 표면에 퇴비를 준비한 후 멀칭재배한 시료였다. 전반적으로 A와 B지역의 부추와 부추 재배 토양의 일반세균수 오염도 분석결과 부추 재배 토양보다 부추의 일반세균수가

Table 1. Total aerobic bacteria in leek and soil samples

(Unit: log CFU/g)

Sample	Region	Farm	n ¹⁾	No. of positive (%)	Total aerobic bacteria		
					Average	Max.	Min.
Leek	A	I	11	11(100)	7.77±0.93	8.76	5.87
		II	8	8(100)	8.12±0.39	8.59	7.48
		III	11	11(100)	7.91±0.51	8.60	6.93
	B	I	3	3(100)	7.37±0.71	7.80	6.55
		II	3	3(100)	7.37±0.47	7.90	7.02
		III	3	3(100)	6.49±0.29	6.82	6.30
Soil	A	I	9	9(100)	7.01±0.69	8.45	6.52
		II	6	6(100)	6.66±0.48	7.08	5.94
		III	9	9(100)	6.99±0.39	7.48	6.58
	B	I	3	3(100)	6.37±0.17	6.47	6.17
		II	3	3(100)	6.54±0.14	6.63	6.38
		III	3	3(100)	6.80±0.53	7.40	6.39

¹⁾Total number of samples.

높게 검출되었다. 본 연구에서 채집한 토양시료는 지표면에서 10 cm 깊이에서 채취한 시료로 토양표면 퇴비의 일반세균수(7.5-9.0 log CFU/g)보다 밀도가 낮았으며, 부추의 일반세균수보다 높았다. 한편 Park 등¹⁶⁾은 부추 재배단계의 작업자의 손, 옷, 장갑에서 일반세균수가 2.4-5.4 log CFU/hand, 1.9-2.5 log CFU/100 cm², 2.6-3.3 log CFU/100 cm² 검출되었다고 보고하였다. 본 연구 결과 토양보다 부추에서 일반세균수가 높게 검출된 것은 부추 재배과정 및 수확작업 시 작업자의 장갑, 신발, 작업도구 등에 의해 토양 이외의 재배환경에서 교차 오염된 것으로 판단된다. 또한, 미생물이 신선 채소에 오염되었을 때 틈새에 주로 오염되어 있으며, 채소표면에 biofilm을 형성하여 세척 시 제거하기 어렵다고 보고하였다²⁰⁾. 부추는 세척이 까다롭고 가열하지 않고 섭취하는 경우가 많다. 부추와 같이 신선 엽경채류에 일반세균수가 많이 존재하면 부패하기 쉽고 품질저하와 함께 식중독세균의 생존에 유리한 조건을 제공할 수 있으므로 미생물이 증식하지 않도록 저온 저장하는 등 주의가 필요하다고 판단된다.

부추와 부추 재배 토양 중 대장균군, 대장균 오염도

부추 재배 토양에 사용되는 퇴비 등으로 장내세균이 부추에 오염될 수 있는지를 알아보기 위해 부추와 부추 재배 토양의 대장균군, 대장균 오염도를 조사한 결과는 Table 2와 같다. A지역 3농가의 부추에서 대장균군은 I농가에서 4.63±2.43 log CFU/g으로 검출되었으며 II농가에서는 5.57±0.38 log CFU/g, III농가에서는 5.61±0.55 log CFU/g으로 검출되었다. B지역 I, II, III농가의 부추에서 대장균군은 6.54±0.71 log CFU/g, 5.34±0.36 log CFU/g, 5.66±0.05 log CFU/g으로 검출되었다. 부추가 재배되고 있는 토양에 대

한 대장균군, 대장균 오염도 조사한 결과(Table 2), A지역 3농가의 부추 재배 토양에서 대장균군은 3.27±0.94 log CFU/g, 3.54±1.09 log CFU/g, 3.70±0.54 log CFU/g 수준으로 확인되었으며 B지역 3농가의 부추 재배 토양에서 대장균군은 4.56±0.74 log CFU/g, 4.79±0.32 log CFU/g, 5.34±0.52 log CFU/g 수준으로 확인되었다. 부추와 부추 재배 토양의 대장균군, 대장균 정량분석 결과 기포를 가진 대장균(blue colony)은 A지역 I, II, III농가와 B지역 I, II, III농가에서 모두 검출되지 않았다. 본 연구결과는 부추 및 부추 재배 토양에서 대장균이 검출되지 않았지만 (data not shown) 다량의 대장균군이 검출되는 것을 확인하였다. 또한 A, B지역 모두 부추의 대장균군은 토양의 대장균군 보다 더 높은 밀도를 보였다. 부추의 대장균군 밀도는 토양시료의 대장균군 밀도보다는 토양표면에 추가 사용한 퇴비의 대장균군 밀도(data not shown)와 더 밀접한 관련이 있었다. Park 등¹⁶⁾에 연구 결과에 따르면 토양과 부추에서 대장균군이 각각 3.9-4.2 log CFU/g, 4.8-5.0 log CFU/g으로 검출되었으며 토양보다 부추에서 대장균군이 높게 검출되었다고 보고하였다. 또한 이러한 이유로는 부추 재배과정 및 수확 시 작업자 및 작업도구의 접촉으로 인한 교차오염으로 토양보다 부추에서 대장균군이 높게 검출된 것이라고 보고하였다. 본 실험의 결과 또한 A, B지역 모두 토양보다 부추에서 대장균군이 더 높게 검출되었다. 이는 토양 이외에도 부추 재배기간 동안 수확작업 등 작업환경에 의해서 교차 오염된 것으로 판단된다. Sung 등²¹⁾은 Systematic analysis 방법을 이용한 국내 엽경채류 농산물의 미생물 오염도를 조사한 연구에서 대장균군의 경우 2.15-6.99 log CFU/g으로 나타난 결과를 확인하였다. Kim 등²²⁾의 연구결과에 의하면 영양부추와 영양

Table 2. Coliform bacteria in leek and soil samples (Unit: log CFU/g)

Sample	Region	Farm	n ¹⁾	No. of positive (%)	Coliform		
					Average	Max.	Min.
Leek	A	I	11	11(100)	4.63±2.43	6.98	1.20
		II	8	8(100)	5.57±0.38	6.07	4.90
		III	11	11(100)	5.61±0.55	6.86	5.15
	B	I	3	3(100)	6.54±0.71	7.36	6.05
		II	3	3(100)	5.34±0.36	5.69	4.97
		III	3	3(100)	5.66±0.05	5.72	5.62
Soil	A	I	9	9(100)	3.27±0.94	5.41	2.45
		II	6	6(100)	3.54±1.09	5.62	2.57
		III	9	9(100)	3.70±0.54	4.78	3.15
	B	I	3	3(100)	4.56±0.74	5.03	3.70
		II	3	3(100)	4.79±0.32	5.15	4.56
		III	3	3(100)	5.34±0.52	5.87	4.84

¹⁾Total number of samples.

부추 재배 토양의 대장균군은 각각 1.43-3.69 log CFU/g, 1.16-2.10 log CFU/g으로 검출되었으며 대장균이 영양부추 재배 토양에서 검출되었다고 보고하였다. 퇴비를 많이 사용하는 다비성 작물의 토양에는 대장균군, 대장균 등 병원성 미생물이 작물로 오염될 수 있다. Jung 등²³⁾은 가축 분 퇴비와 유기질 비료에서 병원성 미생물이 종종 검출되며 이러한 병원성 미생물이 토양과 혼합되어 작물에 교차 오염이 발생할 수 있고, 그 작물에 병원성 미생물 오염도가 높을 경우 안전에 대한 문제가 발생할 수 있다고 보고하였다. Islam 등²⁴⁾과 Solomon 등²⁵⁾의 연구에 따르면 토양에 인위적으로 대장균을 접종하고 상추를 심었을 때 근계를 통해 가식부위까지 이동한다고 보고하였다. 대장균군은 대장균과 그와 비슷한 균을 모두 지칭하며 토양, 물, 식품 등에서 검출되고 유당을 분해하여 산과 가스를 발생하는 균으로 대장균군이 검출되면 병원성 미생물과 대장균이 존재할 가능성이 있다고 의미한다²⁶⁾. 따라서 퇴비, 비료 등이 혼합된 토양의 유해미생물이 근권을 통해 작물을 오염시킬 수 있으므로 작물을 재배하는 토양과 퇴비 등의 안전관리가 필요하다고 판단된다.

부추와 부추 재배 토양 중 *Bacillus cereus* 오염도

*B. cereus*는 토양, 먼지 등에 분포하여 농작물에 쉽게 오염되며 사람에게 설사나 구토 등을 일으키는 식중독세균이다²⁷⁾. 토양과 직접 접촉하며 자라는 부추와 부추 재배 토양의 *B. cereus*의 오염도를 정량 분석한 결과는 Table 3과 같다. 한편 계수한 배지에서 5개 이상의 전형적인 colony를 선별하여 PowerCheck™ *Bacillus cereus* Detection Kit (Power check PCR kit, Kogen, Korea)를 이용하여 PCR

(Biorad, USA)로 최종 확인하였다(Fig. 1). A지역 I농가 부추의 *B. cereus*는 4.15±1.32 log CFU/g으로 검출되었으며, II농가에서 3.34±1.17 log CFU/g, III농가에서 2.14±0.80 log CFU/g으로 검출되었다. B지역 3농가의 부추에서 *B. cereus*가 모두 검출되지 않았다. A지역 부추 재배 토양의 *B. cereus*를 조사한 결과 I, II, III농가 시료에서 평균 5.83-6.06 log CFU/g 범위로 검출되었다. B지역 3농가에서는 평균 6.72-7.28 log CFU/g으로 검출되었다. B지역 3농가에서 채집한 부추는 모두 생육초기(종자 파종 후 3주 이내의 어린 부추)이고, 25°C이상의 고온이 지속되었고 건조한 재배환경이었다. 일반적으로 *B. cereus*는 수분활성도가 0.92 미만에서는 생육이 저해된다⁹⁾. 또한 A지역과는 달리

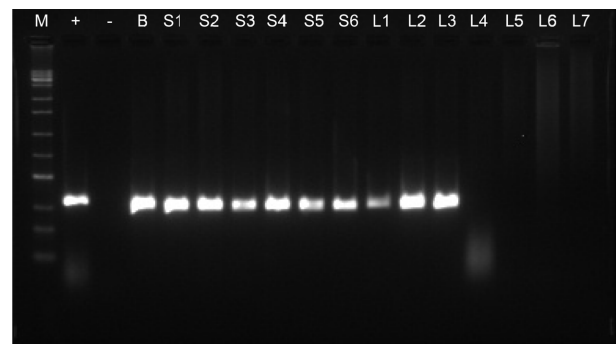


Fig. 1. PCR profiles of isolates observed for *B. cereus* detection. M: 1kb size maker, +: groEL gene positive control (amplicon size; 303bp), -: negative control, B: *B. cereus* B87, S1-S3: Soil isolates from 3 farms of A region, S4-S7: Soil isolates from 3 farms of B region, L1-L3: Leek isolates from 3 farms of A region, L4-L7: Leek isolates from 3 farms of B region.

Table 3. Incidence and population density of *B. cereus* in leek and soil samples

(Unit: log CFU/g)

Sample	Region	Farm	n ¹⁾	no. of positive (%)	<i>B. cereus</i>		
					Average	Max.	Min.
Leek	A	I	11	2(18.1)	4.15±1.32	5.08	3.22
		II	8	4(50.0)	3.34±1.17	4.87	2.34
		III	11	5(45.4)	2.14±0.80	3.17	1.30
	B	I	3	ND	ND ²⁾	ND	ND
		II	3	ND	ND	ND	ND
		III	3	ND	ND	ND	ND
Soil	A	I	9	9(100)	5.90±0.33	6.34	5.43
		II	6	6(100)	6.06±0.17	6.23	5.83
		III	9	6(66.6)	5.83±0.28	6.20	5.55
	B	I	3	2(66.6)	6.72±0.00	6.72	6.72
		II	3	3(100)	6.96±0.08	7.04	6.87
		III	3	1(33.3)	7.28±0.00	7.28	7.28

¹⁾Number of samples tested.

²⁾ND: Not Detected (Detection limit: <1.00 log CFU/g).

B지역의 3개 농가는 토양 표면에 퇴비를 추비한 후 멀칭 재배한 농가들이었다. 이러한 이유로, B지역 3농가의 토양시료에서는 *B. cereus*가 검출되었지만 부추시료에서는 검출할 수 없었던 것으로 판단된다. 따라서 여름재배와 겨울재배에 따른 차이보다는 조사시기의 재배환경과 멀칭재배 유무에 따른 영향이라고 판단된다. 금후 멀칭재배에 의한 작물로의 교차오염 정도와 부추 재배기간별 재배환경 변화와 부추의 *B. cereus* 오염도 변화와 상관관계를 구명할 필요가 있다. Park 등¹⁶⁾은 부추 및 부추 재배 토양의 *B. cereus* 오염도 조사 결과 부추 재배 토양의 *B. cereus* 오염도는 2.50-4.60 log CFU/g 수준이었으나 부추에서는 불검출-0.50 log CFU/g 수준으로 검출되었다고 보고하였다. 부추와 같이 토양과 접촉하여 자라는 인삼재배 토양의 미생물 오염도를 평가한 Shim 등²⁸⁾의 연구결과에 의하면 인삼 및 인삼재배 토양의 *B. cereus*는 1.90-2.90 log CFU/g, 4.50-4.90 log CFU/g의 수준으로 확인되었다. 고추와 오이 같이 토양과 직접 접촉하지 않고 자라는 작물의 *B. cereus*는 Nam 등²⁹⁾의 연구에 의하면 고추에서는 불검출 되었으며 고추재배 토양에서 *B. cereus*는 불검출에서 최대 2.50 log CFU/g 수준으로 나타났다. Kim 등³⁰⁾의 오이재배 토양에서는 28종에 미생물 중 *Bacillus* 속이 가장 많이 분리되었다고 보고되었으며 Shim 등³¹⁾의 오이와 고추의 미생물 오염도 분석결과에 따르면 *B. cereus*는 오이와 고추에서 불검출 되었으며 오이 잎과 고춧잎에서만 각각 2.50 log CFU/g, 1.00 log CFU/g 검출되었다고 보고하였다. Shim 등²⁸⁾의 조사에 따르면 *B. cereus*는 토양세균의 일종으로³²⁾ 토양과 접촉하지 않고 자라는 고추, 오이 등의 작물과 달리 토양과 직접 접촉하여 자라는 인삼 등의 작

물에서 검출되는 것으로 나타났다. 이와 유사하게 본 연구에서도 부추의 *B. cereus*의 오염도 분석 결과 최대 5.05 log CFU/g의 높은 오염도를 보였다. *B. cereus* 식중독은 5.00 log CFU/g 이상에서 발병되며 노약자의 경우 5.00 log CFU/g보다 낮은 오염도에서도 식중독이 발병된다³³⁾. 이에 따라 최근 각 국에서는 *B. cereus*의 관리를 강화하고 있고 국내의 경우 신선편의 식품 및 가열하지 않고 섭취하는 생식 및 가공식품은 3.00 log CFU/g(별균제품은 음성)이하, 특수용도 식품은 2.00 log CFU/g 이하로 규제하고 있다¹²⁾. *B. cereus*는 토양에서 서식하는 세균이며, 포자를 형성하는 균으로 식품에 포자가 형성되면 가열 조리 하더라도 사멸되지 않으므로³²⁾ 재배환경에 따라 신선 채소류의 오염가능성이 높다. Kwon 등³⁴⁾은 수확기 깻잎의 오염도(1.4-2.4 CFU/g)는 재배 토양의 *B. cereus* 오염도(4.2-5.0 log CFU/g)와 공중낙하균 중 *B. cereus* 오염도(0.5-0.8 log CFU/plate)에 의한 교차오염 가능성을 제시하였다. 작물의 *B. cereus* 오염도는 토양에서 작물로 교차오염뿐만 아니라 재배포장의 온도와 습도에 따라 공기중의 *B. cereus* 포자에 의해 언제든지 작물에 오염될 수 있다. 따라서 토양에서 작물로 교차오염이 발생되지 않도록 멀칭재배와 동시에 재배포장의 온습도 관리, 잔재물 제거 등 재배환경 위생관리가 요구된다.

부추와 부추 재배 토양 중 병원성 미생물 오염도

부추와 부추 재배 토양의 병원성 미생물 오염도를 조사하였다. 병원성 미생물을 검출하기 위하여 각 시료를 selective enrichment broth와 selective agar에서 배양하고, 배양 후 selective agar에서 의심되는 colony는 PCR로 확

Table 4. Incidence of foodborne pathogens in leek and soil samples

Sample	Region	Farm	n ¹⁾	Foodborne pathogens(%)				
				<i>B. cereus</i>	<i>E. coli</i>	<i>E. coli</i> O157:H7	<i>Salmonella</i> spp.	<i>L. monocytogenes</i>
Leek	A	I	11	2(18.1)	ND	ND ²⁾	ND	ND
		II	8	3(37.5)	ND	ND	ND	ND
		III	11	3(27.2)	ND	ND	ND	ND
	B	I	3	ND	ND	ND	ND	ND
		II	3	ND	ND	ND	ND	ND
		III	3	ND	ND	ND	ND	ND
soil	A	I	9	9(100)	ND	ND	ND	ND
		II	6	6(100)	ND	ND	ND	ND
		III	9	9(100)	ND	ND	ND	ND
	B	I	3	2(66.6)	ND	ND	ND	ND
		II	3	3(100)	ND	ND	ND	ND
		III	3	1(33.3)	ND	ND	ND	ND

¹⁾Number of samples analyzed.

²⁾ND: Not Detected.

인하였다. 병원성 미생물 오염도 분석결과 Table 4와 같다. A지역 I농가 부추의 *B. cereus*은 11개 시료 중 2개(18.1%) 시료에서 검출되었고 II농가에서 8개 시료 중 3개(37.5%) 시료에서 검출되었으며 III농가에서 11개 시료 중 3개(27.2%) 시료에서 검출되었다. B지역 3농가의 부추에서 *B. cereus*가 모두 검출되지 않았다. A지역 부추 재배 토양의 *B. cereus* 분석 결과 I, II, III농가 시료 24개 시료 중 24개(100%) 시료에서 모두 검출되었고 B지역 3개 농가는 9개시료 중 6개(66.6%) 시료에서 검출되었다. A지역과 B지역의 부추와 부추 재배 토양에서 *E. coli*, *E. coli* O157:H7, *Salmonella* spp., *L. monocytogenes*의 병원성 미생물은 검출되지 않았다. Oh 등³⁵⁾은 토양과 접촉하여 자라는 다미성 작물인 배추 토양에서 *Salmonella* spp., *L. monocytogenes*가 약 4.00 log CFU/g 검출되었다고 보고하였다. Oliveira³⁶⁾과 Liu 등³⁷⁾의 연구에 따르면 *L. innocua*, *E. coli*이 오염된 토양에서 재배한 작물에서 *L. innocua*, *E. coli*이 검출되었다고 보고하였다. 본 연구결과에서는 병원성 미생물 오염은 없는 것으로 나타났다지만 토양에 내재되어 있는 병원성 미생물이 작물로 교차오염 될 수 있으므로 토양에 대한 관리가 필요하며 농산물의 안전성을 확보할 수 있는 체계적인 연구와 재배환경에 대한 위생적인 관리가 필요하다고 판단된다.

국문요약

본 연구는 부추의 안전한 재배를 위해 전국에 부추를 재배하는 지역 중 겨울재배지 A지역 3농가(I, II, III)와 여름재배지 B지역 3농가(I, II, III)를 선정하여 부추와 부추가 재배되고 있는 토양의 미생물 오염도를 조사하였다. 부추와 부추 재배 토양에서 위생지표세균(일반세균수, 대장균군, 대장균)과 병원성 미생물(*B. cereus*, *E. coli* O157:H7, *Salmonella* spp., *L. monocytogenes*)을 조사하였다. 그 결과, A지역 3농가의 부추에서 일반세균수는 5.87-8.76 log CFU/g으로 검출되었으며 r대장균군은 1.20-6.98 log CFU/g으로 검출되었다. B지역 3농가에서는 일반세균수가 6.30-7.90 log CFU/g으로 나타났으며 대장균군은 4.97-7.36 log CFU/g이었다. 또한 A지역 3농가의 부추 재배 토양에서 일반세균수는 5.94-7.48 log CFU/g으로 검출되었으며 대장균군은 2.45-5.62 log CFU/g으로 검출되었다. B지역 3농가에서는 일반세균수가 6.30-7.80 log CFU/g으로 나타났으며 대장균군은 6.17-7.40 log CFU/g으로 검출되었다. A지역과 B지역의 부추, 부추 재배 토양에서 대장균이 모두 검출되지 않았다. 두 지역의 부추와 부추 재배 토양의 병원성 미생물 분석 결과, *B. cereus*는 A지역의 부추 시료 30개 중 8개(26.6%) 시료에서 검출되었으며 부추 재배 토양 24개 시료 중 24개(100%) 시료에서 검출되었다. 또한 B지역 3농가는 모두 멀칭한 농가로 부추에서는 *B. cereus*가 검출되지 않았으며 부추 재배 토양에서 9개 시료 중 6

개(66.6%) 시료에서 검출되었다. 반면에 두 지역의 부추와 부추 재배 토양에서 *E. coli* O157:H7, *Salmonella* spp., *L. monocytogenes*은 검출되지 않았다. 농산물에서 *B. cereus*와 같은 병원성 미생물의 오염은 재배단계에서 토양 등으로 인해 쉽게 오염될 수 있다. 이러한 오염을 줄이기 위해 농작물 재배 시 작물과 토양의 접촉을 최소화하기 위해 토양 멀칭재배와 온도 및 습도 등 재배환경을 관리하는 것이 미생물 오염도를 줄이는데 효과적인 것으로 판단된다. 또한 농산물로 인한 식중독 사고를 예방하기 위해서는 재배환경 모니터링 연구와 위생적인 관리방안에 대한 지속적인 연구가 필요할 것이라고 생각된다.

Acknowledgement

본 연구는 농촌진흥청 국립농업과학원 농업과학기술 연구개발사업(과제: PJ0126762019)의 지원에 의해 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

References

1. Kweon, S.H., Kim, Y.N., Jang, M.J., Kim, Y.J., Kim, K.R., Choi, S.H., Chun, C.M., Khang, Y.H., Oh, K.W., Data resource profile the Korea national health and nutrition examination survey (KNHANES). *J. Epidemiol.*, **43**, 69-77 (2014).
2. Ministry of Food and Drug Safety (MFDS)., (2019, November 11) Press release no. 1080 Enforcement of Summer Food poisoning prevention plan. Retrieved from <http://www.mfds.go.kr>
3. Painter, J.A., Hoekstra, R.M., Ayers, T., Tauxe, R.V., Braden, C.R., Angulo, F.J., Griffin, P.M., Attribution of foodborne illnesses, hospitalizations, and deaths to food commodities by using outbreak data, United States, 1998-2008. *Emerg. Infect. Dis.*, **19**, 407-415 (2013).
4. Frank, C., Werber, D., Cramer, J.P., Askar, M., Faber, M., an der Heiden, M., Wadl, M., Epidemic profile of Shiga-toxin-producing *Escherichia coli* O104: H4 outbreak in Germany. *N. Engl. J. Med.*, **365**, 1771-1780 (2011).
5. Kim, S.H., Kim, J.S., Choi, J.P., Park, J.H., Prevalence and frequency of food-borne pathogens on unprocessed agricultural and marine products. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **38**, 594-598 (2006).
6. Kim, M.H., Shin, W.S., Microbiological quality of raw and cooked foods in middle and high school food service establishments. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **37**, 1343-1356 (2008).
7. Kim, S.R., Lee, J.Y., Lee, S.H., Kim, W.I., Park, K.H., Yun, H.J., Ryu, K.Y., Evaluation of microbiological safety of lettuce and cultivation area. *J. Food Hyg. Saf.*, **26**, 289-295 (2011).
8. Park, H.J., Min, K.J., Park, N.Y., Cho, J.I., Lee, S.H., Hwang, I.G., Yoon, K.S., Estimation on the consumption patterns of potentially hazardous foods with high consumer risk perception. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **45**, 59-69 (2013).

9. European Food Safety Authority., Opinion of the scientific panel on biological hazards on *Bacillus cereus* and other *Bacillus* spp. *In foodstuffs*, *J. efsa.*, **175**, 1-48 (2005).
10. Burnett, S.L., Beuchat, L.R., Human pathogens associated with raw produce and unpasteurized juices, and difficulties in decontamination. *J. Industrial Microbiol. Biotechnol.*, **27**, 104-110 (2001).
11. Soriano, J.M., Rico, H., Molto, J.C., Manes, J., Incidence of microbial flora in lettuce, meat and Spanish potato omelette from restaurants. *Food Microbiol.*, **18**, 159-163 (2001).
12. Ministry of Food and Drug Safety (MFDS)., (2019, November 10). Food Code (No. 2019-89). Retrieved from <http://www.mfds.go.kr>
13. Jeong, B.R., Seo, S.M., Jeon, H.J., Roh, E.J., Kim, S.R., Lee, T., Ryu, J.G., Ryu, K.Y., Jung, K.S., Evaluation on microbial contamination in red pepper and red pepper cultivated soil in Korea. *J. Food Hyg. Saf.*, **33**, 347-353 (2018).
14. Seol, H.R., Park, H.S., Park, K.H., Park, A.K., Ryu, K., Microbiological evaluation of foods and kitchen environments in childcare center and kindergarten foodservice operations. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **38**, 252-260 (2009).
15. Bae, Y.M., Hong, Y.J., Kang, D.H., Heu, S.G., Lee, S.Y., Microbial and pathogenic contamination of ready-to-eat fresh vegetables in Korea. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **43**, 161-168 (2011).
16. Park, S.G., Choi, Y.D., Lee, C.W., Jeong, M. J., Kim, J.S., Chung, D.H., Shim, W.B., Investigation of Microbiological Hazard from Korean Leeks and Cultivation Area to Establish the GAP Model. *J. Food Hyg. Saf.*, **30**, 28-34 (2015).
17. Choi, Y.D., Lee, C.W., Kim, J.S., Chung, D.H., Shim, W.B., Investigation of hazards from onions and their cultivation areas to establish a good agricultural practices (GAP) model. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **45**, 785-790 (2013).
18. Jung, S.H., Hur, M.J., Ju, J.H., Kim, K., Oh, S.S., Go, J.M., Im, J.S., Microbiological evaluation of raw vegetables. *J. Food Hyg. Saf.*, **21**, 250-257 (2006).
19. International Commission on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF)., 2005. Vegetable and vegetable products: in *Microorganisms in Foods*, Kluwer Academic/ Plenum Publishers, New York, Chapter 5.
20. Beuchat, L.R., *Listeria monocytogenes*: incidence on vegetables. *Food Control.*, **7**, 223-228 (1996).
21. Sung, S.M., Min, J.H., Kim, H.J., Yoon, K.S., Lee, J.K., Systematic Analysis of Microbial Contamination in Leaf and Stem Products in Korea. *J. Food Hyg Saf.*, **32**, 306-313 (2017).
22. Kim, S.R., Kim, J.B., Lee, H.S., Lee, E.S., Kim, W.I., Ryu, S.H., Ryu, J.G., Effects of Small Scale Post-Harvest Facility and Hygiene Education on the Level of Microbial Safety in Korean Leeks Production. *J. Food Hyg. Saf.*, **30**, 249-257 (2015).
23. Jung, K.S., Heu, S.G., Roh, E.J., Lee, D.H., Yun, J.C., Kim, K.H., Prevalence of pathogenic bacteria in livestock manure compost and organic fertilizer. *Korean J. Soil Sci. Fert.*, **44**, 824-829 (2011).
24. Islam, M., Doyle, M.P., Phatak, S.C., Millner, P., Jiang, X., Survival of *Escherichia coli* O157: H7 in soil and on carrots and onions grown in fields treated with contaminated manure composts or irrigation water. *Food microbiol.*, **22**, 63-70 (2005).
25. Solomon, E.B., Yaron, S., Matthews, K.R., Transmission of *Escherichia coli* O157: H7 from contaminated manure and irrigation water to lettuce plant tissue and its subsequent internalization. *Appl. Environ. microbiol.*, **68**, 397-400 (2002).
26. Maule, A., Survival of verocytotoxigenic *Escherichia coli* O157 in soil, water and on surfaces. *J. Appl. Microbiol.*, **88**, 71S-78S (2000).
27. Koo, M.S., *Bacillus cereus*: An ambusher of food safety. *Bull. Food Technol.*, **22**, 587-600 (2009).
28. Shim, W.B., Kim, J.S., Chung, D.H., Microbiological hazard analysis of ginseng farms at the cultivation stage to develop a good agricultural practices (GAP) model. *J. Food Hyg. Saf.*, **28**, 312-318 (2013).
29. Nam, M.J., Heo, R.W., Lee, W.G., Kim, K.Y., Chung, D.Y., Kim, J.S., Chung, D.H., Microbiological hazard analysis of hot pepper farms for the application of good agricultural practices (GAP) system. *J. Agri. Life Sci.*, **45**, 163-173 (2011).
30. Kim, B.Y., Weon, H.Y., Park, I.C., Lee, S.Y., Kim, W.G., Song, J.K., Microbial diversity and community analysis in lettuce or cucumber cultivated greenhouse soil in Korea. *Korean J. Soil Sci. Fert.*, **44**, 1169-1175 (2011).
31. Shim, W.B., Lee, C.W., Jeong, M.J., Kim, J.S., Ryu, J.G., Chung, D.H., An investigation of the hazards associated with cucumber and hot pepper cultivation areas to establish a good agricultural practices (GAP) model. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **46**, 108-114 (2014).
32. European Food Safety Authority., Risk for public health related to the presence of *Bacillus cereus* and *Bacillus* spp. Including *Bacillus thuringiensis* in foodstuffs. *J. efsa* **14**, 4524 (2016).
33. Park, M.J., Hong, H.G., Son, J.S., Kwon, Y.O., Lim, Y.S., Lee, H.H., Kim, G.H., A Study on the Contamination of *Bacillus cereus* in Baby Food on the Online Market. *J. Food Hyg. Saf.*, **29**, 207-210 (2014).
34. Kwon, W.H., Lee, W.G., Song, J.E., Kim, K.Y., Shim W.B., Yoon, Y.H., Kim, Y.S., Chung, D.H., Microbiological hazard analysis on perilla leaf farms at the harvesting stage for the application of the good agricultural practices(GAP). *J. Food Hyg. Saf.*, **27**, 295-300 (2012)
35. Oh, S.Y., Nam, K.W., Yoon, D.H., Analysis of Pathogenic Microorganism's Contamination and Heavy Metals on Kimchi Cabbage by Cultivation Methods in Korea. *J. Food Hyg. Saf.*, **32**, 500-506 (2017).
36. Oliveira, M., Usall, J., Viñas, I., Solsona, C., Abadias, M., Transfer of *Listeria innocua* from contaminated compost and irrigation water to lettuce leaves. *Food microbiol.*, **28**, 590-596 (2011).
37. Liu, C., Hofstra, N., 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).