

高等蔬菜類에 對한 細菌學的 研究

張 東 錫* · 金 榮 萬** · 金 龍 瑄*

BACTERIOLOGICAL STUDY ON CULTURED VEGETABLES

Dong-Suck CHANG*, Young-Man KIM** and Young-Goan KIM*

This experiment was carried out to evaluate the sanitary quality of cultured vegetables and to check the removing rate of bacteria by treating methods such as washing with tap water or commercial detergent, or blanching.

Samples collected from farm land located at Busan suburbs and markets were *Fragaria chiloensis* var. *ananasa*, *Lycopersicum esculentum*, *Capsium logum*, *Cucumis sativus*, *Lactuca scariola* var. *sativa*, leaf of *Perilla frutescens* var. *japonica*, *Oenanthe stolonifera* and *Allium odoium*.

Fecal coliform MPN was ranged from less than 30 to 430,000 per 100 grams of samples examined while plate count was 7.2×10^3 to 2.2×10^7 per gram. Usually contamination rate of fecal coliform of leaf vegetables was much higher than that of fruit vegetables.

Removing rate of bacterial density of vegetables by washing three times with tap water was about 70% in fruit vegetables, about 20% in leaf vegetables but it was about 80% in leaf vegetables by washing with a commercial detergent.

Survival rate of viable cell count of leaf vegetables was less than 0.1% after blanching for one minutes in boiling tap water

Composition of coliform was 18% *Escherichia coli* group, 22% *Citrobacter freundii* group and 60% *Klebsiella aerogenes* group, among *Escherichia coli*, type I being 16% in total.

The coliform detection from BGLB gas positive tubes being planted with various vegetables was about 80% in the result of IMViC reaction.

緒 論

食生活의 變遷에 따라 高等蔬菜類의 生産과 消費는 날로 增加하고 있다.

市販 食品에 對한 報告로는 Ross와 Thatcher(1958), Hall et al (1967), 石井와 後藤(1970), 張과 崔(1973), 張등(1975) 이 있으며 菜蔬반의 흙이나 菜蔬에 付着되어 있는 寄生虫에 對하여는 金과李(1969), 崔와李(1972), 崔와李(1973), 李(1976) 등이 있으나 高等蔬菜類에 對한 細菌學的 研究는 거의 없

는 實情이다. 따라서 우리들이 보통 加熱하지 않고 생것으로 먹는 高等蔬菜類에 對한 細菌學的 調查를 實施하여 市民의 衛生生活에 必要한 參考資料를 얻 고자 1979年 5月부터 8月사이에 釜山近郊에서 栽培되는 딸기 *Fragaria chiloensis* var. *ananasa*, 토마 토 *Lycopersicum esculentum*, 풋고추 *Capsium logum*, 오이 *Cucumis sativus*, 상치 *Lactuca scariola* var *sativa*, 들깻잎 leaf of *Perilla frutescens* var. *sativa*, 미나리 *Oenanthe stolonifera*, 부추 *Allium odoium* 등을 試料로 擇하였다. 이들 試料를 生産 現地 및

* 釜山水産大學, National Fisheries University of Busan

** 東義工業專門大學, Dong Eui Technical Junior College

市場에서 取하여 衛生指標細菌과 一般生菌數의 汚染狀態를 把握하고 수도물과 市販되고 있는 洗滌劑로 씻었을 때의 細菌 除去率, blanching 했을 때의 細菌 殘存率을 調査함과 同時에 大腸菌群 確定試驗 培地の 正確性등을 試驗한 結果를 報告하는 바이다.

材料 및 方法

1. 材 料

各 試料은 釜山 近郊의 高等蔬菜 生産 現地에서 採取하였으며 blanching을 한 '미나리, 부추, 들깻잎' 등은 市場에서 取하여 다같은 方法으로 滅菌容器에 넣어 實驗室에 運搬하였고 磷酸緩衝 稀釋水로 稀釋하여 waring blender로 90秒間 homogenize하여 實驗 試料로 하였다.

2. 實驗 方法

1) 수도수 洗滌

家庭에서 菜蔬를 씻는 것과 같은 方法으로 試料를 손질하여 滅菌된 充分한 量의 水道水로 세번 洗滌한 後 5分間 水切하여 原試料로 하였다.

2) 洗滌劑의 使用

市販되고 있는 A社의 製品을 說明書대로 2% 溶液을 만들고 손질된 菜蔬를 4倍의 洗滌液에 2分間 沈漬한 後 滅菌된 水道水로 두번 洗滌하여 5分間 水切하여 原試料로 하였다.

3) Blanching

다듬어진 菜蔬를 4倍의 끓는물에다 1分間 blanching한 後 滅菌된 水道水에 식힌 다음 5分間 水切하여 實驗에 提供되었다.

4) 衛生指標細菌調查

大腸菌群 및 糞便系大腸菌은 A. P. H. A(1962)의 方法에 準하였는데 3個 試驗管法으로 實施하였다. 大腸菌群 推定試驗에는 lactose broth를, 確定試驗에는 brilliant green lactose bile(2%) broth를 使用하여 35°C±0.5°C로 調節된 incubator에서 培養하였다. 糞便系大腸菌의 確定試驗은 E. C. 培地를 使用하여 44.5°C±0.2°C로 調節된 water bath incubator에

서 24時間 培養하였다. 大腸菌群 및 糞便系大腸菌의 數는 100g當 最確數(most probable number, MPN)로 나타내었다.

5) 生菌數 測定

Homogenize된 試料를 各各 段階 稀釋하여 標準 寒天 平板培地를 使用하여 pour plate method에 準하였다. 35°C에서 48時間±3時間 培養하여 試料 1g當으로 換算하였다. 本研究에 있어 各種 培地는 美國 Difco或은 B. B. L社 製品을 使用하였다.

6) 大腸菌의 分離 및 同定

大腸菌群 確定試驗인 BGLB 培地 gas 陽性인 培養液을 eosin methylene blue(EMB) agar 平板上에 劃線培養하여 特徵있는 獨立된 集落을 nutrient agar slant와 lactose broth에 各各 移殖하여 lactose broth에서 gas 陽性인 菌株에 對하여 indole, methyl red, voges-proskauer, citrate utilization test, E. C 試驗을 하여 同定하였다. IMViC test도 A. P. H. A. (1962) 方法에 準하였고, BGLB 培地에서의 大腸菌群 確定率은 IMViC test 結果로 判定하였다.

結果 및 考察

1. 水道水에 依한 洗滌

産地에서 採試된 各 試料에 대한 細菌 汚染 狀態 및 水道水에 依한 洗滌後의 細菌 減少率에 대한 試驗結果는 Table 1과 같다.

試料別 細菌 汚染狀態는 Table 1에서 알수 있는 마와 같이 大腸菌群 最確數가 試料 100g當 10⁶以上 인 것이 상치와 부추의 例이고 토마토가 가장 깨끗하였다. 糞便系大腸菌의 最確數는 <30~460,000/100g 이었는데 상치와 부추의 경우가 汚染度가 높았다. 大腸菌群 最確數는 試料에 따른 큰 差異가 없었으나 糞便系大腸菌의 境遇는 試料에 따라 差異가 甚하였다. 토마토 깨끗후 들깻잎과 같이 地面에서 조금 먼 어지 있는 試料는 地面에 付着되어 있는 상치, 부추 根기 등에 比하여 훨씬 汚染度가 낮았다. 生菌數는 토마토의 境遇가 7.2×10³/g으로 제일 적었고 부추의 境遇가 2.2×10⁷/g으로 제일 많았으며 一般적으로 10⁵~10⁶/g있으며 糞便系大腸菌과 같은 試料別 差異는 찾아 볼 수 없었다.

Table 1. Removal effect of bacterial density of vegetables by washing with tap water

Sample	Total coliform MPN/100g		Fecal coliform MPN/100g		Plate count/g at 35°C		
	BW	WT	BW	WT	BW	WT	RR(%)
<i>Fragaria chiloensis</i> var. <i>ananasa</i>	15,000	4,300	430	230	1.1×10 ⁴	7.1×10 ³	35.5
<i>Lycopersicum esculentum</i>	1,100	73	<30	<30	7.2×10 ³	1.6×10 ³	78.8
<i>Capsium logum</i>	550,000	230,000	160	<30	5.9×10 ⁶	1.8×10 ⁶	69.5
<i>Cucumis sativus</i>	550,000	430,000	7,500	5,500	2.2×10 ⁵	8.5×10 ⁴	61.4
<i>Lactuca scariola</i> var. <i>sativa</i>	1,100,000	950,000	460,000	430,000	3.3×10 ⁶	2.8×10 ⁶	15.2
Leaf of <i>Perilla frutescens</i> var. <i>japonica</i>	550,000	530,000	<30	<30	6.6×10 ⁶	5.3×10 ⁶	19.7
<i>Allium odoium</i>	2,000,000	1,600,000	240,000	150,000	2.2×10 ⁷	1.6×10 ⁷	27.3

BW: Before washing, WT: Washing with tap water, RR: Removal rate in bacterial count

이들 試料를 水道水로 洗滌하였을 때의 細菌 減少 現象을 살펴보면 全 試料 中에서 토마토의 境遇가 洗滌 效果가 제일 좋았다. 試料別 洗滌 效率를 Fig. 1에 圖示하였다.

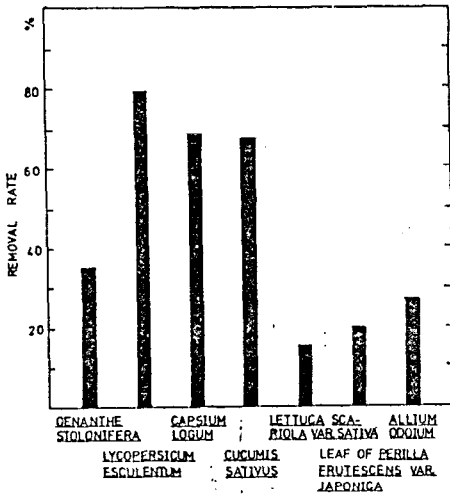


Fig. 1. Removal rate of bacteria contaminated in vegetables by washing with tap water.

水道水 洗滌 效果는 토마토의 境遇가 約 80%로 제일 좋았고, 상치의 境遇가 15% 정도로써 제일 나빴다. 一般적으로 토마토, 풋고추, 오이 등 洗滌하기 좋은 果菜類는 60% 以上の 洗滌 效果가 있는 反面 상치, 들깨잎, 부추 등 葉菜類는 20% 前後의 洗滌 效果 밖에 없었다.

그리고 이와 같은 洗滌 效果라도 最初의 菌數가 적은 때에는 別 問題가 없겠으나, 最初의 菌數가 많은 때에는 水道水만의 洗滌은 別 效果가 없는 것을 알 수 있었다.

2. 洗滌劑에 依한 洗滌

水道水로 씻었을 때 洗滌 效果가 좋지 않은 미나리, 부추, 들깨잎을 市販되고 있는 洗滌劑로 씻었을 때의 細菌 除去率은 Table 2와 같다.

市販되고 있는 A社의 製品을 滅菌 水道水에 2%의 溶液을 만들고 生 試料의 4배의 洗滌 溶液에 2分間 洗滌한 뒤에 水道水 洗滌時와 같은 方法으로 2回 洗滌한 結果 衛生指標細菌의 減少率은 25%~93%이었다. 生菌數의 境遇도 試料에 따라 多少의 差異가 있으나 一般적으로 80%程度의 洗滌率을 나타내는 것을 알 수 있었다. 이는 水道水로 씻었을 때 보다 約 3~4 배의 效果가 있었다. 熊田(1965)는 市販되고 있는 合成 洗滌劑로서 野菜에 付着되어 있는 蛔虫卵의 除去 效果는 洗滌劑에 따라 다르지만 大体로 80~90%의 除卵率을 나타내어 生菌 除去率보다 조금 높았다.

그러나 原試料에 付着되어 있는 菌數가 많을 때에는 80%의 除菌率은 큰 意義를 갖지 못하는 것이다. 市場에서 販賣하고 있는 미나리, 부추, 들깨잎 등의 境遇 試料 1g당 2.7×10⁵~4.3×10⁶ 程度로 汚染되어 있으므로 市販 洗滌劑로 洗滌하여 80% 程度의 除菌後에도 5.3×10⁴~9.0×10⁵/g 程度의 生菌이 付着되어 있으므로 菜蔬類의 衛生的인 取扱이 要望된다.

3. Blanching

미나리, 부추, 들깨잎 등 葉菜類를 4배의 끓는 물에 1分間 blanching 하였을 때 細菌의 殘存率을 Table 2에 收錄하였으며 試料의 處理方法에 따라 菌數의 變化를 Fig. 2에 圖示하였다.

Table 2. Changes of bacterial density of vegetables by washing or blanching

Sample	Total coliform MPN/100g		Fecal coliform MPN/100g		Plate count/g at 35°C							
	BW	WD	AB	BW	WD	AB						
					Count	RR(%)	Count	SR(%)				
<i>Oenanth</i>	A	1.2×10^7	7.5×10^5	36	4.3×10^5	3.6×10^4	< 30	2.3×10^6	4.1×10^5	82.2	100	0.004
	B	4.6×10^7	4.6×10^6	91	1.1×10^7	9.3×10^5	36	4.0×10^6	1.3×10^6	67.5	380	0.009
	C	1.1×10^7	2.4×10^6	< 30	9.3×10^6	4.3×10^5	< 30	5.8×10^6	1.0×10^6	82.8	210	0.003
	Ave.	2.3×10^7	2.6×10^6	—	6.9×10^6	4.7×10^5	—	4.0×10^6	9.0×10^5	77.5	230	0.005
<i>Allium odoium</i>	A	4.6×10^6	9.3×10^5	91	4.6×10^6	4.3×10^5	< 30	5.2×10^6	5.8×10^5	88.8	320	0.006
	B	7.5×10^6	2.4×10^6	< 30	2.4×10^6	2.0×10^6	< 30	4.1×10^6	9.9×10^5	75.9	270	0.006
	C	2.4×10^7	2.4×10^7	< 30	4.6×10^6	4.3×10^5	< 30	3.5×10^6	5.9×10^5	83.1	540	0.015
	Ave.	1.2×10^7	9.1×10^6	—	3.7×10^6	1.1×10^6	—	4.3×10^6	7.2×10^5	83.3	376	0.008
Leaf of <i>Perilla</i>	A	4.6×10^6	1.1×10^5	36	2.4×10^6	9.3×10^4	36	4.6×10^5	5.7×10^4	87.6	260	0.056
	B	4.6×10^5	2.4×10^5	79	1.5×10^5	4.3×10^4	< 30	2.1×10^5	2.3×10^3	98.9	70	0.033
<i>Fritscens</i> var.	C	2.4×10^6	2.4×10^6	< 30	2.4×10^6	4.6×10^5	< 30	1.4×10^5	9.9×10^4	29.3	220	0.157
	Ave.	2.5×10^6	9.2×10^5	—	1.7×10^6	2.0×10^5	—	2.7×10^5	5.3×10^4	80.4	183	0.067

BW : Before treatment WD : Washing with a commercial detergent AB : After blanching

RR : Removal rate in bacterial count SR : Survival rate in bacterial count

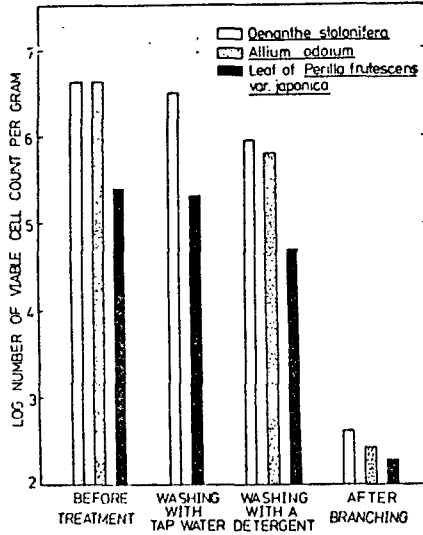


Fig. 2. Changes of viable cell count in vegetables by the treating methods.

大腸菌群이나 糞便系大腸菌은 各各 $2.5 \times 10^6 \sim 2.3 \times 10^7/100g$, $1.7 \times 10^6 \sim 6.9 \times 10^6/100g$ 이던 것이 blanching 後에는 거의 陰性으로 나타났다.

生菌數의 境遇 Fig. 2에서 알수 있는 바와같이 blanching하면 3~4 log cycle式 減少함을 알수 있었다. James(1970)는 菜蔬를 凍結 貯藏하기爲한 前 處理로서도 blanching하는데 이때 細菌 減少率은 約 99% 程度라 하였는데 本 實驗의 結果는 99.9% 以上이었다. 勿論 繁殖型 細胞는 $63^\circ C$ 에서 30分間 處理하면 거의가 死滅하는데 미나리, 부추, 들깻잎 등에서 blanching 後 檢出되는 $10^2/g$ 程度의 細菌은 芽胞 形成細菌을 包含한 耐熱性 土壤細菌이 主인것으로 思料된다. 따라서 細菌 汚染度가 多少 높은 葉菜類도 blanching하면 生菌 殘存率은 0.1%에도 未達함으로 細菌學적으로 깨끗해진다.

4. 大腸菌群의 同定

大腸菌群 確定試驗 卽 BGLB gas 陽性인 試驗管

Table 3. Summary of classification results of coliforms in vegetables

Coliform type		Colony characteristics on EMB agar plate	No. of strains	Percent to total
<i>Escherichia coli</i>	I	Sheen, pink, purple	59	16.1
" "	II	Purple, grey, mucoid	3	0.8
" "	III	Mucoid, Wine	3	0.0
" "	IV	Sheen	1	0.3
Sub total			66	18.0
<i>Citrobacter freundii</i>	I	Purple, mucoid	43	11.7
" "	II	Sheen, purple	37	10.1
Sub total			80	21.8
<i>Klebsiella aerogenes</i>	I	Pink, mucoid, grey	91	24.8
" "	II	Purple, sheen	24	6.5
" "	III	Mucoid, pink	3	0.8
" "	IV	Grey, pink, mucoid	103	28.1
Sub total			221	60.2
Total			367	100.0

의 培養液을 EMB agar 平板에 劃線培養하여 特徵 있는 集落을 IMViC reaction 및 E. C. test를 거쳐 大腸菌群을 同定한 結果는 Table 3과 같다.

A. P. H. A. (1962)의 方法에 따라 大腸菌群으로 同定된 367菌株中에서 *Escherichia coli* group이 66菌株로 18%, *Citrobacter freundii* group이 80菌株로 22%, *Klebsiella aerogenes* group이 221菌株로 제인 많아서 60% 이상을 차지하였다. EMB agar 平板上에서의 特徵은 大部分 purple한 色이 集落 中央에 잘 나타나는 便이였으며 時間이 經過할수록 mucoid한 特徵이 잘 나타나며 sheen, purple, wine 色을

나타내는 集落이 *Escherichia* group으로 判別되는 例가 많았다. 大腸菌群의 IMViC reaction 結果 + + - -의 性質을 나타내는 *Escherichia coli* type I은 人畜의 糞便이 그 汚染源으로 食品에서 이 type이 檢出되면 그 食品은 糞便에 依하여 直接 間接으로 汚染되었음을 뜻하며 또한 汚染된지 오래지 않았음을 가리킨다(Vandonsel & Geldreich, 1971). 本 實驗의 結果에 依하면 *Escherichia coli* type I이 16% 있으며, 試料別로는 딸기의 境遇가 20% 程度로 제일 높았다. *Klebsiella aerogenes* group中에서도 type IV와 I이 各各 28%, 25%로 많았다.

Table 4. Certification ratio as Coliform group by IMViC and E. C. test from BGLB gas positive tubes

Samples submitted	Number of BGLB gas positive tubes examined	Certified as Coliform group	
		Number of tubes	%
<i>Fragaria chiloensis</i> var. <i>ananasa</i>	22	17	77.3
<i>Lycopersicum esculentum</i>	16	14	87.5
<i>Capsium logum</i>	30	26	86.7
<i>Cucumis sativus</i>	51	42	82.3
Leaf of <i>Perilla frutescens</i> var. <i>japonica</i>	31	21	67.8
<i>Lactuca scariola</i> var. <i>sativa</i>	60	44	73.3
<i>Allium odoium</i>	66	50	75.8
<i>Oenanthe stolonifera</i>	12	8	66.7
Overall	288	222	77.1

한편 BGLB gas 양성인 시험관으로부터 IMViC 시험 결과 대장菌群으로 判別되는 比率은 Table 4와 같다.

BGLB gas 양성인 288個 試驗管中에서 222個 試驗管에서 대장菌群 檢出이 確認되어 約 80%의 確定率을 나타내었다. 試料의 種類에 따라 檢出率은 差異가 있으며 試料別 確定率은 토마토, 풋고추, 오이 등의 莖類가 80% 以上이있으며 들깨잎, 미나리 등의 莖類는 70% 未滿이었다. 以上の 結果는 金(1975)이 發表한 바와 比較하면 確定率 90% 以上이었던 海水나 淡水 試料에 比하면 낮은 값이었으나 80% 內外인 굴이나 土壤 試料의 結果와 비슷하였다.

要 約

釜山 近郊에서 生産되는 高等 蔬菜類에 對한 細菌 汚染狀態를 把握하고 洗滌, blanching 등 處理方法에 對한 細菌 除去率과 IMViC system에 依한 大腸菌群 同定試驗 結果를 要約하면 다음과 같다.

1. 葉菜類는 果菜類에 比하여 糞便系大腸菌의 汚染度가 높았다.
2. 水道水로 洗滌했을 때 生菌數 除去率은 果菜類에 있어서는 約 70%, 葉菜類에 있어서는 約 20% 였다.
3. 葉菜類를 市販 洗滌劑로 洗滌했을 때 生菌數 除去率은 約 80%로 水道水로 洗滌했을 때보다 3~4倍의 洗滌 效果가 있었다.
4. 4倍의 熱水中에서 1分間 blanching했을 때 生菌數 殘存率은 0.1% 以下였다.
5. 大腸菌群의 組成은 *Escherichia coli* group 18%, *Citrobacter freundii* group 22%, *Klebsiella aerogenes* group이 60%있으며 이中 *Escherichia coli* type I 이

이 16%를 차지하였다.

6. 大腸菌群 確定試驗 培地인 BGLB의 信憑性은 約 80%였다.

文 獻

A. P. H. A. (1962): Recommended procedures for the bacteriological examination of sea water and shellfish. 3rd Ed. Am. Pub. Health Assoc., Inc., 1970 Broadway, New York, N. Y. p. 1-48.

張東錫·崔潤卿(1973): 市販 乾製品의 衛生指標細菌에 關하여. 韓水誌 6, 87-91.

張東錫·崔潤卿·趙權玉(1975): 冷凍食品의 衛生指標細菌에 關하여. 韓水誌 8(3), 157-165.

崔東翊·李燮(1972): 大邱地方의 市場과 菜市場에서 채취한 채소에서 기생충검출. 기생충학잡지 10, 44-51.

崔京珠·李貞淑(1973): 대구 시판 딸기에서의 기생충 조사. 樹大論文集 7, 253-259.

Hall E. D.; F. Brown and K. H. Lewis (1967): Examination of market foods for coliform organisms. Appl. Microbiol. 15, 1062-1069.

石井喜一·後藤功(1970): 生食品頭腐の汚染源に追求について. 食品衛生研究 20(2), 62-63.

James, M. J. (1970): Modern food microbiology. Van Nostrand Reinhold Company, p. 140-141.

金東燦·李濶永(1969): 서울지방의 채소류 및 제배장 토양의 인체기생충 오염실태. 제11회 기생충학회초록 p. 23.

李貞淑(1976): 채소밭 흙에서 인체 기생충과 유충의 검출. 기생충 학회지 14(1), 32-40.

Ross, A. and F. S. Thatcher (1958): Bacteriological contents of market precooked frozen foods in relation to public health. Food Technol. 12, 369-371.

Van Donsel, D. J. and E. E. Geldreich (1971): Relationships of *Salmonella* to fecal coliforms in bottom sediments. Water Research Pergamon Press 5, 1079-1087.