J. Fd Hyg. Safety
Vol. 26, No. 4, pp. 296~301 (2011)

Journal of Food Hygiene and Safety
Available online at http://www.foodhygiene.or.kr

상추잎 즙액과 표면에서 *Escherichia coli* O157:H7의 생장 가능성

김원일 · 정향미 · 김세리 · 박경훈 · 김병석[1] · 윤혜정 · 윤종철 · 류경열*
농촌진흥청 국립농업과학원 농산물안전성부 유해생물과, [1]농촌진흥청 행정법무담당관실

Growth Potential of *Escherichia coli* O157:H7 in Lettuce Leaf Extract and on Lettuce Leaf Surface

Won-Il Kim, Hyang-Mi Jung, Se-Ri Kim, Kyeong-Hun Park, Byung Seok Kim[1], Hye-Jung Yun, Jong-Chul Yun, and Kyoung-Yul Ryu*
Microbial Safety Division, Agri-Food Safety Department, National Academy of Agricultural Science, RDA, Suwon 441-707, Korea
[1]Administrative management & Legal affairs office, RDA, Suwon 441-707, Korea
(Received August 3, 2011/Revised September 4, 2011/Accepted October 10, 2011)

ABSTRACT - This study was to evaluate the growth potential of *E. coli* O157:H7 in lettuce leaf extracts and on lettuce leaf surface at various temperatures. The pathogen can survive and multiply in the extracts and leaf surface of lettuce. The population of *E. coli* O157:H7 in the lettuce extracts reached to 4.79 log CFU/mL at 37°C. The multiplication of pathogen in lettuce extracts initiated within 10 hours of inoculation over 15°C conditions. And it can survive in the lettuce leaf extracts at 4°C for 100 hours at least. And this pathogen can multiply on lettuce leaf surface and the population of pathogen on the lettuce leaf surface increased to 1.82 log CFU/g at 25°C. At 37°C, the pathogen density increased to 1.53 CFU/g within 3 days after inoculation. At all temperature, irrespective of the inoculation level, similar trends in growth of *E. coli* O157:H7 were observed. These results emphasize the growth potential of *E. coli* O157:H7 in lettuce leaf extract and on lettuce leaf surface. To reduce the risk of outbreak, it is important to maintain the cold chain system during storage before the consumption.

Key words: *Escherichia coli* O157:H7, lettuce, foodborne pathogen, food safety

최근 식품산업의 발전, 생활수준 향상 등으로 인해 국민들의 건강에 대한 관심이 높아지면서 가공식품보다는 자연식품을 선호하는 추세로 변화되고 있고, 특히 익히지 않고 직접 섭취하는 비가열 즉석섭취(ready-to-eat) 신선 채소류의 수요가 증가하고 있다[4,7,16].

상추는 우리나라 엽채류 생산량의 6.2%를 차지하고 재배면적 중 5,248 ha(12%)를 차지하는 주요 작물이고[1], 단순 세척 외에는 별도의 가공처리 없이 섭취하는 경우가 많다. 이와 같이 단순 세척 및 생식하는 신선 채소류는 위생 및 안전 관리가 철저히 이루어지지 않을 경우 유해미생물이 오염된 농산물에 의해 식중독이 야기될 가능성이 크다.

최근 장출혈성대장균(Enterohemorrhagic *E. coli*)인 *Escherichia coli* O157:H7에 오염된 엽채류 섭취에 따른 식중독 사고 발생의 사례가 증가하고 있다[5,6]. 우리나라의 경우 식중독 발생은 주로 병원성 미생물에 의한 것이며 살모넬라균, 황색포도상구균, 장염비브리오균, *E. coli* 등이 주요 원인균으로 보고되었고, 또한 식품의약품안전청은 최근 2003년부터 2007년까지 집계한 식중독 발생건수 총 1126건 중 병원성 대장균에 의한 식중독은 세균성 원인균 전체 중 137건(25.5%)으로 가장 높은 비중을 차지한다고 보고했다[2]. 미국의 경우 2010년 식품의약국(FDA)의 발표 자료에 따르면 미국내 식중독 발생에 따른 소요비용은 매년 총1,520억 달러인 것으로 추정되며, *E. coli* O157:H7에 의한 식중독 발생에 있어서는 사고 1건당 평균 14,828달러의 비용이 소요된다고 했다[2,21]. *E. coli* O157:H7에 의한 농식품의 오염은 생산, 유통, 소비 등 여러 단계에서 이루어질 수 있으며, 토양, 퇴비, 관개수 등에 존재하여 농식품으로 전이될 가능성이 있다는 보고가 있다[9,11,13,18,19]. *E. coli* O157:H7은 동물의 장내 병원성 세균이므로 농산물에 전이되어 생존 또는 증

*Correspondence to: Kyoung-Yul Ryu, Microbial safety division, Agri-Food Safety Department, National Academy of Agricultural Science, RDA, Suwon 441-707, Korea
Tel: 82-31-290-0445, Fax: 82-31-290-0407
E-mail: kyryu@korea.kr

식할 가능성이 낮은 것으로 생각되지만, 가공 전 또는 후의 농산물에서 온도, 영양원, pH 등 미생물의 생장과 관련된 여러 가지 요인들이 불리한 조건이라 하더라도 수 시간에서 수십 일 동안 생존 및 증식을 할 수 있는 것으로 알려졌다[3,4,8,10,14,17]. 국제적으로도 농식품 안전관리를 위한 식중독세균의 생장예측, 미생물 오염도 조사, 저감법 개발, 진단법 개발 등에 대한 연구와 정보교류가 이루어지고 있으며, 식품 무역체계의 안전성에 대해 WTO(World Trade Organization)는 식품안전관리의 기본원칙을 과학적 증거에 근거해야 한다고 제시하고 있다[20].

따라서 본 연구는 식중독 세균인 *E. coli* O157:H7가 상추잎 즙액의 영양원을 이용한 생장 가능성을 검정하고 온도가 상추잎에서 *E. coli* O157:H7의 생장에 미치는 영향을 구명하기 위하여 수행하였다.

재료 및 방법

시험균주 및 항생제 내성 균주

시험균주는 *Escherichia coli* O157:H7 ATCC43890 (Isolated from human feces)를 사용하였다. 시험균주만을 선택적으로 선별하기 위해 50 μg/mL 농도의 rifampicin (Sigma-Aldrich, USA) 내성 균주를 만들어 본 연구에 사용하였다. 항생제 내성 균주는 Luria Bertani (BD, USA) 배지에 rifampicin을 50 μg/mL 농도 첨가한 것에 배양하여 실험에 사용하였고, 균주보관 및 사용을 위해 20% glycerol과 1:1(v/v)로 섞어 cryotube에 담아 80°C 초저온냉동고에 보관하였다.

상추잎 즙액 제조

본 연구에 적축면상추(*Lactuca sativa* cv. Seonpung)를 사용하였다. 상추는 상토 (바로커, 서울바이오)를 담은 육묘판에 파종하여 유리온실 내에서 자연 광조건 하에 재배하였다. 파종 약 20일 후, 직경 15 cm 적색 포트에 이식하였고, 추가적으로 약 30일 동안 같은 조건으로 생육시켰다. 상추잎 즙액 추출을 위해 줄기로부터 떼어낸 상추잎 100 g을 분쇄기(Hanil, Korea)를 이용해 약 5분간 충분히 분쇄한 뒤 멸균된 거즈를 이용해 상추잎 즙액을 짜냈다. 추출된 상추잎 즙액을 50 mL conical tube(Falcon, USA)에 담아 10분간(12,000 × g) 원심분리하였다. 상등액을 취해 0.45 μm 주사기용 필터(Advantec, Japan)를 이용해 여과하고 다시 0.2 μm (Advantec, Japan) 주사기 필터로 여과하여 무균상태의 상추잎 즙액을 얻었고 이것을 100% 농도의 상추잎 즙액으로 간주하였다.

상추잎 즙액에 *E. coli* O157:H7 접종

상추잎 즙액과 표면에 접종할 *E. coli* O157:H7 ATCC43890 rifampicin 내성균주를 rifampicin 50 μg/mL을 포함한 LB Agar 배지에 37°C에서 48시간 동안 배양한 후 단일 콜로니를 2 mL의 LB (50 μg/mL) 배지에 접종하여 37°C에서 24시간 동안 진탕배양하였다. 배양한 세균 현탁액에서 세균만 수확하고 배지 성분을 제거하기 위해 현탁액을 1.5 mL centrifuge tube에 분주하여 12,000 × g 조건으로 10분간 원심분리하였다. 상등액을 제거한 후 Minimal Broth Davis without Dextrose (BD, USA) 용액을 1 mL 첨가하여 희석한 후 다시 위와 같은 조건으로 원심분리하였다. 이와 같은 과정을 세 차례 반복한 후 상등액을 제거한 균주 pellet에 0.25 mL의 최소배지를 첨가하여 배지성분을 제거한 접종균주를 준비했다.

상추잎 즙액은 최소배지를 이용해 다섯 가지 농도(100, 10, 1, 0.1, 0.01%)로 희석하여 준비하였다. 대조구로서 LB와 최소배지(MB)를 사용하였다. 상추잎 즙액과 대조구는 50 mL conical tube에 30 mL씩 담고 균주를 접종하였다 (4.5 log CFU/mL).

상추잎 표면에 *E. coli* O157:H7 접종

상추잎 표면에서 *E. coli* O157:H7의 생장 검정을 위해 육안으로 상추잎 표면에 물리적, 생리적 장해가 없는 건전한 잎을 무게가 5 ± 1 g 정도인 잎을 선별하여 사용하였다. 선별한 상추잎 윗면에 각 농도별 세균 현탁액을 10 μl씩 10지점에 spotting하여 상추 한 잎 당 총 100 μl의 세균 현탁액을 접종하였고 접종한 잎은 stomacher bag에 넣고 다시 플라스틱 상자(30 × 20 cm)에 넣어 각 온도(4, 15, 25, 37°C)의 Incubator에 보관하였다.

상추잎 즙액의 *E. coli* O157:H7 밀도 조사

상추잎 즙액에 접종한 *E. coli* O157:H7의 밀도를 시간대별(접종직후, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10일 경과)로 조사하였다. 상추잎 즙액 현탁액 1 mL을 취해 0.1% peptone water 용액으로 단계희석하고 LB agar (rifampicin 50 μg/mL) 배지에 도말하여 생균수를 측정하였다. 위의 과정을 3반복 진행하였다.

상추잎 표면의 *E. coli* O157:H7 밀도 조사

상추잎 표면의 세균을 회수하기 위해 상추잎 무게의 1:10 (w/v) 비율로 0.1% peptone water를 stomacher bag에 넣고 Stomacher BagMixer 400 (Interscience, France)로 2분간 처리하였다. 처리 후 0.1% peptone water 용액으로 단계희석하고 LB agar (rifampicin 50 μg/mL) 배지에 도말하여 생균수를 측정하였다. 위의 과정을 3반복 진행하였다.

결과 및 고찰

상추잎 즙액 농도별 *E. coli* O157:H7 생장

상추 유래 영양원을 이용한 *E. coli* O157:H7의 생장률

을 검정하기 위해 10시간 간격으로 총 100시간 동안 상추 잎 즙액 농도별 *E. coli* O157:H7의 생장을 조사하였다(Fig. 1). 상추잎 즙액 함유량이 100, 10, 1%인 처리구는 *E. coli* O157:H7의 생장패턴과 밀도가 유사한 것으로 나타났다. 접종 40시간 후, 0.1, 0.01%인 처리구는 10% 처리구에 비해 병원균의 증식 밀도가 각각 1.02, 3.27 log CFU/mL 낮게 나타났고, 이것은 증식에 필요한 영양원 함량이 적은 것에 기인된 것으로 판단된다. 모든 상추잎 즙액 처리구에서 균주 접종 10시간 후에는 병원균 밀도가 비슷하게 유지되거나 다소 줄어들다가 20시간이 되면서 그 밀도가 증가하는 것으로 나타났다. 접종 10시간 이내에 병원균의 밀도가 비슷하게 유지되거나 다소 줄어드는 것은 배양기의 pH, 영양원 등 병원균의 생장에 다소 불리하게 작용하여 일시적으로 밀도가 감소될 수 있는 원인에 기인한 것으로 판단된다[15]. 100, 10, 1% 농도의 상추잎 즙액 처리구의 초기 밀도인 3.34, 2.88, 2.51 log CFU/mL는 접종 20시간 후에 각 7.28, 7.05, 6.66 log CFU/mL로 증가하였다. 100, 1% 농도의 상추잎 즙액 처리구는 접종 60시간 후에 병원균 밀도가 7.34, 7.30 log CFU/mL로 조사기간 중 가장 높은 수치에 달했다. 10% 농도의 상추잎 즙액 처리구는 접종 40시간 후에 그 밀도가 7.50 log CFU/mL로 상추잎 즙액 처리구 중에서 가장 높은 밀도를 나타냈다. 100, 10, 1, 0.1, 0.01% 상추잎 즙액 내에서 *E. coli* O157:H7은 초기 밀도에 비해 각각 4, 4.62, 4.79, 3.76, 1.97 log CFU/mL 증가하였다. 모든 처리구에서 병원균은 접종 20시간 이내에 밀도가 현저하게 증가하고 90시간 후까지 일정한 밀도로 유지되다가 100시간이 되면서부터 밀도가 감소하는 것으로 나타났다. 대조구인 최소배지에서는 초기 10시간 후에 밀도가 대략 0.8 log CFU/mL 감소하다가 100시간 후까지 1.12~1.56 log CFU/mL 범위의 밀도로 유지되었는데 이것은 최소배지에서 *E. coli* O157:H7의 생장률과 관련이 있는 것으로 생각된다. Oliveira 등[14]은 25°C 조건하에 조각낸 Romaine 상추잎에서 *E. coli* O157:H7의 생장이 24시간 이내에 2.12~2.92 log CFU/g 증가한다고 보고했고, Brandl[5]은 잘려진 상추 줄기에서 22시간 내에 *E. coli* O157:H7의 밀도가 초기 밀도에 비해 22,090배 증가한다고 보고했다. *E. coli* O157:H7의 생장률은 식물의 종류, 품종과 접종방법, 밀도 등에 따라 다소 차이를 보이지만, 식물의 영양원을 이용해 증식이 가능하다는 것을 알 수 있다.

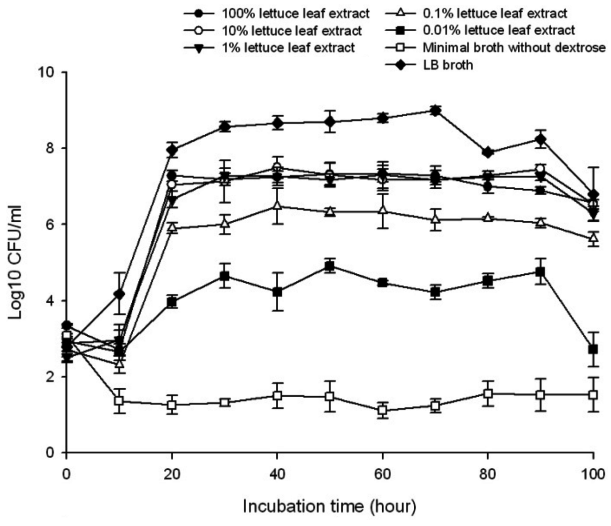

Fig. 1. Behavior of *Escherichia coli* O157:H7 on lettuce leaf extracts at 37°C. Values are the average of samples from each of three experiments; error bars represent standard deviations.

온도별 상추잎 즙액에서 *E. coli* O157:H7의 생장

상추잎 즙액에서 온도가 *E. coli* O157:H7의 생장에 미치는 영향을 알아보기 위해 온도별로(4, 15, 25, 37°C) 10시간 간격으로 총 100시간 동안 *E. coli* O157:H7의 생장률을 조사하였다(Fig. 2). 상추잎 즙액 농도는 병원균의 생장률에 차이를 보이는 1, 0.1, 0.01%로 하였다. 4°C 처리구의 접종 직후 상추즙액 내 병원균 밀도는 2.23- 2.45 log CFU/mL 범위였다. 1, 0.1, 0.01% 상추잎 즙액 처리구에서 초기 접종 밀도와 비교하면 각각 0.74, 0.62, 0.34 log CFU/mL 증가하였고, LB 처리구에서는 0.60 log CFU/mL 수준으로 증가하였다. 최소배지 처리구를 제외한 모든 처리구에서 접종 후 50~70시간까지 밀도가 일정 수준 유지되거나 증가하였고 그 이후로는 차차 감소하였다(Fig. 2A). 15°C 처리구의 접종 직후 병원균 밀도는 2.35-2.42 log CFU/mL 범위였다. 1, 0.1, 0.01% 상추잎 즙액 처리구에서 초기 접종 밀도와 비교하면 각각 1.16, 1.19, 1.20 log CFU/mL 증가하였고, LB 처리구에서는 2.04 log CFU/mL 수준으로 증가하였다. 모든 상추잎 즙액 처리구에서 접종 후 60시간에 최고 밀도에 도달하였고 그 이후 밀도가 감소하였다(Fig. 2B). 다른 온도조건과는 달리 15°C에서는 상추잎 즙액 농도가 낮을수록 병원균 생장률이 약간 높은 것으로 나타났는데 이는 실험 유의차에 기인한 것으로 생각된다. 25°C 처리구의 접종 직후 병원균 밀도는 2.31-2.39 log CFU/mL 범위였다. 1, 0.1, 0.01% 상추잎 즙액 처리구에서 초기 접종 밀도에 비해 각각 4.98, 4.14, 3.11 log CFU/mL 증가하였고, LB 처리구에서는 6.08 log CFU/mL 수준으로 증가하였다. 모든 상추잎 즙액 처리구에서 접종 30시간 이후에 2 log CFU/mL 이상으로 급증하는 것으로 나타났다. 온도별 생장률 조사기간 중, 25°C에서 *E. coli* O157:H7의 생장률이 평균 4.07 log CFU/mL로 가장 높은 것으로 나타났다(Fig. 2C). 37°C 처리구의 접종직후 병원균 밀도는 2.25-2.41 log CFU/mL 범위였다. 1, 0.1, 0.01% 상추잎 즙액 처리구에서 초기 접종 밀도에 비해 각각 4.08, 4.01, 2.69 log CFU/mL 증가하였고, LB 처리구에서는 5.91 log CFU/mL 수준으로 증가하였다. 병원균이 최고 밀도에 도달하는 시간이 접종 20~50 시간 후로써 다른 온도조건에 비해 세균의 생장이 빠른 것으로 나타

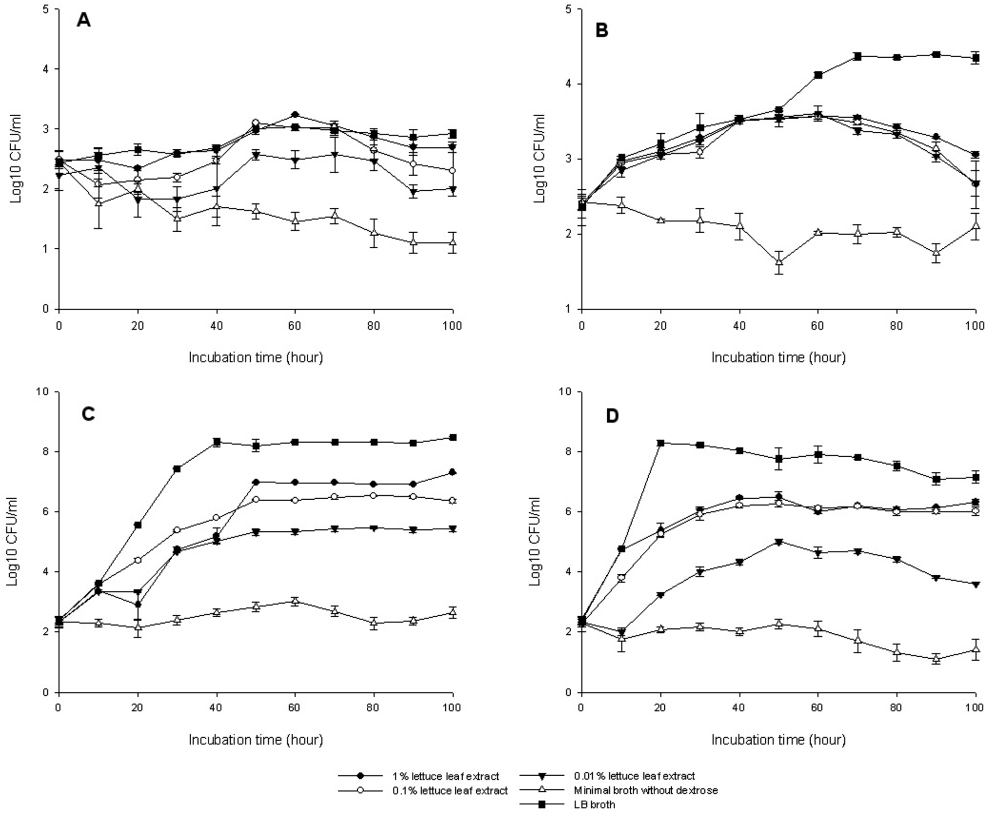

Fig. 2. Behavior during incubation at 4ºC (A), 15ºC (B), 25ºC (C) and 37ºC (D) of *Escherichia coli* O157:H7 inoculated on lettuce leaf extract. Values are the average of samples from each of three experiments; error bars represent standard deviations.

났다. LB 처리구에서 25ºC 조건하에서는 접종 100시간 후에 최고 밀도에 도달하였지만, 37ºC 조건하에서는 접종 20시간 후에 최고 밀도에 도달하였다(Fig. 2D). 위의 실험으로 온도조건이 망고, 파파야에서 식중독 세균의 생장에 큰 영향을 미치고, 대상 농산물의 유통기한을 설정하는데 기초 자료로써 활용될 수 있다고 보고된 연구결과[17]와 비슷한 결과가 도출되었다. 경제성과 효율성 등이 고려되어야 하지만 엽채류의 유통・소비 과정은 저온조건을 유지하는 것이 안전성 확보를 위해 필요한 것으로 사료된다.

온도별 상추잎 표면에서 *E. coli* O157:H7의 생장

각 온도 조건별로 상추잎 표면에서 *E. coli* O157:H7의 생장을 조사하였다(Fig. 3). 각 온도 조건별 상추잎 표면의 병원균 밀도 조사는 온도 및 시간 경과에 따른 외관상 상추잎 품질 변화를 관찰하여 4ºC는 9일간, 15ºC는 7일간, 25ºC는 5일간, 37ºC는 3일간 조사하였다. 상추잎 표면에 균주 접종 직후 상추잎 표면으로부터 회수된 병원균 밀도는 4.31-4.44 log CFU/g 범위였다. 4ºC 처리구의 경우, 조사 기간인 9일 동안 병원균의 밀도가 현저한 변화 없이 일정하게 유지되었다. 이 같은 결과는 Abdul-raouf[5] 등에 의한 잘려진 상추잎에서 *E. coli* O157:H7의 온도별 생장에 관한 연구결과와도 부합된다. 15ºC 처리구에서는 접종 6일 후에 병원균의 밀도가 5.68 log CFU/g으로 초기 접종 농도보다 1.32 log CFU/g 증가한 것이다. 6일 이후에는 병원균 밀도가 감소하였다. 25ºC에서는 접종 2일 이내에 1 log CFU/g 이상 증가하는 것으로 나타났고 접종 3일 후에는 6.16 log CFU/g 밀도로 초기 접종 농도에 비해 1.82 log CFU/g 증가하였다.

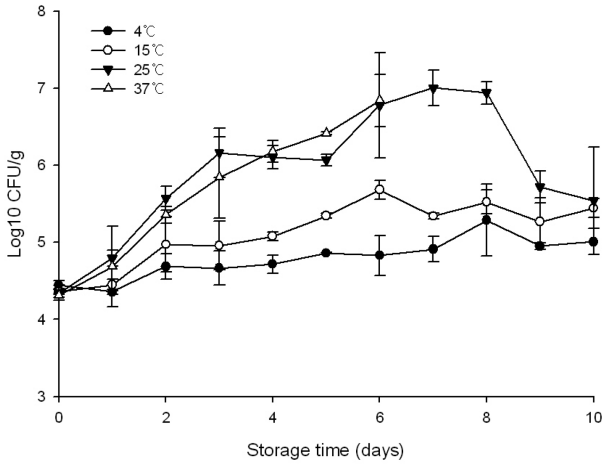

Fig. 3. Behavior of *Escherichia coli* O157:H7 on lettuce leaf surface stored at 4, 15, 25 and 37ºC. Values are the average of samples from each of three experiments; error bars represent standard deviations.

37ºC 조건 하의 *E. coli* O157:H7 생장은 접종 3일 후에 5.82 log CFU/g으로 초기 접종 농도에 비해 1.53 log CFU/g 증가하는 것으로 나타났다. 전반적으로 15ºC 이상의 온도 조건에서는 접종 2일 이내에 *E. coli* O157:H7의 밀도가 증가하는 것으로 나타났고 이는 Strawn[17] 등에 의한 망고와 파파야에서 온도별 *E. coli* O157:H7의 생장에 관한 연구 결과와 유사하다. 또한 Brandl[6] 등은 상추잎에서 유출되는 질소원과 탄소원양이 생체중 기준으로 1 gram 당 각각 0.70-2.29 μg, 30-89 μg 이고, 상추잎 조직에는 1 gram 당 각각 4.4-9.9 μg, 67-92 μg 이 존재한다고 보고한 바 있다. 이처럼 상추잎 표면에는 영양원이 존재하고 이들을 이용하여 병원균이 증식하는 것으로 생각된다. 그리고 상추잎 표면에는 곤충, 식물병원성 미생물, 물리적 요인(바람, 모래 등) 등에 의해 조직에 상처가 생기게 되고 와해된 조직을 통해 누출되는 영양원들을 병원균이 이용하여 증식한다는 보고가 있다[5,8].

초기 접종 농도별 상추잎 표면에서 *E. coli* O157:H7의 생장

초기 접종 농도 수준 차이에 따른 상추잎 표면에서 *E. coli* O157:H7의 증식을 검정하였다(Table 1). 초기 접종 농도 수준은 고농도 4.4 log CFU/g과 저농도 2.4 log CFU/g로 하였고, 각 온도 조건별 상추잎 표면의 병원균 밀도 조사는 온도 및 시간 경과에 따른 외관상 상추잎 품질 변화를 관찰하여 4ºC는 9일간, 15ºC는 7일간, 25ºC는 5일간, 37ºC는 3일간 조사하였다. 접종 직후 상추잎 표면의 병원균 밀도는 각각 고농도 3.1 log CFU/g, 저농도 2.0 log CFU/g으로 나타났다. 접종 농도보다 낮은 밀도를 보이는 것은 상추잎 표면에서의 병원균 회수율에 기인한 것으로 생각된다[12]. 4ºC 조건에서는 조사 3일째에 고농도 처리구에서 초기 접종 농도보다 0.5 log CFU/g 밀도가 증가하는 유의한 결과를 보였고 저농도 처리구에서는 조사기간 동안 병원균 밀도 변화가 없는 것으로 나타났다. 15ºC 조건에서는 고농도, 저농도 처리구에서 각각 4.6 log CFU/g (접종 7일 후), 3.6 log CFU/g (접종 6일 후)로 1.5, 1.6 log CFU/g 증가한 것으로 나타났다. 25ºC 조건에서는 고농도, 저농도에서 접종 4, 5일 후 각각 5.0, 3.9 log CFU/g로 1.9 log CFU/g씩 증가했다. 37ºC 조건에서는 접종 3일 후 각각 2.0 log CFU/g씩 밀도가 증가했다. 상추잎 표면에서 *E. coli* O157:H7의 생장은 접종 농도를 달리하여도 생장패턴은 유사하게 나타난다. 이와 같은 결과는 Marek[15]등에 의한 치즈 유장(乳漿, cheese whey)에서 *E. coli* O157:H7 접종 농도별 생장패턴 연구결과와 유사하다. 4ºC 조건의 경우를 제외하고 다른 온도조건 모두에서 초기 접종 농도에 의해 최대 밀도가 정해지므로 이 결과는 상추에서 *E. coli* O157:H7의 초기 오염 수준이 이 병원균의 위험도 결정에 고려할 사항이라고 생각된다. 위의 연구결과를 바탕으로 신선채소류의 경우 생산단계에서부터 소비단계까지 유해미생물의 오염을 사전에 예방해야 하고, 이를 위해서는 작업자의 작업 전・후에 있어 철저한 위생관리가 이루어져야 한다. 또한 엽채류는 생산에서 가공・소비까지 단계별로 생물적위해요소를 관리하는 농산물우수관리제도(GAP)를 근간으로 생산 및 유통되는 것이 농산물의 안전성을 확보하는데 기여할 것이다.

요 약

본 연구에서는 식중독을 일으키는 병원균인 *Escherichia coli* O157:H7이 주요 소비 엽채류인 상추에서의 생장 가능성과 온도대별 생장변화를 구명하기 위하여 상추잎 즙액에서 *E. coli* O157:H7의 생장, 상추잎 표면에서의 생장, 여러 가지 온도조건하의 상추잎 즙액 및 표면에서 *E. coli* O157:H7

Table 1. Growth pattern of *Escherichia coli* O157:H7 on lettuce leaf surfaces in different temperature

Storage time (day)	4ºC		15ºC		25ºC		37ºC	
	High[a,c]	Low[b,c]	High[a,c]	Low[b,c]	High[a,c]	Low[b,c]	High[a,c]	Low[b,c]
0	3.1 ± 0.3 AB[d]	2.0 ± 0.0 A	3.1 ± 0.3 C	2.0 ± 0.0 C	3.1 ± 0.3 B	2.0 ± 0.0 C	3.1 ± 0.3 C	2.0 ± 0.0 C
1	3.2 ± 0.2 AB	2.0 ± 0.0 A	3.1 ± 0.3 C	2.2 ± 0.2 BC	3.5 ± 0.4 AB	2.3 ± 0.6 BC	4.0 ± 0.2 B	3.1 ± 0.3 B
2	3.4 ± 0.2 AB	2.2 ± 0.3 A	3.6 ± 0.2 ABC	2.7 ± 0.7 ABC	4.2 ± 1.0 AB	3.1 ± 0.2 AB	4.8 ± 0.4 A	3.1 ± 0.4 B
3	3.6 ± 0.1 A	2.4 ± 0.1 A	3.2 ± 0.5 BC	2.8 ± 0.2 ABC	4.6 ± 0.4 AB	3.2 ± 0.2 AB	5.1 ± 0.1 A	4.0 ± 0.1 A
4	3.5 ± 0.1 A	2.1 ± 0.2 A	3.6 ± 0.2 ABC	3.0 ± 0.1 AB	5.0 ± 0.0 A	3.2 ± 0.3 AB		
5	3.2 ± 0.3 AB	2.2 ± 0.3 A	3.9 ± 0.9 ABC	3.4 ± 0.3 A	4.3 ± 0.7 AB	3.9 ± 0.6 A		
6	3.0 ± 0.1 AB	2.1 ± 0.2 A	4.4 ± 0.4 AB	3.6 v 0.2 A				
7	2.7 ± 0.6 B	2.2 ± 0.3 A	4.6 ± 0.4 A	3.4 ± 0.1 A				
8	3.1 ± 0.3 AB	2.1 ± 0.2 A						
9	2.9 ± 0.2 AB	2.1 ± 0.2 A						

[a] 'High' samples inoculated at 4.4 log CFU/g *E. coli* O157:H7 populations.
[b] 'Low' samples inoculated at 2.4 log CFU/g *E. coli* O157:H7 populations.
[c] Values are expressed as log CFU per gram ± standard deviation; values are the average of samples from each of three replications.
[d] Mean values (log CFU per gram) in columns were analyzed for significant differences ($P \leq 0.05$) from the previous sampling day.

의 생장, 초기 접종 농도별 생장패턴을 조사하였다. *E. coli* O157:H7은 상추잎 즙액에서 20시간 이내에 밀도가 증가하였고 상추잎 즙액의 농도에 따라 병원균의 생장률은 다르게 나타났다. 조사기간 동안 4ºC 조건에서는 *E. coli* O157:H7 밀도가 크게 변하지 않았고 15ºC 이상의 조건에서는 10시간 이내에 밀도가 증가하는 것을 확인할 수 있었다. 상추잎 표면에서도 *E. coli* O157:H7의 밀도는 초기 접종 밀도에 비해 증가하였고, 증가되는 정도는 온도가 높아질수록 증가율이 높은 것으로 나타났다. 상추의 *E. coli* O157:H7 초기 오염 농도가 병원균의 최대 생장 밀도에 큰 영향을 미치는 것으로 확인되었다. 따라서 본 연구결과로부터 상추잎에서 식중독세균인 *E. coli* O157:H7의 생장이 일어나는 것을 확인하였고, 이는 온도의 영향을 많이 받는 것으로 나타났다. 위의 결과에 따라 농식품 안전성 확보를 위해서는 신선 엽채류는 생산・유통・소비 단계에서 유해미생물의 오염을 예방하는 것이 중요하고 특히 유통과 소비단계에서 저온도 유지가 철저히 이루어져야 할 것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구는 농촌진흥청 공동연구사업(과제번호: PJ007612)과 국립농업과학원 농업과학기술 연구개발사업(과제번호: PJ007614)의 지원에 의해 이루어진 것임.

참고문헌

1. 통계청: 농작물생산조사, (2010).
2. 식품의약품안전청: 식품의약품안전청 용역연구개발과제 최종보고서, (2009).
3. Abdul-Raouf, U. M., Beuchat, L. R. and Ammar, M. S.: Survival and growth of *Escherichia coli* O157:H7 on salad vegetables. *Appl. Environ. Microbiol*., **59**, 1999-2006 (1993).
4. Alegre, I., Abadias, M., Anguera, M., Oliveira, M. and Viñas, I.: Factors affecting growth of foodborne pathogens on minimally processed apples. Fd Microbiol, **27**, 70-76 (2010).
5. Brandl, M. T.: Plant lesions promote the rapid multiplication of *Escherichia coli* O157:H7 on postharvest lettuce. *Appl. Environ. Microbiol.*, **74**, 5285-5289 (2008).
6. Brandl, M. T. and Amundson, R.: Leaf age as a risk factor in contamination of lettuce with *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella enterica*. *Appl. Environ. Microbiol.*, **74**, 2298-2306 (2008).
7. Choi, J. W., Park, S. Y., Yeon, J. H., Lee, M. J., Chung, D. H., Lee, K. H., Kim, M. G., Lee, D. H., Kim, K. S. and Ha, S. D.: Microbial contamination levels of fresh vegetables distributed in markets. J. Fd hyg. Safety., **20**, 43-47 (2005).
8. Harapas, D., Premier, R., Tomkins, B., Franz, P. and Ajlouni, S.: Persistence of *Escherichia coli* on injured vegetable plants. J. Food Microbiol., **138**, 232-237 (2010).
9. Janisiewicz, W. J., Brown, M. W., Sapers, G. M., Fratamico, P. and Buchanan, R. L.: Fate of *Escherichia coli* O157:H7 on fresh-cut apple tissue and its potential for transmission by fruit flies. *Appl. Environ. Microbiol*., **65**, 1-5 (1999).
10. Jennifer, L. K., Craig, T. P., Danielle, G. and Brandl, M. T.: Transcriptome analysis of *Escherichia coli* O157:H7 exposed to lysates of lettuce leaves. *Appl. Environ. Microbiol.*, **76**, 1375-1387 (2010).
11. Jiang, X., Morgan, J. and Doyle, M. P.: Fate of *Escherichia coli* O157:H7 in manure-amended soil. *Appl. Environ. Microbiol*., **68**, 2605-2609 (2002).
12. Lang M. M., Harris, L. J. and Beuchat, L. R.: Survival and recovery of *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella*, and *Listeria monocytogenes* on lettuce and parsley as affected by method of inoculation, time between inoculation and analysis, and treatment with chlorinated water. J. Food Prot., **67**, 1092-1103 (2004).
13. Mandrell, R. E.: Enteric human pathogens associated with fresh produce: sources, transport and ecology. IFT/Blackwell Publishing, Ames, IA., p. 3-42 (2009).
14. Oliveira, M., Usall, J., Solsona, C., Alegre, I., Viñas, I. and Abadias, M.: Effects of packaging type and storage temperature on the growth of foodborne pathogens on shredded 'Romaine' lettuce. Food Microbiol., **27**, 375-380 (2010).
15. Marek, P., Nair, M. K. M., Hoagland, T. and Venkitanarayanan, K.: Survival and growth characteristics of *Escherichia coli* O157:H7 in pasteurized and unpasteurized Cheddar cheese whey. J. Food Microbiol., **94**, 1-7 (2004).
16. Samara, A. and Koutsoumanis, K. P.: Effect of treating lettuce surfaces with acidulants on the behavior of *Listeria monocytogenes* during storage at 5 and 20ºC and subsequent exposure to simulated gastric fluid. Int. J. Food Microbiol., **129**, 1-7 (2009).
17. Strawn, L. K. and Danyluk, M. D.: Fate of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* spp. on fresh and frozen cut mangoes and papayas. Food Microbiol., **138**, 78-84 (2010).
18. Vinten, A. J. A., Lewis, D. R., Fenlon, D. R., Leach, K. A., Howard, R., Svoboda, I. and Ogden, I.: Fate of *Escherichia coli* and *Escherichia coli* O157 in soil and drainage water following cattle slurry application at 3 sites in southern Scotland. Soil Use and Management, **18**, 223-231 (2002).
19. Wachtel, M. R., Whitehand, L. C. and Mandrell, R. E.: Association of *Escherichia coli* O157:H7 with preharvest leaf lettuce upon exposure to contaminated irrigation water. J. Food prot., **65**, 18-25 (2002).
20. 세계무역기구(Http://www.wto.org). (1995).
21. 미국 질병통제예방 센터(Http://www.cdc.gov). (2010).