pISSN 1229-1153 / eISSN 2465-9223 *J. Food Hyg. Saf.*
Vol. 31, No. 6, pp. 465~470 (2016)
https://doi.org/10.13103/JFHS.2016.31.6.465

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

새싹채소 종자의 전처리 방법이 식중독 세균 검출에 미치는 영향

김원일* · 김선영 · 김인선 · 한상현 · 김세리 · 윤보현 · 류재기 · 김현주
농촌진흥청 국립농업과학원 농산물안전성부 유해생물팀

Effects of Sample Preparation Methods for the Isolation of Foodborne Pathogens from Sprout Seeds

Won-Il Kim*, Sun Young Kim, In-Seon Kim, Sanghyun Han, Se-Ri Kim, Bohyun Yun, Jae-Gee Ryu, and Hyeon-Ju Kim
Microbial Safety Team, National Institute of Agricultural Sciences, Rural Development Administration, Wanju 55365, Republic of Korea
(Received August 26, 2016/Revised September 6, 2016/Accepted September 22, 2016)

ABSTRACT - Sample preparation methods were evaluated for effectiveness in detecting foodborne pathogens from sprout seeds. The methods included: Rinse.-Test portions were rinsed with 0.1% peptone water, and the pellet after centrifugation was inoculated into pre-enrichment media; and Sprouting.-Seed samples were sprouted before pre-enrichment and sprouted seeds were inoculated into pre-enrichment media. In rinse method, *E. coli* was isolated from 13 of 280 sample units. In sprouting method, *E. coli* was isolated from 12 of 135 sample units. *E. coli* O157:H7, *Salmonella* spp., and *L. monocytogenes* were not detected in any of the samples. In the trials for recovering *Salmonella enterica* from artificially contaminated alfalfa seeds, the soak, rinse, and sprouting methods were evaluated. The detection rates of *S. enterica* were statistically different according to the amount of the sample tested and selective medium type ($P < 0.05$).

Key words : sprout seeds, foodborne pathogens, sample preparation method

최근 국제적으로 인체 병원성 세균인 식중독 세균이 오염된 새싹채소 섭취에 따른 식중독 사고 발생이 빈번하게 보고되고 있다[1,2]. 미국 질병관리본부는 2011년 미국 내 식품 카테고리별 식중독 사고 비율 중 새싹채소로 인한 발생비율이 1.38%를 차지한다고 보고한 바 있다[3]. 식중독 세균이 새싹채소에 오염되는 경로는 농업용수, 작업자, 작업도구, 오염된 종자 등이 있다[4]. 그 중 오염된 종자가 원인이 된 새싹채소 식중독 사고 발생이 가장 많은 비율로 보고되어[5], 종자의 안전성 확인이 중요하다 할 수 있다.

새싹채소 재배용 종자의 식중독 세균 오염 여부 조사는 증균배지에 시료를 첨가하고 증균 과정을 거친 후 선택배지를 이용하여 분석대상 균주를 분리 · 동정하는 것이 일반적인 분석법이다. 그러나 자연계에서는 식중독세균이 종자에 매우 낮은 밀도로 존재하고 균일하게 분포되어 있지 않고[6], 종자의 주름진 표면, 상처가 생긴 종자 등 종자 표면 아래에 있는 세균은 증균배지에 접근되지 않아 이러한 특성이 위음성 결과를 가져올 수 있게 된다[7]. 한편, 종자가 발아되고 생육되는 환경은 세균이 생장하기에 적합한 것으로 알려져 있어[8], 종자 표면에 존재하는 *Salmonella* spp., *E. coli* O157:H7과 같은 식중독 세균이 종자가 발아한 이후 48시간 내에 급속도로 밀도가 증가되는 것이 확인된 바 있다[9,10,11]. 이와 같은 특성으로 인해 새싹채소 재배용 종자의 전처리 과정에서 종자 자체 또는 종자표면을 씻은 물을 분석시료로 사용했을 때 보다는 종자를 분쇄하거나 종자를 발아시킨 후에 분석과정을 거치면 *Salmonella* spp.의 검출빈도를 높일 수 있는 것으로 보고되어 있다[12,13]. 또한 종자 시료를 증균배지에 첨가한 후 균질화 등 별도의 전처리를 하지 않고 그대로 증균 과정을 거치는 것이 *Salmonella* spp.의 검출빈도가 보다 높게 나타나는 것으로 알려져 있다[7]. 그러나 샘플당 시료량 차이가 식중독세균 검출빈도에 어떠한 영향을 미치는지에 대해 알려져 있지 않고, 전처리 방법별 식중독세균 검출 효과가 알팔파 등 일부 작물의 종자에 대해서만 집중적으로 연구되어 왔으

*Correspondence to: Won-Il Kim, Microbial Safety Team, National Institute of Agricultural Sciences, Rural Development Administration, Wanju 55365, Republic of Korea
Tel: 82-63-238-3396, Fax: 82-63-238-3840
E-mail: kimwi@korea.kr

므로, 다양한 새싹채소용 작물의 종자에 대해 전처리 방법이 식중독 세균 검출율에 미치는 영향과 샘플당 시료량에 따른 검출율을 확인할 필요가 있다.

따라서 본 연구는 전처리 방법이 새싹채소용 종자 중 식중독 세균 검출율에 미치는 영향을 확인하고자 시중 유통되고 있는 19가지 새싹채소 재배용 종자를 수집하여 세척과 발아의 전처리 방법에 따른 *E. coli, E. coli* O157:H7, *Salmonella* spp., *L. monocytogenes*의 검출율을 비교하였고, *Salmonella enterica*를 인위적으로 접종한 알팔파 종자를 대상으로 침종, 세척, 발아의 전처리 방법 간 검출율을 검정하였다.

Materials and Methods

종자 시료 준비

시중 유통되고 있는 새싹채소 재배용 종자를 구입하여 분석대상 시료로 사용하였고, 각 작물별 원산지, 샘플수, 샘플당 시료량은 아래의 Table 1과 같다. 종자는 분석에 사용될 때까지 냉장 보관하였다.

Table 1. Samples analyzed in this study

Crop seeds	Origin	Number of samples analyzed (gram per sample)	
		Rinse (100)	Sprouting (25)
Tatsoi	Denmark	10	2
Tatsoi	China	10	5
Broccoli	Republic of South Africa	10	3
Broccoli	USA	20	10
Broccoli	Korea	10	5
Chinese cabbage	Korea	20	10
Chinese cabbage	China	20	10
Rape	China	20	10
Rape	Mongolia	10	5
Red radish	Italy	40	20
Red radish	Korea	10	5
Alfalfa	Italy	20	10
Alfalfa	Pakistan	10	5
Kohlrabi	China	10	5
Kohlrabi	Italy	10	5
Radish	USA	10	5
Red cabbage	Korea	10	5
Red cabbage	USA	10	5
Clover	USA	10	5
The number of total samples (gram)		270 (27,000)	130 (3,250)

시중 유통 종자의 식중독 세균 분석을 위한 시료 전처리

전처리 방법에 따른 식중독 세균의 검출율을 비교하고자 한 포장단위의 작물별 종자를 소분하여 분석시료로 사용하였다. 종자의 오염도를 최대한 균질화하기 위해 포장이 되어 있는 상태로 약 5분간 손으로 흔들어서 균질화한 후 분석시료로 사용하였다.

세척(Rinse)

시료당 종자 100 g을 샘플백(18 × 30 cm, Jinsung Uni-Tech, Goyang-si, Korea)에 담고 멸균한 0.1% Peptone water (Oxoid, UK) 용액 200 ml을 넣은 후 균질기(BagMixer® 400, Interscience, Saint Nom, France)를 이용해 최고 강도로 2분간 처리하였다. 균질 처리한 시료로부터 현탁액 약 180 ml을 50 ml conical tube (SPL, Korea)에 나누어 담은 후, 4,000 rpm으로 10분간 원심분리하였다. 원심분리 후 상등액을 버리고 pellet을 vortex mixer (Vortex-Genie 2, Scientific Industries, New York, USA)를 이용해 풀어준 뒤 conical tube에 나누어져 있는 것을 합쳐서 그 중 1 ml을 취해 각 식중독 세균 분석용 증균배지에 첨가하였다.

발아(Sprout)

시료당 종자 25 g을 샘플백에 담고 멸균수 200 ml을 넣은 후 6시간 동안 25ºC 배양기에 두었다. 침지 후 멸균수를 제거하였고 25ºC 배양기에서 3일 동안 배양하였다. 3일 후 발아된 종자 25 g을 취해 각 식중독 세균 분석용 증균배지에 첨가하였다.

Escherichia coli 및 식중독 세균 오염도 분석

E. coli

분석대상 시료를 1:9 (w/v, v/v) 비율의 buffered peptone water (BPW, Oxoid, UK)에 추가하고 35ºC 배양기에서 3시간 동안 배양한 후 1 ml을 취해 9 ml의 EC broth (Oxoid, UK)에 넣어 44ºC 배양기에서 24시간 동안 배양하였다. 배양 후 멸균 loop를 이용해 배양액 일부를 EMB 배지에 계대하고 37ºC에서 24시간 동안 배양한 후 *E. coli*로 의심되는 전형적인 형태의 colony를 Nutrient Agar (NA, BD, USA)에 순수분리하였다. 이 후 VITEK 2 System (VITEK® 2, BioMérieux, Craponne, France)을 이용해 해당 균주의 생화학적 동정을 하였다.

E. coli O157:H7

분석대상 시료를 1:9 (w/v, v/v) 비율의 mTSB (modified tryptone soya broth, Oxoid, UK)에 추가하고 37ºC 배양기

에서 4시간 동안 배양한 후 novoviocin (8 μg/ml)을 추가하였고 42ºC 배양기에서 24시간 동안 배양하였다. 배양 후 멸균 loop를 이용해 배양액 일부를 CHROMagar™ O157 (CHROMagar, France)과 SMA (sorbitol MacConkey agar, Oxoid, UK) 배지에 계대하고 37ºC에서 24시간 동안 배양한 후 *E. coli* O157:H7으로 의심되는 전형적인 형태의 colony를 NA 배지에 순수분리하였다. 이 후 VITEK 2 System을 이용해 해당 균주의 생화학적 동정을 하였다.

Salmonella spp.

분석대상 시료를 1:9 (w/v, v/v) 비율의 Lactose broth (Oxoid, UK)에 추가하고 실온에서 1시간 동안 두었다가 35ºC 배양기에서 24시간 동안 배양한 후 0.1 ml을 취해 9 ml의 Rappaport-Vassiliadis broth (RV, Oxoid, UK)에 넣어 42ºC 배양기에서 24시간 동안 배양하였다. 배양 후 멸균 loop를 이용해 배양액 일부를 xylose lysine tergitol-4 (XLT-4, Oxoid, UK), xylose lysine deoxycholate (xld, Oxoid, UK), CHROMagar™ salmonella (CHROMagar, France) 배지에 계대하고 37ºC에서 24시간 동안 배양한 후 *Salmonella* spp.로 의심되는 전형적인 형태의 colony를 NA 배지에 순수분리하였다. 이 후 VITEK 2 System을 이용해 해당 균주의 생화학적 동정을 하였다.

Listeria monocytogenes

분석대상 시료를 1:9 (w/v, v/v) 비율의 FRASER (Oxoid, UK)에 추가하고 30ºC 배양기에서 4시간 동안 배양한 후 FRASER supplement (Oxoid, UK)를 추가하고 30ºC 배양기에서 24시간 동안 배양하였다. 배양 후 멸균 loop를 이용해 배양액 일부를 PALCAM과 Oxford (Oxoid, UK) 배지에 계대하고 30ºC에서 48시간 동안 배양한 후 *L. monocytogenes*로 의심되는 전형적인 형태의 colony를 NA 배지에 순수분리하였다. 이 후 VITEK 2 System을 이용해 해당 균주의 생화학적 동정을 하였다.

알팔파 종자에 *Salmonella enterica* 접종

시중 유통되고 있는 새싹채소 재배용 알팔파 종자(Nongwoobio, Korea)를 구입하여 실험에 사용하였다. 종자에 인위적으로 접종한 *S. enterica*는 Rifampin (50 μg/ml) 항생제 내성이 있는 *S. enterica* ATCC 4931 균주를 제작하여 실험에 사용하였다. *S. enterica*를 100 ml의 TSB 배지에 접종한 후 37ºC 진탕배양기에서 24시간 동안 배양하였다. 배양된 균주에서 배지 성분을 제거하기 위해 4,500 rpm으로 10분 동안 원심분리한 후 상등액은 버리고 멸균수를 첨가하여 vortex를 이용해 현탁액을 만들었다. 이와 같은 과정을 2회 실시하고 최종 100 ml의 균 현탁액을 만들었다. 샘플백에 종자 100 g을 담고 균 현탁액 100 ml을 담은 후 5분간 handshaking 방법으로 섞어준 뒤 상등액을 제거하였다. 종자 건조를 위해 Fume hood 내에 알루미늄 호일을 깔고 그 위에 종자를 고르게 편 후 24시간 동안 두었다. 가능한 낮은 밀도로 *S. enterica*를 알팔파 종자에 접종되게 하기 위해 앞선 *S. enterica*를 접종한 건조된 종자 2 g을 취해 세균을 접종하지 않은 건전한 종자 198 g에 넣어 5분간 handshaking 방법으로 균질화하고 또 다시 그 중 10 g을 취해 건전한 종자 990 g에 담고 균질화한 후 실험대상 종자로 사용하였다.

알팔파 종자의 시료 전처리 및 *Salmonella enterica* 분석

전처리 방법별 알팔파에 인위적으로 접종한 *S. enterica*의 검출율에 대한 영향을 검정하기 위해 침지, 세척, 발아 방법으로 전처리를 하였다. 침지는 *Salmonella enterica*를 접종한 알팔파 종자 25 g을 한 점의 시료로 하였다. 종자를 별도의 처리를 하지 않고 1:9 (w/v) 비율의 *Salmonella* spp. 증균배지인 Lactose broth (Oxoid, UK)에 넣어 증균과정을 거쳤다. 세척방법과 발아방법은 위의 시중 유통 종자의 전처리 방법과 동일하게 수행하였다. 처리구별 *S. enterica* 분석은 *Salmonella* spp. 분석방법과 동일하게 수행하였다.

통계분석

시중 유통 종자의 전처리 방법간 유의성 검정을 SAS 9.2 (SAS Institute Inc., USA)를 이용해 실시하였다. 시중 유통 종자에서 전처리 방법별 분석시료수 대비 *E. coli*의 양성수와 총 시료량 대비 *E. coli* 검출 시료량, *S. enterica*를 인위적으로 접종한 알팔파 종자의 전처리 방법별 *S. enterica* 검출빈도, 선택배지별 *S. enterica* 검출빈도를 피셔의 정확검정법(Fisher's Exact Test)으로 유의성을 검정하였다 ($P < 0.05$).

Results and Discussion

전처리 방법별 새싹채소 재배용 종자의 식중독 세균 검출율

총 10종의 새싹채소 재배용 종자를 수집할 수 있었고, 이들을 원산지별로 구분하여 총 19가지 종류의 시료로 나누었다(Table 1). 전처리 방법 중 세척 처리구는 시료당 100 g의 종자가 사용되었고 총 270개 시료를 분석하여 분석시료량은 총 27 kg이었다. 발아 처리구는 시료당 25 g의 종자가 사용되었고 총 130개 시료를 분석하여 분석시료량은 총 3.25 kg이었다(Table 1). *Salmonella* spp., *E. coli* O157:H7, *L. monocytogenes*는 모든 시료에서 음성인 것으로 나타나(data not shown) 전처리 방법에 따른 이들의 검출율을 직접적으로 비교할 수는 없었다. 한편, *E. coli*의 경우에는 세척 처리구에서 13개(4.8%) 시료에서 검출되었고, 발아 처리구에서는 12개(9.2%) 시료에서 검출되었다. 분석시료수 대비 *E. coli* 양성 시료수는 통계적으로 유의

Table 2. The number of positive sample of *E. coli* from naturally contaminated seeds using alternative methods of sample preparation

Crop seeds	Origin	Number of positive sample (%)	
		Rinse	Sprouting
Tatsoi	Denmark	-[a]	-
Tatsoi	China	-	1 (20)
Broccoli	Republic of South Africa	3 (30)	-
Broccoli	USA	-	-
Broccoli	Korea	2 (20)	-
Chinese cabbage	Korea	-	-
Chinese cabbage	China	-	4 (40)
Rape	China	-	1 (10)
Rape	Mongolia	-	-
Red radish	Italy	-	-
Red radish	Korea	-	1 (20)
Alfalfa	Italy	-	-
Alfalfa	Pakistan	-	-
Kohlrabi	China	-	-
Kohlrabi	Italy	-	-
Radish	USA	1 (10)	-
Red cabbage	Korea	6 (60)	5 (100)
Red cabbage	USA	1 (10)	-
Clover	USA	-	-
The number of positive samples (%)[b]		13 (4.8)^{A}	12 (9.2)^{A}
The weight of the positive samples / Total weight of samples analyzed (gram)		1,300 / 25,700^{B}	300 / 2,950^{A}

[a]-, not detected.
[b]Values in each row sharing a common superscript do not differ significantly (P > 0.05).

한 차이가 없었다. 하지만 전처리 방법간 분석시료량을 비교해보면, 세척 처리구의 시료는 시료당 시료량이 100 g으로 발아 처리구의 시료량인 25 g에 비해 4배 많고 총 분석시료량은 27 kg으로 발아 처리구의 총 분석시료량인 3.25 kg에 비해 약 8.3배 가량 많아(Table 2), 분석시료량을 감안하였을 때 *E. coli* 검출율에 있어서는 발아 방법이 세척 방법에 비해 *E. coli* 검출율이 높은 유의한 차이를 나타내었다($P < 0.05$). 또한 국산 적양배추 시료를 제외하고 나머지 시료에서는 세척과 발아의 전처리 방법에 따라 *E. coli*가 양성으로 나타나는 시료가 각각 다른 것으로 나타났다(Table 2). 세척 처리구에서는 남아프리카산과 국산 브로콜리, 미국산 무와 적양배추에서 *E. coli*가 검출된 것에 반해 발아 처리구에서는 중국산 다채, 배추, 유채와 국산 적무에서 *E. coli*가 검출되었다. 이와 같은 차이는 *Salmonella* spp.의 종자 오염 특성과[6] 유사하게 종자에 *E. coli*가 비교적 낮은 밀도로 존재하고 일시에 생산된 종자 내에서도 골고루 분포되어 있지 않은 것이 하나의 원인이라고 판단된다. 또한 세척 처리구는 샘플당 100 g, 발아 처리구는 샘플당 25 g으로 시료량의 차이가 분석결과에 영향을 미쳤을 것으로 생각되고, 전처리 방법 또한 *E. coli* 검출에 영향을 주는 것으로 판단된다. 종자는 발아하는 과정 중에 지질이나 단백질과 같은 고분자 물질이 세균이 보다 쉽게 분해하고 흡수할 수 있는 형태로 분해되는데[14], 종자에 존재하는 *Salmonella* spp.와 다른 여러 가지 세균들은 종자가 발아하는 동안 이러한 영양원을 이용하여 증식이 가능하므로[8], 증식 여부에 따라 검출율이 달라질 것이기 때문이다. 이를 뒷받침할 수 있는 연구 결과로 Kim 등[15]은 알팔파와 유채 종자가 발아하는 동안 대장균군의 밀도가 4-6 Log CFU/g 범위로 증가한다고 보고한 바 있다. 그리고 종자가 발아하면서 종자 표면에 존재하던 미생물 종 중에 특정 미생물 속이 많아지거나 줄어드는 등 밀도의 변화가 생기는데[16], 검출 대상 세균과 이들과의 상호작용이 검출율에 영향을 줄 것으로 생각된다. 또한 검출율에 영향을 미칠 것으로 판단되는 것은 작물 종류에 따라서 종자 표면의 구조적 특성을 가지게 되는데[17], 검출 대상 세균이 물리적으로 어디에 존재하느냐에 따라 검출 여부가 달라질 것으로 생각된다. 본 연구에서는 시중 유통 새싹채소 재배용 종자 중 *E. coli*를 제외한 *E. coli* O157:H7, *Salmonella* spp., *L. monocytogenes*가 검출되지 않아 이들에 대해서는 전처리 방법에 따른 검출율의 직접적인 비교가 어렵지만, 전처리 방법과 샘플당 시료량의 차이가 *E. coli* 검출율에 영향을 미친다는 것을 확인하였다. 추후 전처리 방법과 시료량의 차이에 따른 *E. coli* O157:H7, *Salmonella* spp., *L. monocytogenes* 등 식중독 세균의 검출율에 대한 영향에 대한 연구가 수행되어야 하며 이러한 연구를 통해 식중독 사고의 사전예방적 관리 측면으로써 새싹채소 재배용 종자 중 식중독 세균 오염도 조사에 있어서 보다 경제적이고 위음성 결과의 확률을 낮출 수 있는 최적화 된 전처리 및 분석방법이 확립되어야 할 필요성이 있다.

전처리 방법과 선택배지 종류별 알팔파 종자 중 *Salmonella enterica* 검출율

새싹채소 중 식중독 세균 오염으로 인한 식중독 사고 발생 중 *Salmonella* spp.에 의한 사고가 가장 높은 비율로 보고됨에 따라[4] 본 연구에서는 알팔파 종자에 인위적으로 접종한 *S. enterica* 균주의 전처리 방법과 선택배지별 검출율을 비교하였다. 전처리 방법으로는 별도의 과정을 거치지 않고 종자 시료를 증균배지에 넣는 방법과 종자 표면을 세척한 용액을 농축하여 증균과정을 거치는 세척 방법, 종자를 6시간 동안 침종한 뒤 3일간 발아시켜 증균과정을 거치는 발아 방법을 통해 인위적으로 접종한 *S.*

Table 3. The number of positive sample of *S. enterica* from artificially contaminated alfalfa seeds using alternative methods of sample preparation

Selective media	*S. enterica* positive test portions/5 test portions			Subtotal of *S. enterica* positive test portions on each selective media
	Soak (25 g/sample)	Rinse (100 g/sample)	Sprouting (25 g/sample)	
XLD	5	4	5	14^{A}
XLT-4	3	4	3	10^{AB}
CHROMagar™ Salmonella	2	3	3	8^{B}
Subtotal of *S. enterica* positive test portions[a]	10^{A}	11^{A}	11^{A}	
The weight of the positive samples / Total weight of samples analyzed (gram)	250 / 375^{B}	1100 / 1500^{A}	275 / 375^{AB}	

[a]Values in each row sharing a common superscript do not differ significantly (P > 0.05).

*enterica*의 검출율을 비교하였다. 2차 증균배지인 RV에 증균한 배양액을 XLD, XLT-4, CHROMagar Salmonella 선택배지에 각각 계대한 결과에 따른 *S. enterica* 양성시료수가 Table 3과 같이 나타났다. 분석시료수 대비 양성시료수는 무처리, 세척, 발아의 전처리 방법간에 통계적으로 유의한 차이가 없는 것으로 나타났지만, 무처리와 발아 방법은 시료당 25 g, 세척 방법은 시료당 100 g인 것을 감안하였을 때는 전처리 방법별 *S. enterica* 검출율이 유의하게 차이가 나는 것으로 나타났다($P < 0.05$). 또한 선택배지 종류별로도 양성 시료수가 차이가 나는 것으로 나타났다($P < 0.05$). Inami 등[13]은 자연적으로 *Salmonella* spp.에 오염된 새싹채소 재배용 알팔파 종자에 대해 시료당 100 g을 발아 방법과 분쇄 방법으로 전처리하였을 때, 종자 그대로 침종한 방법에 비해 *Salmonella* spp. 검출율이 높아지는 것을 확인하였고, Jacobson 등[7]은 *Salmonella* spp.를 인위적으로 접종한 알팔파 종자의(25 g/sample) 전처리 방법으로써 세척 방법을 이용하였을 때에는 무처리에 비해 *Salmonella* spp. 검출율이 유의하게 감소한다고 보고한 바 있다. Inami, Jacobson 등[7,12,13]의 선행연구와 본 연구 결과를 종합해 볼 때, 종자 중 식중독 세균 오염도 분석에 있어서 전처리 방법이 *Salmonella* spp. 등의 식중독 세균 검출율에 영향을 줄 뿐 아니라 시료당 분석시료량과 선택배지의 종류에 따라서도 이러한 검출율에 영향을 주는 것으로 판단된다. 발아 등의 전처리 방법이 *Salmonella* spp. 등 식중독 세균의 검출율을 높일 수 있지만 3일 정도 종자를 발아시키는 시간과 노동력이 요구된다는 단점이 있어 식중독 사고 역학 조사 등과 같은 시급성이 있는 사안에 있어서는 불리하게 작용하는 점이 있을 수 있다. 또한 시료당 분석시료량이 많아질수록 시료수집이나 시료처리가 힘들어지고 많은 양의 시료를 수용할 수 있는 장비가 요구되게 된다. 이에 따라서 새싹채소 재배용 종자의 식중독 세균을 정확하게 분석할 수 있으면서도 편의성이 있고 분석시간이 보다 단축될 수 있는 최적화 된 전처리 방법 및 분석방법이 요구된다고 할 수 있다. 또한 식중독 세균에 오염된 종자가 새싹채소로 인한 식중독 사고의 주요 오염경로이므로 식중독 사고를 사전에 예방하기 위해서는 새싹채소 재배용 종자의 안전성을 확인할 필요가 있고 비교적 낮은 밀도의 식중독 세균을 검출할 수 있으며 위음성 결과의 확률을 낮출 수 있는 신속진단 기술에 대한 연구개발이 이루어져야 할 것이다.

Acknowledgement

본 연구는 농촌진흥청 국립농업과학원 기관고유사업(과제번호: PJ011237)의 지원에 의해 이루어진 것임.

국문요약

본 연구는 전처리 방법이 새싹채소 재배에 사용되는 종자 중 식중독 세균의 검출율에 영향을 미치는지에 대해 검증하기 위해 시중 유통되고 있는 새싹채소 재배용 종자 19종을 수집하여 종자를 세척 방법과 발아 방법으로 전처리한 후 *E. coli, E. coli* O157:H7, *Salmonella* spp., *L. monocytogenes*의 검출율을 비교하였다. 또한 인위적으로 *Salmonella enterica*를 접종한 알팔파 종자에 대해서 무처리, 세척, 발아 방법으로 전처리한 후 *S. enterica*의 검출율을 검정하였다. 시중 유통되고 있는 종자를 수집하여 분석한 결과, 세척 방법과 발아 방법 등의 전처리 방법에 따라 *E. coli* 검출율과 양성시료에 차이가 있었음을 확인하였다. 인위적으로 *S. enterica*를 접종한 알팔파 종자에 대한 검출율 비교 검정에서도 분석시료량 대비 전처리방법별로 검출율이 차이가 나는 것으로 나타났고, 선택배지 종류에 따라서도 *S. enterica*의 검출율이 차이가 났다. 결론적으로 새싹채소 재배용 종자의 식중독 세균 분석에 있어서 종자의 전처리 방법, 시료당 분석시료량, 선택배지 종류 등이 검출율에 영향을 미치는 것으로 나타났다.

References

1. Thomas, J.L., Palumbo, M.S., Farrar, J.A., Farver, T.B. and Cliver, D.O.: Industry practices and compliance with U.S. Food and Drug Administration guidelines among California sprout firms. *J Food Prot*, **66**, 1253-1259 (2003).
2. Callejon, R.M., Rodriguez-Naranjo, M.I., Ubeda, C., Hornedo-Ortega, R., Garcia-Parrilla, M.C. and Troncoso, A.M.: Reported foodborne outbreaks due to fresh produce in the United States and European Union: trends and causes. *Foodborne Pathog Dis*, **12**, 32-38 (2015).
3. Elaine, O.N., Sheryl, A. K., John, S.B.: Online reports of foodborne illness capture foods implicated in official foodborne outbreak reports. *Prev Med*, **67**, 264-269 (2014).
4. Yang, Y., Meier, F., Ann Lo, J., Yuan, W., Lee Pei Sze, V., Chung, H.-J. and Yuk, H.-G.: Overview of Recent Events in the Microbiological Safety of Sprouts and New Intervention Technologies. *Compr Rev Food Sci Food Saf*, **12**, 265-280 (2013).
5. Foods, N.A.C.o.M.C.f.: Microbiological safety evaluations and recommendations on sprouted seeds. *Int J Food Microbiol*, **52**, 123-153 (1999).
6. Wu, F.M., Beuchat, L.R., Wells, J.G., Slutsker, L., Doyle, M.P. and Swaminathan, B.: Factors influencing the detection and enumeration of Escherichia coli O157:H7 on alfalfa seeds. *Int J Food Microbiol*, **71**, 93-99 (2001).
7. Jacobson, A.P., Hammack, T.S. and Andrews, W.H.: Evaluation of sample preparation methods for the isolation of Salmonella from alfalfa and mung bean seeds with the Bacteriological Analytical Manual's Salmonella culture method. *J AOAC Int*, **91**, 1083-1089 (2008).
8. Taormina, P.J., Beuchat, L.R. and Slutsker, L.: Infections associated with eating seed sprouts: an international concern. *Emerg Infect Dis*, **5**, 626-634 (1999).
9. Andrews, W.H., Mislivec, P.B., Wilson, C.R., Bruce, V.R., Poelma, P.L., Gibson, R., Trucksess, M.W. and Young, K.: Microbial hazards associated with bean sprouting. *J Assoc Off Anal Chem*, **65**, 241-248 (1982).
10. Jaquette, C.B., Beuchat, L.R. and Mahon, B.E.: Efficacy of chlorine and heat treatment in killing Salmonella stanley inoculated onto alfalfa seeds and growth and survival of the pathogen during sprouting and storage. *Appl Environ Microbiol*, **62**, 2212-2215 (1996).
11. Castro-Rosas, J. and Escartin, E.: Survival and growth of Vibrio cholerae O1, Salmonella typhi, and Escherichia coli O157: H7 in alfalfa sprouts. *J Food Sci*, **65**, 162-165 (2000).
12. Inami, G.B. and Moler, S.E.: Detection and isolation of Salmonella from naturally contaminated alfalfa seeds following an outbreak investigation. *J Food Prot*, **62**, 662-664 (1999).
13. Inami, G.B., Lee, S.M., Hogue, R.W. and Brenden, R.A.: Two processing methods for the isolation of Salmonella from naturally contaminated alfalfa seeds. *J Food Prot*, **64**, 1240-1243 (2001).
14. Peñas, E., Gómez, R., Frías, J. and Vidal-Valverde, C.: Efficacy of combinations of high pressure treatment, temperature and antimicrobial compounds to improve the microbiological quality of alfalfa seeds for sprout production. *Food Control*, **20**, 31-39 (2009).
15. Kim, S.A., Kim, O.M. and Rhee, M.S.: Changes in microbial contamination levels and prevalence of foodborne pathogens in alfalfa (Medicago sativa) and rapeseed (Brassica napus) during sprout production in manufacturing plants. *Lett Appl Microbiol*, **56**, 30-36 (2013).
16. Barret, M., Briand, M., Bonneau, S., Préveaux, A., Valière, S., Bouchez, O., Hunault, G., Simoneau, P. and Jacques, M.-A.: Emergence Shapes the Structure of the Seed Microbiota. *Appl Environ Microbiol*, **81**, 1257-1266 (2015).
17. Moïse, J.A., Han, S., Gudynaitę-Savitch, L., Johnson, D.A. and Miki, B.L.A.: Seed coats: Structure, development, composition, and biotechnology. *In Vitro Cell Dev Biol Plant*, **41**, 620-644 (2005).