

전처리 나물류 및 구근류에서 병원성 미생물의 성장예측모델 개발 및 검증

엔크자갈 라웍사르나이¹ · 민경진² · 윤기선^{1*}

¹경희대학교 식품영양학과

²장안대학교 식품영양과

Development and Validation of Predictive Model for Foodborne Pathogens in Preprocessed Namuls and Wild Root Vegetables

Lkhagvasarnai Enkhjargal¹, Kyung Jin Min², and Ki Sun Yoon^{1*}

¹Dept. of Food and Nutrition, College of Human Ecology, Kyung-Hee University, Seoul 130-701, Korea

²Dept. of Food and Nutrition, Jangan University, Gyeonggi 445-756, Korea

ABSTRACT The objective of this study is to develop and validate predictive growth models for *Bacillus cereus* (diarrhea type) vegetative cells, spores and *Staphylococcus aureus* in preprocessed Namul (bracken and Chwinamul) and root vegetables (bellflower and burdock). For validation of model performance, growth data for *S. aureus* in preprocessed vegetables were collected at independent temperatures (18 and 30°C) not used in the model development. In addition, model performance of *B. cereus* (diarrhea type) in preprocessed vegetables was validated with an emetic type of *B. cereus* strain. In primary models, the specific growth rate (SGR) of the *B. cereus* spores was faster than that of the *B. cereus* vegetative cells, regardless of the kinds of vegetables at 24 and 35°C, while lag time (LT) of the *B. cereus* spores was longer than that of the *B. cereus* vegetative cells, except for burdock. The growth of *B. cereus* and *S. aureus* was not observed in bracken at temperatures lower than 13 and 8°C, respectively. The LT models for *B. cereus* (diarrhea type) in this study were suitable in predicting the growth of *B. cereus* (emetic type) on burdock and Chwinamul. On the other hand, SGR models for *B. cereus* (diarrhea type) were suitable for predicting the growth of *B. cereus* (emetic type) on all preprocessed vegetables. The developed models can be used to predict the risk of *B. cereus* and *S. aureus* in preprocessed Namul and root vegetables at the retail markets.

Key words: *B. cereus* (diarrhea and emetic types), spore, *S. aureus*, preprocessed Namul, predictive model

서 론

전처리 농산물 중 나물류는 최근 웰빙 추세와 건강식품에 대한 관심으로 일반 식품에 비해 빠른 소비추세를 나타내고 있다. 특히 급식 및 외식 업체에서는 전처리 나물류의 간편성과 효율성의 장점과 더불어 작업 시간의 감소 효과 및 교차 오염의 위험요소를 감소시키는 방안으로 사용이 증가하고 있는 추세이다(1).

최근에 발표된 전처리 나물류의 병원성 미생물 분석 결과에 따르면 *Staphylococcus(S.) aureus*는 전체 시료 중 고사리, 도라지, 머위, 우영, 고구마줄기, 무시래기, 연근, 취나물, 더덕 등 총 11가지 샘플에서 검출되어 1.24~3.82 log CFU/g의 오염수준을 나타내었고, *Bacillus(B.) cereus*는 토란대와 비름나물에서 각각 4.72 log CFU/g, 2.02 log CFU/g 수준으로 오염도가 보고되어 전처리 나물류의 위생적 공정 방법과 안전한 유통에 대한 관리가 필요한 것으로 나타났다

(2). 현재 국내에서 전처리 농산물이 직접적인 원인이 되어 식중독 사고가 보고된 바는 없으나 채소류에서 비롯된 식중독 사례가 증가하고 있다(3). 또한 건강에 대한 관심의 증가로 샐러드와 같은 여러 종류의 채소를 생식하는 일이 많아지면서 새싹 및 양상추 등의 신선 채소와 관련된 식중독 사고가 최근 식중독 발생 통계에서 적지 않은 부분을 차지하게 되었다(4,5). Kim 등(6)은 샐러드에서 *E. coli*, *Salmonella* spp., *S. aureus* 등의 식중독균 검출을 보고한 바 있다. 또한 2008년부터 2012년까지 5년간 국내의 *B. cereus*와 *S. aureus*에 의한 식중독 사고 건수는 각각 40건과 61건이었으며, 환자수는 986명과 2,150명으로 보고되었다(7). 따라서 소비량이 급증하고 있는 전처리 나물류에서 *B. cereus* 및 *S. aureus* 오염에 의한 식중독 발생의 저감화를 위한 연구가 필요한 실정이다.

최근에 식품위생과 관련하여 안전성 확보를 위한 새로운 기술로서 특정한 환경조건에서 식품 내 미생물의 성장과 사멸 등의 변화를 수학적으로 기술하여 병원성 미생물의 변동 상태를 예측하려는 예측미생물학(Predictive Food Microbiology) 분야의 연구가 매우 활발하게 이루어지고 있다(8).

Received 14 June 2013; Accepted 26 September 2013

*Corresponding author.

E-mail: ksyoon@khu.ac.kr, Phone: 82-2-961-0264

예측미생물학은 주로 육류식품, 난류, 수산물을 중심으로 국외에서 많은 연구가 수행되었다(9-11). 국내에서는 즉석섭취편의 식품류의 정량적 기준제시를 위한 성장예측모델 개발 연구로서 김밥의 *B. cereus*와 *S. aureus*의 성장모델(12), 곡류의 *B. cereus* 성장모델(13), 전식에서 *B. cereus* 분리 및 특성 연구(14), 볶음밥에서 *B. cereus* 위해수준 및 위해관리 연구(15), 다양한 편의식품 주재료에 따른 *S. aureus*와 *B. cereus*의 성장예측모델 개발(16), 수육에서 *S. aureus*의 성장예측모델 개발 연구(17) 등이 보고되었다. 또한 최근에는 데친 시금치에서 *B. cereus* 성장예측모델 개발 연구(18), 전처리 나물류에서 *B. cereus* 성장예측모델(19), 학교급식에 제공되는 숙주나물의 *S. aureus* 성장예측모델 개발 연구(20) 등이 보고되었다. 현재까지 곡류 식품에서 *B. cereus*의 성장모델 연구가 많이 이루어진 반면, 채소식품에서의 *B. cereus* 및 *S. aureus* 성장 특성에 대한 연구는 매우 부족한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 전처리 나물류 및 구근류 중 전처리 나물류 가공업체에서 단체급식에 가장 많이 납품하는 세척 구근류(도라지, 우영)와 데침 나물류(고사리, 취나물)로 선정하여 *B. cereus*의 영양세포, 포자 및 *S. aureus* 성장에 미치는 시간과 온도의 영향을 예측할 수 있는 1, 2차 성장예측 모델을 개발하고 모델의 적합성을 검증하였다.

재료 및 방법

조사대상 균 선정 및 균액 제조

조사대상 균인 *Bacillus cereus* 설사형(ATCC 11778), 구토형(NCCP 14796) 및 *Staphylococcus aureus* enterotoxin A type(ATCC 13565)은 한국중균협회(Korean Federation of Culture Collections, KFCC)로부터 구입하였고, -80°C의 온도로 냉동 보관하였다. 멸균상태에서 10 mL의 nutrient broth(NB, Difco, Sparks, MD, USA) 및 tryptic soy broth(TSB, Difco)를 담은 삼각 플라스크에 *B. cereus* 및 *S. aureus* 10 µL를 각각 접종하여 전배양 하였다. 전배양한 균은 24시간 동안 각각 30°C 및 36°C 온도와 140 rpm에서 rotary shaker(VS-8480, Vision, Daejeon, Korea)를 이용하여 8 log CFU/mL 이상의 농도까지 배양시켰다. 전배양한 균은 멸균된 0.1% peptone water(Difco)를 이용하여 10진 희석하여 사용하였다.

포자형성

*B. cereus*의 영양세포를 36°C에서 24시간 전배양한 후 1 ppm Mn²⁺을 첨가한 nutrient agar(NA, Difco)에 분주하여 30°C에서 13일 동안 저장 후 포자의 형성을 현미경으로 확인하였다(100% 포자 형성). Plate에 형성된 포자군집을 멸균된 Mc I lvaïne buffer(pH 7.0)에 넣어 원심분리(600 rpm, 5분)한 후 상등액을 제거하고 pellet을 다시 Mc I lvaïne buffer에 넣어 원심분리(2,500 rpm, 15분) 하였으며

이 과정을 2번 반복 실시 하였다(21). Stock suspension을 Mc I lvaïne buffer(pH 7.0)에 넣어 4°C에서 저장하여 실험에 사용하였다.

시료 선정 및 전처리

본 연구에 사용한 시료는 전처리 나물류 가공업체에서 단체급식에 가장 많이 납품하는 세척 구근류(도라지, 우영)와 데침 나물류(고사리, 취나물)로 선정하였다. 시료인 도라지, 우영, 고사리, 취나물은 서울에 위치한 마트에서 당일 입고된 신선한 농산물을 구입하여 외관상 싱싱해 보이는 것만을 선별한 후 시든 부분 및 우영과 도라지의 껍질을 제거한 후 물에 한 번 세척하였다. 세척된 각각의 나물류 및 구근류는 100°C에서 2분간 가열한 후 멸균된 집게와 가위를 사용하여 무균 작업대(clean bench) 안에서 수분을 제거한 후 petri dish에 10 g씩 무균적으로 채취하여 냉장고에 보관하였다.

균 접종 배양 및 시료채취

전배양한 *B. cereus* 영양세포, 포자 및 *S. aureus*를 각각의 시료(도라지, 우영, 고사리, 취나물)에 100 µL를 접종하여 초기농도가 2.5~3.5 log CFU/g이 되도록 하였다. 초기농도는 선행연구결과(2)에 따라 학교급식에 제공되는 전처리 나물류에서 *B. cereus*와 *S. aureus*의 오염수준(1.24~3.82 log CFU/g)을 분석한 결과를 참고하여 결정하였다. *B. cereus*의 영양세포 및 포자를 시료에 각각 접종한 후 13, 24, 35°C에서 배양하여 시간변화에 따른 1차 성장모델을 개발하였다. 또한 *S. aureus*를 각각의 시료에 접종한 후 8, 13, 24, 35°C에서 배양하여 1차 성장모델을 개발하였다. 샘플링 시점은 각각의 pH와 수분활성도(Aw)의 조건을 USA Pathogen modeling program(PMP, USA 2009)에 적용하여 각 시료에 따라 잠정적으로 예측하였으며, 나물 및 구근류 시료는 영양배지가 아닌 조리된 식품인 점을 고려하여 *B. cereus* 영양세포, *B. cereus* 포자 및 *S. aureus*의 샘플링 시점을 결정하였다.

균수 측정

각각의 시료 10 g을 멸균된 0.1% peptone water 90 mL로 희석한 후 이 중 1 mL를 시험원액으로 사용하였다. 균질화된 검체를 0.1% peptone water에 단계별 희석하여 희석배수 당 100 µL씩 Whitley automatic spiral plater(Don Whitley Scientific Limited, West Yorkshire, UK)를 이용하여 *B. cereus* 영양세포 및 포자의 선택 배지인 mannitol egg yolk polymyxin agar(MYP, Difco)와 *S. aureus*의 선택 배지인 baird parker agar(BPA, Acumedia, Lansing, MI, USA)에 분주하였다. *B. cereus* 영양세포 및 포자는 30°C에서 24시간, *S. aureus*는 37°C에서 48시간 배양하여 colony counter(Scan 1200, Interscience, Saint Nom, France)를 사용하여 colony 수를 log CFU/g으로 표시하였

다.

1차 성장예측모델 개발

각 온도에서의 성장예측 1차 모델은 Modified Gompertz 공식을 이용하였으며(22), GraphPad Prism V4.0(GraphPad Software, San Diego, CA, USA) 프로그램을 사용하여 유도기(lag time, LT)와 최대증식속도(maximum specific growth rate, SGR)와 최대개체군밀도(maximum population density, MPD)를 산출하였다.

Modified Gompertz equation

$$Y=N_0+C \times \exp(-\exp((2.718 \times SGR/C) \times (\text{Lag}-X)+1)) \quad (1)$$

N_0 : log initial number of cells

C: difference between initial and final cell numbers

Lag: delay before growth, same units as X

SGR: specific growth rate (log/h)

X: sampling time

Y: log cell number (CFU/mL)

2차 성장예측모델 개발

유도기(LT)와 최대증식속도(SGR) 및 최대개체군밀도(MPD)는 Davey model(23)과 Square-root model(24) 및 Polynomial second order model(25)을 이용하여 온도 변화에 따른 성장예측 2차 모델을 각각 개발하였다.

Davey model: $Y=a+(b/T)+(c/T^2)$ (2)

a, b, c: constant

T: temperature

Square-root model: $Y=\{b(T-T_{\min})\}^2$ (3)

Y: specific growth rate

b: constant

T: temperature

Polynomial second order model:

$$Y=A+(B \times T)+(C \times T^2) \quad (4)$$

A, B, C: constant

T: temperature

2차 성장예측모델의 적합성 평가

실험값을 통해 얻어진 모델의 성장예측 모델로서의 적합성을 평가하기 위하여 bias factors(B_f), accuracy factors(A_f) 값을 LT, SGR, MPD 각각에 대해 모델 개발 실험에 사용하지 않은 독립적인 변수에서 얻어진 실험값으로 (5), (6), (7), (8) 수식을 이용하여 계산하였다(26,27).

$$B_f \text{ for LT}=10^{\sum \log(\text{predicted}/\text{observes})/n} \quad (5)$$

$$A_f \text{ for LT}=10^{(\sum |\log(\text{predicted}/\text{observes})|/n)} \quad (6)$$

$$B_f \text{ for SGR, MPD}=10^{\sum \log(\text{observes}/\text{predicted})/n} \quad (7)$$

$$A_f \text{ for SGR, MPD}=10^{(\sum |\log(\text{observes}/\text{predicted})|/n)} \quad (8)$$

위의 식에서 n은 실험값(독립된 변수에서 각각 얻어진 값) 또는 예측값(개발된 성장모델에서 얻어진 값)의 총수를

나타낸다. B_f 는 실험값과 모델에 의해 예측된 값 사이의 상대적 편차를 측정하는 척도로 실험값과 예측된 값이 동일할 경우 1을 기준으로 일반적으로 0.70~1.15의 값 범위일 때 개발된 모델은 적합한 것으로 평가한다. 또한 B_f 는 성장모델이 사용하기에 안전한 모델인가(fail-safe, $B_f < 1$), 위험한(fail-dangerous, $B_f > 1$) 모델인가를 평가하는 척도가 된다. 반면 A_f 는 예측된 값이 얼마만큼 실험값과 가까운가를 측정하는 척도로 일치하였을 때 1을 기준으로 A_f 값이 1에서 멀어질수록 개발된 모델의 부정확성을 나타내나, 안전한 모델(fail-safe)인가에 대한 방향성을 제시하지 않는다(28).

pH와 수분활성도 측정

pH와 수분활성도는 *B. cereus*와 *S. aureus*의 성장 및 발육에 영향을 미치는 주요 원인으로서 각각의 전처리 나물류 및 구근류를 대상으로 균을 접종하기 전의 상태에서 측정하였다. pH 측정은 pH 측정기(IQ Scientific Instruments, Carlsbad, CA, USA)를 이용하여 시료 5 g에 3차 증류수 10 mL를 혼합하여 균질화한 후 측정하였다. 수분활성도 측정은 시료 2.5 g을 채취하여 수분활성도 측정기(AquaLab Lite, Decagon, WA, USA)를 사용하였다.

통계분석

모든 실험은 3회 반복으로 실시하였으며 관찰된 실험결과와 SAS(Statistical Analysis System) V 9.3(SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) 통계 프로그램을 이용하여 분석하였다. 각각의 시료 그룹들 간의 유의적인 차이는 t-test를 이용하여 분석한 후 $P < 0.05$ 수준에서 시료간의 유의적 차이를 나타내었다.

결과 및 고찰

전처리 나물류 및 구근류의 pH와 수분활성도 측정

본 연구에서 사용한 나물류 및 구근류의 pH는 도라지 경우에 5.66 값으로 4가지 시료 중에서 가장 낮았고, 취나물(6.79), 고사리(7.16), 우영(7.33) 순으로 높게 나타났다. 본 연구에서 모든 나물류 및 구근류의 pH는 *S. aureus*의 성장 최적범위인 6.0~7.5 또는 *B. cereus*의 성장 최적범위인 6.0~7.0이었다(29). 수분활성도 측정결과도 도라지 경우에 0.95 값으로 가장 낮았으며 고사리, 취나물, 우영은 0.99로 본 연구에서 사용한 모든 나물류 및 구근류의 수분활성도는 *B. cereus* 영양세포, 포자 및 *S. aureus*의 영양세포가 성장하기에 매우 적합한 조건이었다.

전처리 나물류 및 구근류에서 *B. cereus* 영양세포, 포자 및 *S. aureus*의 1차 성장예측모델 개발

*B. cereus*는 12°C 이하의 보관온도에서 성장이 관찰되지 않았으므로 13~35°C 범위에서 *B. cereus* 영양세포 및 포자 각각에 대한 1차 성장예측 모델을 개발하였다. 반면

*S. aureus*는 8~35°C 범위에서 *S. aureus*에 대한 1차 성장 예측 모델을 개발하여 각각의 배양 온도에 따른 유도기(LT)와 최대증식속도(SGR) 및 최대개체군밀도(MPD)를 산출하였다. Modified Gompertz 공식을 이용한 온도별 성장곡선에서 1차식의 적합성을 나타내는 R²(coefficient of determination)값이 모두 0.90~0.99 사이로 나타나 본 연구에서의 1차 성장모델의 적합성을 확인하였다. 그러나 고사리의 경우는 13°C에서는 *B. cereus*가, 8°C에서는 *S. aureus*가 각각 성장하지 않았는데, 이는 13°C 보관온도에서 고사리에서는 *B. cereus* 균이 증식하지 않았다는 선행 연구 결과(19)와 일치하는 결과였다.

나물류 및 구근류에서 *B. cereus* 영양세포 및 포자의 성장 특성 비교

도라지에서 *B. cereus* 영양세포는 13°C에서 71.65시간의 유도기 이후 증가하기 시작하여 162.50시간 동안 배양하였을 때 최대 7.51 log CFU/g까지 성장하였다. 24°C에서는 5.90시간, 35°C에서는 3.8시간의 유도기 이후 군수가 증가하기 시작하여 각각 32시간, 20시간 동안 배양하였을 때 최대로 각각 7.72, 7.96 log CFU/g까지 성장하였다. 반면에 *B. cereus* 포자는 13, 24, 35°C에서 각각 78.59, 6.49, 2.28시간의 유도기 이후 증가하기 시작하여 각각 198, 32, 24시간 배양한 후 최대 7.10, 8.38, 8.62 log CFU/g까지 각각 성장하였다(Table 1). 최대증식속도(SGR)값은 13°C 도라지에서 *B. cereus* 영양세포 및 포자는 각각 0.06, 0.04 log CFU/hour로 낮았으나 24°C에서 각각 0.28, 0.38 log CFU/hour, 35°C에서는 각각 0.52, 0.79 log CFU/hour로 나타났다(Table 1). 도라지에서의 *B. cereus* 영양세포 및 포자의 성장 패턴을 비교하였을 때 실험한 모든 온도에서 LT, SGR 및 MPD가 통계적으로 유의적인 차이가 없는 것으로 나타났다.

Table 2는 13~35°C 온도범위에서 우영에서의 *B. cer-*

us 영양세포 및 포자의 성장 특성을 나타낸 것이다. 13°C에서 *B. cereus* 영양세포가 82.79시간 유도기 이후 증식하기 시작한 반면, 포자는 영양세포에 비해 39.52시간의 짧은 유도기 이후 증식하여 각각 211시간 및 198시간 배양한 후 최대 6.42, 4.92 log CFU/g까지 성장하였다. *B. cereus*의 포자는 짧은 유도기를 가지고 있었지만 최대개체군밀도 MPD는 *B. cereus* 영양세포보다 낮은 것으로 나타났다. 또한 24°C에서 우영에서의 *B. cereus* 영양세포 및 포자는 동일한 32시간 배양한 후 각각 최대 8.29, 8.37 log CFU/g까지 성장하여 영양세포와 포자와의 차이를 나타내지 않았다. 35°C에서는 *B. cereus* 영양세포는 1.58시간, 포자는 2.9시간 유도기 이후 증식하기 시작하였으며, 각각 22.5시간 및 20시간 동안 배양하였을 때 각각 7.92, 8.40 log CFU/g까지 증식하였다.

또한 우영에서 *B. cereus* 영양세포 및 포자의 SGR값은 13°C에서 각각 0.05, 0.04 log CFU/hour, 24°C에서 각각 0.29, 0.36 log CFU/hour, 35°C에서 각각 0.61, 0.71 log CFU/hour로 나타났다(Table 2). 우영에서 *B. cereus* 영양세포 및 포자의 성장패턴을 비교한 결과 역시, 24°C와 35°C에서는 매우 유사한 성장을 보여 통계적으로 유의적인 차이를 나타나지 않았다. 반면에 13°C에서의 영양세포 및 포자의 유도기와 최대증식속도에서 유의적인 차이가 있는 것으로 나타나 낮은 온도에서 포자의 성장이 제한을 받는 것으로 나타났다(*P*<0.05).

Table 3은 13~35°C 온도범위에서 취나물에서의 *B. cereus* 영양세포 및 포자의 성장 특성을 나타낸 것이다. 취나물은 13°C에서 *B. cereus* 영양세포는 34.86시간 포자는 27.72시간 유도기 이후 증가하기 시작하여 각각 204.5시간, 159.5시간 배양한 후 각각 7.13, 6.63 log CFU/g까지 증가하였다. 24°C에서는 *B. cereus* 영양세포 및 포자는 각각 4.36, 6.73시간 유도기 이후 증식하기 시작하여 32시간 배양 후 각각 8.55, 8.32 log CFU/g까지 성장하였으며, 35°C

Table 1. Observed values for lag time (LT), specific growth rate (SGR) and maximum population density (MPD) of *B. cereus* vegetative cell and *B. cereus* spore and *S. aureus* in bellflower

Temp.		<i>B. cereus</i> spore	<i>B. cereus</i> VC ⁴⁾	t-value ^{1,5)}	<i>S. aureus</i>	t-value ^{2,6)}
8°C	LT ¹⁾	ND ⁷⁾	ND	-	51.78±10.63	-
	SGR ²⁾	ND	ND	-	0.01±0.00	-
	MPD ³⁾	ND	ND	-	6.43±0.14	-
13°C	LT	78.59±5.92 ⁸⁾	71.65±11.41	-0.76	22.52±7.78	5.03*
	SGR	0.04±0.00	0.06±0.01	2.00	0.04±0.00	2.00
	MPD	7.10±0.21	7.51±0.007	2.83	7.65±0.44	-0.47
24°C	LT	6.49±1.34	5.90±2.09	-0.34	5.22±0.52	0.45
	SGR	0.38±0.078	0.28±0.13	-0.90	0.42±0.04	-1.48
	MPD	8.38±0.16	7.72±0.58	-1.54	9.20±0.06	-3.58
35°C	LT	2.28±0.36	3.80±0.99	2.06	2.96±0.62	1.03
	SGR	0.79±0.13	0.52±0.07	-2.47	0.89±0.03	-6.87*
	MPD	8.62±0.21	7.96±0.28	-2.65	9.25±0.01	6.63*

¹⁾LT: Lag time (hour). ²⁾SGR: Specific growth rate (log CFU/hour). ³⁾MPD: Maximum population density (log CFU/g).

⁴⁾*B. cereus* VC: *B. cereus* vegetative cell. ⁵⁾t-value¹⁾: between *B. cereus* vegetative cell and *B. cereus* spore.

⁶⁾t-value²⁾: between *B. cereus* vegetative cell and *S. aureus*. ⁷⁾ND: not detected. ⁸⁾Values are means (n=4). **P*<0.05.

Table 2. Observed values for lag time (LT), specific growth rate (SGR) and maximum population density (MPD) of *B. cereus* vegetative cell and *B. cereus* spore and *S. aureus* in burdock

Temp.		<i>B. cereus</i> spore	<i>B. cereus</i> VC ⁴⁾	t-value ^{1,5)}	<i>S. aureus</i>	t-value ^{2,6)}
8°C	LT ¹⁾	ND ⁷⁾	ND	—	75.33±7.07	—
	SGR ²⁾	ND	ND	—	0.01±0.00	—
	MPD ³⁾	ND	ND	—	6.14±0.20	—
13°C	LT	39.52±7.65 ⁸⁾	82.79±11.00	4.57*	18.69±3.78	7.79*
	SGR	0.04±0.01	0.05±0.01	0.71	0.03±0.00	2.00
	MPD	4.92±0.11	6.42±0.17	10.40*	6.92±0.31	-1.94
24°C	LT	6.48±0.96	5.41±0.36	-0.91	4.64±1.52	0.53
	SGR	0.36±0.02	0.29±0.01	-3.61	0.36±0.09	-0.99
	MPD	8.37±0.13	8.29±0.24	-0.42	8.42±0.50	-0.32
35°C	LT	2.90±0.40	1.58±0.28	-3.78	3.26±0.03	-8.36*
	SGR	0.71±0.02	0.61±0.07	-1.82	0.88±0.15	-2.28
	MPD	8.40±0.08	7.92±0.30	-2.17	8.46±0.54	-1.22

¹⁾LT: Lag time (hour). ²⁾SGR: Specific growth rate (log CFU/hour). ³⁾MPD: Maximum population density (log CFU/g).

⁴⁾*B. cereus* VC: *B. cereus* vegetative cell. ⁵⁾t-value¹⁾: between *B. cereus* vegetative cell and *B. cereus* spore.

⁶⁾t-value²⁾: between *B. cereus* vegetative cell and *S. aureus*. ⁷⁾ND: not detected. ⁸⁾Values are means (n=4). *P<0.05.

Table 3. Observed values for lag time (LT), specific growth rate (SGR) and maximum population density (MPD) of *B. cereus* vegetative cell and *B. cereus* spore and *S. aureus* in Chwinamul

Temp.		<i>B. cereus</i> spore	<i>B. cereus</i> VC ⁴⁾	t-value ^{1,5)}	<i>S. aureus</i>	t-value ^{2,6)}
8°C	LT ¹⁾	ND ⁷⁾	ND	—	35.33±3.72	—
	SGR ²⁾	ND	ND	—	0.01±0.00	—
	MPD ³⁾	ND	ND	—	4.90±0.42	—
13°C	LT	27.72±3.17 ⁸⁾	34.86±10.06	0.96	14.51±3.30	2.72*
	SGR	0.03±0.004	0.04±0.03	1.00	0.04±0.00	0.60
	MPD	6.63±0.22	7.13±0.52	1.26	7.54±0.08	-1.11
24°C	LT	6.73±0.88	4.36±0.37	-3.52	5.18±0.37	-2.22
	SGR	0.41±0.001	0.34±0.05	-2.06	0.37±0.01	-0.96
	MPD	8.32±0.39	8.55±0.21	0.71	7.96±0.74	1.00
35°C	LT	2.63±0.32	2.09±0.12	-0.65	2.67±1.12	-0.61
	SGR	0.72±0.12	0.67±0.04	-0.50	0.83±0.04	-3.77
	MPD	8.63±0.55	8.65±0.30	0.06	7.94±0.55	0.06

¹⁾LT: Lag time (hour). ²⁾SGR: Specific growth rate (log CFU/hour). ³⁾MPD: Maximum population density (log CFU/g).

⁴⁾*B. cereus* VC: *B. cereus* vegetative cell. ⁵⁾t-value¹⁾: between *B. cereus* vegetative cell and *B. cereus* spore.

⁶⁾t-value²⁾: between *B. cereus* vegetative cell and *S. aureus*. ⁷⁾ND: not detected. ⁸⁾Values are means (n=4). *P<0.05.

에서는 *B. cereus* 영양세포 및 포자는 각각 22.5, 17시간 배양한 후 최대 8.65, 8.63 log CFU/g까지 증식하였고 유도기는 각각 2.09, 2.63시간이었다. 취나물에서 *B. cereus* 영양세포 및 포자의 최대증식속도는 13°C에서 각각 0.03, 0.04 log CFU/hour, 24°C에서 0.34, 0.41 log CFU/hour, 35°C에서 0.67, 0.72 log CFU/hour로 나타났다(Table 3). 또한 취나물에서도 *B. cereus* 영양세포 및 포자의 LT, SGR 및 MPD 값을 비교한 결과 모든 값이 유의적인 차이는 없는 것으로 나타났다.

고사리의 경우는 13°C에서 *B. cereus* 영양세포 및 포자가 성장하지 않았으며, 최소의 성장가능 온도는 17°C로 나타났다. 17°C에서 고사리에서 *B. cereus* 영양세포 및 포자의 유도기는 각각 24.46, 55.09시간, 24°C에서 7.72, 12.35시간, 35°C에서 2.52, 5.37시간으로 나타났으며, 고사리의 경우 *B. cereus* 포자의 유도기는 영양세포에 비하여 2배

이상 연장되었다(Table 4). 한편 고사리에서 *B. cereus* 영양세포 및 포자의 SGR값은 각각 17°C에서 0.06, 0.11 log CFU/hour, 24°C에서 0.25, 0.33 log CFU/hour, 35°C에서 각각 0.40, 0.34 log CFU/hour로 나타나 영양세포에 비하여 포자의 성장속도가 빠른 것으로 나타났다. 고사리에서 *B. cereus* 영양세포 및 포자의 MPD는 다른 나물류 및 구근류에 비하여 낮았으며, 17°C에서 4.49, 4.94 log CFU/g, 24°C에서 6.92, 5.81 log CFU/g, 35°C에서 6.45, 6.66 log CFU/g까지 성장하였다(Table 4). 고사리에서 *B. cereus* 영양세포 및 포자의 성장을 비교한 결과를 살펴보면, 17°C와 24°C에서 유도기 값과 최대개체군밀도 값에서 유의적인 차이를 보였으며, 또한 35°C에서는 유도기에서만 유의적인 차이가 있는 것으로 나타났다(P<0.05).

전처리 나물류(숙주나물, 콩나물, 도라지, 시금치, 고사리)에서 *B. cereus* 성장예측모델을 개발한 Jo 등(19)의 연

Table 4. Observed values for lag time (LT), specific growth rate (SGR) and maximum population density (MPD) of *B. cereus* vegetative cell and *B. cereus* spore and *S. aureus* in bracken

Temp.		<i>B. cereus</i> spore	<i>B. cereus</i> VC ⁴⁾	t-value ^{1,5)}	<i>S. aureus</i>	t-value ^{2,6)}
13°C	LT ¹⁾	ND ⁷⁾	ND	—	51.26±14.52	—
	SGR ²⁾	ND	ND	—	0.03±0.00	—
	MPD ³⁾	ND	ND	—	5.78±0.52	—
17°C	LT	55.09±1.34 ⁸⁾	24.46±1.03	25.57*	ND	—
	SGR	0.11±0.007	0.06±0.007	-7.07	ND	—
	MPD	4.94±0.08	4.49±0.07	-5.89*	ND	—
24°C	LT	12.35±0.33	7.72±0.37	13.21*	5.62±0.46	4.95*
	SGR	0.33±0.01	0.25±0.07	-1.57	0.21±0.02	0.86
	MPD	5.81±0.19	6.92±0.11	7.59*	7.01±0.11	-0.87
35°C	LT	5.37±0.77	2.52±0.66	-4.70*	4.59±0.74	-2.93
	SGR	0.34±0.07	0.40±0.12	0.56	0.26±0.11	1.16
	MPD	6.66±0.53	6.45±0.21	-0.51	6.69±0.71	-0.45

¹⁾LT: Lag time (hour). ²⁾SGR: Specific growth rate (log CFU/hour). ³⁾MPD: Maximum population density (log CFU/g).

⁴⁾*B. cereus* VC: *B. cereus* vegetative cell. ⁵⁾t-value¹⁾: between *B. cereus* vegetative cell and *B. cereus* spore.

⁶⁾t-value²⁾: between *B. cereus* vegetative cell and *S. aureus*. ⁷⁾ND: not detected. ⁸⁾Values are means (n=4). *P<0.05.

구 결과에서는 13°C에서의 유도기는 34.83~71.65시간, 최대증식속도 값은 0.03~0.08 log CFU/hour, 최대개체군밀도 값은 6.945~7.95 log CFU/g의 값을 나타내었다. 24°C에서의 유도기는 4.77~11.29시간, 최대증식속도 값은 0.26~0.52 log CFU/hour, 최대개체군밀도 값은 6.21~8.84 log CFU/g을 나타내 본 연구 결과와 유사하였다. 또한 데친 시금치에서 *B. cereus* 성장예측 모델 연구(18)에서의 유도기 값은 15, 25, 35°C에서 각각 4.06, 3.97, 1.77시간으로 본 연구의 유도기보다 짧았으며, 최대증식 속도값은 0.18, 0.50, 1.07 log CFU/hour로 본 연구결과보다 빨랐다.

본 연구의 나물시료인 고사리와 취나물 및 구근류인 도라지, 우영에서 *B. cereus* 영양세포 및 포자의 성장이 통계학적으로는 유의적인 차이가 있는 것으로 나타나지 않았지만 전반적인 결과를 통하여 대부분의 시료는 고온에서 *B. cereus* 포자가 *B. cereus* 영양세포보다 유도기는 연장되었으나 빠른 증식 속도값을 나타내고 있음을 알 수 있었다. 이는 포자가 발아되어 증식이 시작되기까지는 시간이 필요하나 일단 유도기 이후에는 포자가 영양세포보다 더 빠른 속도로 증식하는 것으로 나타났다. McElory 등(30)의 연구결과에서도 15°C 저온에서 밥에서 *B. cereus* 영양세포의 유도기는 포자의 유도기보다 연장되었는데 본 연구의 우영과 취나물의 경우에도 13°C에서 포자가 영양세포보다 짧은 유도기 값을 나타낸 결과와 일치하였다.

나물류 및 구근류에서 *B. cereus* 영양세포와 *S. aureus* 의 성장 특성 비교

도라지에서 *S. aureus*는 모든 실험온도(8~35°C)에서 증식하였으며 8°C와 13°C에서 각각 51.78시간 및 22.52시간 유도기 이후 증식을 시작하여 359, 215시간 배양한 후 최대 6.43, 7.65 log CFU/g까지 성장하였다. 또한 24°C와 35°C에서 각각 5.22시간 및 2.96시간 유도기 이후 증식을 시작

하여 32, 20시간 이후 최대 9.20, 9.25 log CFU/g까지 성장하였다. SGR값은 13°C에서 0.04 log CFU/hour, 24°C와 35°C에서 각각 0.42, 0.89 log CFU/hour로 나타났다 (Table 1). 도라지에서 *S. aureus*의 성장 특성을 *B. cereus* 영양세포와 비교한 결과, 13°C에서는 *B. cereus* 영양세포의 유도기(71.65시간)가 *S. aureus* 유도기(22.52시간)에 비하여 3배 이상 유의적으로(P<0.05) 연장된 것으로 나타나 도라지에서의 *S. aureus* 성장속도가 *B. cereus*에 비해 매우 빠른 것으로 나타났다. 35°C에서도 *S. aureus*의 SGR (0.89 log CFU/hour)은 *B. cereus* 영양세포 SGR(0.52 log CFU/hour)에 비하여 유의적으로 빠르게 증가하였으며, MPD값은 *S. aureus*가 *B. cereus* 영양세포보다 높은 값을 보여 두 균 간의 유의적 차이를 보였다(P<0.05). 이는 도라지에서 *S. aureus* 균이 *B. cereus* 균보다 성장속도가 빠르고 더 많은 양으로 증식함을 의미한다.

우영은 8°C와 13°C에서 *S. aureus*는 각각 75.33시간 및 18.69시간 유도기 이후 증식하여 각각의 온도에서 359시간과 215시간 이후 최대 6.14 log CFU/g 및 6.92 log CFU/g까지 성장하였다. 24°C와 35°C에서는 각각 32시간 및 20시간 유도기 이후 증식하여 각각 32시간, 20시간 배양한 후 최대 8.42 log CFU/g 및 8.46 log CFU/g까지 성장하였다. 13°C에서 SGR값은 0.03 log CFU/hour, 24°C와 35°C에서 각각 0.36 log CFU/hour 및 0.88 log CFU/hour로 나타났다 (Table 2). 또한 13, 24, 35°C 보관온도에서 우영에서 *B. cereus* 영양세포와 *S. aureus* 균의 성장을 비교한 결과, 13°C와 35°C에서 *S. aureus*의 유도기가 각각 18.69시간, 3.26시간으로 *B. cereus*에 비하여 유의적으로 빠르게 성장하는 차이를 보였으나(P<0.05), SGR과 MPD값은 유의적인 차이를 보이지 않았다.

Table 3은 취나물을 8°C와 13°C에 저장하여 *S. aureus* 균의 증식을 살펴본 결과이며, 각각 35.33시간 및 14.51시

간 유도기 이후 균이 증식하기 시작하여 각각 359시간 및 191시간 배양한 후 최대 4.9 log CFU/g 및 7.54 log CFU/g 까지 성장하였다. 13°C에서 *S. aureus*의 유도기 값(14.51시간)은 *B. cereus* 영양세포의 유도기 값(34.86시간)에 비하여 유의적인 차이를 보였다($P < 0.05$). 한편 24°C와 35°C에서는 짧은 유도기(각각 5.18 및 2.67시간) 이후 증식을 시작하여 28시간 및 19시간 배양한 후 최대 7.96 log CFU/g 및 7.94 log CFU/g까지 성장하였다.

고사리는 8°C의 냉장온도에서 *S. aureus* 균이 성장하지 않았다. 그러나 13°C에서 51.26시간 유도기 이후 증식하여 215시간 배양한 후 최대 5.78 log CFU/g까지 성장하였다. 또한 24°C와 35°C에서는 각각 5.62시간 및 4.59시간 유도기 이후 증식하여 32시간, 23시간 배양한 후 각각 7.01 log CFU/g 및 6.69 log CFU/g까지 성장하였다(Table 4). 24°C와 35°C에서 고사리에서의 *B. cereus* 영양세포와 *S. aureus* 균의 성장을 비교해 보았을 때 24°C에서 *S. aureus*의 유도기가 감소되어 유의적인 차이가 나타났으나($P < 0.05$), SGR과 MPD값은 유의적인 차이를 보이지 않았다.

전처리 나물류 및 구근류에서 *S. aureus*의 성장결과를 살펴보면 온도가 증가함에 따라 유도기는 감소하고 SGR값은 증가하는 동일한 경향을 모든 나물류 및 구근류에서 나타남을 알 수 있었다. 이러한 결과는 학교급식에 제공되는 숙주나물에서 *S. aureus* 성장예측모델을 response surface model에 적용한 연구에서도 SGR은 온도가 높아질수록 기하급수적으로 증가하였고, 유도기는 온도가 높아질수록 감소하는 연구 결과와 일치하였다(20). Park(31)의 공동조리 학교 급식 제공 시금치나물의 *S. aureus* 정량적 위해평가 및 성장예측모델 연구 결과에 따르면 시금치에서 *S. aureus*는 15°C 경우 48시간까지 거의 일정한 수준으로 성장이 유지되다가 72시간째 4.0 log CFU/g까지 증식하였으며, 25°C에서는 12시간째부터 서서히 증식을 시작하여 5.0~6.0 log CFU/g 수준이 되었으며, 35°C에서는 3시간 이후부터 급격히 증가하여 7.0 log CFU/g 수준으로 유지되는 것으로 나타났다.

전처리 나물류 및 구근류에서 *B. cereus* 영양세포와 *S. aureus*의 성장 차이는 전반적으로 13°C에서 모든 나물류

및 구근류에서 *B. cereus*의 유도기가 *S. aureus*의 유도기보다 3배 이상 연장되는 것으로 나타났다. 또한 MPD는 두 균주 상에 유의적인 차이는 없었지만 *S. aureus*의 MPD는 *B. cereus*의 MPD보다 유의적으로 높은 값을 보였으며($P < 0.05$), SGR값은 두 균 사이에 유의적인 차이는 없었다. 반면 24°C에서 고사리에서 *S. aureus* 유도기는 *B. cereus*의 유도기보다 감소되어 두 균 사이에 유의적인 차이를 나타내었으며($P < 0.05$), 35°C에서는 도라지의 SGR, MPD, 우영의 유도기 등에서 두 균간의 유의적인 차이를 나타내어($P < 0.05$) 나물류 및 구근류의 다양성에 따라 병원성 미생물의 성장 특성도 차이가 있음을 알 수 있었다. 삶은 콩나물에서 *S. aureus*와 *B. cereus* 성장예측모델 개발 연구(16) 결과에서도 13°C에서 *S. aureus*의 유도기(15.43시간)가 *B. cereus*의 유도기(44.99시간)보다 3배 감소하여 본 연구와 유사한 결과를 나타냈다.

전처리 나물류 및 구근류에서 *B. cereus* 영양세포, 포자 및 *S. aureus*의 2차 성장예측모델 개발

전처리 나물류 및 구근류에서 *B. cereus* 영양세포, 포자 및 *S. aureus*의 1차 성장예측 모델의 LT, SGR 및 MPD에 대한 온도 변화에 따른 *B. cereus* 영양세포, 포자 및 *S. aureus*의 2차 성장예측 모델을 Davey 모델, Square-root 모델과 Polynomial second order 모델을 이용하여 각각 개발하였다(Fig. 1~4).

1차 성장예측 모델의 LT, SGR 및 MPD값을 이용하여 개발된 2차 성장예측 모델의 적합성을 나타내는 결정 계수 R^2 값은 *B. cereus* 영양세포인 경우 0.9 이상으로 나타나 개발된 2차 모델이 전처리 나물류 및 구근류에서 *B. cereus* 영양세포를 예측하기 적합하였다. 개발된 *B. cereus* 포자의 2차 성장예측 모델의 R^2 값이 고사리의 SGR 모델을 제외한 모든 모델에서 0.9 이상으로 나타났다. 또한 *S. aureus*의 2차 성장예측 모델의 SGR 모델을 제외한 모든 모델에서 R^2 값이 0.9 이상으로 나타나 전처리 나물류 및 구근류에서 병원성 균인 *B. cereus* 및 *S. aureus* 균의 온도에 따른 성장을 예측하는데 효율적으로 활용할 수 있는 것으로 판단하였다.

본 연구에 사용한 취나물과 고사리의 나물류와 도라지,

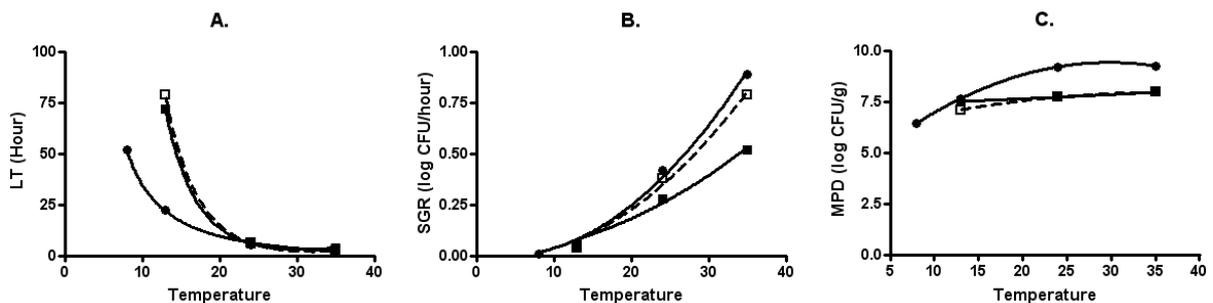


Fig. 1. Comparison of secondary models of foodborne pathogens in bellflower as a function of temperature. A, lag time (LT); B, specific growth rate (SGR); C, maximum population density (MPD). ■, *B. cereus* vegetative cell; □, *B. cereus* spore; ●, *S. aureus*.

우영의 구근류에서 *B. cereus* 영양세포, 포자 및 *S. aureus*의 성장은 온도가 증가함에 따라 유도기 값이 감소되고, SGR은 연장되는 동일한 경향을 보였다. 반면에 MPD는 최대증식온도에서는 가장 높은 최고값을 보였으나 그 이후는 MPD가 감소되는 경향을 나타내었다. 도라지에서 구토형의 *B. cereus* 영양세포와 포자가 설사형의 *B. cereus* 영양세포와 포자보다 높은 MPD를 나타내어 도라지에서는 *B. cereus* 구토형이 설사형보다 잘 증식함을 알 수 있었다 (Fig. 1). 우영과 고사리는 18°C에서 구토형의 *B. cereus* 영양세포가 설사형의 영양세포보다 높은 MPD를 보였으며 포자에서도 동일한 결과가 나타났다(Fig. 2, 4). 최근 나물류의 모니터링 연구 결과(3)에 따르면 나물류에서는 *B. cereus* 구토형이 주로 검출되는 것으로 나타나 나물류에서 구토형 *B. cereus* 식중독 균의 관리가 중요한 것으로 나타났다.

전처리 나물류 및 구근류에서 개발된 *B. cereus* 영양세포의 2차 성장예측모델의 적합성 검증

전처리 나물류 및 구근류에서 개발된 *B. cereus* 영양세포 (설사형)의 온도 영향에 따라 변화하는 LT, SGR 및 MPD 2차 성장예측 모델을 실험에 사용하지 않은 온도(18, 30°C) 및 실험에 사용하지 않은 strain(*B. cereus* 영양세포 구토형)을 활용하여 모델의 적합성을 평가 검증하였다. 개발된 성장예측 모델을 통해 얻어진 예측값과 실제 실험에서 얻어진 실험값을 이용하여 B_f , A_f , MRE 값을 산출하여 모델의 적합성을 평가하였다(Table 5).

Table 5 결과에 의하면 전처리 나물류 및 구근류에서 설사형의 *B. cereus* 영양세포 2차 모델 예측값을 구토형의 *B. cereus* 영양세포 실험값으로 검증한 결과, 실험값과 예측값의 차이를 나타내는 B_f 의 경우, 우영 및 취나물에서

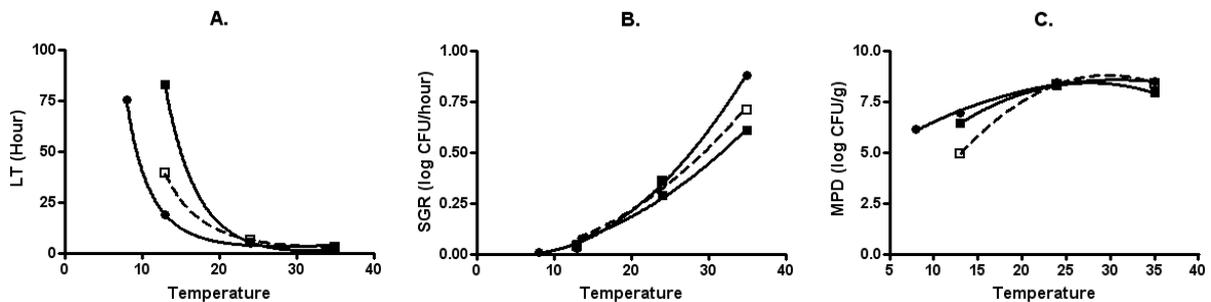


Fig. 2. Comparison of secondary models of foodborne pathogens in burdock as a function of temperature. A, lag time (LT); B, specific growth rate (SGR); C, maximum population density (MPD). ■, *B. cereus* vegetative cell; □, *B. cereus* spore; ●, *S. aureus*.

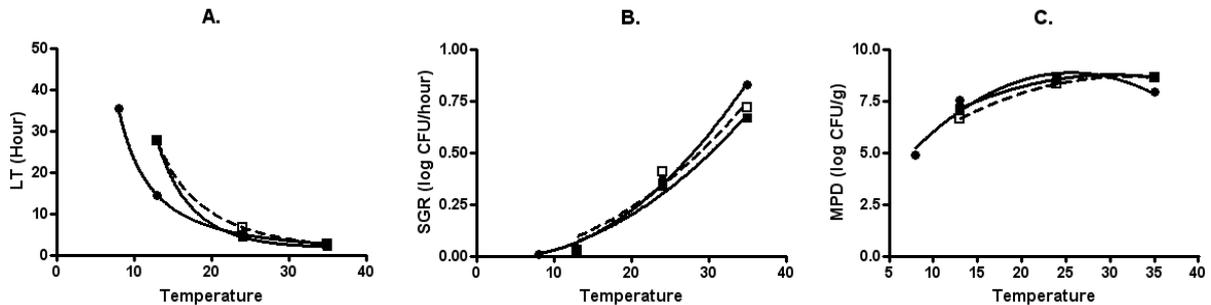


Fig. 3. Comparison of secondary models of foodborne pathogens in Chwinamul as a function of temperature. A, lag time (LT); B, specific growth rate (SGR); C, maximum population density (MPD). ■, *B. cereus* vegetative cell; □, *B. cereus* spore; ●, *S. aureus*.

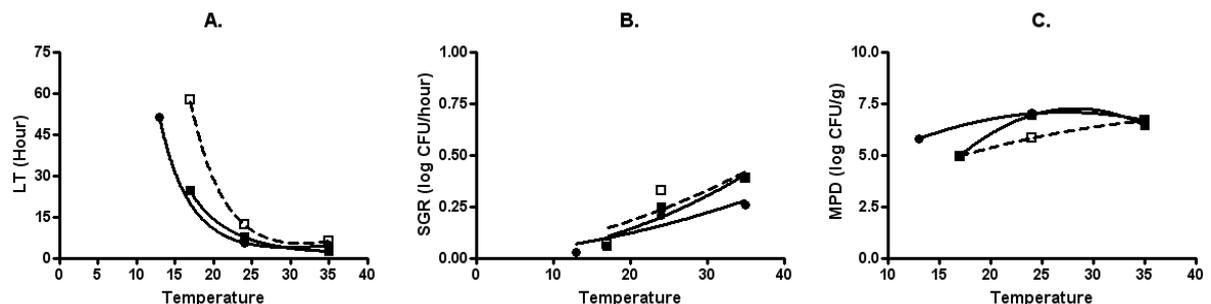


Fig. 4. Comparison of secondary models of foodborne pathogens in bracken as a function of temperature. A, lag time (LT); B, specific growth rate (SGR); C, maximum population density (MPD). ■, *B. cereus* vegetative cell; □, *B. cereus* spore; ●, *S. aureus*.

Table 5. Performance validation of secondary models for *B. cereus* vegetative cell and spore and *S. aureus* in preprocessed vegetables

Dataset	Parameter	<i>B. cereus</i> vegetative cell			<i>B. cereus</i> spore			<i>S. aureus</i>		
		B_f ⁴⁾	A_f ⁵⁾	MRE ⁶⁾	B_f	A_f	MRE	B_f	A_f	MRE
Bellflower	LT ¹⁾	1.48	1.48	0.00	1.14	1.31	0.00	1.10	1.24	0.00
	SGR ²⁾	1.01	1.15	0.09	0.97	1.28	0.10	1.38	1.42	-0.28
	MPD ³⁾	0.93	1.07	-0.04	0.92	1.08	-0.08	1.02	1.02	0.00
Burdock	LT	1.08	1.55	0.00	1.13	1.14	0.00	0.96	1.09	0.00
	SGR	1.06	1.20	0.06	1.04	1.38	0.12	1.00	1.32	-0.03
	MPD	0.98	1.02	0.00	0.99	1.06	0.00	1.02	1.03	0.01
Chwinamul	LT	1.02	1.24	0.00	1.09	1.09	0.00	1.01	1.09	0.00
	SGR	1.02	1.12	0.07	0.96	1.54	0.20	1.21	1.23	-0.12
	MPD	1.02	1.02	0.00	1.01	1.02	0.00	1.03	1.06	0.04
Bracken	LT	1.15	1.21	0.00	1.36	1.50	0.04	0.90	1.14	0.00
	SGR	1.39	1.49	0.52	0.97	1.43	-0.19	1.03	1.48	-0.07
	MPD	0.94	1.10	0.00	0.94	1.07	0.00	1.03	1.03	0.00

¹⁾LT: Lag time (hour). ²⁾SGR: Specific growth rate (log CFU/hour). ³⁾MPD: Maximum population density (log CFU/g).

⁴⁾ B_f : Bias factor. ⁵⁾ A_f : Accuracy factor. ⁶⁾MRE: The median relative error.

LT와 SGR 모델이 모두 적합성 허용 범위(0.7~1.15)에 속하는 것으로 나타난 반면 도라지의 SGR 모델과 고사리의 LT 모델은 적합성 허용 범위에 속하지 않은 것으로 나타났다. 이와 같은 결과는 17~35°C 사이에서 구토형의 *B. cereus* 영양세포의 성장을 예측하는데 개발된 설사형의 *B. cereus* 영양세포 모델을 도라지의 LT 모델 및 고사리의 SGR 모델을 제외하고는 모든 LT 및 SGR 모델에서 적용할 수 있는 것으로 판단된다. A_f 는 실험값이 얼마만큼 예측값과 가까운가를 측정하는 척도로 일치하였을 때 1을 기준으로 그 값이 1에서 멀어질수록 개발된 모델의 부정확성을 나타낸다. 따라서 설사형의 *B. cereus* 영양세포의 성장모델을 구토형 *B. cereus* 영양세포로 검증한 결과, 본 연구에서는 A_f 값의 경우 도라지 LT 모델에서 1.48, 우엉 LT 모델에서 1.55, 고사리 SGR 모델에서 1.49로 나타나 실험값과 예측값 사이의 차이를 보였다.

MRE는 예측 모델의 타당성을 나타내며, 0에 가까울수록 예측 모델의 적합성이 높음을 의미하는데(26,28) 본 연구에서는 MRE가 -0.04~0.52 범위를 보였다. 또한 개발된 설사형 *B. cereus* 영양세포의 MPD 모델을 구토형의 MPD로 검증한 결과, B_f 값이 모든 나물류 및 구근류에서 허용 범위에 속한 값을 나타내어 설사형의 *B. cereus* 영양세포 MPD 모델은 구토형 *B. cereus* 영양세포의 MPD를 예측하기에 적합한 것으로 나타났다.

전처리 나물류 및 구근류에서 개발된 *B. cereus* 포자의 2차 성장예측 모델의 적합성 검증

전처리 나물류 및 구근류에서 개발된 설사형 *B. cereus* 포자의 온도 영향에 따라 변화하는 LT, SGR 및 MPD의 2차 모델을 실험에 사용하지 않은 온도(18, 30°C) 및 실험에 사용하지 않은 strain(*B. cereus* 영양세포 구토형)을 활용하여 모델의 적합성을 평가하였다. 개발된 성장예측 모델을 통해 예측값과 실험에서 얻어진 실험값을 이용하여 B_f , A_f ,

MRE 값을 산출하였고 모델의 통계적 적합성을 평가하였다 (Table 5).

설사형 *B. cereus* 포자를 구토형의 *B. cereus* 포자로 검증한 결과, 고사리의 경우 LT 모델에서 B_f 값이 허용 범위에서 벗어났으나 다른 나물류 및 구근류에서 LT와 SGR 모델의 B_f 값은 허용범위에 속하였다. 이는 본 연구에서 수행하지 않은 온도에서도 구토형 *B. cereus* 포자의 LT 및 SGR을 예측하는데 개발된 설사형 *B. cereus* 포자 모델을 활용할 수 있는 것으로 판단된다. 본 연구에서는 A_f 값이 도라지 LT 모델에서 1.31, 우엉 LT 모델에서 1.38, 취나물 SGR 모델에서 1.54, 고사리 LT 및 SGR 모델에서 각각 1.50, 1.43로 실험값이 예측값과의 차이를 보여 모델의 적합성이 감소하는 것으로 나타났다. 또한 개발된 설사형 *B. cereus* 포자의 MPD 모델을 구토형의 MPD로 검증한 결과, B_f 값이 도라지 0.92, 우엉 0.99, 취나물 1.01, 고사리 0.94로 허용 범위에 해당하는 값을 나타내어 영양세포와 같이 설사형 *B. cereus* 포자의 모델을 구토형 *B. cereus* 포자의 MPD를 예측하기 적합한 것으로 나타났다.

전처리 나물류 및 구근류에서 개발된 *S. aureus*의 2차 성장예측모델의 적합성 검증

전처리 나물류 및 구근류에서 개발된 *S. aureus*의 온도 영향에 따라 변화하는 LT, SGR 및 MPD의 2차 성장예측 모델을 실험에 사용하지 않은 온도(18, 30°C)를 활용하여 모델의 적합성을 평가하였다. 개발된 성장예측 모델을 통해 얻어진 예측값과 실제 실험에서 얻어진 실험값을 이용해 B_f , A_f , MRE 값을 산출하여 모델의 적합성을 평가하였다(Table 5).

*S. aureus*의 2차 성장예측 모델을 실험에 사용하지 않은 온도를 이용하여 검증한 결과, B_f 값이 LT 모델의 경우 모든 나물류 및 구근류에서 모델 적합성 허용 범위에 속하는 것으로 나타났다. SGR 모델은 도라지와 취나물을 제외한 모든

나물류 및 구근류에서 허용범위에 속하였다. 따라서 본 연구에서 사용하지 않은 온도에서도 도라지, 우엉, 취나물 및 고사리의 LT와 우엉, 고사리의 SGR을 예측하는데 개발된 *S. aureus*의 성장 예측 모델을 활용할 수 있는 것으로 판단된다. 또한 본 연구에서는 SGR 모델의 경우 A_f 값이 도라지에서 1.42, 우엉에서 1.32, 고사리에서 1.48로 실험값이 예측값과의 차이를 나타내었고, MRE는 $-0.28 \sim 0.04$ 사이로 관찰되었다. 개발된 *S. aureus*의 MPD 모델을 실험에 사용하지 않은 온도의 MPD로 검증한 결과, B_f 값이 도라지 1.0, 우엉 0.99, 취나물 0.93, 고사리 1.0으로 허용범위에 해당하는 값을 나타내어 *S. aureus*의 MPD 모델은 적합한 것으로 나타났다.

요 약

본 연구에서 사용한 전처리 나물류 중 고사리 경우 13°C에서 *B. cereus* 영양세포 및 포자가, 8°C에서 *S. aureus*는 성장하지 않았다. 전처리 나물류 및 구근류에서 *B. cereus* 영양세포 및 포자의 성장특성을 비교한 결과, 도라지와 취나물에서 LT, SGR 및 MPD는 *B. cereus* 영양세포와 포자 사이에 유의적인 차이를 보이지 않았다. 반면 우엉은 13°C에 저장한 경우 *B. cereus* 영양세포와 포자의 유도기는 유의적인 차이를 보였으며 고사리의 경우, 17, 24, 35°C 온도에서 *B. cereus* 포자의 유도기는 영양세포의 유도기 값보다 2배 연장된 것으로 유의적인 차이를 나타내었다($P < 0.05$). 24°C와 35°C의 상온에서는 모든 나물류 및 구근류에서 *B. cereus* 포자 유도기는 영양세포의 유도기보다 연장되었고, SGR 값은 포자가 빠른 것으로 나타났다. 한편, 13°C와 17°C에서는 *B. cereus* 영양세포와 포자의 유도기가 고온에 비하여 연장되어 *B. cereus* 영양세포와 포자의 성장을 억제하기 위해서는 13°C 이하의 온도 관리가 중요하다. 또한 *B. cereus*와 *S. aureus* 영양세포의 성장특성 비교 결과, 13°C 이하에서는 *B. cereus* 성장이 관찰되지 않았으나 *S. aureus*는 8°C에서도 성장하였다. 전반적으로 13°C에서 모든 나물류 및 구근류는 *B. cereus*의 유도기가 *S. aureus*의 유도기보다 3배 이상 연장되었다. 전처리 나물류 및 구근류에서 개발된 설사형 *B. cereus* 영양세포 및 포자 성장예측모델을 구토형 *B. cereus* 영양세포 및 포자의 실험값으로 검증한 결과, 도라지와 고사리의 LT 모델과 고사리의 SGR 모델을 제외한 모든 모델에서 B_f 값이 허용범위(0.07~1.15)에 속하여 설사형 *B. cereus* 영양세포, 포자 성장모델이 구토형 *B. cereus* 영양세포, 포자의 성장을 예측하는데 적합한 것으로 나타났다. 또한 전처리 나물류 및 구근류에서 8~35°C 사이에 개발된 *S. aureus*의 성장예측 모델을 실험에 사용하지 않은 온도(18, 30°C)로 적합성을 검증한 결과, 도라지의 SGR 모델을 제외한 모든 모델에서 B_f 와 A_f 값이 가장 이상적인 1에 가까운 값으로 나타나 실험값과 예측값 사이의 일치성을 보였다. 본 연구 결과 개발된 전처리 나물류 및 구근

류의 성장예측 모델은 병원성 미생물의 증식을 억제하는 기준과 규격 설정 시 활용 가능할 것이며, 전처리 나물류의 HACCP 공정의 CCP(critical control point) 및 CL(critical limit)을 설정하는데 유용한 자료로 활용될 수 있을 것으로 사료된다.

REFERENCES

1. Lee MJ. 2008. A feasibility study of using preprocessed and fresh-cut vegetables for school food services in Gyeong-Gi province. *PhD Dissertation*. Dankook University, Yongin, Korea. p 1-3.
2. Kwak SJ, Kim SJ, Lkhagvasarnai E, Yoon KS. 2012. Analysis of microbiological hazards of preprocessed Namuls in school food service and processing plant. *J Fd Hyg Safety* 27: 117-126.
3. Jo SH, Chung HJ, Lee SH, Hwang SJ, Om AS, Eun JB. 2013. Microbial quality of fresh vegetables in restaurants around school. *Korean J Food Preserv* 20: 424-428.
4. Beuchat LR. 1996. Pathogenic microorganisms associated with fresh produce. *J Food Prot* 59: 204-216.
5. Gleeson E, O'Beirne D. 2005. Effects of process severity on survival and growth of *Escherichia coli* and *Listeria innocua* on minimally processed vegetables. *Food Control* 16: 677-685.
6. Kim JS, Bang OK, Chang HC. 2004. Examination of microbiological contamination of ready-to-eat vegetable salad. *J Fd Hyg Safety* 19: 60-65.
7. Korean Food and Drug Administration. 2012. Foodborne Illness Statistics. Available from: <http://www.mfds.go.kr/e-stat/index.do>. Assessed Aug 12, 2013.
8. Whiting RC. 1995. Microbial modeling in foods. *Crit Rev Food Sci Nutr* 35: 467-494.
9. Petchsing U, Woodburn MJ. 1990. *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* in nham (Thai-style fermented pork sausage). *Int J Food Microbiol* 10: 183-192.
10. Whiting RC, Buchanan RL. 1997. Development of a quantitative risk assessment model for *Salmonella enteritidis* in pasteurized liquid eggs. *Int J Food Microbiol* 36: 111-125.
11. Dalgaard P, Jørgensen LV. 1998. Predicted and observed growth of *Listeria monocytogenes* in seafood challenge tests and in naturally contaminated cold-smoked salmon. *Int J Food Microbiol* 40: 105-115.
12. Jin SS. 2005. Development of model for predictive growth of *Bacillus cereus* and *Staphylococcus aureus* in Kimbab. *MS Thesis*. Kangwon National University, Chuncheon, Korea. p 3-5.
13. Park YB. 2005. Characterization of *Bacillus cereus* isolated from grains and development of predictive growth model and inactivation techniques. *PhD Dissertation*. Kangwon National University, Chuncheon, Korea.
14. Cho YS, Jung EY, Lee MK, Yang CY, Shin DB. 2008. Survival, isolation and characterization of *Bacillus cereus* from Sunshik. *J Fd Hyg Safety* 23: 343-347.
15. Chang HJ, Lee JH. 2009. Prevalence of *Bacillus cereus* from fried rice dishes and monitoring guidelines for risk management. *Korean J Food Cookery Sci* 25: 45-54.
16. Kang KA, Kim YW, Yoon KS. 2010. Development of predictive growth models for *Staphylococcus aureus* and *Bacillus cereus* on various food matrices consisting of ready-to-eat (RTE) foods. *Korean J Food Sci Ani Resour* 30: 730-738.

17. Park HS, Bahk GJ, Park KH, Pak JY, Ryu K. 2010. Predictive model for growth of *Staphylococcus aureus* in *Suyuk*. *Korean J Food Sci Ani Resour* 30: 487-494.
18. Bae YM, Kim BR, Lee SY, Cha MH, Park KH, Chung MS, Ryu K. 2012. Growth and predictive model of *Bacillus cereus* on blanched spinach with or without seasoning at various temperatures. *Food Sci Biotechnol* 21: 503-508.
19. Jo HJ, Hong SH, Kim YG, Shin DB, Oh MH, Hwang JH, Lkhagvasarnai E, Yoon KS. 2012. Validation of broth model for growth of *Bacillus cereus* in blanched vegetables. *J East Asian Soc Dietary Life* 22: 558-565.
20. Park HS, Kim MY, Jeong HS, Park KH, Ryu K. 2009. Development of a predictive growth model of *Staphylococcus aureus* and shelf-life estimation of cooked mung bean sprouts served in school foodservice operations. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 38: 1618-1624.
21. Mazas M, Gonzalez I, Lopez M, Gonzalez J, Sarmiento RM. 1995. Effects of sporulation media and strain on thermal resistance of *Bacillus cereus* spores. *Int J Food Sci Technol* 30: 71-78.
22. Gibson AM, Bratchell N, Roberts TA. 1987. The effect of sodium chloride and temperature on the rate and extent of growth of *Clostridium botulinum* type A in pasteurized pork slurry. *J Appl Bacteriol* 62: 479-490.
23. Davey KR. 1989. A predictive model for combined temperature and water activity on microbial growth during the growth phase. *J Appl Bacteriol* 67: 483-488.
24. Ratkowsky DA, Olley J, McMeekin TA, Ball A. 1982. Relationship between temperature and growth rate of bacterial cultures. *J Bacteriol* 149: 1-5.
25. McMeekin TA, Olley J, Ross T, Ratkowsky, DA. 1993. *Predictive Microbiology: Theory and Application*. John Wiley & Sons Ltd., Hoboken, NJ, USA. p 87-113.
26. Ross T. 1996. Indices for performance evaluation of predictive models in food microbiology. *J Appl Bacteriol* 81: 501-508.
27. Abou-Zeid KA, Oscar TP, Schwarz JG, Hashem FM, Whiting RC, Yoon K. 2009. Development and validation of a predictive model for *Listeria monocytogenes* Scott A as a function of temperature, pH, and commercial mixture of potassium lactate and sodium diacetate. *J Microbiol Biotechnol* 19: 718-726.
28. Oscar TP. 2005. Development and validation of primary, secondary, and tertiary models for growth of *Salmonella* Typhimurium on sterile chicken. *J Food Prot* 68: 2606-2613.
29. Bhatia A, Zahoor S. 2007. *Staphylococcus aureus* enterotoxins: A review. *J Clin Diagn Res* 1: 188-197.
30. McElroy DM, Jaykus LA, Foegeding PM. 2000. Validation and analysis of modeled predictions of growth of *Bacillus cereus* spores in boiled rice. *J Food Prot* 63: 268-272.
31. Park JY. 2011. Predictive models for growth of *Staphylococcus aureus* on steamed spinach with seasoning in commissary school food service. *MS Thesis*. Yeungnam University, Gyeongsan, Korea.