

Mathematical modeling of growth of *Escherichia coli* strain RC-4-D isolated from red kohlrabi sprout seeds

Soo Yeon Choi, Sang Don Ryu, Byeong-Yong Park, Se-Ri Kim, Hyun-Ju Kim, Seungdon Lee, Won-Il Kim*

Microbial Safety Team, National Institute of Agricultural Sciences, Rural Development Administration, Wanju 55365, Korea

적콜라비 새싹채소 종자에서 분리한 *Escherichia coli* strain RC-4-D의 생장에측모델

최수연 · 류상돈 · 박병용 · 김세리 · 김현주 · 이승돈 · 김원일*

농촌진흥청 국립농업과학원 농산물안전성부 유해생물팀

Abstract

This study was conducted to develop a predictive model for the growth of *Escherichia coli* strain RC-4-D isolated from red kohlrabi sprout seeds. We collected *E. coli* kinetic growth data during red kohlrabi seed sprouting under isothermal conditions (10, 15, 20, 25, and 30°C). Baranyi model was used as a primary order model for growth data. The maximum growth rate (μ_{max}) and lag-phase duration (LPD) for each temperature (except for 10°C LPD) were determined. Three kinds of secondary models (suboptimal Ratkowsky square-root, Huang model, and Arrhenius-type model) were compared to elucidate the influence of temperature on *E. coli* growth rate. The model performance measures for three secondary models showed that the suboptimal Huang square-root model was more suitable in the accuracy (1.223) and the suboptimal Ratkowsky square-root model was less in the bias (0.999), respectively. Among three secondary order model used in this study, the suboptimal Ratkowsky square-root model showed best fit for the secondary model for describing the effect of temperature. This model can be utilized to predict *E. coli* behavior in red kohlrabi sprout production and to conduct microbial risk assessments.

Key words : red kohlrabi, *Escherichia coli*, predictive model

서론

영양학적 가치와 섭취 편의성을 갖춘 새싹채소는 재배 기간이 짧고 성체 채소에 비해 비타민 C와 섬유질 등이 풍부한 영양 공급원으로 샐러드 형태로 간편하게 섭취하는 식품 중 하나이다(1). 우리나라에서는 10종 내외의 새싹채소 작물이 재배·유통되고 있는데(2), 그 중 적콜라비는 양배추와 순무의 교배로 만들어진 새로운 품종으로서 항암작용

과 항산화 작용에 효과를 가지는 것으로 알려진 글루코시놀레이트, 안토시아닌, 카로티노이드와 같은 2차 대사산물을 함유하고 있다(3).

새싹채소의 경우, 별도의 가열 과정이 없이 섭취가 이루어지기 때문에 생산단계에서부터 철저한 관리가 이루어져야 하므로 안전하고 안전한 새싹채소가 생산되어야 한다. 그러나 국제적으로 새싹채소를 통한 식중독 세균에 의한 식중독 사고 피해 사례가 보고되고 있다(4,5). 새싹채소 매개 식중독 사고는 1976년에 *Bacillus cereus*에 의한 첫 발생 보고 이후, *Salmonella* spp., *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes* 와 같은 식중독 세균이 원인이 되어 빈번하게 발생되고 있다(6,7). 특히 2011년에는 *E. coli* O104:H4에 오염된 이집트산 호로파 종자를 이용한 독일 업체의 새싹채소 재배·유통으로 인해 유럽국가 등 총 16개국에서 4,075명

*Corresponding author. E-mail : kimwi@korea.kr
Phone : 82-63-238-3396, Fax : 82-63-238-3840
Received 6 September 2017; Revised 23 October 2017;
Accepted 25 October 2017.
Copyright © The Korean Society of Food Preservation. All rights reserved.

의 식중독 환자가 발생하고 그 중 908명은 합병증으로 용혈성요독증후군(hemolytic uremic syndrome)이 발생하였고 총 50명이 사망하는 사고가 발생한 바 있다(8,9). 식중독 세균이 새싹채소로 오염되는 경로는 농업용수, 작업자, 작업도구, 오염된 종자 등인 것으로 알려져 있고, 식중독 사고 역학조사 결과에 따르면 오염된 종자가 가장 많은 비율로 보고되고 있어(10), 종자의 미생물학적 안전성이 중요하다. 새싹채소의 재배환경은 적당한 온도와 습도가 유지되어 세균이 성장하기에 적합한 것으로 알려져 있고(11), 종자 표면에 존재하는 *E. coli* O157:H7 등과 같은 식중독 세균이 새싹채소 종자가 발아한 이후 48시간 이내에 빠른 증식을 나타낸다고 보고되어 있다(12).

식중독 세균에 오염된 식품으로 인한 식중독 사고의 위험성을 예측할 때에는 일반적으로 섭취할 당시의 식품에 존재하는 식중독 세균의 밀도에 따라 추정하게 된다(13). 생산에서부터 소비단계에 이르기까지 농식품에 존재하는 식중독 세균의 밀도변화를 예측하기 위해서 예측미생물학(predictive microbiology)이 활용되고 있다(14). 그 중 미생물 성장예측모델은 온도 등 미생물 성장에 영향을 미치는 변수를 기반으로 개발된 수학적 모델에 의해 주어진 시간의 미생물 밀도 변화를 예측하는 도구로 이용되고 있다(15). 국내외적으로 다양한 농식품의 식중독 세균에 대한 성장예측모델이 개발되어 활용되고 있지만(16-18), 현재까지 새싹채소를 대상으로 한 식중독 세균의 성장예측모델은 개발된 적이 없다.

따라서 본 연구는 국내 시판 새싹채소용 적콜라비 종자에서 분리한 *E. coli* RC-4-D를 대상으로 새싹채소 재배 중 밀도를 예측할 수 있는 성장예측모델을 제시하기 위해 수행되었다.

재료 및 방법

적콜라비 종자로부터 *E. coli* 분리 및 동정

시중 유통되고 있는 새싹채소용 적콜라비 종자(원산지: 중국)를 구입하여 분석 대상 시료로 사용하였다. 적콜라비 종자 25 g을 샘플백(18×30 cm, Jinsung Uni-Tech, Goyang, Korea)에 담고 buffered peptone water(Oxoid, Basingstoke, Hampshire, UK)를 1:9(w/v)의 비율로 첨가한 뒤, 35°C 배양기에서 3시간 동안 배양한 후 배양액 1 mL을 9 mL의 EC broth, Reduced Blue Salts(Oxoid, Basingstoke, Hampshire, UK)에 넣고 44°C 배양기에서 24시간 동안 배양하였다. 배양 후 멸균 loop를 이용하여 배양액의 일부를 EMB(Oxoid, Basingstoke, Hampshire, UK) 배지에 옮긴 뒤 37°C에서 24시간 동안 배양한 후 대장균으로 의심되는 형태의 콜로니를 nutrient agar(BD, Sparks, MD, USA)에 순수분리하였다. 분리된 균주는 VITEK 2 System(VITEK®2, BioMerieux,

Craponne, France)을 이용하여 생화학적 동정을 실시하였다. 또한 균주의 16S rRNA 염기서열을 BLAST(Basic Local Alignment Search Tool)를 통해 염기서열 유사도가 높은 종을 확인하였다.

분리된 *E. coli* 균주 병원성 유전자 보유 PCR 검정

분리된 *E. coli*의 병원성 관련 유전자 보유 여부를 확인하기 위해 specific primer를 이용한 multiplex PCR을 수행하였다. 분리된 *E. coli* 균주의 chromosomal DNA 추출은 Genomic Plus DNA Prep Kit(Inclone, Yongin, Korea)를 이용하였고, PowerChek™ Diarrheal *E. coli* 4-plex Detection Kit I(Kogene Bio-tech, Seoul, Korea)를 이용하여 shiga-like toxin 1과 2를 encoding하는 enterohemorrhagic *E. coli*의 병원성 관련 유전자인 *stx1*, *stx2*와 enterotoxigenic *E. coli*의 병원성 관련 유전자인 heat-labile enterotoxin(LT), heat-stable enterotoxin(ST)의 보유 여부를 확인하였다. 추출한 genomic DNA를 template DNA로 사용하여 kit 제조사의 매뉴얼에 따라 primer Mix와 PCR premix를 micro-tube에 넣어 혼합한 다음 PCR을 진행하였다. PCR 조건은 Kit 제조사의 매뉴얼에 따라 ① 95°C, 12분 → ② 95°C, 30초 → ③ 60°C, 45초 → ④ 72°C, 1분 → ⑤ 72°C, 10분으로 진행하였고 ②, ③, ④ 과정은 32 cycles 반복하였다. PCR 반응은 Thermocycler (C1000™ Thermal Cycler, Biorad, USA)를 이용하였다. PCR 반응 후, 증폭산물을 2% agarose gel을 이용해 전기영동 후 병원성 관련 유전자 검출 여부를 확인하였다.

보관균주 제작

적콜라비에서 분리된 *E. coli* strain RC-4-D는 tryptic soy broth(BD, Sparks, MD, USA)에 배양한 뒤, 1 mL의 세균 배양액에 50% glycerol 0.25 mL을 섞어 -80°C의 초저온냉동고에 보관하였다.

항생제 내성 균주 제작

E. coli strain RC-4-D(wild type)를 rifampicin에 대한 내성을 유도하기 위해 TSA 배지에 배양한 균주의 단일 콜로니를 rifampicin(50 µg/mL) 항생제가 첨가되어 있는 tryptic soy broth에 접종한 뒤 37°C에서 24시간 동안 진탕배양하였다. 배양 후 멸균된 loop를 이용하여 rifampicin(50 µg/mL)을 함유한 tryptic soy agar(BD, Sparks, MD, USA)에 계대한 후 37°C에서 24시간 동안 배양하며 자연발생 항생제 내성 균주가 배양되게 하였다. 이후 항생제가 첨가된 고체 배지에 계대배양하여 항생제에 대한 내성을 가진 콜로니를 순수 분리하여 본 실험에 사용하였고 내성균주의 16S rRNA 염기서열 분석 및 BLAST search를 통해 균주를 확인하였다.

적콜라비 종자에 *E. coli* strain RC-4-D 접종 준비

rifampicin 내성을 가진 *E. coli* strain RC-4-D를 실험에

사용하였다. *E. coli* strain RC-4-D를 rifampicin이 포함된 3 mL의 tryptic soy broth에 접종한 뒤 37°C에서 24시간 동안 진탕배양하였다. 배지 성분 제거를 위해 배양된 세균 현탁액을 4°C에서 4,000 rpm으로 10분간 원심분리하여 셀을 회수하였고, 회수된 셀은 3 mL의 멸균수로 2회 세척한 다음 최종적으로 3 mL의 멸균수에 재현탁한 뒤 실험에 사용하였다.

균주 접종

시중 판매되는 적콜라비 종자(농우바이오, Suwon, Korea)를 구입하여 실험에 사용하였다. 90 g의 적콜라비 종자와 180 mL의 멸균수를 멸균 샘플백(WHIRL-PAK®, Fort Atkinson, WI, USA)에 넣고 10⁴ CFU/mL의 밀도로 희석한 *E. coli* strain RC-4-D 현탁액을 30 mL 접종한 다음 3분 동안 hand shaking법으로 균질화 하였다. *E. coli* strain RC-4-D이 접종된 적콜라비 종자는 25°C에서 6시간 동안 침종 과정을 거친 뒤, 상등 여액을 버리고 각 조사 온도 및 시간별로 종자를 2 mL 멸균수와 함께 페트리디쉬에 약 6 g씩 나누어 치상하여 10°C, 15°C, 20°C, 25°C, 30°C의 온도에 보관하면서 세균 밀도를 측정하였다.

적콜라비 생장 중 *E. coli* strain RC-4-D 밀도 조사

각 페트리디쉬에 치상한 종자 또는 발아된 새싹을 한 페트리디쉬 내에서 2 g씩 3점의 시료로 subsampling한 후 *E. coli* strain RC-4-D의 밀도를 측정하였다. 2 g의 적콜라비 종자 또는 발아된 새싹을 취해 18 mL 멸균수를 담은 conical tube에 넣고 vortex를 이용하여 균질화하였다. 현탁액은 단 계희석하여 rifampicin이 첨가된 tryptic soy agar 배지에 도말한 뒤 37°C에서 24시간 동안 배양한 후 밀도를 산정하였다.

1차, 2차 생장예측모델 개발

각 온도별(10, 15, 20, 25, 30°C)로 얻어진 세균 밀도를 엑셀 스프레드시트를 이용하여 log₁₀ 값, 평균, 표준편차 등으로 변환하였다. Baranyi model(Eq. 1-2)(19)을 이용하여 최대생장률[maximum growth rate, μ_{max} (log CFU/h)]과 유도기 [lag-phase duration, LPD(h)] 등 1차 kinetic parameter 값을 도출하였다.

$$Y(t) = Y_0 + \mu_{max} * A(t) - \ln \{ 1 + \exp[\mu_{max} * A(t)] - 1 / \exp(Y_{max} - Y_0) \} \quad (\text{Eq. 1})$$

$$A(t) = t + 1 / \mu_{max} * \ln [\exp(-\mu_{max} * t) + \exp(-h_0) - \exp(-\mu_{max} * t - h_0)] \quad (\text{Eq. 2})$$

Y_0 : 초기 세균 밀도(log CFU/g), Y_{max} : 최대 생장 세균 밀도(log CFU/g), $Y(t)$: t 시간에서 세균 밀도(log CFU/g), μ_{max} : 최대생장률, h_0 : 미생물의 생리학적 상태

2차 생장예측모델은 suboptimal Ratkowsky square-root model(Eq. 3), suboptimal Huang square-root model(Eq. 4), Arrhenius-type model(Eq. 5) 등 3종류의 모델을 이용하여 적콜라비 종자에서 각각의 온도가 대장균의 생장에 미치는 영향을 설명하는 모델을 fitting 하였다.

$$\sqrt{\mu_{max}} = a(T - T_{min}) \quad (\text{Eq. 3})$$

$$\sqrt{\mu_{max}} = a(T - T_{min})^{0.75} \quad (\text{Eq. 4})$$

a : 상수, T : 저장 온도(°C), T_0 : 최저 온도, T_{min} : 세균 생장을 위한 이론적인 최저 온도

$$\mu_{max} = a(T + 273.15) \exp\{-[\Delta G / (R(T + 273.15))]^n\} \quad (\text{Eq. 5})$$

R : 기체상수(8.134 J/mol), ΔG : 세균의 생장과 관련된 운동에너지, a , n : 계수, T : 온도(°C)

위와 같은 2차 생장예측모델은 IPMP(Integrated Pathogen Modeling Program) software(20)를 이용하였다.

생장예측모델 검증

2차 생장예측모델의 적합성을 평가하기 위해 통계학적 표준인 root mean squared error(RMSE), accuracy factor(A), and bias factor(B)을 이용하여 검증하였다(21).

$$\text{RMSE} = \sqrt{(O - P)^2 / N \cdot P}$$

$$A = 10^{\sum |\log(P/O)| / N}$$

$$B = 10^{\sum \log(P/O) / N}$$

N : 생장 곡선에서 관측값의 수, P : 예측값, O : 관측값

결과 및 고찰

적콜라비에서 *E. coli* strain RC-4-D의 분리 및 1차 생장예측모델

시중 유통되고 있는 적콜라비 종자(원산지: 중국산) 20점의 시료 중 5점에서 *E. coli*를 분리하여 동정하였고, kit를 이용한 PCR법을 통해 1개 균주가 shiga-like toxin 2를 encoding하는 *stx2* 유전자를 보유하고 있는 것을 확인하였다(data not shown). 해당 균주에 RC-4-D의 균주명을 부여하였고 생장예측모델 개발에 사용하였다.

본 연구에서는 5개의 온도(10, 15, 20, 25, 30°C)에서 적콜라비 종자에 접종한 *E. coli* strain RC-4-D의 시간 경과에 따른 밀도 변화를 조사하였다. Baranyi model을 적용한 적콜라비 중 *E. coli* strain RC-4-D의 생장밀도곡선은 Fig. 1과 같다. 적콜라비 종자에서 *E. coli* strain RC-4-D의 초기 밀도

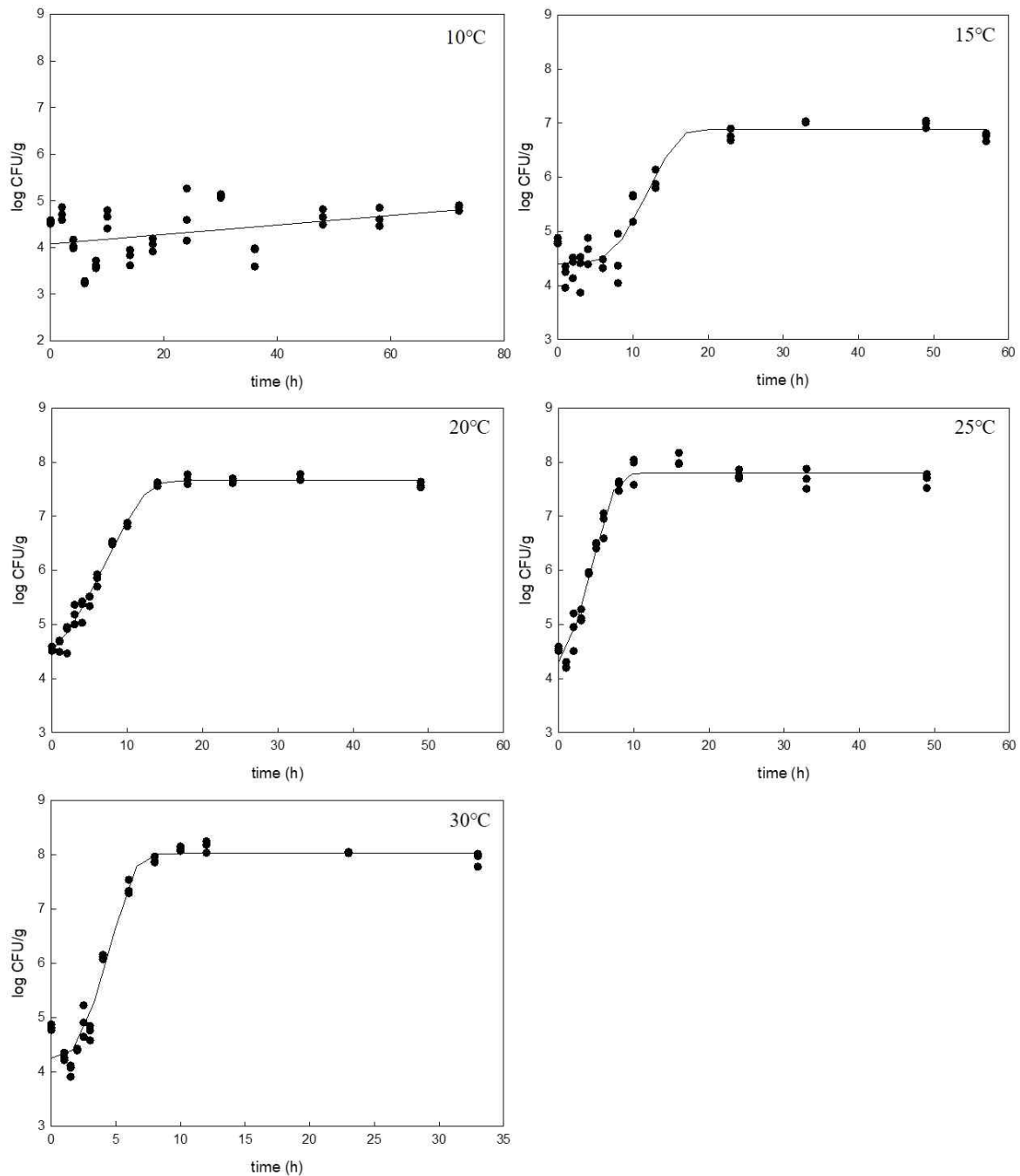


Fig. 1. Growth of *Escherichia coli* strain RC-4-D, which was inoculated on red kohlrabi seeds during seed sprouting at selected temperatures fitted to the Baranyi model.

는 4.08-4.52 log CFU/g의 범위를 나타내었다. 10°C를 제외한 4개의 모든 실험온도에서는 시간이 경과함에 따라 세균의 밀도가 유의하게 증가하였으며, 온도가 상승함에 따라 밀도가 비교적 급격히 증가하는 경향을 나타낸다. 10°C의 경우에는 적콜라비 종자의 발아가 대부분 이루어지지 않고 일부만 발아를 하는 불균일한 발아율을 나타내었고(data not shown), *E. coli* strain RC-4-D를 접종한지 80시간 후에도 밀도가 유의하게 증가하지 않았다. 종자가 발아할 때 작물

로부터 분비되는 삼출물(exudates)이 세균의 밀도 증식에 큰 영향을 미친다는 사실이 알려져 있다(22). 또한 새싹채소 재배단계별 위생지표세균 밀도 및 유해미생물 오염도가 종자 단계보다 발아한 이후에 증가하는 양상을 나타내는 것으로 보고되어 있다(23). 따라서 종자의 발아가 *E. coli* strain RC-4-D 밀도 증가에 영향을 미치고 균일하게 발아하지 않은 10°C 실험구에서는 유의한 밀도 증가가 이루어지지 않은 것으로 판단된다.

Baranyi model을 이용한 각 온도별 적콜라비의 *E. coli* strain RC-4-D의 성장밀도 fitting 결과를 바탕으로 최대성장률(μ_{max}), 유도기(LPD), 초기 세균 밀도(X_0), 최대 세균 밀도(Y_{max})를 도출하였다(Table 1). 최대성장률은 10°C에서는 0.01, 30°C에서는 0.87로 온도가 증가할수록 시간당 *E. coli* strain RC-4-D의 성장률이 증가하는 양상을 나타낸다. 이와 같은 양상은 외부온도가 적콜라비의 적정 생육온도와 세균의 적정 성장온도에 가까워질수록 적콜라비 중 *E. coli* strain RC-4-D 증식 속도가 빨라진다는 것을 의미한다.

유도기(Lag-phase duration)의 경우, 유도기 값이 도출되

지 않은 10°C를 제외하고, 15°C에서 25°C까지 온도가 증가할수록 유도기가 짧아지는 것을 확인하였다. *E. coli*는 일반적으로 10°C에서 49°C까지 넓은 범위의 생육온도를 가지며 (24), 7.5°C 이하의 저온이 되면 생장이 거의 이루어지지 않는 것으로 알려져 있다(25). 한편, 30°C에서는 20°C와 25°C에 비해 유도기가 길어지는 것을 확인하였다(Table 1). 이것은 30°C가 20°C와 25°C에 비해 *E. coli*의 성장에는 보다 유리한 온도이지만 적콜라비의 발아에는 불리한 온도이기 때문에 성장을 위한 유도기가 다소 길어지는 것으로 생각된다. 이를 뒷받침할 수 있는 것으로서 Tokumasu 등(26)은

Table 1. The mean values of three subsamples at each temperature after fitting the *Escherichia coli* strain RC-4-D growth data on red kohlrabi sprout to the Baranyi model

Temperatures (°C)	Kinetic growth parameters			
	Maximum growth rate (log CFU/h)	Lag-phase duration (h)	Initial bacterial population (X_0)	Maximum bacterial population (Y_{max})
10	0.01	-	4.08	-
15	0.29	7.38	4.40	6.88
20	0.28	1.32	4.52	7.66
25	0.55	1.22	4.30	7.80
30	0.87	2.20	4.25	8.02

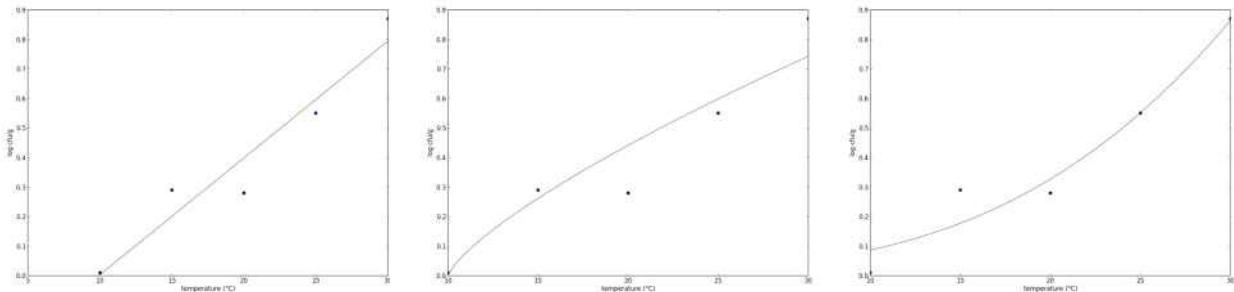


Fig. 2. Influence of temperature on the growth of *Escherichia coli* strain RC-4-D during red kohlrabi seed sprouting at selected temperatures
A, suboptimal Ratkowsky square-root model; B, suboptimal Huang square-root model; C, suboptimal Arrhenius-type model.

Table 2. Estimated values and performance of the secondary models for the maximum growth rate of *Escherichia coli* strain RC-4-D during red kohlrabi seed sprouting

Model	Parameter	Estimate	Standard-error	t-value	P-value	RMSE ¹⁾	A _t ²⁾	B _t ³⁾
Suboptimal Ratkowsky square-root model	a	0.04	0.006	6.27	8.206×10 ⁻³	0.100	1.255	0.999
	T _{min} (°C)	9.90	1.968	5.03	1.514×10 ⁻²			
Suboptimal Huang square-root model	A	0.08	0.009	8.58	3.334×10 ⁻³	0.123	1.223	1.075
	T _{min} (°C)	9.99	0.487	20.52	2.532×10 ⁻⁴			
Suboptimal Arrhenius-type model	A	0.05	0.496	0.11	9.255×10 ⁻¹	0.102	1.760	1.454
	alpha	8.32	22.550	0.37	7.476×10 ⁻¹			
	Ea	2865.61	2111.448	1.36	3.076×10 ⁻¹			

¹⁾Root mean square error.

²⁾Accuracy factor.

³⁾Bias factor.

25℃에 비해 35℃에서 콜라비의 발아율이 다소 감소되는 것을 확인한 바 있다. 최대생장률과 유도기 모두 온도에 따른 유의한 차이가 있는 것으로 나타났고, 적콜라비 중 *E. coli* strain RC-4-D의 생장이 온도에 큰 영향을 받는 것을 확인하였다. 이러한 결과를 적콜라비 중 *E. coli* strain RC-4-D 2차 생장예측모델 개발에 아래와 같이 이용하였다.

적콜라비 중 *E. coli* strain RC-4-D의 2차 생장예측 모델과 적합성 검정

Baranyi model을 이용한 1차 생장예측모델에서 도출된 온도별 최대생장률의 값을 이용해 Ratkowsky square-root, Huang square-root, Arrhenius-type models 등 3종류의 2차 생장예측모델 중 가장 적합한 모델 선별을 시도하였다. 각 모델별 2차 생장예측모델의 곡선은 Fig. 2와 같이 나타났으며 각 모델의 매개변수 값은 Table 2와 같이 산출되었다. 모델에서 도출된 값과 같이 적콜라비 중 *E. coli* strain RC-4-D의 밀도 증식의 이론적인 최저 온도는 suboptimal Ratkowsky square-root model에서는 9.899℃로 suboptimal Huang square-root model에서는 9.997℃로 예측되었다 (Table 2). 이는 10℃에서는 적콜라비 중 *E. coli* strain RC-4-D의 유의한 밀도 증식이 이루어지지 않은 1차 생장예측모델 검정 결과와 유사하게 예측되는 것으로 나타난다.

3종류의 2차 생장예측모델 중에서 온도가 적콜라비 중 *E. coli* strain RC-4-D의 생장에 미치는 영향을 가장 잘 설명하는 모델인지를 평가하기 위해서 각 모델의 RMSE(root mean square error), *A*(accuracy factor), *B*(bias factor) 값을 측정하였다. RMSE의 경우 관측값과 예측값의 차이로서 0에 가까울수록 적합한 모델로 평가되고 있는데(21), RMSE값이 suboptimal Ratkowsky square-root, suboptimal Huang square-root, suboptimal Arrhenius-type 모델에서 각각 0.100, 0.123, 0.102로 나타났다. RMSE값에서는 suboptimal Ratkowsky square-root 모델이 관측값과 예측값이 가장 근접한 것으로 나타났다(Table 2). *A*의 경우, suboptimal Ratkowsky square-root, suboptimal Huang square-root, suboptimal Arrhenius-type 모델에서 각각 1.255, 1.223, 1.760으로 나타났다. 이것은 세 가지 모델의 예측값이 관측값에 비해 각각 25.5%, 22.2%, 76.0% 다르다는 것을 의미한다. *A* 값에서는 suboptimal Huang square-root 모델의 예측값의 정확도가 가장 높고 그 다음으로 suboptimal Ratkowsky square-root 모델이 높은 것으로 나타났고 suboptimal Arrhenius-type 모델은 정확도가 가장 낮은 것으로 나타났다(Table 2). *B*는 suboptimal Ratkowsky square-root, suboptimal Huang square-root, suboptimal Arrhenius-type 모델에서 각각 0.999, 1.075, 1.454로 예측되었다. *B*는 0.9에서 1.05 사이의 값을 적합한 것으로 평가하므로(21) 본 연구에서는 suboptimal Ratkowsky square-root 모델이 적합한 것으로 평가된다. 종합적으로 본 연구에 사용된 suboptimal

Ratkowsky square-root, suboptimal Huang square-root, suboptimal Arrhenius-type의 3가지 모델 중 RMSE가 0.100, *A*가 1.255, *B*가 0.999인 suboptimal Ratkowsky square-root model이 적콜라비 중 *E. coli* strain RC-4-D의 생장을 예측할 수 있는 가장 적합한 모델인 것으로 평가된다.

현재까지 국내에서는 주로 가공식품 위주로 미생물 생장예측모델이 개발되었고 산업에 활용되어 왔다(27,28). 본 연구는 국내 새싹채소 재배용 종자에서 분리된 *E. coli* strain RC-4-D에 대한 생장예측모델 개발에 관한 것으로서 새싹채소의 재배과정 중 *E. coli*의 밀도 변화를 정량적으로 예측하고 위험성을 추정할 수 있는 기초자료로 활용될 것으로 판단된다. 또한 향후에도 지속적으로 농산물의 재배단계부터 유통, 소비단계까지 미생물의 밀도를 예측할 수 있는 기술 개발을 활발히 진행하여 안전한 농산물 및 가공식품의 원료가 공급되는데 활용해야 할 것으로 생각된다.

요 약

본 연구는 시중 유통되고 있는 새싹채소 재배용 적콜라비 종자에서 분리한 *E. coli* strain RC-4-D의 생장예측모델을 개발하기 위해 수행되었다. 각 온도조건(10, 15, 20, 25, 30℃) 별로 적콜라비 중 *E. coli* strain RC-4-D 밀도 변화를 조사하였고 Baranyi model을 1차 생장예측모델로 이용하였고 각 온도별로 최대생장률(μ_{max})과 10℃를 제외한 유도기(LPD) 값을 도출하였다. *E. coli* strain RC-4-D의 최대생장률에 대한 2차 생장예측모델로써 suboptimal Ratkowsky square-root, suboptimal Huang square-root, suboptimal Arrhenius-type 세 종류의 모델을 비교하였다. 모델 적합성 검정 결과, suboptimal Huang square-root 모델이 정확도가 가장 높고 suboptimal Ratkowsky square-root 모델이 편차가 가장 적은 것으로 나타났다. 종합적으로, RMSE가 0.100, *A*가 1.255, *B*가 0.999인 suboptimal Ratkowsky square-root 모델이 온도의 영향을 설명하는 가장 적합한 2차 생장예측 모델인 것으로 나타났다. 본 연구에서 개발한 모델은 적콜라비 새싹채소 생산에 있어서 *E. coli*의 생장을 예측하고 미생물 위해성평가를 수행하는데 활용될 것으로 기대된다.

References

1. Rickman JC, Bruhn CM, Barrett DM (2007) Nutritional comparison of fresh, frozen, and canned fruits and vegetables II. Vitamin A and carotenoids, vitamin E, minerals and fiber. *J Sci Food Agric*, 87, 1185-1196
2. Um YC, Jang YA, Yun HK, Seo MH, Lee HE, Lee JG (2013) Spouts and baby leaf. National Institute of

- Horticultural and Herbal Science, p 15
3. Park WT, Kim JK, Park S, Lee S-W, Li X, Kim YB, Uddin MR, Park NI, Kim S-J, Park SU (2012) Metabolic profiling of glucosinolates, anthocyanins, carotenoids, and other secondary metabolites in Kohlrabi (*Brassica oleracea* var. *gongylodes*). J Agric Food Chem, 60, 8111-8116
 4. Callejon RM, Rodriguez-Naranjo MI, Ubeda C, Hornedo-Ortega R, Garcia-Parrilla MC, Troncoso AM (2015) Reported foodborne outbreaks due to fresh produce in the United States and European Union: trends and causes. Foodborne pathog Dis, 12, 32-38
 5. Nsoesie EO, Gordon SA, Brownstein JS (2014) Online reports of foodborne illness capture foods implicated in official foodborne outbreak reports. Prev Med, 67, 264-269
 6. Centers for Disease Control and Prevention: Foodborne outbreak online database (FOOD Tool). <https://wwwn.cdc.gov/foodborneoutbreaks/>. (Accessed August 2014)
 7. Portnoy BL, Goepfert JM, Harmon SM (1976) An outbreak of *Bacillus cereus* food poisoning resulting from contaminated vegetable sprouts. Am J Epidemiol, 103, 589-594
 8. Buchholz U, Bernard H, Werber D, Bööhmer MM, Renschmidt C, Wilking H, Deléré Y, an der Heiden M, Adlhoch C, Dreesman J, Ehlers J, Ethelberg S, Faber M, Frank C, Fricke G, Greiner M, Höhle M, Ivarsson S, Jark U, Kirchner M, Koch J, Krause G, Lubber P, Rosner B, Stark K, Kühne M (2011) German Outbreak of *Escherichia coli* O104:H4 Associated with Sprouts. N Engl J Med, 365, 1763-1770
 9. CDC (2013) Outbreak of *Escherichia coli* O104:H4 infections associated with sprout consumption-Europe and North America, May-July 2011. MMWR Morb Mortal Wkly Rep, 62, 1029-1031
 10. NACMCF (1999) Microbiological safety evaluations and recommendations on sprouted seeds. Int J Food Microbiol, 52, 123-153
 11. Taormina PJ, Beuchat LR, Slutsker L (1999) Infections associated with eating seed sprouts: an international concern. Emerg Infect Dis, 5, 626-634
 12. Castro-Rosas J, Escartin EF (2000) Survival and growth of *Vibrio cholerae* O1, *Salmonella typhi*, and *Escherichia coli* O157: H7 in alfalfa sprouts. J Food Sci, 65, 162-165
 13. Ross T, McMeekin TA (2003) Modeling microbial growth within food safety risk assessments. Risk Anal, 23, 179-197
 14. Koseki S, Isobe S (2005) Prediction of pathogen growth on iceberg lettuce under real temperature history during distribution from farm to table. Int J Food Microbiol, 104, 239-248
 15. Baranyi J, Roberts TA (1995) Mathematics of predictive food microbiology. Int J Food Microbiol, 26, 199-218
 16. Danyluk MD, Friedrich LM, Schaffner DW (2014) Modeling the growth of *Listeria monocytogenes* on cut cantaloupe, honeydew and watermelon. Food Microbiol, 38, 52-55
 17. Franz E, Semenov AV, Van Bruggen AH (2008) Modelling the contamination of lettuce with *Escherichia coli* O157:H7 from manure-amended soil and the effect of intervention strategies. J Appl Microbiol, 105, 1569-1584
 18. Sant'Ana AS, Franco BD, Schaffner DW (2012) Modeling the growth rate and lag time of different strains of *Salmonella enterica* and *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat lettuce. Food Microbiol, 30, 267-273
 19. Baranyi J, Roberts TA (1995) Mathematics of predictive food microbiology. Int J Food Microbiol, 26, 199-218
 20. Huang L (2014) IPMP 2013--a comprehensive data analysis tool for predictive microbiology. Int J Food Microbiol, 171, 100-107
 21. Ross T (1996) Indices for performance evaluation of predictive models in food microbiology. J Appl Bacteriol, 81, 501-508
 22. Barret M, Briand M, Bonneau S, Préveaux A, Valière S, Bouchez O, Hunault G, Simoneau P, Jacques M-A (2015) Emergence Shapes the Structure of the Seed Microbiota. Appl Environ Microbiol, 81, 1257-1266
 23. Kim SA, Kim OM, Rhee MS (2013) 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
 24. Ingraham JL, and A. G. Marr (1965) Control of enzyme biosynthesis at temperatures near the minimum for growth of *E. coli*. Colloq Int CNRS, 124, 319-328
 25. Maxwell KS, Allen GM, John LI (1971) Determination of the minimal temperature for growth of *Escherichia coli*. J Bacteriol, 105, 683-684
 26. Tokumasu S, Kanada I, Kato M (1985) Germination Behaviour of Seeds as Affected by Different Temperatures in Some Species of *Brassica*. J Japan Soc Hort Sci, 54, 364-370

27. Son NR, Kim AN, Choi WS, Yoon SH, Suh SH, Joo IS, Kim SH, Kwak HS, Cho JI (2017) Development of a predictive model describing the growth of *Staphylococcus aureus* in processed meat product galbitang. *Korean J Food Sci Technol*, 49, 274-278
28. Hong CH, Sim WC, Chun SJ, Kim YS, Oh DH, Ha SD, Choi WS, Bahk GJ (2005) Predictive growth model of native isolated *Listeria monocytogenes* on raw pork as a function of temperature and time. *Korean J Food Sci Technol*, 37, 850-855