

## 위합성용액에서 과일주스에 노출한 Non-O157 Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli*의 산 저항성 평가

김광희 · 오덕환

강원대학교 식품생명공학과

### Acid Resistance of Non-O157 Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* Adapted in Fruit Juices in Simulated Gastric Fluid

Gwang-Hee Kim and Deog-Hwan Oh

Department of Food Science and Biotechnology, Kangwon National University

**ABSTRACT** The objectives of this study were I) to compare the acid resistance (AR) of seven non-O157 Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) serogroups, including O26, O45, O103, O111, O121, O145, and O157:H7 STEC isolated from various sources, in 400 mM acetic acid solution (AAS) at pH 3.2 and 30°C for 25 min with or without glutamic acid and II) to determine strain survival upon exposure to simulated gastric fluid (SGF, pH 1.5) at 37°C for 2 h after acid adaptation in apple, pineapple, orange, and strawberry juices at pH 3.8, 4°C and 20°C. Results show that the O111 serogroup strains had the strongest AR (0.12 log reduction CFU/mL) which was very similar to that of O157:H7 STEC ( $P>0.05$ ), compared to other serogroups in AAS without glutamic acid, whereas O26 serogroup strains showed the most sensitive AR. However, there was no significant ( $P>0.05$ ) difference of AR among seven serogroups in AAS with glutamic acid. In the SGF study, 05-6545 (O45:H2), 08023 (O121:H19), and 03-4669 (O145:NM) strains adapted in fruit juices at 4°C and 20°C displayed enhanced survival with exposure to SGF for 60 min compared to 06E0218 (O157:H7) strains ( $P<0.05$ ). In addition, 4 STEC strains adapted in pineapple juice at 4°C showed enhanced survival with exposure to SGF for 60 min compared to those strains acid-adapted in the other fruit juices. Generally, adaptation at 4°C in fruit juices resulted in significantly enhanced survival levels compared to acid-adapted at 20°C and non-adapted conditions. The AR caused by adaptation in fruit juices at low temperature may thus increase survival of non-O157 STEC strain in acidic environments such as the gastrointestinal tract. These results suggest that more careful strategies should be provided to protect against risk of foodborne illness by non-O157 STEC.

**Key words:** acid resistance, Shiga toxin-producing *Escherichia coli* non-O157, simulated gastric fluid, glutamic acid, fruit juices

## 서 론

과일주스는 향과 신선함을 유지하기 위해 미생물을 사멸하거나 효소를 불활성화시키는 가공공정이 없어 위해 미생물에 의한 오염이 쉽게 야기될 수 있다. 여러 과일주스는 과일 속에 내재하여 있는 유기산들에 의해 대부분 pH가 낮아 크게 위험성을 인식하지 못하였으나(1) 저온 또는 비살균 과일주스에서 *Escherichia coli* O157:H7 또는 *Salmonella*의 검출률이 급증하면서(2,3) 식중독 발병의 문제점이 보고되고 있다.

지난 연구에 의하면 1993년 비 살균된 apple cider에 의

한 식중독 사건의 원인균은 *E. coli* O157:H7이었으며 hemolytic uremic syndrome 증상을 야기하였다(4). 1996년 *E. coli* O157:H7에 오염된 사과주스를 섭취한 환자 53명 중에서 1명이 사망하였다(3). 2004년에도 사과주스에서 Shiga toxin-producing *E. coli*(STEC) O111 혈청형이 검출되면서 213건의 식중독 사건이 발생했고(5), non-O157 serotype에 의한 식중독 발병 건수가 증가하였다(6-9).

주로 식중독의 원인이 되었던 주스는 사과주스, 오렌지주스, 파인애플주스였다. 딸기주스 또한 단순한 세척만으로 표면에 부착된 병원성 미생물을 제거하기 어렵다는 Kundsen 등(10)과 Yu 등(11)의 연구로 미루어보아 식중독 발생 가능성이 제기되었다. 따라서 과일주스에 의한 식중독을 예방할 수 있는 제도의 도입이 요구되고 있으며 이러한 시대적 요구에 따라 미국에서는 2002년 1월부터 주스 산업에 의무적으로 위해요소중점관리제도(Hazard Analysis Critical Con-

Received 23 December 2015; Accepted 17 February 2016

Corresponding author: Deog-Hwan Oh, Department of Food Science and Biotechnology, Kangwon National University, Chuncheon, Gangwon-do 24341, Korea

E-mail: deoghwa@kangwon.ac.kr, Phone: +82-33-250-6457

trol Point)의 도입을 법으로 규정해 놓고 있다(12).

미국 Food and Drug Administration에서는 *Listeria monocytogenes*가 과일주스 제조 과정 중 pH에 저항성을 나타내었고(12), pH 4.1의 토마토 주스에서 냉장보관 되어 15일간 생존하였다고 보고하였으며(13), *Salmonella*도 pH 3.3~4.1에서 생존력을 나타내었다(14,15). 문제는 이러한 식중독 유발 균주가 냉장보관 된 주스에서 얼마나 그 병원성을 유지하며 생존할 수 있는지를 확인하는 일이다. Oyarzabal 등(16)은 오렌지, 사과, 파인애플 및 백포도에서 *E. coli* O157:H7이 -23°C에서 12주 동안 생존할 수 있음을 보고하였고, 산 적응된 *E. coli* O157:H7을 망고주스에 노출시켰을 경우 산에 적응되지 않은 조건보다 생존능력이 증가하였다(17). 따라서 낮은 온도와 산 적응력은 과일주스에 의한 식중독 사건을 예방할 수 있는 중요한 관리점이 될 수 있다.

사람의 위장관은 섭취되는 식품에 존재하는 병원성 미생물을 사멸시키는 첫 번째 방어기작으로 작용하지만, 주스와 같은 액체 식품을 섭취하게 되면 순간적으로 pH는 높아지고 빨리 위장관을 통과하게 된다(18). *E. coli* O157:H7은 pH 3.0, 37°C의 조건에서도 최소 4시간 이상 생존이 가능하며 pH 1.5의 위액의 조건에서도 생존할 수 있는 강한 산 저항성의 특징은 낮은 infectious dose를 야기한다(19,20). 산 저항성에 대한 기존의 연구에서는 대부분 *E. coli* O157:H7을 중심으로 보고되었으며 최근에는 non-O157 대장균 혈청형에 의한 식중독 발병 건수가 증가하고 있으나 이 균들의 산 저항성에 대한 연구는 매우 미흡한 실정이다(21,22).

따라서 본 연구에서는 식품에서 미생물 억제제로 사용되는 초산을 사용하여 만든 혼합용액(AAS: acetic acid solution)에 각 non-O157 STEC 균주를 노출시킨 후 산 저항성을 확인하였다. 또한, 사과주스, 파인애플주스, 오렌지주스, 딸기주스 등 과일주스에서 산 적응시킨 후 위험성용액(SGF: simulated gastric fluid)에 노출시켜 위장관 내에서의 생존능력을 조사하였다.

## 재료 및 방법

### 균주 및 배양

본 연구에 사용한 균주는 미국 USDA ARS의 Eastern Regional Research Center에서 분양받아 사용하였다(Table 1). 초저온냉동고(-80°C)에 보관된 균주를 1%의 D-glucose(Daejung Chemical, Daejeon, Korea)가 첨가된 tryptic soy broth(TSB; BD Bioscience, San Jose, CA, USA)에 2회 배양한 균주를 원심분리 하여 침전시킨 후 pellet을 0.85% 멸균 생리식염수로 2회 세척한 후 사용하였다.

### 과일주스 준비

시료로 사용된 과일주스는 춘천시 대형마트에서 판매되고 있는 신선한 사과, 파인애플, 오렌지, 딸기를 직접 구매하여 껍질을 제거, 절단 및 분쇄한 후 Whatman No. 1 여과지

(Whatman International Ltd., Brentford, Middlesex, UK)로 여과하였다. 액상 과즙을 4°C에서 10,000×g로 10분간 원심분리 하여 상층액을 여과 멸균하였고, 제조된 모든 과일주스는 pH 3.8로 조절하여 시료로 사용하였다.

### 초산혼합용액(AAS)에서 STEC의 생존력 측정

Breidt 등(23)과 Oh 등(24)의 방법에 따라 400 mM acetic acid(Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA)와 20 mM gluconic acid(Sigma-Aldrich Co.)가 함유된 AAS(pH 3.2)와 2 mM glutamic acid(Sigma-Aldrich Co.)가 추가로 첨가된 AAS+G를 제조하였다. 12-well tissue culture plate (non-tissue culture-treated flat-bottom plate, catalog no.32024; SPL Life Science, Pocheon, Korea)를 사용하여 0.2 mL의 STEC 배양액을 1.8 mL의 AAS와 AAS+G에 각각 넣어 30°C에서 25분간 노출한 후 생존력을 측정하였다. 균수 측정은 각 STEC가 접종된 AAS와 AAS+G를 0.85% 멸균 식염수가 첨가된 0.1 M 3-(N-morpholino)-propane sulfonic acid(MOPS) buffer(pH 7.2; Sigma-Aldrich Co.)에 넣어 중화시킨 후 멸균 식염수에 넣어 10단계 희석하였다. 희석된 균주는 1% glucose가 첨가된 tryptic soy agar(TSA, BD Bioscience)에 분주한 후 도말하여 37°C에서 24시간 배양한 다음 형성된 colony 수를 계측하였다.

### 위험성용액(SGF) 제조

SGF의 제조는 Beumer 등(25)의 방법을 참조하였으며, 1 L 멸균증류수에 8.3 g proteose-peptone(Difco, Detroit, MI, USA), 3.5 g D-glucose, 2.05 g NaCl(Sigma-Aldrich Co.), 0.6 g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>(Sigma-Aldrich Co.), 0.11 CaCl<sub>2</sub>(Sigma-Aldrich Co.), 0.37 g KCl(Sigma-Aldrich Co.), 13.3 mg pepsin(Sigma-Aldrich Co.), 0.05 g bovine bile(Sigma-Aldrich Co.), 0.1 g lysozyme(Sigma-Aldrich Co.)을 첨가한 후 1 M HCl(Sigma-Aldrich Co.)을 사용하여 최종 pH를 1.5로 제조하였다. Lysozyme과 pepsin은 멸균 여과하여 첨가하였고, 제조된 SGF는 4°C에 보관하여 7일 이내에 사용하였다.

### 과일주스에 산 적응 후 SGF에서의 생존력 측정

AAS에서 강한 산 저항성을 보이는 4종류의 non-O157 STEC 균주를 선별하여 사과주스, 파인애플주스, 오렌지주스, 딸기주스에 접종한 후 4°C와 20°C, 대조구로 phosphate buffered saline(PBS, pH 7.0; Daejung Chemical)을 4°C에서 각 24시간 동안 노출시킨 후 사람 위액에서의 생존력을 시뮬레이션하기 위하여 pH 1.5로 조정된 SGF에 37°C에서 2시간 동안 non-O157:H7 STEC의 생존력을 측정하였다. 노출된 non-O157:H7 STEC는 MOPS buffer에 넣어 중화시킨 후 멸균 식염수에 넣어 10단계 희석하였다. 각 희석 균주는 1% glucose가 첨가된 TSA에 분주 및 도말하여 37°C에서 24시간 배양한 다음 형성된 colony 수를

**Table 1.** STEC strains and survival in 400 mM acetic acid solution (pH 3.2 at 30°C for 25 min)

Strains	Serotype	Source (reference)	Reduction in log CFU/mL	
			Without G/A <sup>1)</sup>	With G/A
06E0218	O157:H7	Patient stool associated shredded lettuce	0.02±0.14	0.05±0.02
05-6544	O26:H11	Human	1.31±0.13*	0.03±0.02
00971	O26:H11	Human diarrhea	1.50±0.31*	0.04±0.02
96-3285	O45:H2	Human stool	1.55±0.20*	0.03±0.03
05-6545	O45:H2	Human	0.14±0.12	0.03±0.03
RM9408	O45:H16	Cattle	1.23±0.11*	0.02±0.02
04-2446	O103:H2	Human	1.14±0.20*	0.01±0.01
96-1113	O103:H25	Human	1.29±0.04*	0.03±0.01
04-3973	O103:H11	Human	1.45±0.17*	0.01±0.01
01387	O111:H8	Human	0.28±0.21	0.04±0.01
00-4748	O111:NM	Human	0.06±0.05	0.02±0.02
RM9907	O111:H8	Feral pig	0.01±0.01	0.02±0.01
08023	O121:H19	Human	0.37±0.12*	0.02±0.01
03-2832	O121:H19	Human	0.03±0.03	0.03±0.02
RM10046	O121:H19	Cattle	0.10±0.02	0.01±0.02
07865	O145:H28	Cow diarrhea	1.51±0.18*	0.05±0.00
03-4669	O145:NM	Human	0.14±0.12	0.03±0.01
RM12238	O145:NM	Human, romaine lettuce outbreak	0.34±0.13*	0.01±0.01

<sup>1)</sup>G/A: glutamic acid.

\*Significantly different values for log CFU/mL compared to 06E0218 (O157:H7) at  $P < 0.05$ .

계측하였다.

### 통계분석

모든 실험은 총 3회에 걸쳐 측정하였고, 실험 결과는 평균 값±표준편차로 나타내었다. 실험 결과의 유의성 검정을 위하여 SPSS version 18.0(SPSS Inc., Chicago, IL, USA)의 ANOVA 분산법으로 처리한 후 Tukey 법으로 사후 검증하였다. 모든 통계처리의 유의성은  $P < 0.05$  수준에서 처리하였다.

## 결과 및 고찰

### AAS에서 STEC의 산 저항성

일반적으로 피클 산업에서는 미생물 저해제로 초산(pH 3.2~4.1)을 많이 이용하는데 최근에는 *E. coli* O157:H7 균이 초산에 강한 산 저항성을 나타낸다고 보고되었다(23). 따라서 본 연구에서는 400 mM 농도의 초산에 대한 non-O157 STEC의 산 저항성을 측정하였고, 피클에 사용되는 glutamic acid가 초산 살균효능에 미치는 영향을 조사하였다(23,26,27).

Table 1은 non-O157 STEC를 400 mM 농도의 AAS와 AAS+G에 25분간 노출한 후 초산에 대한 산 저항성을 나타낸 결과이다. AAS에 노출된 non-O157 STEC의 산 저항성은 O111, O121, O145, O45, O103, O26의 순서로 각 평균 0.12, 0.17, 0.66, 0.97, 1.29, 1.41 log CFU/mL의 감소를 나타내었다. 특히 O111 혈청형 균주들은 다른 혈청형 균주에 비하여 가장 강한 산 저항성을 나타내었으며 O157:H7 STEC와 비교하여 유의적인 차이를 보이지 않았다( $P > 0.05$ ).

반면에 O26 혈청형 균주들은 다른 혈청형 균주보다 AAS에 민감성이 가장 높은 것으로 나타났다. 본 결과는 Kalchayanand 등(28)이 O26, O45, O103, O121, O145의 non-O157 STEC를 200 ppm의 peroxyacetic acid에 처리했을 경우 균주별로 약간의 차이가 있지만, 평균 0.9~1.5 log CFU/mL의 감소 효과를 나타내었다는 보고와 매우 유사한 경향을 나타내었다. 반면에 본 연구 결과에서는 O111 혈청형 균주들이 초산에 강한 산 저항성을 나타내었으나 Buchanan과 Edelson(29)은 *E. coli* O111:K58:H- 균을 2.5% 초산(pH 5.1, 30°C)에 노출했을 때 다른 혈청형보다 매우 약한 산 저항성을 나타내었다는 상반된 결과를 보고하였다. 이러한 결과에 대하여 Comi 등(30)은 서로 다른 조건의 유기산 성분, 저장온도, 균주, 식품제조공정뿐만 아니라 다양한 STEC의 혈청형 등 연구를 수행한 조건들이 너무 다르기 때문에 이러한 연구 결과를 직접 비교한다는 것은 다소 무리가 있을 수 있다고 보고하였다.

한편, AAS+G에 non-O157 혈청형 균주들을 노출시켰을 경우 혈청형의 종류와 상관없이 초산에 매우 강한 저항성을 나타내었으며 모든 STEC 균주 간의 유의적 차이는 보이지 않았다( $P > 0.05$ ). 이러한 결과는 Oh 등(24)이 식품, 분변, 환경, 사람 등에서 분리한 *E. coli* O157:H7을 AAS+G에 노출했을 때 분리원과 상관없이 AAS에 노출했을 때와 비교하여 모두 강한 산 저항성을 나타내었다는 보고와 일치하였다. 피클, 소시지, 애플사이다와 같은 식품에 glutamic acid를 첨가 시 병원성 대장균의 산 저항성이 증가하여 저장시간 동안 생존이 증가한다고 보고되었고, 초산이 첨가된 피클에서 glutamic acid의 존재는 *E. coli* O157:H7의 산 저항성을 증가시키는 것으로 나타났다(23,31). Glutamic acid의 첨가

는 glutamate의 decarboxylation 반응으로 glutamate-decarboxylase 산 저항성 시스템이 작용하여 산 저항성을 증가시키게 된다(32,33). 이러한 산 저항성 기작은 decarboxylase와 end-product antiporter로 이루어져 있으며 낮은 pH 조건에서 노출이 되면 세포 내부의 pH가 낮아져 식품 속에 존재하는 glutamic acid는 antiporter에 의해 세포 내로 들어오게 되고 양성자 흡수와 함께 decarboxylation 된다. 이때 생성된 물질은 다시 antiporter에 의해 세포 외부로 이동하게 되고 세포 내부의 pH는 4.5에서 5.0으로 유지하게 되어 생존이 가능하다(34,35). 따라서 본 연구 결과에서도 이러한 산 저항성 기작에 의해 glutamic acid를 첨가 시 STEC의 혈청형과 관련 없이 모두 강한 산 저항성을 나타내는 것으로 판단된다. 그러나 glutamate-decarboxylase 산 저항성 작용이 결여된 *E. coli* O157:H7이 보고되었고(24,36), 94-0962(O26:H11), 85.0953(O45:H2), 2009EL-2071(O104:H4)은 AAS+G에서도 산 저항성이 낮았다(37). 따라서 지금까지 *E. coli* O157:H7에 관한 산 저항성 연구는 많이 진행되어 있지만 최근 발병 건수가 많이 보고되고 있는 non-O157 STEC의 산 저항성 연구는 매우 부족한 상태이므로 앞으로 많은 연구가 수행되어야 할 것으로 판단된다(6-8).

### STEC의 과일주스 노출 후 SGF에서 생존능력

Vojdani 등(5)은 1995~2005년 미국에서 발생한 과일주스 관련 식중독 사건을 분석한 결과, 사과주스 및 애플사이다, 오렌지주스, 파인애플주스에서 *E. coli* O157:H7과 관련된 식중독 발생이 가장 많았다고 보고하였다. 딸기주스는 단순한 세척만으로 표면에 부착된 병원성 미생물을 제거하기 어렵다는 연구 결과(4,5)를 바탕으로 식중독 사건이 우려될 수 있으므로 본 연구에서는 상기의 과일주스를 연구 시료로 선정하였다. 또한, 일반적으로 시중에서 판매되는 과일주스는 대부분 4°C에 보관하거나 섭취 후 상온(20°C)에(2) 노

출되기 때문에 본 연구에서는 이러한 상황을 고려하여 산 적응 온도를 선택하였다. STEC에 오염된 과일주스를 섭취하였을 때 위액에서 non-O157:H7 STEC의 생존력을 분석하기 위하여 SGF의 조성을 실제와 유사한 조건으로 설정하였고, 37°C에서 최대 2시간까지 생존 변화를 평가하였다(25). 최근에 농산물에서 non-O157 혈청형으로 인한 식중독 발병이 증가하기 때문에(9) non-O157 혈청형 균에 대한 산 저항성 연구 및 SGF 시뮬레이션은 비가열 즉석섭취 과채류의 미생물학적 안전성 확보에 도움이 될 것으로 판단된다.

강한 산 저항성을 보이는 STEC 중 혈청형의 종류에 따른 생존능력을 조사하기 위하여 AAS에서의 산 저항성을 바탕으로 06E0218(O157:H7), 05-6545(O45:H2), 08023(O121:H19), 03-4669(O145:NM)의 4균주를 선별하였다. 선별된 각 STEC는 사과주스, 파인애플주스, 오렌지주스, 딸기주스에 접종하여 4°C와 20°C에서 24시간 노출시킨 후 생존능력을 조사하였으며 대조구로는 PBS(pH 7.0)를 4°C에 배양하여 사용하였다. 각 과일주스에 산 적응된 STEC를 pH 1.5로 조정된 SGF에 2시간 노출시킨 후 생존능력을 측정된 결과는 Table 2~5와 같다.

Table 2의 결과 사과주스에서 산 적응된 non-O157:H7 STEC 중 O145:NM균을 제외하고는 모두 대조구인 PBS보다 SGF에 대한 저항성이 유의적으로 증가하였다( $P<0.05$ ). 4°C와 20°C의 사과주스에서 산 적응된 06E0218(O157:H7)은 SGF에 60분 동안 노출 시 모두 사멸하여 생존능력의 유의적 차이가 없었으나( $P>0.05$ ), 4°C에서 산 적응된 08023(O121:H19)과 03-4669(O145:NM)는 20°C에 산 적응된 경우에 비교하여 SGF에 대한 생존능력이 유의적으로 증가하였다( $P<0.05$ ). 반면, 4°C와 20°C에 산 적응된 05-6545(O45:H2)는 SGF에 60분 이상 노출되었을 때 저장온도에 따른 생존능력의 유의적 차이는 없었다( $P>0.05$ ). 파인애플주스의 경우(Table 3), 사과주스에서 나타난 결과와 매우 유사한 경향을 나타냈으나 06E0218(O157:H7)과 3균주의

**Table 2.** Survival of STEC strains adapted-apple juice (AJ) at pH 3.8 for 24 h with exposure to simulated gastric fluid at pH 1.5

Strain (serotype)	Adapted/temp.	Average microbial count (CFU/mL)				
		0 min	30 min	60 min	90 min	120 min
06E0218 (O157:H7)	PBS/4	4.85±0.04 <sup>1)</sup>	2.60±0.23 <sup>2)</sup>	<1 <sup>3)</sup>	<1	<1
	AJ/4	4.95±0.01	2.78±0.13 <sup>a</sup>	<1	<1	<1
	AJ/20	4.88±0.06	2.98±0.04 <sup>b</sup>	<1	<1	<1
05-6545 (O45:H2)	PBS/4	5.04±0.03	3.53±0.18 <sup>a</sup>	<1 <sup>a</sup>	<1 <sup>a</sup>	<1
	AJ/4	4.94±0.07	4.30±0.06 <sup>b</sup>	3.34±0.10 <sup>b</sup>	1.98±0.10 <sup>b</sup>	<1
	AJ/20	4.80±0.04	4.53±0.02 <sup>c</sup>	3.66±0.21 <sup>b</sup>	1.92±0.13 <sup>b</sup>	<1
08023 (O121:H19)	PBS/4	4.97±0.07	<1 <sup>a</sup>	<1 <sup>a</sup>	<1	<1
	AJ/4	4.80±0.14	3.69±0.14 <sup>c</sup>	1.91±0.21 <sup>b</sup>	<1	<1
	AJ/20	4.49±0.10	2.66±0.26 <sup>b</sup>	<1 <sup>a</sup>	<1	<1
03-4669 (O145:NM)	PBS/4	4.99±0.11	4.30±0.06 <sup>b</sup>	2.10±0.14 <sup>a</sup>	<1 <sup>a</sup>	<1
	AJ/4	4.86±0.08	4.28±0.03 <sup>b</sup>	3.44±0.07 <sup>c</sup>	2.36±0.07 <sup>b</sup>	<1
	AJ/20	4.78±0.08	4.04±0.06 <sup>a</sup>	3.07±0.09 <sup>b</sup>	<1 <sup>a</sup>	<1

<sup>1)</sup>The experiments were repeated three times, and data are expressed as mean±standard deviation.

<sup>2)</sup>Within the same column, means with different letters (a-c) for each strains are significantly different ( $P<0.05$ ).

<sup>3)</sup><1 log CFU/mL (below detection limit).

**Table 3.** Survival of STEC strains adapted-pineapple juice (PJ) at pH 3.8 for 24 h with exposure to simulated gastric fluid at pH 1.5

Strain (serotype)	Adapted/temp.	Average microbial count (CFU/mL)				
		0 min	30 min	60 min	90 min	120 min
06E0218 (O157:H7)	PBS/4	4.85±0.04 <sup>1)</sup>	2.60±0.23 <sup>a2)</sup>	<1 <sup>a</sup>	<1 <sup>3)</sup>	<1
	PJ/4	5.00±0.03	4.38±0.06 <sup>c</sup>	2.99±0.03 <sup>b</sup>	<1	<1
	PJ/20	4.96±0.08	3.43±0.14 <sup>b</sup>	<1 <sup>a</sup>	<1	<1
05-6545 (O45:H2)	PBS/4	5.04±0.03	3.53±0.18 <sup>a</sup>	<1 <sup>a</sup>	<1 <sup>a</sup>	<1 <sup>a</sup>
	PJ/4	4.98±0.03	4.84±0.04 <sup>b</sup>	4.44±0.03 <sup>c</sup>	3.86±0.07 <sup>c</sup>	3.17±0.02 <sup>c</sup>
	PJ/20	5.03±0.07	4.79±0.07 <sup>b</sup>	3.96±0.08 <sup>b</sup>	2.92±0.05 <sup>b</sup>	2.08±0.03 <sup>b</sup>
08023 (O121:H19)	PBS/4	4.97±0.07	<1 <sup>a</sup>	<1 <sup>a</sup>	<1 <sup>a</sup>	<1 <sup>a</sup>
	PJ/4	4.96±0.11	4.89±0.05 <sup>c</sup>	3.93±0.02 <sup>c</sup>	2.85±0.16 <sup>b</sup>	1.46±0.12 <sup>b</sup>
	PJ/20	4.98±0.06	4.29±0.04 <sup>b</sup>	2.50±0.14 <sup>b</sup>	<1 <sup>a</sup>	<1 <sup>a</sup>
03-4669 (O145:NM)	PBS/4	4.99±0.11	4.30±0.06 <sup>a</sup>	2.10±0.14 <sup>a</sup>	<1 <sup>a</sup>	<1 <sup>a</sup>
	PJ/4	4.86±0.04	4.86±0.03 <sup>c</sup>	4.73±0.09 <sup>c</sup>	4.35±0.02 <sup>c</sup>	3.85±0.07 <sup>c</sup>
	PJ/20	4.90±0.07	4.74±0.04 <sup>b</sup>	4.26±0.03 <sup>b</sup>	3.60±0.05 <sup>b</sup>	2.76±0.02 <sup>b</sup>

<sup>1)</sup>The experiments were repeated three times, and data are expressed as mean±standard deviation.

<sup>2)</sup>Within the same column, means with different letters (a-c) for each strains are significantly different ( $P<0.05$ ).

<sup>3)</sup><1 log CFU/mL (below detection limit).

**Table 4.** Survival of STEC strains adapted-orange juice (OJ) at pH 3.8 for 24 h with exposure to simulated gastric fluid at pH 1.5

Strain (serotype)	Adapted/temp.	Average microbial count (CFU/mL)				
		0 min	30 min	60 min	90 min	120 min
06E0218 (O157:H7)	PBS/4	4.85±0.04 <sup>1)</sup>	2.60±0.23 <sup>a2)</sup>	<1 <sup>3)</sup>	<1	<1
	OJ/4	5.05±0.04	3.57±0.11 <sup>c</sup>	<1	<1	<1
	OJ/20	5.02±0.11	3.18±0.16 <sup>b</sup>	<1	<1	<1
05-6545 (O45:H2)	PBS/4	5.04±0.03	3.53±0.18 <sup>a</sup>	<1 <sup>a</sup>	<1 <sup>a</sup>	<1 <sup>a</sup>
	OJ/4	5.05±0.04	4.86±0.07 <sup>b</sup>	4.32±0.04 <sup>c</sup>	3.47±0.04 <sup>c</sup>	2.73±0.13 <sup>b</sup>
	OJ/20	5.00±0.07	4.74±0.04 <sup>b</sup>	3.93±0.08 <sup>b</sup>	2.44±0.08 <sup>b</sup>	<1 <sup>a</sup>
08023 (O121:H19)	PBS/4	4.97±0.07	<1 <sup>a</sup>	<1 <sup>a</sup>	<1 <sup>a</sup>	<1
	OJ/4	5.02±0.05	4.48±0.04 <sup>b</sup>	3.12±0.12 <sup>b</sup>	<1 <sup>a</sup>	<1
	OJ/20	5.08±0.09	4.48±0.04 <sup>b</sup>	3.37±0.09 <sup>c</sup>	1.59±0.21 <sup>b</sup>	<1
03-4669 (O145:NM)	PBS/4	4.99±0.11	4.30±0.06 <sup>a</sup>	2.10±0.14 <sup>a</sup>	<1 <sup>a</sup>	<1 <sup>a</sup>
	OJ/4	4.97±0.15	4.89±0.03 <sup>b</sup>	4.69±0.04 <sup>c</sup>	4.23±0.03 <sup>c</sup>	3.59±0.01 <sup>c</sup>
	OJ/20	4.86±0.03	4.61±0.04 <sup>b</sup>	4.16±0.03 <sup>b</sup>	3.51±0.04 <sup>b</sup>	2.52±0.05 <sup>b</sup>

<sup>1)</sup>The experiments were repeated three times, and data are expressed as mean±standard deviation.

<sup>2)</sup>Within the same column, means with different letters (a-c) for each strains are significantly different ( $P<0.05$ ).

<sup>3)</sup><1 log CFU/mL (below detection limit).

non-O157:H7 STEC 모두 사과주스보다 SGF에 저항성이 높은 것으로 나타났다( $P<0.05$ ). SGF에서 90분간 노출 시 06E0218(O157:H7)은 완전히 사멸하였으나 4°C에 산 적응된 non-O157 혈청형의 05-6545(O45:H2), 08023(O121:H19), 03-4669(O145:NM)는 2시간 노출에도 각각 3.17, 1.46, 3.85 log CFU/mL의 강한 생존능력을 나타냈다. 오렌지주스의 경우도 사과주스와 파인애플주스의 결과와 유사한 경향을 나타냈다(Table 4). 3균주 non-O157:H7 STEC는 사과주스보다 SGF에 저항성이 강하였으나 파인애플주스보다는 약한 것으로 나타났다( $P<0.05$ ). 파인애플주스와 마찬가지로 03-4669(O145:NM)가 06E0218(O157:H7), 05-6545(O45:H2), 08023(O121:H19)에 비하여 SGF에 대한 저항성이 가장 높았다. 반면, 20°C에 산 적응된 08023(O121:H19)은 SGF에 90분 동안 노출했을 경우 1.59 log

CFU/mL의 생존능력을 보여 4°C에 산 적응되었을 때보다 높은 저항성을 나타냈다( $P<0.05$ ). 딸기주스는 파인애플주스에서 나타난 결과와 매우 유사한 경향을 나타냈으며 사과주스나 오렌지주스에 산 적응되었을 때보다 SGF에 대한 저항성이 훨씬 강한 것으로 나타났다(Table 5). 특히, 05-6545(O45:H2)와 03-4669(O145:NM) 균은 파인애플주스나 딸기주스에 산 적응되었을 때 사과주스나 오렌지주스에 산 적응된 경우보다 현저하게 SGF에 대한 저항성이 증가하였다. 모든 과일주스에서 산 저항성 결과를 분석한 결과, 4°C의 파인애플 주스에 산 적응시켰을 때를 제외하고 과일주스에서 산 적응된 06E 0218(O157:H7)이 SGF에서 60분 이상 노출되면 적응된 온도와 관계없이 모두 사멸하여 실험균주로 사용된 균 중 산 적응능력 및 SGF 생존능력이 낮았다. Non-O157 STEC는 03-4669(O145:NM), 05-6545

**Table 5.** Survival of STEC strains adapted-strawberry juice (SJ) at pH 3.8 for 24 h with exposure to simulated gastric fluid at pH 1.5

Strain (serotype)	Adapted/temp.	Average microbial count (CFU/mL)				
		0 min	30 min	60 min	90 min	120 min
06E0218 (O157:H7)	PBS/4	4.85±0.04 <sup>1)</sup>	2.60±0.23 <sup>2)</sup>	<1 <sup>a</sup>	<1 <sup>3)</sup>	<1
	SJ/4	4.88±0.02	3.84±0.17 <sup>b</sup>	2.17±0.04 <sup>b</sup>	<1	<1
	SJ/20	4.97±0.05	4.50±0.03 <sup>c</sup>	2.93±0.10 <sup>c</sup>	<1	<1
05-6545 (O45:H2)	PBS/4	5.04±0.03	3.53±0.18 <sup>a</sup>	<1 <sup>a</sup>	<1 <sup>a</sup>	<1 <sup>a</sup>
	SJ/4	4.91±0.06	4.83±0.08 <sup>b</sup>	4.16±0.00 <sup>c</sup>	3.09±0.10 <sup>c</sup>	2.08±0.17 <sup>b</sup>
	SJ/20	4.89±0.06	4.71±0.01 <sup>b</sup>	3.34±0.11 <sup>b</sup>	1.70±0.00 <sup>b</sup>	<1 <sup>a</sup>
08023 (O121:H19)	PBS/4	4.97±0.07	<1 <sup>a</sup>	<1 <sup>a</sup>	<1 <sup>a</sup>	<1 <sup>a</sup>
	SJ/4	4.88±0.03	4.55±0.08 <sup>b</sup>	3.79±0.07 <sup>b</sup>	2.58±0.12 <sup>c</sup>	1.40±0.14 <sup>b</sup>
	SJ/20	4.95±0.07	4.55±0.01 <sup>b</sup>	3.70±0.10 <sup>b</sup>	1.83±0.10 <sup>b</sup>	<1 <sup>a</sup>
03-4669 (O145:NM)	PBS/4	4.99±0.11	4.30±0.06 <sup>a</sup>	2.10±0.14 <sup>a</sup>	<1 <sup>a</sup>	<1 <sup>a</sup>
	SJ/4	4.86±0.15	4.76±0.05 <sup>b</sup>	4.57±0.07 <sup>c</sup>	4.18±0.01 <sup>c</sup>	3.43±0.04 <sup>c</sup>
	SJ/20	4.74±0.08	4.69±0.03 <sup>b</sup>	4.25±0.15 <sup>b</sup>	3.56±0.01 <sup>b</sup>	2.70±0.05 <sup>b</sup>

<sup>1)</sup>The experiments were repeated three times, and data are expressed as mean±standard deviation.

<sup>2)</sup>Within the same column, means with different letters (a-c) for each strains are significantly different ( $P<0.05$ ).

<sup>3)</sup><1 log CFU/mL (below detection limit).

(O45:H2), 08023(O121:H19) 순으로 강한 저항성을 나타내었다.

본 연구 결과 균주별로 약간의 차이가 있지만 non-O157 혈청형 균주들은 파인애플, 딸기, 오렌지, 사과주스 순서로 높은 산 적응능력을 나타냈다. 과일주스에 포함된 많은 성분 중에 유기산은 미생물의 오염을 억제할 수 있는 기능을 한다. 각 과일에 포함된 유기산의 종류와 함량은 서로 다르며 그 차이에 따라 미생물을 억제하는 수준도 다르다(2). 사과주스는 malic acid, 오렌지주스는 citric acid가 주성분이며 서로 다른 유기산에 따라 산 적응능력도 다르게 나타난다. 같은 pH에서 다른 산 적응능력을 나타내는 원인은 각 유기산의 undissociated molecules의 양이 서로 다르며 lactic acid의 경우는 다른 유기산들보다 적은 양이 생성된다. 같은 pH의 acetic acid, citric acid, lactic acid에 *E. coli* O157:H7을 산 적응시킨 후 SGF에 노출했을 때 서로 다른 생존능력을 보였다(38), lactic acid는 malic acid와 citric acid보다 높은 미생물 억제 효과를 나타냈다(39). 본 연구에서도 같은 조건에서 산 적응되었지만 각각의 과일주스에 함유된 유기산의 종류에 따라 산 적응력과 생존능력이 다르게 나타났다.

산 적응 온도에 따른 생존능력의 결과는 3균주의 non-O157:H7 STEC에서 전반적으로 유사한 결과를 나타냈으며, 산 적응된 과일주스의 종류와 관계없이 4°C에서 과일주스를 산 적응시킬 경우 20°C보다 높은 SGF 저항성을 나타내었다. *E. coli* O157:H7을 딸기주스(pH 3.6)에 접종한 후 4°C와 37°C에 3일간 저장하여 생육 변화를 조사한 결과, 4°C에 저장한 딸기주스는 0.27 log CFU/mL의 감소를 나타냈으나 37°C에서는 완전히 사멸되었다(40). Smith와 Fratamico(41)는 냉장온도에서 과일주스를 저장하면 cold shock protein의 생성이 증가하였고 이는 cross-protection을 강화해 위장관내의 용액과 같은 조건에서도 non-

O157 STEC가 생존할 가능성이 있다고 보고하였다.

산 저항성에 관한 기존의 연구에서는 대부분 *E. coli* O157:H7을 중심으로 보고되었으며 *E. coli* O157:H7을 SGF에 노출할 때 non-O157 혈청형보다 높은 생존능력을 나타내었다(21,22). Bergholz와 Whittam(42)은 *E. coli* O157:H7, O26:H11, O111:H8 균주들을 사과주스에 접종한 후 4°C와 20°C에서 24시간 적응시킨 다음 pH 2.5의 model stomach system에 노출했을 때 *E. coli* O157:H7 균이 O26:H11이나 O111:H8보다 더 강한 저항성을 나타냈다고 보고하였다. 그러나 본 연구에서 나타난 바와 같이 과일주스에 노출된 일부 non-O157 혈청형 균주들의 경우 오히려 *E. coli* O157:H7보다 SGF에 더 강한 산 저항성을 나타내기 때문에 이에 대한 보다 구체적인 연구들이 이루어져야 하겠다.

본 연구 결과, *E. coli* O157:H7뿐만 아니라 non-O157:H7 혈청형에서도 강한 산 저항성 및 적응능력을 나타내었다. 과일주스의 경우 고온살균보다는 저온살균 또는 비살균 과정을 거치기 때문에 오염된 병원성 세균을 완전히 사멸하기 어렵다(43). 따라서 non-O157:H7 STEC에 의해 오염된 과일주스를 저온에서 유통할 경우 산 저항성이 증가하여 식중독 발생 가능성이 증가할 수 있으므로 과일주스에 대한 안전성 확보기술이 매우 필요할 것으로 판단된다. SGF를 활용하는 연구는 식품섭취 후 미생물의 사멸 및 생존능력을 평가할 수 있는 중요한 tool이 될 수 있으며 유기산과 과일주스의 종류에 따른 산 저항성뿐만 아니라 다른 식품에서도 non-O157 혈청형에 대한 산 저항성 연구가 지속적으로 이루어져야 할 것으로 판단된다.

## 요 약

다양한 환경에서 분리된 시가독소 생산성 대장균(Shiga toxin-producing *E. coli*, STEC, n=18)을 초산혼합용액(AAS;

400 mM, pH 3.2, 30°C)에 노출한 후 산 저항성을 측정하였다. 또한, 선정된 4종류의 non-O157:H7 STEC균을 사과주스, 파인애플주스, 오렌지주스, 딸기주스(pH 3.8)에 정봉하여 4°C와 20°C에서 24시간 산 적응시킨 후 위합성용액(SGF, pH 1.5)에서 2시간 동안 생존능력을 평가하였다. Non-O157:H7 STEC를 AAS에 노출했을 때 O111 혈청형의 STEC는 평균 0.12 log CFU/mL 감소하여 다른 혈청형에 비하여 가장 강한 산 저항성을 나타냈고 O157:H7 STEC와 유의적 차이가 없었으며( $P>0.05$ ), O26 혈청형의 STEC는 가장 민감한 것으로 나타났다. 반면, AAS에 glutamic acid를 첨가하였을 경우 모든 STEC는 혈청형과 관계없이 초산에 매우 강한 저항성을 나타내었다( $P>0.05$ ). SGF에서 생존능력을 측정한 결과, 06E0218(O157:H7)은 다른 non-O157:H7 STEC 균들보다 생존능력이 낮았고 03-4669(O145:NM)가 가장 강한 생존능력을 나타내었다. 한편, 과일주스 중에서는 파인애플주스에 산 적응된 STEC가 SGF에 가장 강한 생존능력을 나타내었다. 4°C의 과일주스에 STEC를 산 적응시켰을 경우 20°C보다 SGF에 대한 생존능력이 현저하게 높았다( $P<0.05$ ). 따라서 과일주스에 의한 non-O157:H7 STEC의 산 적응력 증가는 위장관 내 생존을 및 식중독 발생을 높일 수 있으므로 이에 대한 적절한 연구와 안전관리 옵션을 제공할 필요가 있을 것으로 판단된다.

## REFERENCES

1. Parish ME, Narciso JA, Friedrich LM. 1997. Survival of *Salmonellae* in orange juice. *J Food Saf* 17: 273-281.
2. Yuk HG, Schneider KR. 2006. Adaptation of *Salmonella* spp. in juice stored under refrigerated and room temperature enhances acid resistance to simulated gastric fluid. *Food Microbiol* 23: 694-700.
3. Cody SH, Glynn MK, Farrar JA, Cairns KL, Griffin PM, Kobayashi J, Fyge M, Hoffman R, King AS, Lewis JH, Swaminathan B, Bryant RG, Vugia DJ. 1999. An outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infection from unpasteurized commercial apple juice. *Ann Intern Med* 130: 202-209.
4. Besser RE, Lett SM, Weber JT, Doyle MP, Barrett TJ, Wells JG, Griffin PM. 1993. An outbreak of diarrhea and hemolytic uremic syndrome from *Escherichia coli* O157:H7 in fresh-pressed apple cider. *JAMA* 269: 2217-2220.
5. Vojdani JD, Beuchat LR, Tauxe RV. 2008. Juice-associated outbreaks of human illness in the United States, 1995 through 2005. *J Food Prot* 71: 356-364.
6. Scallan E, Hoekstra RM, Angulo FJ, Tauxe RV, Widdowson MA, Roy SL, Jones JL, Griffin PM. 2011. Foodborne illness acquired in the United States-major pathogens. *Emerg Infect Dis* 17: 7-15.
7. Taylor EV, Nguyen TA, Machesky KD, Koch E, Sotir MJ, Bohm SR, Folster JP, Bokanyi R, Kupper A, Bidol SA, Emanuel A, Arends KD, Johnson SA, Dunn J, Stroika S, Patel MK, Williams I. 2013. Multistate outbreak of *Escherichia coli* O145 infections associated with romaine lettuce consumption, 2000. *J Food Prot* 76: 939-944.
8. Cheung MK, Li L, Nong W, Kwan HS. 2011. German *Escherichia coli* O104:H4 outbreak: whole-genome phylogeny without alignment. *BMC Res Notes* 4: 533.
9. Mellmann A, Harmsen D, Cummings CA, Zentz EB, Leopold SR, Rico A, Prior K, Szczepanowski R, Ji Y, Zhang W, McLaughlin SF, Henkhaus JK, Leopold B, Bielaszewska M, Prager R, Brzoska PM, Moore RL, Guenther S, Rothberg JM, Karch H. 2011. Prospective genomic characterization of the German enterohemorrhagic *Escherichia coli* O104:H4 outbreak by rapid next generation sequencing technology. *PLoS ONE* 6: e22751.
10. Kundsena DM, Yamamoto SA, Harris LJ. 2001. Survival of *Salmonella* spp. and *Escherichia coli* O157:H7 on fresh and frozen strawberries. *J Food Prot* 64: 1483-1488.
11. Yu K, Newman MC, Archbold DD, Hamilton-Kemp TR. 2001. Survival of *Escherichia coli* O157:H7 on strawberry fruit and reduction of the pathogen population by chemical agents. *J Food Prot* 64: 1334-1340.
12. Food and Drug Administration. 2001. Hazard Analysis and Critical Control Point (HACCP); Procedures for the safe and sanitary processing and importing of juice. *Fed Regist* 63: 6138-6202.
13. Beuchat LR, Brackett RE. 1991. Behavior of *Listeria monocytogenes* inoculated into raw tomatoes and processed tomato products. *Appl Environ Microbiol* 57: 1367-1371.
14. Miller LG, Kaspar CW. 1994. *Escherichia coli* O157:H7 acid tolerance and survival in apple cider. *J Food Prot* 57: 460-464.
15. Zhao T, Doyle MP, Besser RE. 1993. Fate of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 in apple cider with and without preservatives. *Appl Environ Microbiol* 59: 2526-2530.
16. Oyarzabal OA, Nogueira MC, Gombas DE. 2003. Survival of *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes*, and *Salmonella* in juice concentrates. *J Food Prot* 66: 1595-1598.
17. Hsin-Yi C, Chou CC. 2001. Acid adaptation and temperature effect on the survival of *E. coli* O157:H7 in acidic fruit juice and lactic fermented milk product. *Int J Food Microbiol* 70: 189-195.
18. Smith JL. 2003. The role of gastric acid in preventing food-borne disease and how bacteria overcome acid conditions. *J Food Prot* 66: 1292-1303.
19. Benjamin MM, Datta AR. 1995. Acid tolerance of enterohemorrhagic *Escherichia coli*. *Appl Environ Microbiol* 61: 1669-1672.
20. Lin J, Smith MP, Chapin KC, Baik HS, Bennett GN, Foster JW. 1996. Mechanisms of acid resistance in enterohemorrhagic *Escherichia coli*. *Appl Environ Microbiol* 62: 3094-3100.
21. Arnold KW, Kaspar CW. 1995. Starvation- and stationary-phase-induced acid tolerance in *Escherichia coli* O157:H7. *Appl Environ Microbiol* 61: 2037-2039.
22. Murinda SE, Nguyen LT, Landers TL, Draughon FA, Mathew AG, Hogan JS, Smith KL, Hancock DD, Oliver SP. 2004. Comparison of *Escherichia coli* isolates from humans, food, and farm and companion animals for presence of Shiga toxin-producing *E. coli* virulence markers. *Foodborne Pathog Dis* 1: 178-184.
23. Breidt F Jr, Hayes JS, McFeeters RF. 2004. Independent effects of acetic acid and pH on survival of *Escherichia coli* in simulated acidified pickle products. *J Food Prot* 67: 12-18.
24. Oh DH, Pan Y, Berry E, Cooley M, Mandrell R, Breidt F Jr. 2009. *Escherichia coli* O157:H7 strains isolated from environmental sources differ significantly in acetic acid resistance compared with human outbreak strains. *J Food Prot*

- 72: 503-509.
25. Beumer RD, de Vries J, Rombouts FM. 1992. *Campylobacter jejuni* non-culturable coccoid cells. *Int J Food Microbiol* 15: 153-163.
  26. King T, Lucchini S, Hinton JCD, Gobius K. 2010. Transcriptomic analysis of *Escherichia coli* O157:H7 and K-12 cultures exposed to inorganic and organic acids in stationary phase reveals acidulant- and strain-specific acid tolerance responses. *Appl Environ Microbiol* 76: 6514-6528.
  27. Lu HJ, Breidt F Jr, Pérez-Díaz I. 2013. Development of an effective treatment for a 5-log reduction of *Escherichia coli* in refrigerated pickle products. *J Food Sci* 78: M264-M269.
  28. Kalchayanand N, Arthur TM, Bosilevac JM, Schmidt JW, Wang R, Shackelford SD, Wheeler TL. 2012. Evaluation of commonly used antimicrobial interventions for fresh beef inoculated with Shiga toxin-producing *Escherichia coli* serotypes O26, O45, O103, O111, O121, O145, and O157:H7. *J Food Prot* 75: 1207-1212.
  29. Buchanan RL, Edelson SG. 1999. pH-dependent stationary-phase acid resistance response of enterohemorrhagic *Escherichia coli* in the presence of various acidulants. *J Food Prot* 62: 211-218.
  30. Comi G, Coccolin L, Manzano M, Cantoni C, Cattaneo M. 2000. Microorganisms behaviour in purposely contaminated fruit juices. *Ind Bevande* 167: 237-246.
  31. Brudzinski L, Harrison MA. 1998. Influence of incubation conditions on survival and acid tolerance response of *Escherichia coli* O157:H7 and non-O157:H7 isolates exposed to acetic acid. *J Food Prot* 61: 542-546.
  32. Lin J, Lee IS, Frey J, Slonczewski JL, Foster JW. 1995. Comparative analysis of extreme acid survival in *Salmonella typhimurium*, *Shigella flexneri*, and *Escherichia coli*. *J Bacteriol* 177: 4097-4104.
  33. Hersh BM, Farooq FT, Barstad DN, Blankenhorn DL, Slonczewski JL. 1996. A glutamate-dependent acid resistance gene in *Escherichia coli*. *J Bacteriol* 178: 3978-3981.
  34. Richard HT, Foster JW. 2003. Acid resistance in *Escherichia coli*. *Adv Appl Microbiol* 52: 167-186.
  35. Foster JW. 2004. *Escherichia coli* acid resistance: tales of an amateur acidophile. *Nat Rev Microbiol* 2: 898-907.
  36. Bhagwat AA, Chan L, Han R, Tan J, Kothary M, Jean-Gilles J, Tall BD. 2005. Characterization of enterohemorrhagic *Escherichia coli* strains based on acid resistance phenotypes. *Infect Immun* 73: 4993-5003.
  37. Kim GH, Breidt F, Fratamico P, Oh DH. 2015. Acid resistance and molecular characterization of *Escherichia coli* O157:H7 and different non-O157 Shiga toxin-producing *E. coli* serogroups. *J Food Sci* 80: M2257-M2264.
  38. Yuk HG, Marshall DL. 2005. Influence of acetic, citric, and lactic acids on *Escherichia coli* O157:H7 membrane lipid composition, verotoxin secretion, and acid resistance in simulated gastric fluid. *J Food Prot* 68: 673-679.
  39. Buchanan RL, Edelson SG, Boyd G. 1999. Effects of pH and acid resistance on the radiation resistance of enterohemorrhagic *Escherichia coli*. *J Food Prot* 62: 219-228.
  40. Han Y, Linton RH. 2004. Fate of *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes* in strawberry juice and acidified media at different pH values and temperatures. *J Food Prot* 67: 2443-2449.
  41. Smith JL, Fratamico PM. 2012. Effect of stress on non-O157 Shiga toxin-producing *Escherichia coli*. *J Food Prot* 75: 2241-2250.
  42. Bergholz TM, Whittam TS. 2007. Variation in acid resistance among enterohaemorrhagic *Escherichia coli* in a simulated gastric environment. *J Appl Microbiol* 102: 352-362.
  43. Kim MR, Woo HC, Son WG. 2008. Survival of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* Typhimurium in retail mandarin orange, *Prunus mume* (maesil) and kiwi extracts. *J Fd Hyg Safety* 23: 62-67.