

보안과제( ), 일반과제( ○ )

과제번호 107085-03

소포장 새싹채소의 신선도 유지  
유통기술 개발 및 적용 연구

Technology development for maintaining postharvest freshness of  
commercial seed sprouts packaged for consumer delivery

한국식품연구원

농림수산식품부

# 제 출 문

농림수산식품부 장관 귀하

이 보고서를 “소포장 새싹채소의 신선도 유지 유통기술 개발 및 적용 연구” 과제의  
보고서로 제출합니다.

2010년 5월 29일

주관연구기관명 : 한국식품연구원

주관연구책임자 : 홍석인

세부연구책임자 : 홍석인

연 구 원 : 김동만

연 구 원 : 최정희

연 구 원 : 이현희

협동연구기관명 : 참한싹(주)

협동연구책임자 : 유승삼

위탁연구기관명 : 서울대학교

위탁연구책임자 : 최영진

# 요 약 문

## I. 제 목

소포장 새싹채소의 신선도 유지 유통기술 개발 및 적용 연구

## II. 연구개발의 목적 및 필요성

새싹채소는 근래에 소비자들의 관심을 끌고 있는 채소류로서 미국이나 유럽 등 선진국에서는 새싹채소가 이미 채소시장에서 큰 비중을 차지하고 있고, 우리와 식문화가 다른 일본도 채소부분에서의 비중이 높아지고 있다. 그러나 well-being 채소로 불리는 새싹채소의 소비가 증가하고 있음에도 불구하고 이들 채소에 대한 기초자료는 극히 미흡한 수준이다.

새싹채소는 약품 처리되지 않은 종자를 사용하여 발아시키고, 이후 물로만 재배하여 1주일 이내에 수확하므로 본 잎이 전개되지 않은 미숙한 상태의 채소이다. 재배 생육기간 중 농약이나 비료를 사용하지 않아 친환경 기능성 채소로 구분되고 있으나, 새싹채소의 효능 및 조리방법을 알고 있는 소비자는 많지 않아서 이에 대한 홍보가 수반되면 새싹채소의 소비가 더욱 증가될 것으로 전망된다. 또한 새싹채소의 유통경로는 시장진입 초기 다량수요처인 음식점이 주류를 이루었으나, 점차 개인소비자의 비중이 더 증가할 것으로 예상되고 있다.

새싹채소의 생산과정에서 가장 큰 애로점은 유해균의 오염을 방지하는 것으로 부패 및 병원성 미생물 오염이 발생할 경우, 새싹채소 보관 및 유통 시 부패가 심하여 상품의 품질을 현저하게 떨어뜨리므로 재배에서 출하에 이르기까지 청결상태를 유지하기 위해 철저한 위생관리가 요구된다. 또한 소비자들의 식품 소비추세가 건강증진과 편리성을 중시하는 경향으로 나타나면서 식품 안전성에 대한 접근이 강조되고 있어 별도의 열처리과정 없이 곧바로 섭취하는 신선 새싹채소에 대한 위해요소관리가 더욱 요구되고 있다.

새싹채소는 유통기간이 매우 짧아 품질열화에 의한 경제적 손실이 크므로 품질을 안정적으로 유지할 수 있는 기술 도입이 요구되고 있다. 선도유지에 가장 민감한 신선 농산물의 경우 수확후 상온에 방치하거나 설혹 예냉 및 저온저장을 하였다하더라도 유통 중 급격한 온도변화를 겪으면 초기 품질에 비해 현저하게 품질이 저하되고 결국 쉽게 변패될 수 있다. 현재 국내에서 활용되고 있는 저온유통시스템은 생산지부터 소비지에 이르는 여러 유통단계를 거치는 과정에서 일정한 온도유지 및 관리가 어렵고 이로 인해 품질저하, 손

실에 따른 이익이 감소될 수 있다. 또한 우리나라의 경우 생산품목이 다양하고 소량생산 위주이며 소비형태도 소량, 소포장을 요구하고 있어 전국 당일배송이 가능한 유통환경을 고려할 때 국내 실정에 적합한 저온유통방식을 개발하고 보급할 필요성이 있다.

새싹채소의 유통 중 안전성 및 품질 안정성을 확보하기 위해서는 국내에서 생산되는 새싹채소에 적합한 수확후 전처리, 포장, 운송 등의 일괄 시스템을 확립하여야 한다. 이에 본 연구에서는 소비자 직배용 새싹채소의 수확후 관리 및 신선도 유지 유통기술을 개발하여 고품질의 안전한 새싹채소를 안정적으로 공급할 수 있는 유통체계 구축에 기여함으로써 새로운 기능성 식품소재인 국내산 새싹채소의 상품 경쟁력을 확보하고 동시에 부가가치를 제고하고자 한다.

### III. 연구개발 내용 및 범위

소포장 새싹채소의 신선도 유지 유통기술 개발 연구내용으로서 새싹채소의 생리특성 및 품질특성 분석, 수확후 적정 전처리방법 탐색, 환경조건 및 포장방법에 따른 저장성 평가, 기존 유통방식의 온도유지 효과 분석, 적정 수확후 처리 현장적용 실증시험, 온도감응 기능성 포장재의 설계 및 제조, 온도유지 효과 분석, 새싹채소 적용성 평가, 현장적용 실증시험, 능동형 MAP 조건설정 및 적용성 평가, 유통 중 품질 영향인자의 변동 분석 및 예측, 온도감응/능동형 MAP 병용처리 효과 분석, 능동형 MAP의 현장적용 실증시험을 수행하였다.

구체적으로 새싹채소의 수확후 관리기술 확립 및 관리체계를 구축하고자, 메밀 새싹채소의 생리특성과 품질특성을 분석하고 수확후 적정 전처리방법을 탐색하는 동시에 환경조건 및 포장방법에 따른 저장성을 평가하였다. 또한 기존 유통방식의 온도유지 효과를 분석하고 적정 수확후 처리의 현장적용 실증시험을 수행하였다.

소비자 직배용 새싹채소의 유통에 적합한 온도감응 기능성 포장의 적용기술 개발 및 활용체계를 구축하고자, 상용 PCM을 이용한 새로운 온도감응 기능성 포장재를 설계 제조하고 온도유지 효과를 분석하여 메밀 새싹채소에 대한 적용성을 평가하였으며 온도감응 기능성 포장의 현장적용 실증시험을 수행하였다.

새싹채소의 신선도 유지 복합처리기술 개발 및 활용체계를 구축하고자, 메밀 새싹채소에 대한 능동형 MAP 조건을 설정하고 저장실험을 통해 적용성을 평가하였으며 온도감응 기능성 포장재와 능동형 MAP의 복합처리 효과를 분석하였다. 또한 새싹채소의 유통 중 품질 영향인자의 변동을 분석하여 예측하였으며 최종적으로 능동형 MAP의 현장적용 실증시험을 수행하였다.

#### IV. 연구개발결과

새싹채소의 생리특성과 품질특성을 분석한 결과, 메밀 새싹의 호흡률은 5-30℃의 온도에서 정상적인 호기호흡을 유지하면서 온도증가에 따라 지수적인 상승을 나타내었다. 메밀 새싹에 존재하는 호기성 중온세균, 대장균군 모두 성숙기에서 가장 높은 생균수를 유지하다가 과숙기로 넘어가면서 점차 감소하는 양상을 나타내었고, 과숙기로 넘어가면서 새싹의 머리 부분이 점차 개화되어 상품성을 잃는 것으로 확인되었다. -13℃에서 1시간 만에 동해가 유발되므로, 메밀 새싹과 축냉재와의 직접적인 접촉은 최대한 방지하는 것이 상품성 유지에 필수적임을 확인할 수 있었다. 수확후 메밀 새싹의 적정 전처리방법을 검토한 결과, 100 ppm 차아염소산염용액, 산성(pH 2.3) 전해수, 40 ppm 이산화염소수 처리로 1 log cycle 이상의 미생물 저감효과를 얻을 수 있었으며 품질유지에도 효과적이었다. 메밀 새싹의 품질유지에 적합한 온도조건은 10℃이었으며, 포장방법으로는 밀봉 용기 포장구가 가장 효과적인 것으로 평가되었다. 20-40℃의 다양한 정온 및 변온 조건에서 보냉상자, 단열포장재, 3종의 축냉재를 복합적으로 적용하였을 때 새싹채소의 품온 변화 profile을 측정하고 품온 예측모형을 수립하였다. 제시된 예측모형은 수치해석적 분석을 기반으로 포장시스템에 따른 총괄전열계수를 구하여 품온 변화를 예측하였고, 측정결과와 비교하여 매우 근사한 값을 나타내었다. 한편 새싹채소 재배공장에서 100 ppm 염소수 세척과 헹굼, 예냉, 포장 처리를 각기 구분하여 실시한 결과, 적용된 수확후 처리공정이 메밀 새싹의 유통 중 신선도 유지에 전혀 부정적인 영향을 미치지 않으면서도 미생물 안전성을 향상시키는데 매우 효과적이었다.

상용 PCM(RT-2, SAP)을 이용한 새로운 온도감응 기능성 포장재로서 유연성을 갖는 보냉 포장재를 설계 제작하여 메밀 새싹 소포장에 적용한 결과, 하절기 외기온도 가상조건에서 일반 얼음팩 보냉재에 비해 개발된 유연성 보냉재가 내용물의 저온유지에 효과적이며, SAP 처리구의 내외부 온도가 RT-2에 비해 더 낮게 유지되어 SAP의 보냉능력이 더 우수한 것을 확인할 수 있었다. 또한 장방형 SAP 보냉재의 중량을 달리하여 적용한 결과, 보냉재의 중량이 클수록 포장용기의 내부온도를 낮은 온도에서 더 오랫동안 유지하였다. 특히 SAP 보냉재는 실제로 생산현장에서 사용하는 얼음팩과 동일한 중량의 PCM을 사용하더라도 적용형태를 달리하여 포장용기 전체를 둘러싸므로써 새싹의 품온 및 품질 유지에 효과적임을 확인하였다. 보냉 포장재의 종류, 적용방식과 적용비율에 따른 품온 변화 profile을 측정 분석하였으며, 유한체적법 기반의 수치해석적 분석을 통한 computer simulation을 실시하여 유통 중 포장시스템 내부온도의 3차원적 변화 양상을 예측한 결과, 전체적인 열전달 양상은 새싹용기 측면과 하부로부터의 열전달이 상부보다 빠르게 나타났다. 한편 유연성 SAP 보냉재를 사용하여 메밀 새싹채소를 운송용기에 포장한 후 실제 생산현장에서 유통시킨 결과, 메밀 새싹을 담고 있는 tray 용기의 내부온도를 약 13시간

동안 1°C 이하로 유지할 수 있었으며, 여러 가지 새싹채소의 품질인자 측면에서는 종래의 얼음팩을 사용한 대조구와 별다른 차이가 없었다.

새싹채소의 유통 중 미생물 안전성과 품질 안정성을 확보하기 위하여 다양한 능동형 MAP 처리를 적용한 결과, 고산소와 고이산화탄소의 혼합조건보다 60% 이하의 고산소 조건이 메밀 새싹의 품질유지에 효과적이었으나, 접종된 병원성 미생물(*E. coli* O157:H7, *S. Typhimurium*, *S. aureus*, *L. monocytogenes*)의 생균수 감소에는 효과적이지 못하였다. 메밀 새싹의 품질유지에 효과적인 능동형 MAP 조건과 유연성 SAP 보냉재를 병용 처리한 경우, 일반 얼음팩과 비교하여 유연성 SAP 보냉재의 저온유지 시간은 10시간 이내였으며 대부분 밀폐 포장구에서 호기성 중온균의 생균수가 다소 감소하는 경향을 나타내었으나 변색, 외관품질 등에 대한 관능검사에서 20%와 40% 고산소 조건의 MAP 처리가 가장 좋은 평가를 받았다. 축냉재의 상변화 시간 전후로 품온 변화의 양상이 다른 점을 반영하여 보냉 포장재 적용시 외부 온도조건 변화에 따라 새싹채소의 선도유지 가능 최소시간을 예측할 수 있는 모형을 개발하였으며, simulation 결과 설정된 선도유지 가능시간과 예측값이 근사하게 나타났다. 한편 실제 생산현장에서의 실증시험 결과에서도 40% 고산소 조건의 능동형 MAP 처리와 유연성 SAP 보냉재를 병용하여 포장했을 때 10-12시간 이내의 중단거리 유통과정에서 메밀 새싹의 미생물 증식을 억제하고 초기품질을 최대한 유지할 수 있는 것으로 판단되었다.

## V. 연구성과 및 성과활용 계획

연구개발 결과로부터 소비자 직배용 소포장 새싹채소의 수확후 관리 및 신선도 유지 유통기술의 기초 자료를 확보할 수 있었고, 향후 안전성이 확보된 고품질 새싹채소 상품의 소비자 유통을 위한 안전 관리지침 및 교육자료 등을 개발할 수 있을 것이며, 고품질의 안전한 새싹채소를 안정적으로 공급할 수 있는 유통체계 구축에 기여함으로써 새로운 기능성 식품소재인 국내산 새싹채소의 상품 경쟁력 확보와 부가가치 제고를 추구할 수 있을 것으로 판단된다. 아울러 새싹채소 이외의 신선 농식품에 대해서도 유통 중 미생물로부터 안전성을 확보하고 동시에 고품질을 유지할 수 있도록 본 연구에서 개발된 여러 가지 전처리 및 포장기법에 근거한 선도유지 유통기술의 새로운 적용시도가 가능할 것으로 판단되므로, 향후 개발기술을 체계적으로 생산현장에서 활용하고자 적극적인 성과확산 노력을 기울일 예정이다.

## SUMMARY

### I . Title

Technology development for maintaining postharvest freshness of commercial seed sprouts packaged for consumer delivery

### II . Purpose and Importance

Seed sprouts as a vegetable are recently attracted the attention of consumers which already account for a large proportion in fresh vegetable market in the United States and Europe Union. The proportion of seed sprouts in vegetable commodities has been also increased in Japan which has different food culture from us. Although consumption of seed sprouts which are referred to a 'well-being' vegetable is gradually growing, basic information on seed sprouts are still insufficient.

Sprouts are produced from germinated seed using pure water and harvested within 7 days so that is immature state because leaves haven't been fully developed for a week. Because cultivators do not use pesticides or fertilizers during cultivation, seed sprouts are regarded as environmentally friendly and functional vegetables. On the other hand, most consumers little know efficacy of seed sprouts to the human health and how to eat. So, if information were accompanied by a publicity, the consumption of sprouts will be increased. At an initial stage of entering into the market, most of seed sprouts were consumed in the food service sector, but retail consumption is growing nowadays.

The most difficult problems to overcome in the seed sprouts production is that how to protect the contamination from harmful microorganisms. When contamination occurs, the product becomes deteriorative during storage and distribution. Hence, thorough sanitation practices are needed from farm to market for keeping the sound state. Also, emphasis on safe approaching to food is greatly increased because the trend of food consumption is tending toward health promoting and convenience. For this reason, hazard factor management is more required for ready-to-eat fresh seed sprouts.

Seed sprouts have a very short shelf-life and their quality deterioration causes economic losses. Therefore, introducing proper technology to keep quality stably are required. When fresh agricultural produce which are the most sensitive to freshness are placed at room temperature after harvest or undergo a significant temperature abuse during distribution even though they are pre-cooled or stored at cold temperature, the product quality can be lost in comparison to the initial state and

easily deteriorate. The cold chain system that currently being used in domestic is difficult to maintain and manage constant temperature at several points in distribution route. As a result, production profits can be reduced by quality deterioration or loss of freshness. In Korea, considering that a variety of production items, a small amount of production, consumption patterns of low-volume packaging, and delivering item could be possible in a day, it is necessary to develop and distribute cold chain system suitable for domestic situations.

In order to achieve the safety and quality stability of seed sprouts during distribution, total systems including proper postharvest pre-treatment, packaging, and transportation for raw materials should be established. Thus, in this research, distribution technology for postharvest management and freshness maintenance of seed sprouts to be delivered directly to consumers was developed so that contribution to establishment of stable supply system of safe and high quality seed sprouts can be made and accordingly commercial compensativeness of a new functional food material seed sprout will be secured and added values will be raised.

### III. Contents and Scope

Development of freshness maintaining distribution technology for small packed seed sprouts includes analysis of physiological and quality characteristics of seed sprouts, searching for appropriate pre-treatment methods for postharvest handling, shelf-life assessment according to environmental and packaging conditions, effectiveness analysis of the temperature maintenance based on the existing distribution methods, demonstration of appropriate postharvest treatments which could be applied to the field, design and manufacture for temperature-sensitive functional packaging materials, analysis for the effect of temperature maintenance, assessment for applicability to seed sprouts, demonstration for field application, setting up conditions for active MAP and evaluation of applicability, analysis and prediction of the variable factors affecting the quality during distribution, effectiveness analysis of the combined treatment of temperature-sensitive and active MAP , and demonstration of an active MAP field application.

To establish postharvest management technology and system for seed sprouts, physiological and quality characteristics of buckwheat sprouts was analyzed and then appropriate postharvest pre-treatments methods were explored. At the same time, shelf-life of buckwheat sprouts was evaluated according to the environmental conditions and packaging methods. In addition, temperature maintaining effect of existing distribution methods was analyzed and demonstration of proper postharvest treatment for field application was performed.

Developing and applying temperature-sensitive functional packaging technology for



distribution directly to consumers, a new temperature-sensitive insulation packaging using PCM was designed and temperature-sensitive packaging prototype using commercial PCMs were prepared in the laboratory. To evaluate temperature-sensitive insulation packaging for seed sprouts, buckwheat sprouts were used for applicability. Finally, temperature-sensitive insulation packaging was tested in the field.

To develop complex processing technology and application system for freshness, an active MAP condition for buckwheat sprouts was searched and its applicability was evaluated through the storage experiment using temperature-sensitive functional packaging materials and active MAP in combination. The variable factors affecting the quality during distribution were also analyzed and predicted and finally an active MAP field application was demonstrated.

#### IV. Results and Suggestion

The basic physiological and quality characteristics of buckwheat sprout showed that its respiration rate increased exponentially according to increment of environment temperatures (5-30°C) with maintaining normal aerobic respiration. The number of mesophilic and coliforms bacteria existed buckwheat sprout was the highest at the mature stage and it tended to decrease in the overmature stage of buckwheat sprout. In particular, loss of quality was observed at the overmature stage with blooming in overmature buckwheat sprout. To maintain best quality of buckwheat sprout, it was necessary to prevent the direct contact between buckwheat sprout and insulated material due to chilling injury occurred at -13°C in 1 hour. In appropriate postharvest pre-treatment of buckwheat sprout experiment, hypochlorite solution (100 ppm), acidic electrolyzed water (pH 2.3), and chlorine dioxide (40 ppm) treatment brought to microbial decrement over 1 log cycle and maintained good quality during cold storage. To maintain best quality of buckwheat sprout, storing temperature should be 10°C and sealed packaging in plastic tray was the most beneficial. When chlorine washing & cleaning (100 ppm), pre-cooling, packaging were performed separately in seed sprouts manufacturing step, maintaining freshness was not affected during distribution of buckwheat sprout and microbial safety was also effectively increased. A mathematical model was developed to predict the thermal experience of the seed sprout in expanded polystyrene box during transportation and delivery. The model was derived using basic heat transfer principles covering convection, conduction and radiation. The temperature profiles of a simulant were recorded and the overall heat transfer coefficients were determined under various ambient temperatures (25, 30 and 35°C). The simulation model was confirmed by comparing predicted temperatures with measured values.

The new temperature-sensitive functional materials using commercial PCM (i.e., RT-2, SAP)

with the flexibility was used to design and make cold retention package which was applied to buckwheat sprouts small package showed better result to maintain the low temperature of sample with the virtual summer air temperature condition compared to the general ice-cold pack. SAP treated sample's internal and external temperature remains low compared to RT-2 and as a result SAP's cold retention capacity was better than RT-2. In addition, varying the weight of a rectangular SAP cold retention materials, the greater the weight of cold retention materials in the package the internal temperature was maintained at a lower temperature for longer periods. In particular, even though the weight of SAP and commercial ice-pack was the same, application forms such as full surround with SAP was more effective to keep raw material temperature and quality. The result of using flexible SAP cold retention materials for buckwheat sprouts shipping containers to the actual distribution from the production, internal temperature of buckwheat sprout container tray was maintained lower than 1 °C for approximately 13 hours. In addition, there was no significant difference from existing conventional ice-pack in terms of the quality factors of seed sprout. The effects of phase change materials (PCM) on sprout temperature were analyzed. The phase change temperatures for MPA, SAP, and RT-2 ranged 1-2°C, 1-2°C and 2-6°C, respectively. Among three types of PCMs, SAP was the most effective for retardation of temperature increase. Three-dimensional temperature profiles were obtained with various boundary and initial conditions using COMSOL multi-physics program. The simulation results showed good agreements with the experimental data.

To ensure microbial safety and stability of seed sprouts, various active MAP treatments were applied. Maintaining quality of buckwheat sprouts was better with lower 60 percent oxygen condition than the mixture of high oxygen and carbon dioxide. However, inoculated pathogenic bacteria (*E. coli* O157:H7, *S. Typhimurium*, *S. aureus*, *L. monocytogenes*) was not effective in reducing viability. When active-MAP condition which effectively maintain the quality of buckwheat sprouts and flexible SAP cold retention materials treated in parallel, maintaining lower temperature of flexible SAP cold retention materials was less than 10 hours compared to regular ice packs. The number of aerobic mesophilic bacteria was tended to decrease slightly in most sealed packaging samples and sensory evaluation of decoloration and appearance was the best at 20% and 40% of the MAP high oxygen condition. The results in the actual production field showed that mid-long distance which takes less than 10-12 hours distribution could be possible to maintain initial quality and inhibit microbial growth when active MAP with 40% high oxygen conditions and flexible SAP cold retention materials treated in parallel. An analytical model was developed to predict a minimum distribution time for the sprout. The optimum combination of the insulation packaging materials and modified atmospheres was evaluated as well. The developed models can predict successfully the sprout

temperature under various packaging conditions and can be used for packaging system design.

#### IV. Performance and Contribution

Based on the present results, it was possible to obtain the basic information on postharvest control and distribution technology of buckwheat sprouts. Provided with a possible subsequent research grant, the safety controlling guide for seed sprouts industry can be developed as educational materials to secure the microbial safety of fresh sprouts with high quality during mass distribution and sales. The postharvest treatment and distribution technology developed in this study can help supply safe and fresh seed sprouts to consumers and finally enhance the competitiveness and commercial value of domestic sprouts as a new functional vegetable. To apply the developed techniques in production field systematically, positive efforts on distributing the techniques will be made.

## CONTENTS

|  |     |
|--|-----|
| <b>Chapter 1 Outline of Research Project</b> .....   | 14  |
| Section 1 Purpose of Research .....  | 14  |
| Section 2 Necessity of Research .....  | 14  |
| Section 3 Content and Scope of Research .....  | 17  |
| <b>Chapter 2 State of the Art Report</b> .....   | 20  |
| Section 1 Quality Control of Fresh Agricultural Produce .....                                | 20  |
| Section 2 Insulation Packaging for Fresh Agricultural Produce .....                          | 26  |
| <b>Chapter 3 Research Performed and Results</b> .....  | 27  |
| Section 1 Strategy for Research Performance .....  | 27  |
| Section 2 Experimental Materials and Methods .....   | 30  |
| Section 3 Research Contents and Results .....  | 37  |
| <b>Chapter 4 Research Attainments and Contributions to Related Fields</b> .....              | 146 |
| <b>Chapter 5 Research Performance and Application Plans</b> .....                            | 147 |
| <b>Chapter 6 Science and Technology Information from Abroad</b> .....                        | 148 |
| <b>Chapter 7 References</b> .....  | 172 |
| <b>Attachment FSA NZ Primary Production &amp; Processing Standard for Seed Sprouts</b> ..... | 185 |

# 목 차

|   |     |
|---|-----|
| <b>제 1 장 연구개발과제의 개요</b> .....               | 14  |
| 제 1 절 연구개발의 목적 .....                        | 14  |
| 제 2 절 연구개발의 필요성 .....                       | 14  |
| 제 3 절 연구개발의 내용과 범위 .....                    | 17  |
| <b>제 2 장 국내외 기술개발 현황</b> .....              | 20  |
| 제 1 절 신선 농식품의 품질관리기술 .....                  | 20  |
| 제 2 절 신선 농식품의 단열포장기술 .....                  | 26  |
| <b>제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과</b> .....           | 27  |
| 제 1 절 연구개발 수행방법 .....                       | 27  |
| 제 2 절 실험 재료 및 방법 .....                      | 30  |
| 1. 새싹채소 시료 및 화학 약제 .....                    | 30  |
| 2. 미생물 균주 및 선택배지 .....                      | 30  |
| 3. 미생물 배양 및 접종 .....                        | 30  |
| 4. 기능성 포장재 준비 .....                         | 31  |
| 5. 새싹채소 시료 처리방법 .....                       | 32  |
| 6. 새싹채소 특성 분석 .....                         | 34  |
| 제 3 절 연구 내용 및 결과 .....                      | 37  |
| 1. 새싹채소의 생리특성 및 품질특성 분석 .....               | 37  |
| 2. 새싹채소의 수확후 적정 전처리방법 탐색 .....              | 41  |
| 3. 환경조건 및 포장방법에 따른 새싹채소의 저장성 평가 .....       | 50  |
| 4. 기존 새싹채소 유통방식의 온도유지 효과 분석 .....           | 57  |
| 5. 새싹채소의 적정 수확후 처리 현장적용 실증시험 .....          | 64  |
| 6. 온도감응 기능성 포장재의 설계 및 제조 .....              | 69  |
| 7. 새싹채소에 대한 온도감응 기능성 포장의 적용성 평가 .....       | 72  |
| 8. 온도감응 기능성 포장의 유통 중 온도유지 효과 분석 .....       | 80  |
| 9. 온도감응 기능성 포장의 현장적용 실증시험 .....             | 97  |
| 10. 새싹채소에 대한 능동형 MAP 처리조건 설정 및 적용성 평가 ..... | 101 |

|  |     |
|--|-----|
| 11. 새싹채소에 대한 온도감응/능동형 MAP 병용처리 효과 분석 ..... | 116 |
| 12. 유통 중 품질 영향인자의 변동 분석 및 예측 .....         | 124 |
| 13. 능동형 MAP 처리의 현장적용 실증시험 .....            | 139 |
| <br>                                       |     |
| 제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도 .....             | 146 |
| <br>                                       |     |
| 제 5 장 연구개발 성과 및 성과활용 계획 .....              | 147 |
| <br>                                       |     |
| 제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보 .....          | 148 |
| <br>                                       |     |
| 제 7 장 참고문헌 .....                           | 172 |
| <br>                                       |     |
| 부 록 호주 새싹채소의 주요 생산 및 가공 규격(안) .....        | 185 |

## 제 1 장 연구개발과제의 개요

### 제 1 절 연구개발의 목적

소비자 직배용 새싹채소의 수확후 관리 및 신선도 유지 유통기술을 개발하여 고품질의 안전한 새싹채소를 안정적으로 공급할 수 있는 유통체계 구축에 기여함으로써 새로운 기능성 식품소재인 국내산 새싹채소의 상품 경쟁력 확보와 부가가치 제고를 목표로 한다.

### 제 2 절 연구개발의 필요성

국내 채소 생산액은 2000년도 6조 7천억원에서 2008년도 7조 2천억원으로 연평균 0.9% 증가하였으나, 동기간 중에 새싹채소는 연평균 24-25%의 증가세를 나타내고 있다(농림수산식품부, 2009). 새싹채소는 특히 근래에 소비자들의 관심을 끌고 있는 채소류로서 미국이나 유럽 등 선진국에서는 새싹채소가 이미 채소시장에서 큰 비중을 차지하고 있고, 우리와 식문화가 다른 일본도 채소부문에서의 비중이 높아지고 있다. Well-being 채소로 불리는 새싹채소의 소비가 증가하고 있음에도 불구하고 이들 채소에 대한 기초 자료는 극히 미흡한 수준이다(김 등, 2006).

새싹채소는 약품 처리되지 않은 종자를 사용하여 발아시키고, 이후 물로만 재배하여 1주일 이내에 수확하므로 본 잎이 전개되지 않은 미숙한 상태의 채소이다. 재배생육기간 중 농약이나 비료를 사용하지 않아 친환경 기능성 채소로 구분되고 있으나, 새싹채소의 효능 및 조리방법을 알고 있는 소비자는 많지 않아서 이에 대한 홍보가 수반되면 새싹채소의 소비가 더욱 증가될 것으로 전망되므로 잠재수요 개발형 작목으로 육성할 필요가 있다. 새싹채소의 재배면적은 2005년 65 ha로 2002년 대비 연평균 5% 증가하였고, 재배면적 비중으로 무순, 순무, 알팔파, 샐러드, 로메인 순을 나타낸다. 새싹채소의 생산액은 2002년 이전에는 아주 미미하여 비율을 구할 수 없으나, 2005년에는 약 160억원으로 추정된다(김 등, 2006).

새싹채소의 생산과정에서 가장 큰 애로점은 유해균의 오염을 방지하는 것으로 부패 및 병원성 미생물 오염이 발생할 경우, 새싹채소 보관 및 유통 시 부패가 심하여 상품의 품질을 현저하게 떨어뜨리므로 재배에서 출하에 이르기까지 청결상태를 유지하기 위해 철저한 위생관리가 요구된다. 즉, 새싹채소는 생산단계에서부터 유통 소비단계에 이르기까지 부패 및 식중독을 일으킬 수 있는 미생물 번식을 억제할 수 있도록 안전관리체계를 갖추어야 하며, 생산업체로서는 항시 위생관리 교육과 점검을 철저히 수행할 필요가 있다(FSANZ, 2009).

새싹채소는 일반채소와 달리 유통 중 신선도를 최우선으로 고려해야 하므로 신선편이

식품과 마찬가지로 저온유통시스템을 반드시 도입해야 하나(이 등, 2009), 현재의 시장상황을 고려할 때 상온유통으로 인한 신선도 및 품질 저하문제를 극복하기 어려운 상황이다. 새싹채소의 생산과 소비가 증가하기 시작한 것은 최근으로 아직 유통경로가 정립되어 있지 않으나 개략적인 소비 유통경로를 살펴보면, 시장진입 초기 다량수요처인 음식점이 주류를 이루었으나 점차 개인소비자가 증가하여 2005년도 기준으로 개인소비자가 40%, 다량수요처가 60%로 조사되어 향후 개별소비자의 비중이 더 증가할 것으로 예상된다(김 등, 2006).

메밀 새싹은 콩나물처럼 종자를 발아하여 재배한 것으로 rutin 함량이 종실보다 27배나 증가되고 총 아미노산은 종실에 비해 약 28-38%가 증가되며, 특히 일반 곡류에 부족하기 쉬운 필수 아미노산인 lysine 함량이 각종 곡류나 채소류에 비해 월등히 높고 무기물과 섬유소 함량이 증가되며 Ca, K, Mg 함량이 높아 고 알칼리성 식품으로 간주된다. 또한 메밀 새싹의 유리당 조성도 자당이나 맥아당 같은 이당류에서 과당, 포도당과 같은 단당류로 전환되기 때문에 건강 기능성 식품을 선호하는 현대인의 욕구에 부응하는 새로운 형태의 기능성 신선채소라 할 수 있다(박 등, 2006).

메밀 새싹은 농촌진흥청 작물연구소의 개발특허 농산물로서 그 동안 상용화 노력에도 불구하고 주류 채소시장에 원활하게 진입하지 못하였는데, 가장 큰 걸림돌 가운데 하나가 수확후 선도유지 기술의 미비로 판단되고 있다. 특히 예냉, 전처리, 포장 등을 포함한 유통기술과 cold chain이 적용되지 않는 운송과정에서의 선도유지 기술이 매우 취약한 상태이다. 통상적으로 콩나물 판매시장이 약 2000억원/년 수준에 달하는 것을 감안할 때 맛이나 영양은 물론 생리활성물질 함량 측면에서 기존 콩나물보다 월등한 메밀 새싹이 선도유지 유통기술을 통해 보편화될 경우, 농가 소득증대는 물론 미국, 일본 등 해외로의 수출 가능성도 매우 높을 것으로 예상된다.

국내 신선 농산물의 유통 중 cold chain 시스템을 활용하는 물류량이 점차 증가하여 장·단거리 운송수단으로 사용되는 냉장차량, 저온저장고, 냉장진열대, 물류용 냉장용기 등과 같은 기반시설이 지속적으로 확충되고 있으나, 아직까지 외형적인 시스템 구축에 주로 치중하고 있어 실질적인 저온유통체계 확립에는 더 많은 노력이 필요한 상황이다. 특히 기반시설 측면에서도 생산지의 저온창고나 소비지의 냉장진열대, 냉장고 등에 치중하여 유통과정에서 상당부분 저온유지 단락구간이 발생하는데, 실제로 냉장창고 및 냉장수송차량 등의 설비가 잘 갖추어진 경우에도 운영비 등의 문제로 농산물의 선도유지에 필요한 저온관리가 제대로 지켜지지 않고 있다.

선도유지에 가장 민감한 신선 농산물의 경우 수확후 상온에 방치하거나, 설혹 예냉 및 저온저장을 하였더라도 유통 중 급격한 온도변화를 겪으면 초기 품질에 비해 현저하게 품질이 저하되고 결국 쉽게 변패될 수 있다. 현재 국내에서 활용되고 있는 저온유통시스



템은 생산지부터 소비지에 이르는 여러 유통단계를 거치는 과정에서 일정한 온도유지 및 관리가 어렵고 이로 인해 품질저하, 손실에 따른 이익감소 등을 유발한다. 더욱이 생산지에서는 품목별, 지역별, 시기별로 성수 출하시기가 편중되어 있어 저온시설의 연중 가동률이 낮아 초기 시설비 투자와 운영 유지비용을 감당하는 것이 어려운 실정이다.

국내 농산물의 유통체계는 아직까지 품목별로 유통환경을 고려하지 못한 채 획일적인 방식으로 관리되어 냉동, 냉장 보다는 상온 유통에 주로 의존하고 있다. 미국과 같이 생산지에서 소비지까지의 운송거리가 길고, 운송시간도 오래 걸리는 경우 차량단위의 저온 유통 방식이 적합하겠으나, 우리나라의 경우 생산품목이 다양하고 소량생산 위주이며 소비형태도 소량, 소포장을 요구하고 있어 전국 당일배송이 가능한 유통환경을 고려할 때 국내 실정에 적합한 저온유통 방식의 개발 보급이 필요하다(권, 2006).

소비자의 식품 소비추세가 건강증진과 편리성을 중시하는 경향으로 나타나면서, 특히 김치와 집단급식의 위생적인 문제 대두로 인하여 식품 안전성에 대한 접근이 강조되고 있어 별도의 열처리과정 없이 곧바로 섭취하는 신선 새싹채소에 대한 위해요소관리가 더욱 요구되고 있다. 농산물의 소비형태 변화로 인해 신선 농산물의 소비비중이 빠른 속도로 증가하고 신선 상품 소비증가에 따라 관련 업계의 양적 성장이 이루어지고 있으나 원료공급의 안정성 미확보, 짧은 유통기간, 그리고 미생물 증식 등의 문제를 여전히 안고 있어 안정적인 사업으로서 자리매김하지 못하고 있다. 특히 새싹채소는 유통기간이 매우 짧아 품질저하에 의한 경제적 손실이 크므로 품질을 안정적으로 유지할 수 있는 기술 도입이 요구된다.

최근 생활환경 변화, 건강 지향성, 단체급식, 외식산업의 증가로 소비자의 고품질 안전 식품에 대한 수요가 증가하게 됨에 따라 유통관련 분야를 위주로 기술수요가 증가할 것으로 추산된다. 따라서 적정 유통 관리기술의 개발은 신선식품의 품질유지를 통해 상품성을 제고시킬 뿐만 아니라 유통비용의 절감 등 경제적 효과가 매우 높을 것이다. 향후에도 고품질의 신선식품 분야는 식문화 변화와 소비자 수요증가에 따라 계속 증가할 것으로 예상되며, 따라서 소포장 관련 유통산업 기술의 수요도 급증할 것으로 예상된다.

신선식품의 유통 중 안전성 및 품질 안정성을 확보하기 위해서는 국내에서 생산되는 원료 농산물에 적합한 수확후 전처리, 포장, 운송 등의 일괄 시스템을 확립하여야 한다. 더욱이 소비자의 품질에 대한 인식은 선진국 수준으로 높아지고 있어 고품질, 차별화 등의 신선 유통기술에 의한 상품관리가 절실히 요청되고 있으나, 다양한 원료 농산물 특성에 대한 이해 부족, 소포장 유통관련 기술 미비 등의 실질적인 문제점들은 이에 부응하지 못하고 있다. 이러한 측면에서 본 연구에서 시도하는 새싹채소의 수확후 처리기술 및 기 능성 포장기술 등의 새로운 유통 관리기술의 개발 노력은 반드시 필요하다고 판단된다.

### 제 3 절 연구개발의 내용과 범위

| 구분   | 연도   | 연구개발의 목표                    | 연구개발의 내용  | 연구범위  |
|------|------|-----------------------------|---|---|
| 1차년도 | 2007 | ○ 새싹채소의 수확후 관리기술 확립 (주관)    | <ul style="list-style-type: none"> <li>- 새싹채소의 생리특성 및 품질특성 분석</li> <li>- 새싹채소의 수확후 적정 전처리방법 탐색</li> <li>- 환경조건 및 포장방법에 따른 새싹채소의 저장성 평가</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>- 환경조건에 따른 호흡률, 호흡지수의 측정 및 kinetics 분석</li> <li>- 속도별 초기 선택, 고형분 함량, 미생물 오염도, 관능적 품질의 측정 및 분석</li> <li>- 저온장해 증상 및 발생여부 측정</li> <li>- 전처리(수세/소독제) 조건에 따른 생리특성 및 품질특성의 측정 분석</li> <li>- 예냉처리에 따른 생리특성 및 품질특성의 측정 분석</li> <li>- 보관온도에 따른 저장 중 품질특성의 측정 분석</li> <li>- 포장방법(통기/밀폐, tray/pouch)에 따른 저장 중 품질특성의 측정 분석</li> </ul> |
|      |      | ○ 유통중 새싹채소의 품온변화 요인 구명 (위탁) | <ul style="list-style-type: none"> <li>- 기존 새싹채소 유통방식의 온도유지 효과 분석</li> </ul>  | <ul style="list-style-type: none"> <li>- 보냉용기, 포장재, 축냉재 조합에 따른 품온 변화 profile 측정 및 분석</li> <li>- 계절별 유통조건에 따른 품온 변화 profile 측정 및 분석</li> <li>- 정온 및 변온 상태에서의 품온 변화 profile 분석 및 예측모형 설정 검증</li> </ul>  |
|      |      | ○ 새싹채소의 수확후 관리체계 구축 (협동)    | <ul style="list-style-type: none"> <li>- 새싹채소의 적정 수확후 처리 현장적용 실증시험</li> </ul>   | <ul style="list-style-type: none"> <li>- 적정 수세처리에 따른 저온저장 중 품질특성 변화 측정 분석</li> <li>- 적정 예냉처리에 따른 저온저장 중 품질특성 변화 측정 분석</li> <li>- 적정 포장처리에 따른 저온저장 중 품질특성 변화 측정 분석</li> </ul>  |

| 구분   | 연도   | 연구개발의 목표                        | 연구개발의 내용   | 연구범위   |
|------|------|---------------------------------|--|--|
| 2차년도 | 2008 | ○ 온도감응 기능성 포장재의 적용기술 개발 (주관)    | - 온도감응 기능성 포장재의 설계 및 제조<br><br>- 새싹채소에 대한 온도감응 기능성 포장재의 적용성 평가 | -PCM을 이용한 새로운 온도감응 기능성 포장재의 고안 및 설계<br>-PCM을 함유한 prototype 온도감응 기능성 포장재의 제조<br>-온도감응 기능성 포장재의 적용방식에 따른 품질특성 변화 측정 분석<br>-온도감응 기능성 포장재의 적용비율 (용량)에 따른 품질특성 변화 측정 분석 |
|      |      | ○ 유통중 기능성 포장재의 품온유지 효과 극대화 (위탁) | - 온도감응 기능성 포장재의 유통중 온도유지 효과 분석                                 | -온도감응 기능성 포장재의 적용방식에 따른 품온 변화 profile 측정 및 분석<br>-온도감응 기능성 포장재의 적용비율 (용량)에 따른 품온 변화 profile 측정 및 분석<br>-온도감응 기능성 포장재 적용에 따른 유통조건에서의 품온 변화 profile 분석 및 예측모형 검증     |
|      |      | ○ 온도감응 기능성 포장재의 활용체계 구축 (협동)    | - 온도감응 기능성 포장재의 현장적용 실증시험                                      | -최적 형태의 온도감응 기능성 포장재 적용에 따른 유통중 품질특성 변화 측정 분석<br>-관행적 방식 대비 온도감응 기능성 포장재 적용에 따른 유통중 품질유지 효과 비교 분석  |

| 구분   | 연도   | 연구개발의 목표                       | 연구개발의 내용   | 연구범위   |
|------|------|--------------------------------|--|--|
| 3차년도 | 2009 | ○ 새싹채소의 신선도 유지 복합처리기술 개발 (주관)  | - 새싹채소에 대한 능동형 MAP 처리 조건 설정 및 적용성 평가<br><br>- 새싹채소에 대한 온도감응/능동형 MAP 병용처리 효과 분석 | -새싹채소의 유통중 품질 안정성 향상을 위한 최적 능동형 MAP 조건 설정<br>-능동형 MAP 처리에 따른 새싹채소의 유통중 미생물 안전성 평가 확인<br>-온도감응/능동형 MAP 병용처리에 따른 새싹채소의 품질특성 변화 측정 분석<br>-온도감응/능동형 MAP 병용처리에 따른 새싹채소의 미생물 안전성 평가 분석 |
|      |      | ○ 유통중 새싹채소의 품질유지 효과 최적화 (위탁)   | - 유통중 품질 영향인자의 변동 분석 및 예측  | -능동형 MAP 처리에 따른 품온 및 기체조성 변화 profile 측정 및 분석<br>-온도감응/능동형 MAP 복합적용에 따른 품온 및 기체조성 변화 profile 측정 및 분석<br>-온도감응/능동형 MAP 복합적용에 따른 품온 및 기체조성 변화 profile 예측모형 검증 및 적용방식 최적화 방안 도출      |
|      |      | ○ 신선도 유지 복합처리 기술의 활용체계 구축 (협동) | - 능동형 MAP 처리의 현장적용 실증시험  | -적정 능동형 MAP 처리에 따른 유통중 새싹채소의 품질특성 변화 측정 분석<br>-관행적 방식 대비 온도감응/능동형 MAP 복합적용에 따른 유통중 품질유지 효과 비교 분석   |

## 제 2 장 국내외 기술개발 현황

### 제 1 절 신선 농식품의 품질관리기술

선진국의 경우 신선 농산물의 수확후 관리기술은 농업 전반에 있어 상당한 위치에 있으며 부가가치 창출이 '생산 못지않다'는 인식 하에 유통뿐만이 아니라 1차 가공된 신선편이 제품생산을 통해 농림산물의 신선함과 편리성을 동시에 추구하여 소비자의 기호도 충족에 주력하고 있다.

신선 농산물의 수확후 관리 및 저온유통체계가 보편화된 선진국에서는 유통 판매시 상품의 편의성, 저장 안정성, 안전성 등이 강조되는 신선 농식품의 품질유지를 위해 여러 분야에서 많은 연구가 활발히 진행되고 있으나, 국내의 경우 아직까지 우리 실정에 맞는 기반 연구가 미약하여 이에 대한 연구 자료가 매우 미미한 상황이다.

새싹채소, 샐러드 혼합물 등을 포함하는 신선편이 식품에 관한 선진국의 연구사례를 종합적으로 살펴보면 제품의 품질을 우수한 상태로 수요자에게 공급하기 위한 물류시스템에 관한 연구, 초기 감염 미생물수를 저하시켜 유통기간을 연장하는 가공시스템에 관한 연구, 유통 중 품질변화를 억제하기 위한 전처리 및 포장방법 등에 관한 연구로 크게 구분된다(Wiley, 1994; Ahvenainen, 1996; 홍과 김, 1999).

신선편이 제품의 가공 이후부터 유통단계에서 발생하는 품질변화를 각각의 영향인자별로 나누어 보면 갈변, 조직 연화, 미생물 오염 증식 등으로 구별되며, 이들 인자의 억제 또는 방지 방법에 관한 연구가 다양하게 진행되고 있다(Nguyen-the & Carlin, 1994; Wiley, 1994).

갈변의 경우 기존에 사용해오던 효과적 갈변 방지제인 황화합물이 FDA로부터 제한을 받게 됨에 따라 이를 대체하기 위한 연구가 주류를 이루고 있는데, ascorbic acid 및 천연 황화합물 등의 환원제를 이용하는 방법, pH를 낮추어 갈변반응을 지연시키는 구연산 등의 산미제 사용, chelating 약품의 사용, 인산염 등의 무기염 사용방법 등과, 아울러 이들 약품을 절단 표면내부로 용이하게 침투시키기 위한 감압 및 가압 침투방법, 공기 중의 산소분압을 낮추기 위한 MA 또는 기능성 포장 등이 연구되고 있다(Sapers & Ziolkowski, 1987; Ohlsson, 1994).

연화 방지에 관련한 연구로는 칼슘 침지, MA 및 기능성 포장방법, PG와  $\beta$ -galactosidase의 천연 저해제 이용 등이 있으며, 최근에는 중온 처리방법에 관한 연구도 시도되고 있다. 미생물의 오염과 번식 억제를 위해서는 초기 감염을 줄이기 위한 정밀 진단 및 절단 부위에 잔존하는 각종 세포액 성분의 세척, pH 조절, 살균제 및 오존처리, MA 및 기능성 포장, 처리공정의 청결유지를 위한 CIP 및 미생물 오염 가능 공정을 중점적으로 관리하

는 HACCP 등에 관한 연구가 진행되고 있다(Nguyen-the & Carlin, 1994).

또한 원료의 특성에 따라 최종 제품에서 발생하는 문제점이 다르게 나타나는데, 채소류의 경우 과일에 비해 상대적으로 pH가 높기 때문에 미생물 오염 증식이 높은 비중을 차지하고 있다. 신선편이 식품의 제조과정에서 원료의 박피, 절단, 세절 과정 중 표면/절단면은 공기에 노출되어 세균, 효모, 곰팡이 등에 오염될 수 있고, 특히 채소류의 경우 대부분 저 산성(pH 5.8-6.0) 식품으로 수분함량이 높으며 단면의 수가 많아서 미생물 생육에 이상적인 조건이 될 수 있다.

신선편이 식품이 시장에 이미 일반화된 선진국에서는 이들 제품의 보존성 연장 및 안전성 확보를 위한 가공, 포장기술이 기본적으로 일정 수준에 도달되어 있다(Kader, 1996). 최근에는 한 가지 처리방법에 의존하여 미생물의 사멸 또는 변패 방지를 추구하기보다는 몇 가지 개별공정을 복합 적용함으로써 미생물의 점진적 감소 및 품질변화 억제를 지향하는 hurdle 개념이 도입되고 있으며(Gould, 1995), 비열살균, 중온처리 등의 각종 물리화학적 처리기술에 대한 연구도 활발히 진행되고 있다.

신선편이 식품에 적용되고 있는 포장기술로서는 선택적 기체투과성이 있는 플라스틱 필름을 이용하여 포장내부 이산화탄소 농도를 높이고 산소의 농도를 낮추어줌으로서 미생물 증식과 호흡관련 생리대사 작용을 억제시키는 환경기체조절포장(MAP)기법이 주로 사용되고 있다. 특히 플라스틱 필름의 산소와 이산화탄소 투과도는 필름의 종류, 재질, 밀도, 면적, 두께, 공기압, 온도 등에 의해 영향을 받는다. 신선편이 제품의 포장에는 산소에 대한 이산화탄소 투과비율이 약 2-6배 정도 높은 재질을 사용하며, 이러한 필름으로는 LDPE, HDPE, PP, EVA 등이 있다(Parry, 1993).

또한 포장 내용물의 품질저하를 유발하는 산소, 에틸렌, 미생물, 수분 등의 인자를 제거하거나 그 작용을 억제하는 각종 기능성 물질을 활용하는 기능성 포장(active packaging) 방법도 연구되고 있다(Looney, 1995). 그밖에도 포장된 제품의 유통시 품질상태를 포장을 뜯지 않고서도 식별할 수 있도록 하는 indicator를 포장재에 부착하기도 한다(Gould, 1995).

한편 국내의 경우 아직까지 우리 실정에 맞는 기반 연구가 미약하여 신선편이 식품에 대한 연구 자료가 많이 축적되어 있는 상황이 아니지만, 최근 들어 신선편이 식품시장이 점차 확대됨에 따라 제품의 품질유지와 관련하여 다양한 연구 시도가 보고되고 있다.

조미 채소류 신선편이 상품의 품질저하 방지를 위해 원료 가공후 저온저장 중 전처리별 품질변화와 포장재 적용에 따른 품질변화를 측정된 결과, 무처리 대조구와 비교했을 때 냉수세나 염소수 처리는 절단 대과의 미생물학적 품질에는 그다지 큰 영향을 미치지 않았으나 외관평가에 있어서는 냉수세나 염소수 처리구가 상대적으로 우수하게 나타났고 포장재의 기체투과도가 낮은 두꺼운 필름일수록 저장 중 이화학적, 미생물학적, 관능적

측면에서 시료의 품질변화가 적게 나타났다(홍 등, 2000).

신선편이 가공 채소류의 유통 중 품질보존을 위한 적정 포장방법으로서 수동 MAP, 능동 MAP, 감압포장 등을 박피 양파에 적용하여 저장 중 품질변화를 살펴본 결과, 전체적으로 포장방법에 따른 박피 양파의 표면 색, 중량 감소, 미생물 증식은 차이를 분명하게 구분하기 어려웠으나, 외관품질과 부패율 측면에서는 일정한 차이를 식별할 수 있었다. 기체투과성 LDPE 필름에 일정 수준의 감압을 적용하여 밀봉 포장한 MVP가 다른 포장구에 비해 상대적으로 박피 양파의 저장품질을 우수하게 유지하는 것으로 확인되었다(홍 등, 2003).

고품질 채소의 전처리 기술로서 중온처리의 적용 가능성을 확인하고자 박피 양파의 열수 처리에 따른 저장 중 품질특성 변화를 살펴본 결과, 생체 중량감소, 표면색 변화, 미생물 감소는 상대적으로 고온(70°C 이상) 처리구에서만 유의적인 차이를 나타내었다. 그러나 저장중기부터는 처리구별로 유의적인 미생물 생균수 차이를 구분할 수 없었다. 관능평가에서는 60°C 처리구가 변색, 시듦, 부패 항목에서 상대적으로 낮은 점수를 나타내었고 외관품질도 우수하여 박피 양파의 저장 중 품질유지에 가장 유리한 열수처리 온도임을 확인할 수 있었다(Lee et al., 2003).

고품질 신선편이 채소제품의 미생물 안전성 확보를 위해 다양한 물리화학적 전처리방법을 사용하여 세절 양배추에 접종된 혼합 미생물 균주의 저감/억제효과를 검토한 결과, 60-65°C의 열수에서 1분간 침지하는 중온 열수처리, 1% 농도의 초산용액이나 1-2% 농도의 탄산나트륨용액과 같은 유기산 처리, 90 ppm 이상의 차아염소산나트륨, 50 ppm 이상의 과산화초산이나 1-2% 수준의 과산화수소와 같은 소독제 처리, 산성 및 알칼리성 전해수를 사용했을 때 현저한 생균수 감소를 확인할 수 있었다(홍 등, 2006).

적정 전처리 및 포장방법을 병용 처리하여 세절 양배추에 접종된 혼합 미생물의 저감/억제효과를 검토한 결과, 차아염소산나트륨, 전해수, 과산화초산의 경우 전처리 종류에 따른 생균수의 유의적 차이가 구분되지 않았다. 포장방법의 영향 측면에서 균주의 고유 특성에 따라 다소 차이가 있으나 미생물 생육억제에 효과적일 것으로 판단되었던 저 O<sub>2</sub>/고 CO<sub>2</sub>의 MAP 처리는 미생물 제어에 긍정적인 영향을 미치지 못하였다(홍 등, 2006).

상업적으로 활용되고 있는 진공포장의 경우 상품의 외관품질이 매우 우수하게 유지되더라도 저온유통 신선편이 채소류에서 *L. monocytogenes*와 같은 병원균의 급격한 증식을 유발할 가능성이 확인되었다. 그러나 고 O<sub>2</sub>/고 CO<sub>2</sub>의 MAP 처리는 저장 중 비교적 외관 품질을 양호하게 유지하였고 병원 미생물의 생균수를 유의적으로 낮게 조절하므로 신선편이 채소제품의 미생물 안전성 향상에 유익한 처리방법으로 판단되었다(홍 등, 2006).

원료 농산물에서 발견되는 세균군은 매우 광범위하지만(Table 1), 신선 채소의 주요 오

염 미생물은 *Pseudomonas*와 *Erwinia* 속으로 초기 균수는 대략  $10^5$  CFU/g 수준이다. 그러나 저장온도가 올라가고 포장 내의 CO<sub>2</sub> 농도가 높아지면 미생물군의 구성에도 변화가 생겨 젖산균 등이 우점 미생물로 자리 잡을 수 있다. 더욱이 *Listeria*, *Yersinia*, *Salmonella*, *Aeromonas*와 같은 일부 병원균은 저온에서도 생육할 수 있으므로 냉장 유통되는 신선편이 식품에 이들 병원성 미생물의 존재 가능성을 부인할 수 없으며(Table 2), 실제로 이들에 의한 식중독 발생사례도 여러 차례 보고된 바 있다(Table 3 & 4).

실제로 채소류, 특히 유기 농산물은 다양한 종류의 미생물을 함유하고 있으며, 일반적으로  $10^5$ - $10^7$  CFU/g 가량 오염되어 있다(Francis et al., 1999). 이 중 80-90% 정도가 Gram 음성 간균으로서 *Pseudomonas*, *Enterobacter* 및 *Erwinia* 종이 대부분이다(Manvell, 1986; Brocklehurst et al., 1989; Marchetti et al., 1992). 젖산균은 혼합 샐러드나 당근 등에서 검출되며, 특히 온도변화가 클 때 샐러드에 많이 존재한다. 또한 *Cryptococcus*, *Rhodotorula*, *Candida*와 같은 효모나 *Fusarium*, *Mucor*, *Rhizopus*, *Penicillium*과 같은 곰팡이도 흔히 검출된다(Webb, 1987; Brackett, 1994). 그밖에도 신선한 상추, 샐러드용 채소 및 새싹채소에서 *Salmonella* spp., *E. coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes*, *Shigella sonnei* 등이 검출되거나 식중독을 유발한 사례가 있다(Itoh et al., 1998; CDC, 2006).

리스테리아증의 발생은 전 세계적으로 증가하는 추세에 있다. 미국 질병통제센터(CDC)의 발표에 따르면 매년 미국에서만 약 1,600-1,800건의 리스테리아증이 발생하며, 이로 인해 약 400명이 매년 사망한다고 보고되고 있다(Gellin et al., 1987). 1981년 캐나다 마리타임 주에서 일어난 리스테리아 사고의 경우, 계절 양배추 샐러드가 원인이었으며 41명의 환자가 발생하여 17명이 사망하였다(Schlech, 1983). 1979년 미국 보스턴에서는 샐러리, 토마토, 상추 등의 채소로 인하여 20건의 리스테리아증이 발생하였다. 플라스틱 필름을 사용한 MA포장 버섯에서 *Cl. botulinum* 식중독 발생사례도 보고되었다(Sugiyama, 1975).

Table 1. Microorganisms isolated from fresh produce (Brackett, 1996)

| Vegetable    | Microorganisms isolated  |
|--------------|--|
| Asparagus    | <i>Aeromonas</i>   |
| Bell peppers | <i>Aspergillus</i> , <i>Fusarium</i>   |
| Broccoli     | <i>Aeromonas</i>   |
| Cabbage      | <i>Pseudomonas</i> , <i>Alternaria</i> , <i>Botrytis</i> , <i>Cladosporium</i> , <i>Penicillium</i>  |
| Carrot       | <i>Bacillus</i> , <i>Erwinia</i> , <i>Pseudomonas</i>  |
| Cauliflower  | <i>Aeromonas</i>   |
| Cucumber     | <i>Citrobacter</i> , <i>Enterobacter</i> , <i>Erwinia</i>  |
| Lettuce      | <i>Aeromonas</i> , <i>Citrobacter</i> , <i>Enterobacter</i> , <i>Proteus</i>   |
| Tomato       | <i>Acinetobacter</i> , <i>Corynebacterium</i> , <i>Enterobacter</i> , <i>Escherichia</i> ,<br><i>Flavobacterium</i> , <i>Klebsiella</i> , <i>Lactobacillus</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>Xanthomonas</i> |



Table 2. Occurrence of potential foodborne pathogens in minimally processed fresh (MPF) vegetables and similar products (Nguyen-the & Carlin, 1994)

| Microorganisms                 | Product                         | Positive samples(%) | Observations  | Country |
|--------------------------------|---------------------------------|---------------------|---|---------|
| <i>Listeria monocytogenes</i>  | Chicory salads                  | 4.8                 |   | France  |
|                                | Chicory salads                  | 8.8                 | < 1 CFU/g   | France  |
|                                | Shredded cabbage                | N.S.                |   | France  |
|                                | Processed vegetables and salads | 13                  |   | England |
|                                | Mixed vegetables                | 7                   |   | England |
|                                | Mixed vegetables                | 5                   |   | Germany |
|                                | Mixed vegetables                | 19                  |   | England |
|                                | Mixed vegetables                | 3 to 11             | < 100 CFU/g   | Europe  |
|                                | Range of MPF vegetables         | 0                   |   | France  |
| <i>Yersinia enterocolitica</i> | Range of MPF vegetables         | 76                  | Strains not pathogenic to man                             | France  |
|                                | Range of MPF vegetables         | 22.2 to 55.6        | Strains not pathogenic to man                             | France  |
|                                | Range of MPF vegetables         | 75                  | No indication of pathogenicity                            | France  |
|                                | Mixed vegetables                | N.S.                | Strains not pathogenic to man except one strain ambiguous | England |
| <i>Aeromonas hydrophila</i>    | Range of MPF vegetables         | N.S.                | 10 <sup>4</sup> -10 <sup>6</sup> CFU/g                    | Italy   |
|                                | Prepared salads                 | 21.6                |   | England |
| <i>Staphylococcus aureus</i>   | Mixed vegetables                | 0                   | Limit of detection 20 CFU/g                               | England |
|                                | Range of MPF vegetables         | 0                   | Limit of detection 100 CFU/g                              | Swiss   |
|                                | Mixed vegetables                | 3 to 14             |   | USA     |
| <i>Escherichia coli</i>        | Mixed vegetables                | 25                  | < 500 CFU/g   | England |
|                                | Range of MPF vegetables         | 0                   | Limit of detection 10 CFU/g                               | Swiss   |
|                                | Mixed vegetables                | 2 to 6              |   | USA     |
| <i>Salmonella</i> spp.         | Range of MPF vegetables         | 0                   | Limit of detection 1 CFU/25 g                             | France  |

N.S.: not specified.

Table 3. Some bacterial foodborne diseases associated fresh produce (Hurst, 1995)

| Disease         | Bacterial cause                         | Outbreak country | Commodity                    |
|-----------------|---|------------------|------------------------------|
| Gastroenteritis | <i>Staphylococcus aureus</i>            | USA              | Import, canned mushrooms     |
| Shigellosis     | <i>Shigella sonnei</i>                  | USA              | Shredded lettuce             |
| Listeriosis     | <i>Listeria monocytogenes</i>           | Canada           | Shredded cabbage in Coleslaw |
| Diarrhea        | <i>Enterotoxigenic Escherichia coli</i> | Mexico           | Salad of law vegetables      |
| Botulism        | <i>Clostridium botulinum</i>            | USA              | Coleslaw(MA-packaged)        |
|                 | <i>Clostridium botulinum</i>            | USA              | Chopped garlic in oil        |
| Salmonellosis   | <i>Salmonella javiana</i>               | USA              | Sliced/whole raw tomatoes    |
|                 | <i>Salmonella chester</i>               | USA              | Cut and served muskmelon     |
|                 | <i>Salmonella poona</i>                 | USA              | Salad-bar cut mushmelon      |
|                 | <i>Vibrio cholera</i>                   | USA              | cabbage                      |
|                 | <i>Bacillus cereus</i>                  | USA              | Bean sprouts                 |
|                 | <i>Virus hepatitis</i>                  | USA              | Lettuce                      |

Table 4. Causes of 29 outbreaks (1990-2003 in USA) associated with sprout (CFSAN, 2005)

| Bacterial cause                           | No. of Outbreaks | No. of Cases |
|---|------------------|--------------|
| <i>Escherichia</i>                        | <b>5</b>         | <b>141</b>   |
| <i>E. coli</i> O157:H7                    | 3                | 120          |
| <i>E. coli</i> O157:NM                    | 2                | 21           |
| <i>Salmonella</i>                         | <b>24</b>        | <b>1948</b>  |
| <i>S. Anatum</i>                          | 1                | 15           |
| <i>S. Chester</i>                         | 1                | 26           |
| <i>S. Enteritidis</i>                     | 4                | 244          |
| <i>S. Havana, S. Cubana, S. Tennessee</i> | 1                | 40           |
| <i>S. Infantis, S. Anatum</i>             | 1                | 109          |
| <i>S. Kottbus</i>                         | 1                | 32           |
| <i>S. Mbandaka</i>                        | 1                | 83           |
| <i>S. Montevideo, S. Meleagridis</i>      | 1                | 650          |
| <i>S. Muenchen</i>                        | 2                | 99           |
| <i>S. Newport</i>                         | 2                | 202          |
| <i>S. Saint Paul</i>                      | 2                | 52           |
| <i>S. Senftenberg</i>                     | 1                | 60           |
| <i>S. Stanley</i>                         | 2                | 158          |
| <i>S. Typhimurium</i>                     | 1                | 119          |
| <i>Salmonella</i> spp.                    | 3                | 59           |

또한 1982년부터 1994년 사이에 미국에서는 *E. coli* O157:H7에 의한 식중독이 다수 발생하였다. 주요 식품 오염원은 소고기(약 32%)였으나 채소나 샐러드도 약 6% 정도 오염되었다(Doyle, 1990). 무로 인한 식중독 사고도 발생하였는데, 오염된 용수 또는 거름으로 재배한 채소류와 부적절한 세척과정에 기인한 것으로 밝혀졌다(Como-Sabetti et al., 1997).

한편 *Salmonella*는 위장염을 유발하는 균주로서 채소 섭취 후 식중독 발생사례가 빈번하였다. 1988년 영국에서는 콩나물을 섭취한 후 대규모로 살모넬라 식중독에 감염된 사례가 있었으며, 역학적인 조사결과 토마토, 양배추 샐러드 등을 섭취한 환자의 분변에서도 같은 균이 분리되었다(O'Mahony et al., 1990; Wood et al., 1991). 또한 미국에서는 연간 140만 건의 *Salmonella* 균에 의한 식중독이 발생한다고 보고되고 있다(Lin, 2002).

일반적으로 새싹채소에서 병원 미생물의 검출 원인은 종자와 발아 재배, 수확후로 나눌 수 있다. 특히 주원인으로 작용하는 종자의 경우, 야생 동물, 토양, 관개수, 부적절한 보관 및 운송, 소독처리, 작업환경 등으로부터 오염될 수 있다. 재배 및 수확후의 오염 경로로는 용수와 공기, 얼음, 세척, 선별, 포장 등의 처리장치, 수송 차량, 부적합한 저장온도 및 포장, 부적절한 취급 등이라고 할 수 있다(Velani & Roberts, 1991; FDA, 1999). 이상에서 살펴본 바와 같이 선진국에서도 새싹채소를 포함한 신선 농식품의 미생물 안전성에 대한 체계적인 관리가 아직까지 부족한 상태로 더 많은 연구노력이 필요한 상황이다.

## 제 2 절 신선 농식품의 단열포장기술

발포수지 expanded polystyrene (EPS) 상자와 같은 보냉용기와 축냉재의 조합은 신선식품의 소포장 기술에 있어 많은 기술적, 경제적 장점에 의해 널리 쓰여 왔고, 이에 대한 연구는 지난 20세기부터 활발하게 이루어져 왔다.

특히 단위포장 시스템에서의 열전달 현상에 대해서는 많은 연구가 이루어져, 내부 온도 변화를 열전달계수(Khalifa, 2001; Erdogdu, 2008), 외부 온도 조건(Sastry & Kilara, 1983; Zuritz & Sastry, 1986), 축냉재의 종류와 배치(Alasalvar & Nesvadba, 1995; Stubbs et al., 2004; Casada et al., 2008), 대상 냉동식품의 종류(Zuritz & Singh, 1985; Zuritz & Sastry, 1986; Agnelli & Mascheroni, 2001)와 관련하여 정리한 연구가 활발히 이루어져 왔다.

최근에는 다양한 단열포장 상자나 봉투의 저항치(resistance value)와 다양한 축냉재의 열 흡수율(heat absorption rate)을 측정하여 비교한 연구도 있었다(Singh et al., 2008). 이러한 저항치와 열 흡수율은 저온 유통에 필요한 축냉재의 양을 판단하는데 이용될 수 있다.

단열포장 내부에서 열음에 의한 생선 냉각 시 온도변화를 예측하는 분석모형(analytical model)이 제시된 바 있는데, 이 모델은 내부 온도가 거의 일정하다고 가정하는 lumped system 방법을 사용하여 냉각시간과 생선 온도에 대한 모형계수를 찾아 제시하였다(Jain & Pathare, 2007).

근래에는 수치모형(numerical model)이 열전달현상 분석에 중요한 도구로 각광받고 있다. 변온조건에 노출된 제품의 적정 온도를 유지하기 위해 필요한 축냉재 양을 계산하는데 이러한 수치모형이 사용된다(Matsunaga et al., 2007).

또한 이러한 열전달 모델의 응용 및 분석에 대한 연구도 상당수 이루어졌다. Genetic algorithm은 단열포장 설계 최적화에 사용되었고(East & Smale, 2008), 유한체적법을 기초로 하는 computational fluid dynamics를 이용한 열전달 모델도 개발되었다(Moureh & Derens, 2000; Moureh et al., 2002).

## 제 3 장 연구개발 수행 내용 및 결과

### 제 1 절 연구개발 수행방법

국내산 새싹채소로서 메밀 새싹의 생리특성과 품질특성을 조사하고, 주요 수확후 선도 유지 처리기술에 관한 자료를 고찰하여 환경 조건에 따른 호흡률, 호흡지수, 저온장해 발생여부 등의 생리특성과 숙성재배 정도에 따른 설탕, 고형분 함량, 미생물 오염도, 관능적 품질 등의 품질특성을 각각 검토함으로써 기초적인 메밀 새싹채소의 저장특성을 구명하였다.

새싹채소의 수확후 적정 전처리방법을 탐색하고자, 수세여부, 소독제 종류 등의 전처리 조건에 따른 저장 중 새싹채소의 생리특성 및 품질특성 변화를 측정하였고, 예냉(냉수, 냉풍)처리에 따른 저온저장 중 생리특성 및 품질특성 변화를 측정 분석하여 최적 처리방법을 도출하였다. 또한 환경조건 및 포장방법에 따른 새싹채소의 저장성을 평가하기 위해 보관온도에 따른 저장 중 품질특성을 측정하였고, 포장방법(통기/밀폐, tray/pouch)에 따른 저장 중 품질특성을 측정 분석하여 최적 유통조건을 도출하였다.

기존 새싹채소의 직배 유통방식에서 내부온도 유지 효과를 분석하고자, 상업적으로 주로 사용하고 있는 보냉용기, 포장재, 축냉재의 상호 조합에 따른 품온 변화 profile을 측정하였고, 계절별 유통 온도조건에 따른 품온 변화 profile을 측정함으로써 정온 및 변온 상태에서의 품온 변화 profile을 분석하여 유통용 포장내부 새싹채소의 품온을 신뢰도 높게 예측할 수 있는 수식모형을 설정하고 검증하였다.

새싹채소의 적정 수확후 처리를 생산현장에서 적용하여 실증 시험하고자, 주관연구기관의 수행 연구결과에 근거하여 선정한 적정 수세처리, 예냉처리, 포장처리를 협동연구기관이자 참여기업인 참한싹(주)의 메밀 새싹 재배공장에서 각기 구분하여 독립적으로 실시한 후 관행적으로 출고하던 새싹채소와 비교하여 저온저장 중 품질특성 변화를 측정 분석함으로써 효율적인 새싹채소의 수확후 관리체계를 구축하였다.

소비자 직배용 새싹채소의 유통에 적합한 온도 감응형 기능성 포장기술을 개발 적용하고자, 우선 PCM을 이용한 새로운 온도감응 기능성 포장재를 고안하여 설계하였고, 적정한 소재의 상용 PCM을 함유한 prototype 온도감응 기능성 포장재를 실험실 수준에서 제조하였다. 온도감응 기능성 포장재의 설계 및 제조에 활용하기 위해 해외 포장박람회(독일 Interpack)에 참가하여 선진국의 관련 유사제품을 비교 검토하였다. 새싹채소에 대한 온도감응 기능성 포장의 적용성을 평가하기 위해 구체적으로 온도감응 기능성 포장재의 적용방식과 적용비율(용량)에 따라 내용물인 메밀 새싹의 저장 중 품질특성 변화를 측정 분석하였다.

새싹채소 유통 중 기능성 포장의 품온유지 효과를 극대화하기 위하여 온도감응 기능성 포장의 온도유지 효과를 분석하였다. 구체적으로 주관연구기관에서 개발한 온도감응 기능성 포장재의 적용방식과 적용비율(용량)에 따른 포장내부의 품온 변화 profile을 측정 분석하였고, 온도감응 기능성 포장재 적용에 따른 유통조건에서의 내부 품온 변화 profile을 분석하고자 전년도에 개발한 수식모형을 활용하여 예측모형을 검증하였다.

소비자 직배용 새싹채소에 대한 온도감응 기능성 포장의 활용체계를 구축하기 위해 온도감응 기능성 포장기술을 현장에서 적용하여 실증 시험하고자, 주관연구기관의 수행 연구결과에 기초한 최적 형태의 온도감응 기능성 포장재를 협동기관인 참한씩(주)의 메밀 새싹 재배공장에서 상품에 직접 적용하고 이에 따른 메밀 새싹의 유통 중 품질특성 변화를 측정함으로써 관행적 포장방식과 대비하여 온도감응 기능성 포장재 적용에 따른 유통 중 품질유지 효과를 비교 분석하였다.

새싹채소의 신선도 유지 복합처리기술을 개발하기 위해 메밀 새싹채소에 대한 능동형 환경기체조절포장(MAP) 처리조건을 설정하였고, 저장실험을 통해 적용성을 평가하였다. 구체적으로 새싹채소의 유통 중 품질 안정성 향상을 위한 최적 능동형 MAP 조건을 해외 시판제품의 분석 후 참조하여 설정하였고, 능동형 MAP 처리에 따른 새싹채소의 유통 중 미생물 안전성을 평가하여 확인하였다.

또한 메밀 새싹채소에 대한 온도감응 기능성 포장재와 능동형 MAP의 병용처리 효과를 분석하고자, 전년도에 개발한 온도감응 기능성 포장재를 외부에 사용하고 내부에는 능동형 MAP를 처리한 후 저온저장 중 새싹채소의 품질특성 변화를 측정하였다. 아울러 이러한 복합처리기술의 주요 병원성 미생물(*Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *E. coli* O157)에 대한 안전성을 평가하기 위해 인위적으로 표준 균주를 접종한 후 저장 중 생균수 변화를 측정 분석하였다.

새싹채소의 품질유지 효과를 최적화하기 위해 유통 중 품질 영향인자의 변동을 분석 예측하고자, 능동형 MAP 처리에 따른 포장내부의 품온과 기체조성 변화 profile을 측정하였고, 아울러 온도감응 기능성 포장재와 능동형 MAP의 복합처리에 따른 내부 품온 및 기체조성 변화 profile을 측정 분석하였다. 이를 바탕으로 전년도에 개발한 수식모형을 활용하여 온도감응 기능성 포장재와 능동형 MAP 복합적용 시 품온 및 기체조성 변화 profile 예측모형을 검증하고, 궁극적으로 직배용 새싹채소의 신선도 유지를 위한 유통기술 적용방식의 최적화 방안을 도출하였다.

소비자 직배용 새싹채소에 대한 신선도 유지 복합처리 기술의 활용체계를 구축하기 위해 능동형 MAP 처리기술을 현장에서 적용하여 실증 시험하고자, 주관연구기관의 수행 연구결과에 기초한 최적 조건의 능동형 MAP 처리와 복합적인 온도감응 포장처리를 협동기관인 참한씩(주)의 메밀 새싹 재배공장에서 상품에 직접 적용하고, 이에 따른 메밀 새

싹의 유통 중 품질특성 변화를 측정함으로써 관행적 유통방식과 대비하여 온도감응 기능성 포장재와 능동형 MAP 처리의 복합적응에 따른 유통 중 품질유지 효과를 실질적으로 비교 분석하였다.

본 연구개발과제의 최종 목표인 소비자 직배용 소포장 새싹채소의 수확후 관리 및 신선도 유지 유통기술을 개발하여 고품질의 안전한 새싹채소를 안정적으로 공급할 수 있는 유통체계 구축에 기여함으로써 새로운 기능성 식품소재인 국내산 새싹채소의 상품 경쟁력 확보와 부가가치 제고를 추진하는데 있어, 신선도 유지 유통기술 개발 분야를 담당한 주관연구기관(한국식품연구원)과 유통 중 품질영향인자 분석연구 분야를 담당한 위탁연구기관(서울대학교), 신선도 유지 실증연구 분야를 담당한 협동연구기관(참한싹(주): 참여기업)은 상호 유기적인 관계를 유지하면서 서로 연구결과를 주기적으로 교환 적용하여 최종 연구결과 도출시 극대화된 상승효과를 얻을 수 있도록 노력하였다.

## 제 2 절 실험 재료 및 방법

### 1. 새싹채소 시료 및 화학 약제

신선 새싹채소 시료로서 메밀(*Fagopyrum esculentum* Moench) 새싹을 사용하였다. 메밀 새싹은 경기도 파주시 소재 참한싹(주)에서 2007년 6월부터 2010년 4월 사이에 생산한 것으로 0.2% 염소수 또는 과산화수소수로 소독 처리한 메밀 종자를 발아시켜 재배 판에 이식한 다음 25-30°C, 90-95% RH 조건에서 하루 4시간 간격으로 약 90초간 여과된 지하수를 분무하여 7-8일간 재배하였다. 성숙기 상태의 메밀 새싹은 수확후 100 ppm 염소수로 살균소독한 후 음용수로 2회 행균 처리하였고, 다시 냉수(얼음물)로 예냉 처리한 후 탈수 과정을 거쳐 용기에 포장하였다. 새싹시료는 실험 당일 오전에 수확한 것을 발포 폴리스티렌(EPS) 상자에 얼음팩 축냉재와 함께 넣어 밀봉, 운송한 후 실험에 사용하였다. 메밀 종자는 새싹 재배에 사용한 것과 동일하며, 사전 소독 처리를 하지 않고 그대로 생산업체에서 수거한 후 실험에 사용하였다. 메밀 새싹은 실험목적에 따라 수확 후 염소수 세척, 행균, 예냉 처리를 달리하여 사용하였다. 전처리 및 분석 실험에 사용된 모든 화학약품은 Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA), Junsei Chem. (Tokyo, Japan) 또는 Showa Chem. Ind. (Tokyo, Japan)의 GR 등급 제품을 구입하여 사용하였다.

### 2. 미생물 균주 및 선택배지

새싹시료에 접종할 병원 미생물 표준균주로서 *Escherichia coli* O157:H7 (ATCC-43895), *Salmonella* Typhimurium (ATCC-14028), *Staphylococcus aureus* (ATCC-14458), *Listeria monocytogenes* (ATCC-19111)를 한국식품연구원 미생물 균주은행에서 분양받아 실험에 사용하였다. 이들 개별 균주의 분리 및 배양을 위해 공인 선택배지로서 *E. coli* O157:H7은 sorbitol MacConkey agar (Difco Lab., Sparks, MI, USA), *S. Typhimurium*은 보조제가 0.46% 첨가된 XLT4 agar (Merck, Darmstadt, Germany), *S. aureus*는 egg york tellulite emulsion이 0.05% 첨가된 Baird-Parker medium (Oxoid, Cambridge, UK), *L. monocytogenes*는 보조제가 0.01% 첨가된 Oxford Listeria selective agar (Merck)를 사용하였다. 한편 메밀 새싹 또는 종자 시료의 일반 미생물 검사를 위해 총균수 확인에는 plate count agar (Merck), 대장균균은 Chromocult agar (Merck) 배지를 사용하였다.

### 3. 미생물 배양 및 접종

각각의 미생물 표준균주는 tryptic soy broth (Difco Lab.) 배지 30 mL에 slant 상태의 보관 균주를 백금으로 1-2회 채취하여 접종하고, 24시간 간격으로 37°C에서 2회 연속 배양한 다음 접종 모용액으로 사용하였다. 개별 균주의 모용액을 액상 영양배지에 일정량씩 접종한 후 *S. aureus*, *L. monocytogenes*는 37°C, *E. coli* O157:H7, *S. typhimurium*은 30°C에서

16시간씩 배양하여 대수증식 후반기에 도달하도록 조절하였다. 이와 같이 순수 배양한 병원 미생물 표준균주를 별도의 세척과정을 거치지 않고 각각  $10^8$ - $10^9$  CFU/mL 수준으로 서로 혼합하여 메밀 새싹시료의 미생물 접종액으로 사용하였다. 미생물 접종은 메밀 새싹시료를 약 200 g씩 PP tray 용기(21.5×14.5×5 cm, Osung Ind. Co., Yangju, Korea)에 담은 후 clean bench 안에서 미리 준비한 균주 혼합액 2 mL을 시료 표면 일정 부위에 균일하게 묻혀서(spotting inoculation) 최종 균체량이 약  $10^6$  CFU/g 수준에 이르도록 접종한 다음  $5\pm 2^\circ\text{C}$ , 85-90% RH로 유지되는 냉장고에서 3-4시간 정도 보관하여 균체가 메밀 새싹조직에 고르게 스며들도록 하였다.

#### 4. 기능성 포장재 준비

온도감응 기능성 포장재는 기존 사각 얼음팩 축냉재(16×21.5 cm, 350 g)와 다르게 유연성을 갖는 장방형 또는 엠보싱형의 2가지 형태로 실험실에서 자체 제작하였다. 장방형의 유연성 보냉재는 2종류의 각기 다른 상변화 물질(PCM), 즉 탄화수소(hydrocarbons) 계열 tetradecane 원료의 Rubitherm<sup>®</sup> RT-2 (Rubitherm Technologies GmbH, Berlin, Germany)와 polyacrylate 원료의 고흡습성 고분자(SAP, Kolon Chemical Co., Seoul, Korea)를 충전제로 사용하였고, 엠보싱 형태는 SAP만을 사용하였다. 구체적으로 장방형의 유연성 보냉재는 두께 33-35  $\mu\text{m}$ , 크기 21×70 cm의 PET/CPP 필름봉투에 Rubitherm<sup>®</sup> RT-2를 약 30 mL씩 (10 mL은 약 7.54 g) 주입한 후 가열 접착하였고, 일정 간격(5-10 mm)을 띄운 후 다시 동일한 양을 넣어 가열 접착하는 방식으로 전체 중량이 약 350 g에 이르도록 제작하였다. PCM으로서 polyacrylate를 사용한 보냉재는 두께 65-70  $\mu\text{m}$ , 크기 21×70 cm의 PE 필름봉투에 0.1%(w/v) polyacrylate 용액 약 50 mL씩(10 mL은 약 10 g)을 담고 앞서와 같은 방식으로 제조하였다. 한편 엠보싱 형태의 유연성 보냉재는 완충용 포장재로 흔히 사용되는 air cell 또는 air bubble 필름(21×60 cm)의 개별 cell 내부에 0.1%(w/v) polyacrylate 용액 약 0.5 mL씩을 주입한 후 냉동실에 보관하여 동결된 상태로 실험에 사용하였다. 이들 PCM과 포장용기의 주요 열특성 자료는 Table 5에 정리된 바와 같다.

Table 5. Thermal properties of the used packaging materials at 25°C

| Packaging material | Density (kg/m <sup>3</sup> ) | Thermal conductivity (W/m·K) | Specific heat (kJ/kg·K) |        | Latent heat (kJ/kg) |
|--------------------|------------------------------|------------------------------|-------------------------|--------|---------------------|
|                    |                              |                              | Solid                   | Liquid |                     |
| EPS box            | 19                           | 0.035                        | 1.703                   | -      | -                   |
| PP tray            | 950                          | 0.4                          | 1.925                   | -      | -                   |
| MPA                | 944                          | 0.552                        | 1.2                     | 2.8    | 329.4               |
| SAP                | 948                          | -                            | 1.6                     | 3.0    | 350.7               |
| RT-2               | 730                          | 0.2                          | 1.8                     | 2.4    | 201.6               |



## 5. 새싹채소 시료 처리방법

### 가. 전처리 및 포장처리

메밀 새싹채소의 수확후 전처리 방법으로서 차아염소산염용액(50, 100, 150 ppm), 전해수[0.13% NaCl 용액으로 전기분해수 생성기(Boin International Co., Acera 2000, Suwon, Korea)를 사용하여 산성(pH 2.5), 약알칼리(pH 8.6), 알칼리(pH 11.78)의 전해수 제조], 이산화염소수[이산화염소 생성기(Boobuck Entech Co., Oxyplus, Uijeongbu, Korea)를 사용하여 10, 20, 40 ppm 농도의 이산화염소수 제조], 오존수[오존 생성기(Ozone Tech., 1202RS, Bucheon, Korea)를 사용하여 2.5, 5, 7.5 ppm 농도의 오존수 제조] 용액에 새싹시료를 침지하였다가 탈수 후 수거하는 방식으로 소독제 처리를 적용하여 새싹 내재 미생물의 저감/억제효과를 측정 비교하였다. 구체적으로 새싹시료를 플라스틱 바구니에 50 g씩 담은 후 각각의 전처리 용액에 1분간 침지하였다가 회수하여 clean bench 안에서 종이타월로 물기가 제거되도록 약 5분 동안 방치한 다음, 멸균 시료봉투(Whirl Pak<sup>®</sup> B01195, Nasco Co., Fort Atkinson, WI, USA)에 담아 5±2℃, 85-90% RH로 유지되는 냉장고에서 6일간 저장하면서 호기성 세균, 대장균군 등의 미생물 생균수를 측정하였다. 여러 가지 전처리 가운데 미생물 저감효과가 확인된 100 ppm 차아염소산염용액, 산성(pH 2.3) 전해수, 40 ppm 이산화염소수에 대해 동일한 방법으로 시료를 침지 처리한 후 저온저장 중 메밀 새싹의 생리특성과 품질특성을 측정하였다. 전처리 방법별로 1회 처리할 때 50 g의 새싹시료 2봉투씩을 사용하였으며 각 처리마다 최소 3회 반복 실험하였다. 모든 전처리의 대조구로는 수돗물(10-15℃)에 1분간 침지한 것을 기준으로 정하였다. 한편 밀폐/통기 포장방법으로서 PP tray 용기(21.5×14.5×5 cm)와 OPP 필름봉투(180×250 cm)에 일정량(200 g/용기, 70 g/봉투)의 메밀 새싹채소를 담고, tray 용기의 덮개필름과 필름봉투 표면에 지름 5 mm의 구멍을 5개씩 내어 통기하거나 또는 밀폐하는 방식으로 포장방법을 달리하여 저온저장하면서 품질특성을 측정하였다.

### 나. 온도감응 기능성 포장처리

새싹채소에 대한 온도감응 기능성 포장처리방법으로서 유연성 보냉재의 적용방식과 적용비율을 달리하여 상온에 보관하면서 메밀 새싹시료의 품질특성을 비교하였다. 적용방식 측면에서 PCM 종류가 다른 장방형의 유연성 보냉재(SAP, RT-2)를 메밀 새싹의 소비자 직배용 포장에 적용하고 하절기 주야간의 외기온도를 감안하여 25-35℃의 변온조건에서 24시간 동안 보관하면서 온도 및 품질변화를 측정하였다. 즉, 메밀 새싹을 PP tray 용기에 400 g씩 담고 용기 내부의 온도변화를 측정하기 위해 온습도 기록계(TR-72U, T&D Co., Matsumoto, Japan)를 동봉하여 덮개필름으로 가열 접착하고, 장방형 유연성 보냉재를 용기의 길이 방향으로 둘러싼 후 용기 측면에 EPS 상자 내부 온도를 측정하기 위해 다시

온습도 기록계를 부착하였다. 이러한 메밀 새싹시료 용기를 별도의 은박 단열재로 포장하지 않은 채 EPS 상자에 밀봉하고 온도조절이 가능한 저장고에 넣은 다음, 35°C에서 4시간, 25°C에서 16시간, 30°C에서 4시간 동안 보관하면서 용기 내외부의 온도변화와 새싹시료의 품질변화를 측정하였다. 유연성 보냉재의 적용효과를 비교하기 위해 대조구로 사용된 일반 형태의 축냉재는 tray 용기 밑면에 놓고 상기와 동일하게 포장하였다. 한편 유연성 보냉재의 적용비율 측면에서 SAP 보냉재의 PCM 충전용량을 전체중량 200, 350, 500 g에 맞춰 다르게 제조한 후 메밀 새싹의 소비자 직배용 포장에 적용하였으며, 새싹시료의 포장방법, 보관조건, 온도측정, 품질평가 등은 모두 이전과 동일하게 수행하였다.

#### 다. 능동형 MAP 처리

새싹채소의 선도유지 포장방법으로서 포장내부의 초기 기체조성을 인위적으로 일반 공기와 다르게 조절하는 능동형 MAP 처리를 적용하였다. 메밀 새싹시료 200 g씩을 PP tray 용기에 담고 O<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>, N<sub>2</sub>의 조성 비율을 임의로 조절할 수 있는 기체혼합기(KM 100-3M, WITT Gasetechnik GmbH, Witten, Germany)와 자동기체충진포장기(Olympia Auto., Tecnovac S.R.L., Grassobbio, Italy)를 사용하여 40%, 60%, 80%의 고농도 산소와 나머지 질소로 구성된 혼합기체를 대기압 수준으로 충전한 다음, 30 µm 두께의 OPP/PP 텃개필름으로 열접착하여 밀봉 포장하였다. 또한 동일한 방식으로 다양한 고농도 산소와 이산화탄소의 혼합기체(20% O<sub>2</sub> + 80% N<sub>2</sub>, 20% O<sub>2</sub> + 15% CO<sub>2</sub> + 65% N<sub>2</sub>, 60% O<sub>2</sub> + 40% N<sub>2</sub>, 60% O<sub>2</sub> + 15% CO<sub>2</sub> + 25% N<sub>2</sub>)를 새싹시료가 담긴 PP tray 용기에 충전 밀봉한 후 5±2°C, 85-90% RH로 유지되는 냉장고에 4일간 저장하면서 품질특성을 측정하였다. 한편 고산소 조건의 능동형 MAP 처리에 의한 새싹채소의 미생물 제어효과를 확인하기 위하여 병원성 세균이 접종된 메밀 새싹시료 200 g에 대해 같은 방식으로 혼합기체(20% O<sub>2</sub> + 80% N<sub>2</sub>, 40% O<sub>2</sub> + 60% N<sub>2</sub>, 60% O<sub>2</sub> + 40% N<sub>2</sub>, 60% O<sub>2</sub> + 15% CO<sub>2</sub> + 25% N<sub>2</sub>)를 밀봉 포장하여 저온저장하면서 미생물 생균수를 측정하였다. 모든 능동형 MAP 처리의 대조구로는 PP tray 용기의 텃개 필름에 구멍을 내어 통기한 것을 기준으로 정하였다.

#### 라. 온도감응 기능성 포장과 능동형 MAP 병용처리

새싹채소에 대한 온도감응 기능성 포장과 능동형 MAP 병용처리방법으로서, 메밀 새싹 200 g씩을 PP tray 용기에 담고 각각 20% O<sub>2</sub> + 80% N<sub>2</sub>, 40% O<sub>2</sub> + 60% N<sub>2</sub>, 60% O<sub>2</sub> + 40% N<sub>2</sub>, 60% O<sub>2</sub> + 15% CO<sub>2</sub> + 25% N<sub>2</sub> 조건의 혼합기체를 충전하여 밀봉 포장하였다. 개별 포장용기의 길이 방향으로 장방향 유연성 보냉재(SAP, 350 g)를 둘러싼 후 용기 측면에 EPS 상자 내부 온도를 측정하기 위해 온습도 기록계를 부착하였다. 이러한 메밀 새싹시료 용기를 별도의 은박 단열재로 포장하지 않은 채 EPS 상자에 밀봉하고 평균 25°C

외기환경에서 19시간 동안 보관하면서 용기의 온도변화와 새싹시료의 품질변화를 측정하였다. 대조구로는 포장용기의 덮개필름에 구멍을 뚫어 통기 상태로 만든 다음, 일반 형태(얼음팩, 350 g) 냉냉재를 용기 밑면에 놓고 은박 단열재로 포장하거나 또는 포장하지 않은 채 EPS 상자에 밀봉한 것을 사용하였다. 한편 메밀 새싹채소의 품질을 비교적 잘 유지할 수 있었던 처리조건을 선정하여 온도감응 기능성 포장과 능동형 MAP 병용처리의 유통 현장 실증시험에 적용하였다. 즉, 메밀 새싹 200 g씩을 PP tray 용기에 담고 40% O<sub>2</sub> + 60% N<sub>2</sub>, 60% O<sub>2</sub> + 40% N<sub>2</sub> 조건의 혼합기체를 충전하여 밀봉 포장하였으며, 장방형 유연성 보냉재(SAP, 350 g)를 둘러싼 후 용기 측면에 온습도 기록계를 부착하고, 실제 생산현장에서 통용되는 포장방법과 동일하게 은박 단열재로 2차 포장하여 EPS 상자에 밀봉하였다. 이들 상자는 우체국 택배를 이용하여 발송하였고, 약 21시간 경과 후 실험실로 배달된 시료 용기의 온도변화와 메밀 새싹의 품질변화를 살펴보았다. 대조구로는 포장용기의 덮개필름에 구멍을 뚫어 통기 상태로 만든 다음, 일반 얼음팩(350 g) 냉냉재를 용기 밑면에 놓고 은박 단열재로 포장하여 EPS 상자에 밀봉한 것을 사용하였다.

## 6. 새싹채소 특성 분석

### 가. 전처리 용액 특성

메밀 새싹시료의 전처리 용액에 대한 특성을 파악하고자, 다양한 전처리 용액의 pH를 pH meter (AB15, Fisher Scientific, Leicestershire, UK)로 측정하였고, 차아염소산염용액 및 전해수의 유리 염소 또는 차아염소산(HOCl) 함량을 표준 요오드 환원적정법에 의거하여 측정하였다(APHA, 1995). 즉, 적정 농도로 희석된 차아염소산염용액 또는 전해수 50 mL에 요오드화칼륨(KI) 2 g, 초산 10 mL을 넣고 혼합한 후 1% 전분 지시약 0.5 mL을 첨가하여 흑갈색이 되도록 한 다음, 0.1 N 티오황산나트륨(Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) 용액 10 mL로 흑갈색의 용액이 투명해질 때까지 적정하였다. 또한 전해수의 산화-환원 전위차는 ORP meter (RE-12P, TOA Electronics, Tokyo, Japan)를 사용하여 실온에서 측정하였다. 한편 이산화염소수의 이산화염소산(ClO<sub>2</sub>) 함량은 변형된 요오드 환원적정법에 의거하여 측정하였다. 즉, pH 7.0의 인산염 완충용액 20 mL에 증류수 20 mL과 요오드화칼륨 1.5 g, 적정 농도의 이산화염소수 10 mL를 넣고 잘 혼합한 다음 암소에서 10분간 방치하였다. 이 후 1% 전분 지시약을 한 두 방울 첨가하여 용액이 보라색으로 바뀌면 0.1 N 티오황산나트륨용액으로 투명하게 될 때까지 적정하였다.

### 나. 포장내부 기체조성과 호흡률

밀봉된 메밀 새싹시료의 용기포장 내부 기체조성은 gas-tight syringe (#1001, Hamilton Co., Reno, NV, USA)를 사용하여 덮개필름을 통해 내부기체를 천천히 200 µL씩 채취한

후 GC (GC-14A, Shimadzu Co., Kyoto, Japan)에 주입하고, 이로부터 얻은 크로마토그램으로 기체조성을 분석하였다. 이때 사용된 GC 분석조건은 detector: TCD, column: Alltech CTR I, column temp.: 35°C, injection temp.: 60°C, detector temp.: 60°C, carrier gas: 50 mL He/min이었다. 한편 메밀 새싹의 호흡률은 밀폐 시스템(Hong & Kim, 2001)을 활용하여 측정하였다. 즉, 실리콘 격막이 장착된 유리 용기(1.9 L) 내부에 전체 체적의 1/3 정도 분량인 새싹시료를 넣고 밀봉한 후 0-30°C로 일정하게 온도가 유지되는 저장실에 보관하면서 경시적으로 용기내의 기체조성을 GC로 분석하여 O<sub>2</sub> 감소 및 CO<sub>2</sub> 발생의 호흡속도를 계산하였다.

#### 다. 생체 중량감소율

포장재를 제거한 후 새싹시료의 중량만을 측정하여 그 감소량을 초기 값에 대한 백분율(%)로 표시하였다.

#### 라. 수분함량

메밀 새싹의 수분함량은 식품공전 일반시험법 중 상압가열건조법(KFIA, 1998)에 따라 측정하였다. 새싹시료 2 g씩을 취하여 105°C를 유지하는 건조기에서 항량이 될 때까지 건조시키고, desiccator에서 방랭한 후 중량을 측정하여 수분함량을 산출하였다. 실험결과는 4회 반복 측정하여 얻은 값의 평균값과 표준편차로 나타내었다.

#### 마. 가용성 고형분함량

가용성 고형분함량은 새싹시료 5 g씩을 가압 착즙하여 4겹의 거즈로 여과한 후 즙액의 굴절률을 refractometer (PR-32 $\alpha$ , ATAGO, Tokyo, Japan)로 측정하여 5회 측정의 평균값과 표준편차를 °Brix 단위로 표시하였다.

#### 바. 색깔

새싹시료의 머리, 줄기, 뿌리부분 색깔을 Chroma Meter (CR-400, Konica-Minolta, Tokyo, Japan)를 사용하여 측정한 후 Hunter L, a, b 값으로 표시하였다. 백색 표준판(L=97.75, a=-0.49, b=1.96)을 사용하여 색차계를 보정한 후 색 측정에 사용하였으며, 처리구별로 5회 반복 측정하여 평균값과 표준편차로 나타내었다.

#### 사. 미생물 생균수와 균총 동정

새싹시료 30 g씩을 처리구별로 멸균 필름봉투(Whirl Pak<sup>®</sup> B01195, Nasco Co., Fort

Atkinson, WI, USA)에 무균상태로 채취하여 넣은 다음, 0.85% 멸균 식염수 60 mL를 첨가하여 균질기(BagMixer<sup>®</sup> 400, Interscience, Bretèche, France)로 약 1분간 마쇄한 후, 일정량의 균질액을 취하여 0.1% peptone (Difco Lab.) 수용액으로 단계별 희석하였다. 각 시료 희석액 0.1 mL씩을 선택배지 또는 적정 대상배지에 분주하여 도달한 다음, 37°C에서 24-48시간 동안 평판 배양하였다. 한 평판 당 20-200개의 집락을 갖는 페트리디시를 선택하여 계수한 후 CFU/g로 생균수를 표시하였다. 실험결과는 3회 반복 측정하여 얻은 값의 평균값과 표준편차로 나타내었다. 한편 메밀 새싹과 종자의 내재 미생물 균총을 확인하기 위해 각 처리구의 미생물 colony를 Vitek<sup>®</sup> 2 compact (BioMerieux, Inc., Marcy-l'Étoile, France)를 이용하여 생화학적 시험검사를 실시하였다. 개별 선택배지에서 균집을 형성한 미생물은 colony의 성장에 따라 구분하여 tryptic soy agar (Merck) 배지에서 단일 colony로 배양한 후 0.45% 멸균 식염수에 약 0.55-0.65 McF (McFarland: 0.5 McF는 균체농도 약 10<sup>8</sup> CFU/mL에 해당) 농도가 되도록 현탁하였고, 이 현탁액에 Vitek<sup>®</sup> II ID-GNI 또는 GPI (BioMerieux, Inc.)를 연결한 후 Vitek<sup>®</sup>에서 16시간 동안 분석하였다. 동정확률(identification probability)로 표시되는 분석결과에서 특정 균주로 규명될 확률이 낮을 경우 unidentified 또는 low discrimination으로 구분되며, 이들은 실험결과에 포함시키지 않았다. 미생물 동정은 2회 반복하였으며, 매회 4 plates의 결과를 측정하였다.

#### 아. 관능검사

새싹시료의 관능적 평가는 신선 채소류의 외관품질 평가에 경험이 많고 잘 훈련된 관능검사 요원 8-10명을 대상으로 5°C에서 4-6일간 저장한 메밀 새싹채소의 변색, 시늉, 부패, 외관품질 등의 평가항목에 대해 9점 척도의 차이식별 검사를 실시하였다(Kader et al., 1973). 이때 변색, 시늉, 부패 항목은 평가점수가 높을수록 변화 정도가 심한 것을 의미하며, 외관품질 항목은 점수가 낮을수록 종합적 품질이 저하된 것을 의미한다.

#### 자. 통계처리

모든 실험결과는 통계분석 프로그램(SAS Institute Inc., Ver. 9.1, Cary, NC, USA)의 ANOVA (Duncan's multiple range test) 분산분석으로 처리하여 평균값의 유의차( $p < 0.05$ )를 검증하였다.

### 제 3 절 연구 내용 및 결과

#### 1. 새싹채소의 생리특성 및 품질특성 분석

국내산 새싹채소로서 황금메밀 새싹의 생리특성과 품질특성을 측정하였고, 주요 수확 후 선도유지 처리기술에 관한 자료를 고찰하여 환경 온도조건에 따른 호흡률, 호흡지수, 저온장해 발생여부 등의 생리특성과 숙성재배 정도에 따른 색깔, 고형분 함량, 미생물 오염도, 관능적 품질 등의 품질특성을 각각 검토하여 메밀 새싹의 기초적인 저장특성을 구명하였다. 구체적으로 5, 10, 20, 30°C로 환경 온도조건을 달리하여 static 방식으로 측정된 메밀 새싹의 호흡률은 5°C에서 약 24 mL/kg·h, 10°C에서 약 51 mL/kg·h, 20°C에서 175-179 mL/kg·h, 30°C에서 320-335 mL/kg·h로서 온도증가에 따라 지수적인 상승을 나타내었으며 (Fig. 1), 온도조건에 관계없이 호흡지수는 0.98-1.05 범위를 나타내어 메밀 새싹이 산소 소비와 이산화탄소 발생의 균형을 이루는 정상적인 호기호흡을 유지하였음을 알 수 있다. 메밀 새싹 호흡반응의 온도 의존성을 동력학적으로 분석하고자 Arrhenius 방정식에 의거하여 온도 변화에 따른 호흡률 변화를 살펴본 결과(Fig. 1), 산소 소비속도 및 이산화탄소 발생속도가 모두 생리적 온도범위 내에서 매우 상관성( $r^2 = 0.978-0.985$ )이 높은 선형적 관계를 나타내었다. 이로부터 메밀 새싹의 호흡반응에 대한 활성화 에너지( $E_a$ )는 72.1- 74.7 kJ/mol, 빈도인자( $k$ )는  $1.8-5.0 \times 10^{15}$ 를 계산하였다.

메밀 새싹의 숙성재배 정도에 따른 생리특성 및 품질특성을 살펴보고자, 25-30°C로 유지되는 자동 재배상에서 7, 8, 9일로 재배일수를 각기 다르게 조절하여 생산한 미숙, 성숙, 과숙 상태의 메밀 새싹에 대해 길이, 두께, 수분함량, 가용성 고형분함량, 미생물 생균수, 색깔, 호흡률, 호흡지수 등을 측정하였다(Figs. 2-4). 재배속도별 메밀 새싹의 총장길

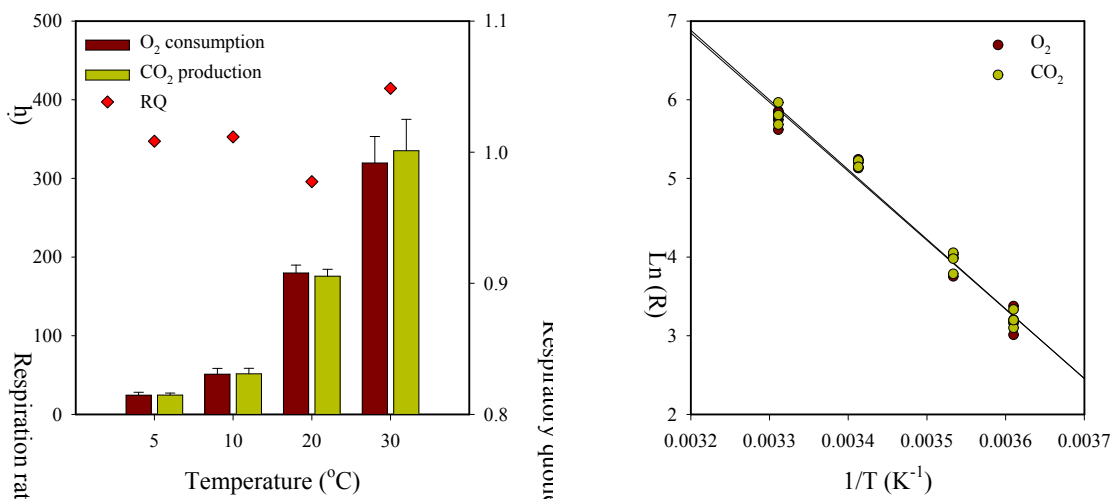


Fig. 1. Respiration characteristics of buckwheat sprout as a function of temperature. Respiration rates and respiratory quotient of buckwheat sprout at various temperatures (left) and an Arrhenius plot for the respiration (right).

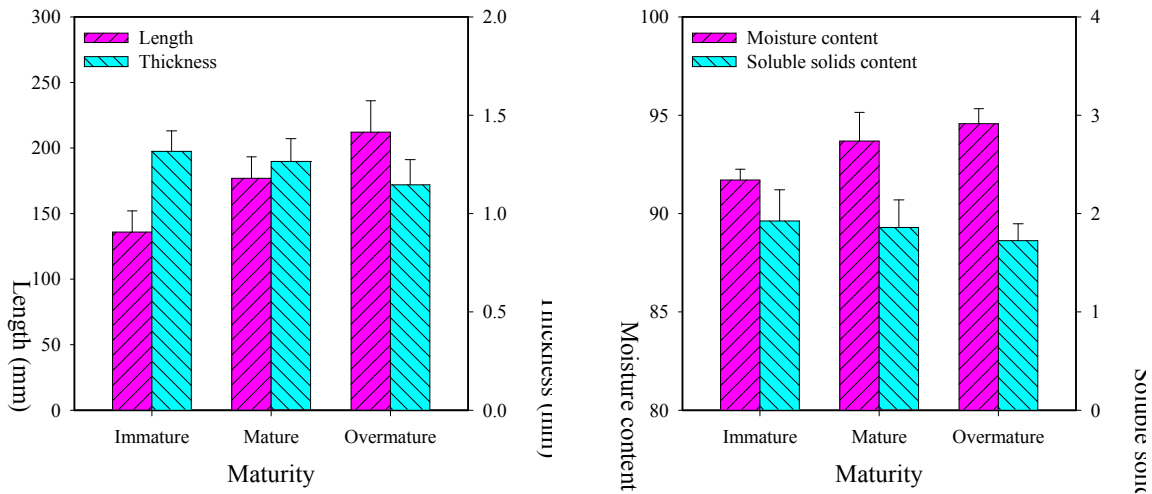


Fig. 2. Length and thickness (left) as well as moisture content and soluble solids content (right) of buckweat sprout as affected by maturity. Immature, mature, and overmature: sprouts cultivated at 25-30°C for 7, 8, and 9 days, respectively.

이는 136±16, 177±16, 212±24 mm로 재배일수가 늘어날수록 현저하게 증가하였으나, 줄기 두께는 반대로 1.32±0.10, 1.27±0.12, 1.15±0.13 mm로 점차 감소하였다(Fig. 2). 수분함량과 가용성 고형분함량도 역시 속도에 따라 영향을 받아 재배일수가 늘어날수록 수분함량이 91.7-94.6%로 증가하는 반면, 고형분 함량은 1.7-1.9°Brix 범위에서 점차 감소하는 경향을 나타내었다(Fig. 2). 이에 반해 메밀 새싹의 색깔은 속도에 따른 차이를 구분하기 어려웠으나, 전반적으로 재배일수가 증가함에 따라 황색과 녹색이 점차 엷어짐으로서 Hunter L, a값은 증가하고 Hunter b값은 감소하는 경향을 볼 수 있었다(Fig. 3).

일반적으로 미생물 오염수준을 가늠할 수 있는 미생물 생균수의 경우, 메밀 새싹에 존재하는 호기성 중온세균은  $1.5-3.8 \times 10^7$  CFU/g 수준, 대장균군은  $2.5-9.3 \times 10^6$  CFU/g 수준을 나타내었고, 이들 모두 성숙기에서 가장 높은 생균수를 유지하다가 과숙기로 넘어가면서 점차 감소하는 양상을 보였다(Fig. 3). 이는 주로 성숙기의 새싹을 수확하여 상품으로 출하하는 현실을 감안할 때 수확후 적절한 미생물 저감화처리가 반드시 필요함을 시사하고 있다. 한편 메밀 새싹의 속도별 호흡률과 호흡지수의 변화를 살펴본 결과(Fig. 4), 재배일수가 증가하여 과숙할수록 호흡률이 감소하였으나 이 경우에도 호흡지수는 속도에 관계 없이 0.99-1.02 수준을 나타내어 메밀 새싹이 산소 소비와 이산화탄소 발생의 균형을 이루는 정상적인 호기성 호흡대사를 유지하였다. 외관상으로 판별한 메밀 새싹의 관능적 품질은 미숙과 성숙 상태에서는 총장길이를 제외하고 뚜렷한 차이를 구분하기 어려웠으나, 과숙기로 넘어가면서 새싹의 머리 부분이 점차 개화되어 점차 상품성을 잃는 것으로 확인되었다.

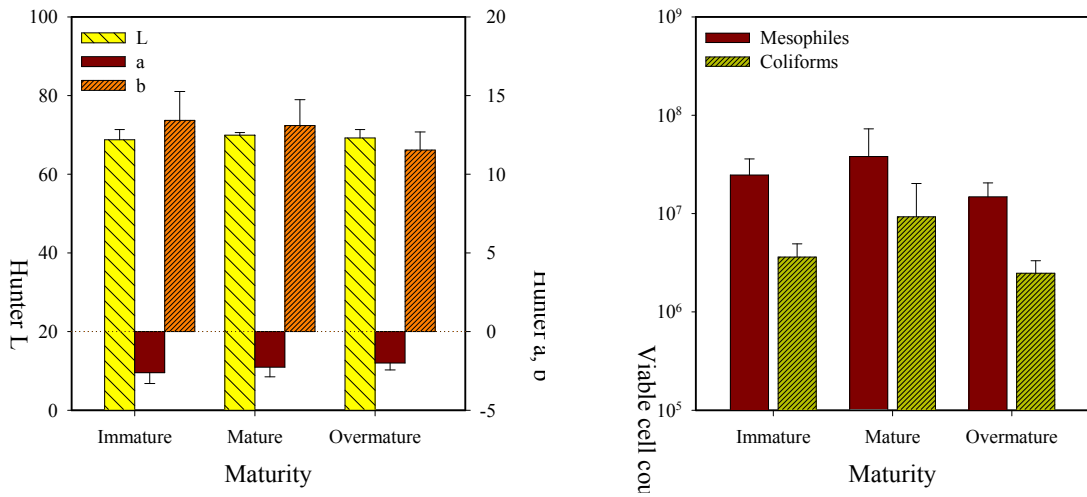


Fig. 3. Color parameters (left) and microbial population (right) of buckwheat sprout as affected by maturity. Immature, mature, and overmature: sprouts cultivated at 25-30°C for 7, 8, and 9 days, respectively.

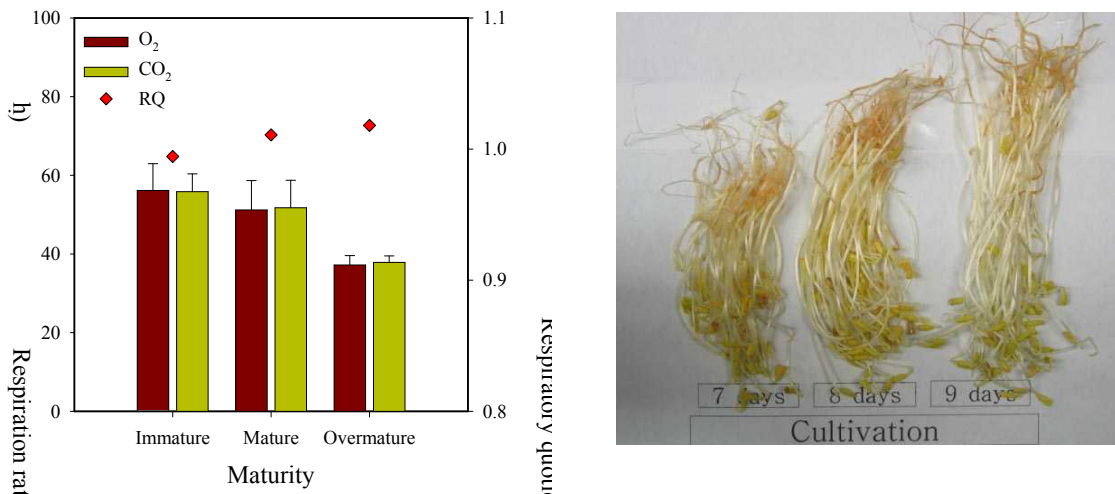


Fig. 4. Respiration rates (left) and appearance (right) of buckwheat sprout as affected by maturity. Immature, mature, and overmature: sprouts cultivated at 25-30°C for 7, 8, and 9 days, respectively.

메밀 새싹의 유통과정에서 택배 또는 직배를 통해 상품을 전달할 경우, 단일 EPS 포장 상자 내부에 축냉재를 투입하여 저온유지를 꾀하고 있으나 외기 온도가 높지 않은 봄, 가을철에는 축냉재의 부적절한 사용으로 동해를 유발할 수 있어 상품성 유지차원에서 동해 발생 여부와 그 양상을 정확하게 이해할 필요가 있다. 동해발생 조건을 가정하기 위해 -13°C로 유지되는 가정용 냉동실에 메밀 새싹을 넣어두고 방치하면서 일정 시간간격으로 꺼내어 중량감소, 색깔, 외관 변화를 관찰하였다(Figs. 5 & 6). 냉동실 보관시간이 1-3시간으로 증가함에 따라 해동후 수분손실로 인해 메밀 새싹의 생체중량이 16.6-31.3%로 현저



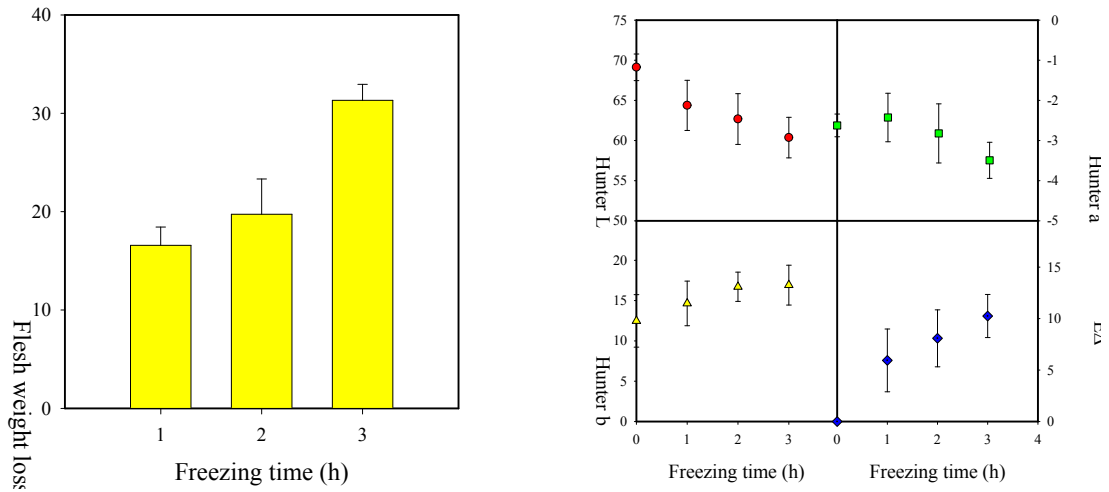


Fig. 5. Flesh weight loss (left) and color parameters (right) of buckwheat sprout as affected by freezing time (freeze injury).



Fig. 6. Appearance of buckwheat sprout as affected by freezing time (freeze injury).  
Control: non-frozen sample.

하게 증가하였으며, 줄기와 뿌리 부분의 투명화에 이은 해동 후 급속한 갈변으로 인해 Hunter L값은 감소하고 Hunter b와 색차( $\Delta E$ )값이 분명하게 증가하였다.

통상적으로 냉동실에 보관하였다가 사용하는 축냉재의 초기 품온이  $-13^{\circ}\text{C}$  내외임을 감안할 때, 메밀 새싹을 담은 포장상자 내부와 외기와의 온도차가 크지 않은 조건(봄, 가을철)에서 축냉재가 새싹에 지나치게 가까이 위치하거나 직접 맞는 상황이 발생하면 포장용기를 통한 열 흡수로 인해 내용물인 메밀 새싹의 동해발생이 가능성이 높아질 수 있다. 유통 중 축냉재의 열손실을 일부 인정하더라도  $-13^{\circ}\text{C}$ 에서 1시간 만에 동해가 유발되었으므로, 초기 메밀 새싹과 축냉재와의 직접적이 접촉은 최대한 방지하는 것이 상품성 유지에 필수적임을 확인할 수 있었다.

## 2. 새싹채소의 수확후 적정 전처리방법 탐색

메밀 새싹의 수확후 적정 전처리방법을 선정하고자, 수세여부, 소독제 종류 등의 전처리 조건에 따른 저장 중 메밀 새싹의 생리특성 및 품질특성 변화를 측정하였고, 냉수와 냉풍 예냉처리에 따른 저온저장 중 생리특성 및 품질특성 변화를 측정 분석하여 최적 처리방법을 도출하였다. 앞서 속도별 메밀 새싹의 미생물 오염수준에서 확인한 바와 같이 수확직후 새싹채소에는 매우 높은 수준의 생균수가 존재하므로 이를 저감시킬 수 있는 적절한 전처리가 반드시 필요하다. 구체적으로 메밀 새싹에 내재되어 있는 미생물 종류를 구분하기 위하여 분자생물학적 분석기법인 PCR-DGGE와 생화학 반응에 기초한 Vitek 장비를 사용하여 정상적인 메밀 새싹과 부패된 메밀 새싹을 대상으로 다양한 선택배지 상에서 우점하고 있는 미생물 균주를 분리, 동정하였다. 정상적인 메밀 새싹의 호기성 중온세균과 대장균군이  $10^7$  CFU/g 내외인 반면, 부패된 메밀 새싹의 줄기는 약  $10^8$  CFU/g, 머리와 뿌리 부분은  $3.0-3.5 \times 10^8$  CFU/g 수준을 나타내어 미생물 오염정도가 매우 높은 것을 알 수 있다(Fig. 7).

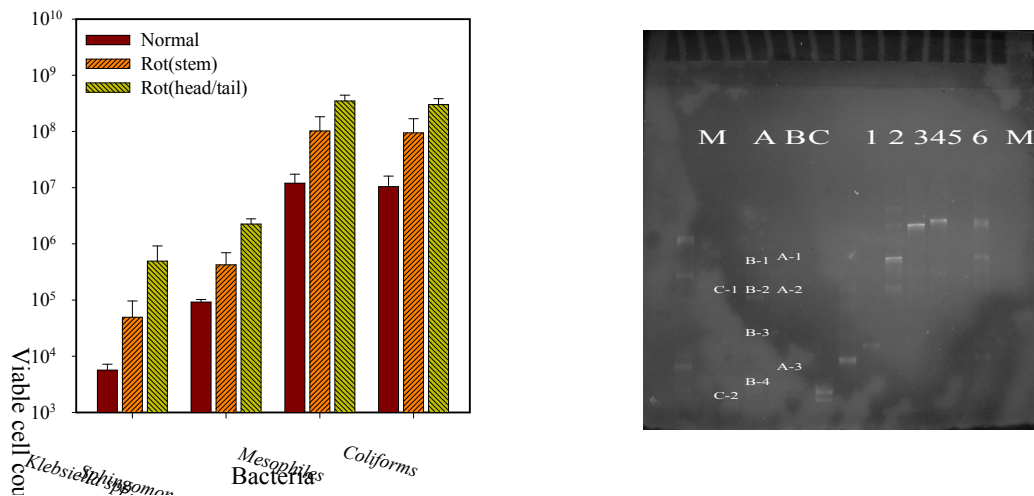


Fig. 7. Microbial population (left) and bacterial species (right) of postharvest buckwheat sprout. M: marker, A: normal sample, B: rot stem, C: rot head & tail, 1-6: tested pathogens.

이들의 균종을 분석한 결과(Table 6), *Raoultella ornithinolytica*, *Enterobacter intermedius*, *Sphingomonas paucimobilis*, *Klebsiella pneumoniae* ssp. *pneumoniae* 등의 균주가 우점을 이루고 있어 일부 병원성 균주의 존재 가능성을 확인할 수 있었다. 이들 균주는 대부분 메밀 새싹의 원료인 종실로부터 유래된 것으로 판단되며, 실제로 메밀 종실의 미생물을 조사한 결과 절대적인 생균수는 훨씬 낮은 수준이지만 균체 종류는 상당부분에서 일치하는 것으로 나타났다(Table 7). 새싹 재배를 위해 꼭 필요한 적정 온도와 수분은 그 자체가 미생물의 증식도 촉진시키므로 새싹 생육과정에서 식물체에는 영향을 미치지 않으면서 오

염 미생물을 효과적으로 저감시킬 수 있도록 재배수에 일정량(50-100 ppm)의 염소소독제 (차아염소산염)를 첨가하여 사용한 결과, 메밀 종실에서는 처리효과가 거의 없었으나 메밀 새싹에서는 1 log cycle 이상의 미생물 저감효과를 확인할 수 있었다(Fig. 8). 이러한 결과를 바탕으로 새싹채소의 재배에 사용되는 용수는 적정 수준의 소독제를 함유하도록 하여 새싹의 이화학적, 관능적 품질이 저하되지 않으면서 미생물 안전성을 향상시킬 수 있도록 유도하는 것이 바람직하다.

Table 6. Microbial population of buckwheat sprout cultivated with and without disinfection treatment

| Typical cultivation                                 |                   | Cultivation with chlorine spray                     |                   |
|---|-------------------|---|-------------------|
| <i>Raoultella ornithinolytica</i>                   | $2.0 \times 10^7$ | <i>Klebsiella pneumoniae</i> ssp. <i>pneumoniae</i> | $1.2 \times 10^7$ |
| <i>Enterobacter intermedius</i>                     | $1.6 \times 10^7$ | <i>Pantoea</i> spp.                                 | $8.0 \times 10^6$ |
| <i>Sphingomonas paucimobilis</i>                    | $3.0 \times 10^6$ | <i>Sphingomonas paucimobilis</i>                    | $5.0 \times 10^6$ |
| <i>Klebsiella pneumoniae</i> ssp. <i>pneumoniae</i> | $1.2 \times 10^6$ | <i>Enterobacter intermedius</i>                     | $1.1 \times 10^5$ |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i>                       | $6.0 \times 10^5$ | <i>Raoultella ornithinolytica</i>                   | $1.2 \times 10^2$ |
| <i>Enterobacter sakazakii</i>                       | $3.0 \times 10^5$ |   |                   |
| <i>Pseudomonas fluorescens</i>                      | $2.0 \times 10^5$ |   |                   |
| <i>Enterobacter cloacae</i>                         | $1.9 \times 10^5$ |   |                   |
| <i>Kluyvera cryocrescens</i>                        | $1.9 \times 10^5$ |   |                   |
| <i>Staphylococcus lentus</i>                        | $3.0 \times 10^3$ |   |                   |

Table 7. Microbial population of buckwheat seed treated with and without chlorine solution

| Control                          |                   | Chlorine treatment                |                   |
|----------------------------------|-------------------|-----------------------------------|-------------------|
| <i>Sphingomonas paucimobilis</i> | $5.0 \times 10^4$ | <i>Pseudomonas oryzihabitans</i>  | $5.1 \times 10^4$ |
| <i>Pantoea agglomerans</i>       | $2.7 \times 10^4$ | <i>Pantoea</i> spp.               | $2.5 \times 10^4$ |
| <i>Pantoea</i> spp.              | $1.9 \times 10^4$ | <i>Kocuria rosea</i>              | $2.0 \times 10^3$ |
| <i>Pseudomonas oryzihabitans</i> | $1.2 \times 10^4$ | <i>Sphingomonas paucimobilis</i>  | $2.0 \times 10^3$ |
| <i>Staphylococcus lentus</i>     | $1.7 \times 10^2$ | <i>Pantoea agglomerans</i>        | $5.0 \times 10^2$ |
| <i>Enterobacter cancerogenus</i> | $6.1 \times 10^1$ | <i>Acinetobacter haemolyticus</i> | $5.0 \times 10^2$ |
| <i>Enterobacter cloacae</i>      | $2.2 \times 10^1$ | <i>Enterobacter cloacae</i>       | $1.4 \times 10^1$ |
| <i>Streptococcus thoralensis</i> | $1.1 \times 10^1$ | <i>Enterobacter cancerogenus</i>  | $6.0 \times 10^0$ |

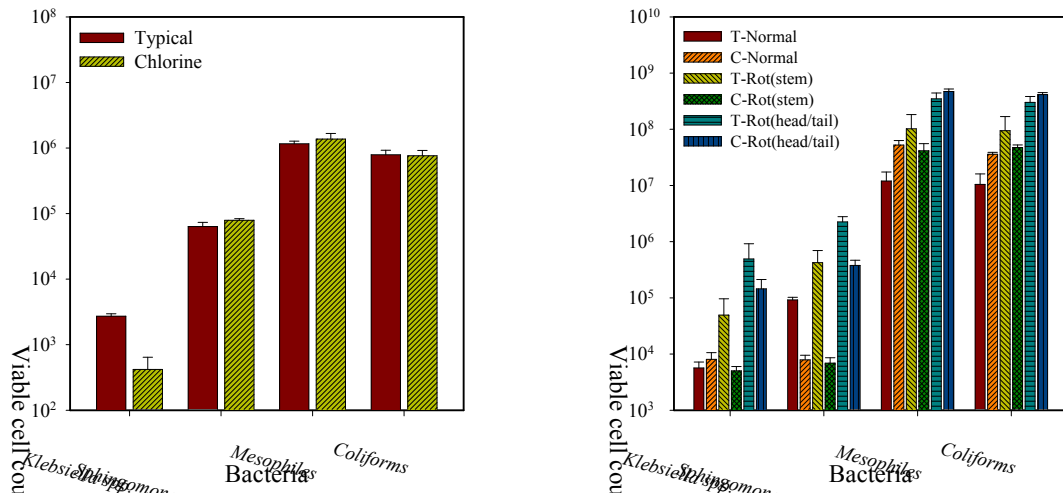


Fig. 8. Microbial population of buckwheat seed (left) and sprout (right) as affected by chlorination treatment before and during sprout cultivation.

재배과정에서의 염소소독제 처리와는 별도로 수확후 메밀 새싹채소의 미생물 저감화를 위하여 다양한 종류의 전처리방법을 적용하여 생균수 변화를 살펴보았다. 국내 식품산업계에서 소독세척제로 가장 널리 사용되고 있는 차아염소산염의 농도를 50-150 ppm으로 달리하여 메밀 새싹을 1분간 침지처리한 후 미생물 분석한 결과(Fig. 9), 무처리 대조구와 단순히 수세한 것에 비해 차아염소산염 처리구에서 약 1 log cycle 이상의 생균수 감소를 나타내었다. 그러나 염소농도에 따른 생균수 차이는 유의적으로 구분되지 않아 최소 50 ppm 이상으로도 충분한 처리효과를 기대할 수 있지만, 실제 공정상에서는 반복적인 사용을 감안하여 유효 염소농도 100 ppm 수준을 유지하는 것이 바람직하다고 판단된다.

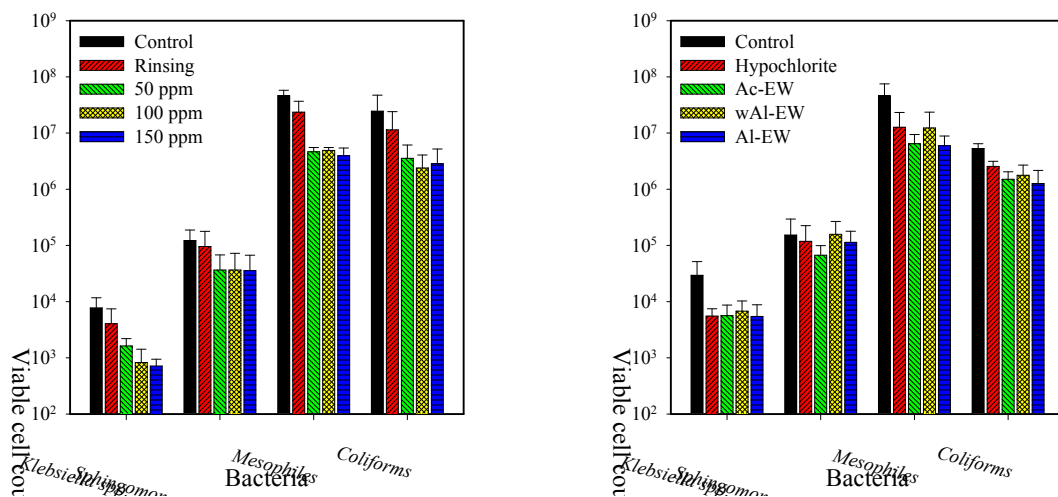


Fig. 9. Microbial population of buckwheat sprout as affected by sodium hypochlorite (left) and electrolyzed water (right) treatments.

유효 염소농도와 물성이 각기 다른 산성, 알칼리, 약알칼리성 전해수를 침지수로 사용하여 미생물 저감효과를 살펴본 결과, 100 ppm 차아염소산염과 거의 유사한 수준의 생균수 감소를 나타내었고, 그 중에서도 산성 전해수가 상대적으로 다소 더 효과적이었다. 동일한 방법으로 처리농도를 달리하여 이산화염소와 오존을 메밀 새싹에 침지수로 적용하였을 때 미생물 생균수 변화는 각기 다르게 나타났다(Fig. 10). 이산화염소처리에서는 40 ppm의 농도만으로도 100 ppm 차아염소산염과 같은 수준의 감균효과를 볼 수 있었으나, 오존처리의 경우 최대농도 7.5 ppm에서도 유의적인 생균수 감소를 발견할 수 없었다.

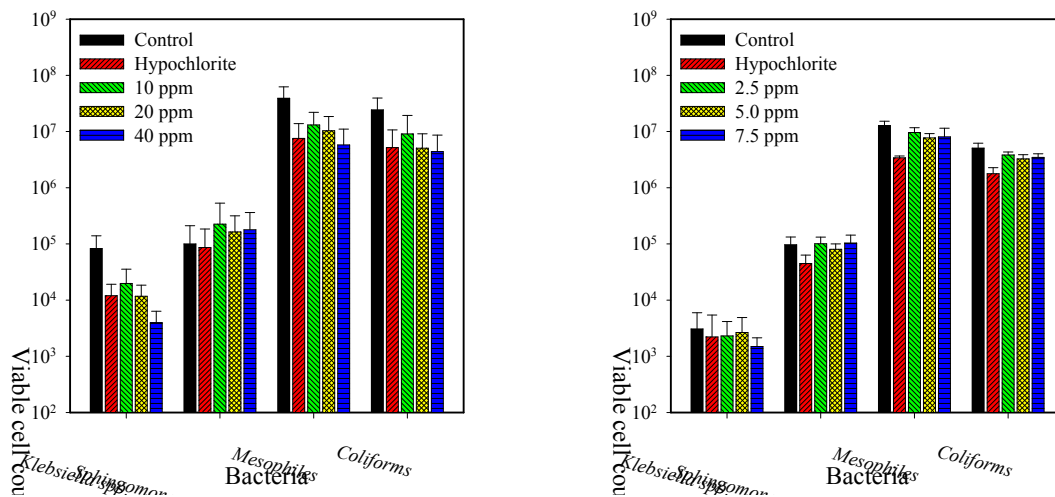


Fig. 10. Microbial population of buckwheat sprout as affected by chlorine dioxide (left) and ozonized water (right) treatments.

상기의 선행 연구결과에 기초하여 수확후 메밀 새싹의 미생물 저감효과가 확인된 차아염소산염용액(100 ppm), 산성 전해수(유효 염소 100 ppm), 이산화염소수(40 ppm)를 적정 소독수로 선정하고, 재배일수 8일의 성숙기 메밀 새싹에 대해 1분간 침지처리를 실행한 후 저온에 저장하면서 품질변화를 살펴보았다. 개별처리직후 메밀 새싹의 외관상 변화는 눈에 띄게 나타나지 않았으며, 산성 전해수 처리구의 경우 새싹 뿌리 부분에서 다소 갈변이 진행되었으나 현저한 차이로 인식되지는 않았다. 이후 저장 중 모든 처리구에서 뿌리 부분의 갈변이 현저하게 진행되었으며, 5°C에서 저장 6일째에는 머리 부분의 줄기에서 분홍빛의 적변이 발견되었으나 차아염소산염용액 처리구에서 비교적 변색정도가 덜한 것으로 나타났다(Fig. 11). 처리구별로 저장 중 생체중량 감소, 수분함량, 가용성 고형분함량, 색깔 등의 유의적인 차이는 구분되지 않았으나(Figs. 11-13), 처리직후 미생물 생균수는 전 처리방법에 따라 현저하게 차이를 나타내었다. 무처리 대조구의 초기 호기성 중온균과 대장균군 생균수가  $1.1 \times 10^7$ ,  $8.3 \times 10^6$  CFU/g 수준인데 반해, 단순 세척만으로도 약 50%의 감균효과를 나타내었으며 차아염소산염용액과 산성 전해수는 1 log cycle 내의, 이산화염

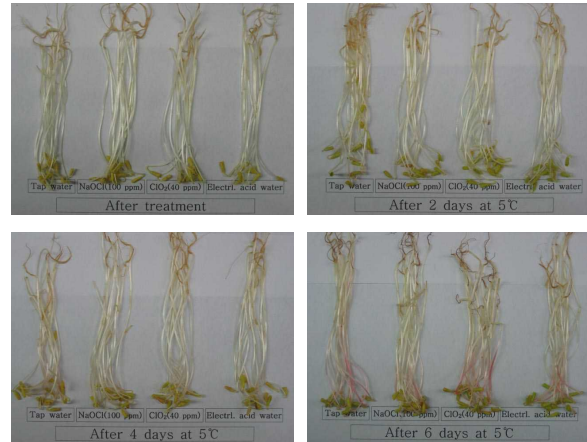
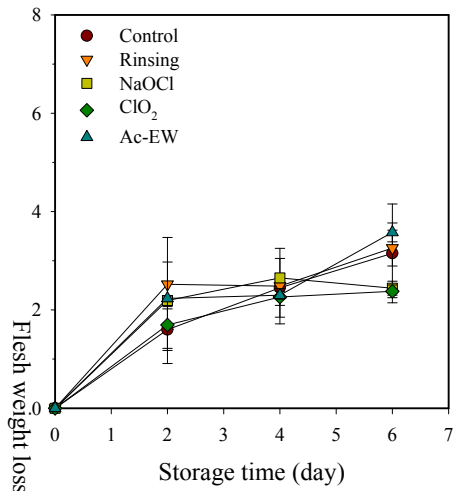


Fig. 11. Changes in flesh weight loss (left) and appearance (right) of buckwheat sprout treated with various dipping pretreatment during storage at 5°C for 6 days.

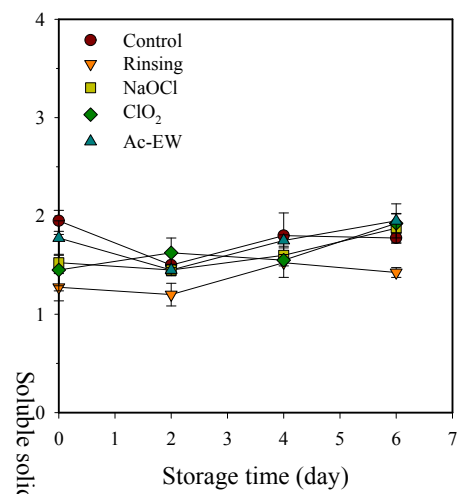
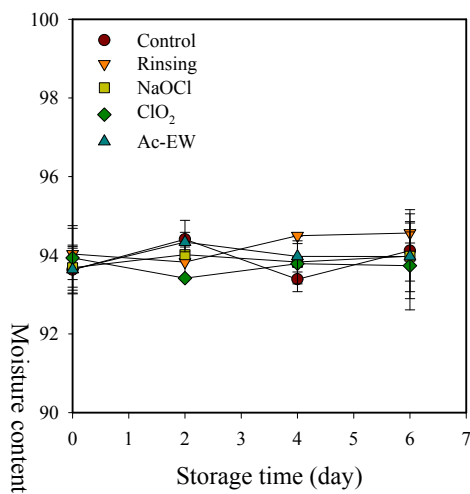


Fig. 12. Changes in moisture content (left) and soluble solids content (right) of buckwheat sprout treated with various dipping pretreatment during storage at 5°C for 6 days.

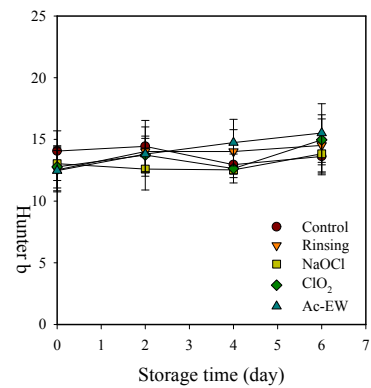
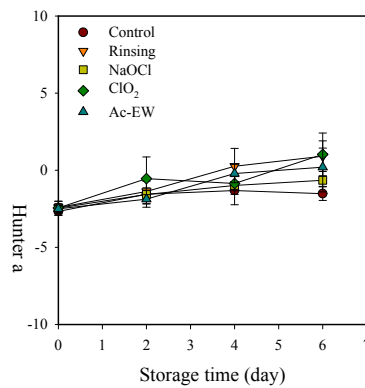
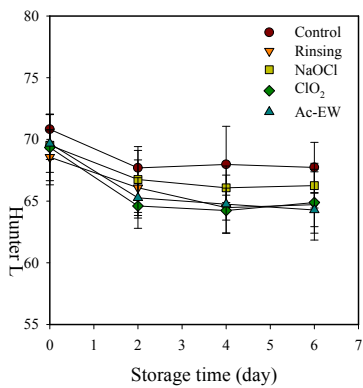


Fig. 13. Changes in Hunter L, a, b values of buckwheat sprout treated with various dipping pretreatment during storage at 5°C for 6 days.

소수는 약 1.5 log cycle 이상의 미생물 저감효과를 보였다(Fig. 14). 이러한 처리직후의 미생물 생균수 감소폭은 이후 저장 6일 동안 거의 그대로 유지되어 무처리 대조구에 비해 훨씬 낮은 수준의 생균수를 나타냄으로서 이들 염소수와 전해수 전처리가 새싹채소의 유통 중 미생물학적 품질유지 및 안전성 향상에 매우 효과적으로 활용될 수 있음을 확인하였다. 이러한 이화학 및 미생물학적 품질뿐만 아니라 메밀 새싹의 관능적인 품질측면에서도 이들 차아염소산염용액, 이산화염소수와 산성 전해수 전처리는 새싹의 변색, 시늬와 같은 외관변화에 전혀 나쁜 영향을 미치지 않았으나, 저장 4일 이후 이산화염소수와 전해수 처리구에서 새싹 조직의 짓무름에 의한 연부현상이 다소 더 진행된 것으로 평가되었다(Table 8). 저온저장 중 메밀 새싹의 변색, 시늬, 연부 등을 전반적으로 고려하여 평가한 종합적 외관품질은 미생물 저감효과가 가장 뛰어났던 이산화염소수 처리가 무처리 대조구에 비해 다소 낮은 평점을 나타낸 반면, 차아염소산염용액 처리는 여러 처리구 가운데 상대적으로 더 우수하게 나타났다. 그럼에도 불구하고 본 연구에서 사용된 차아염소산염, 이산화염소, 산성 전해수 등 개별 전처리방법에 따른 저장 중 메밀 새싹채소의 관능적 품질변화는 무처리 대조구와 비교하여 그 차이를 명확하게 구분하기 어려운 수준이다. 따라서 어떤 전처리방법을 사용하는 것이 새싹채소의 유통 중 품질유지 및 미생물 안전성 향상에 가장 적합한지는 해당 업체의 기존 설비시설과의 호환성, 설치 및 운영 경비 등 경제적인 측면을 종합적으로 함께 고려하여 선정할 필요가 있으며, 그러한 차원에서 별도의 장치시설비가 요구되지 않으면서도 손쉽게 구입하여 사용할 수 있는 차아염소산염이 중소규모의 업체에 적합할 것으로 판단된다. 다만 염소계 소독제의 과다사용은 작업자의 안전문제를 야기할 수 있으므로 이에 대한 각별한 주의 및 적절한 대응이 수반되어야 할 것이다.

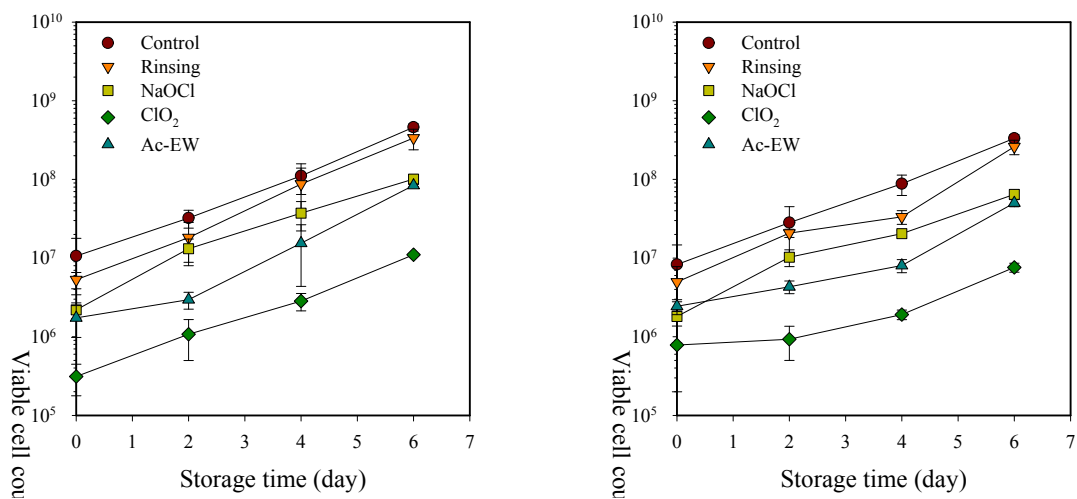


Fig. 14. Changes in mesophilic aerobes (left) and coliform bacteria (right) of buckwheat sprout treated with various dipping pretreatment during storage at 5°C for 6 days.

Table 8. Changes in sensory characteristics<sup>1)</sup> of buckwheat sprout treated with various dipping pretreatments during storage at 5°C for 6 days

| Storage time (day) | Treatment <sup>2)</sup> | Discoloration | Wilting | Decay | Visual quality |
|--------------------|-------------------------|---------------|---------|-------|----------------|
| 2                  | Control                 | 3.8abc        | 3.6ab   | 3.0ab | 6.1a           |
|                    | Rinsing                 | 4.6a          | 4.5a    | 4.0a  | 4.6a           |
|                    | HOCl                    | 2.8c          | 3.1b    | 2.5b  | 6.0a           |
|                    | ClO <sub>2</sub>        | 3.4bc         | 3.6ab   | 2.8b  | 6.3a           |
|                    | Ac-EW                   | 4.1ab         | 2.9b    | 3.0ab | 6.3a           |
| 4                  | Control                 | 5.3a          | 4.5ab   | 3.8b  | 5.5ab          |
|                    | Rinsing                 | 5.1a          | 4.9ab   | 4.9ab | 4.3b           |
|                    | HOCl                    | 3.0b          | 3.6b    | 3.8b  | 6.6a           |
|                    | ClO <sub>2</sub>        | 5.5a          | 5.5a    | 5.8a  | 4.0b           |
|                    | Ac-EW                   | 4.9a          | 5.0ab   | 4.9ab | 5.0b           |
| 6                  | Control                 | 6.2ab         | 6.1a    | 5.2a  | 4.6a           |
|                    | Rinsing                 | 6.2ab         | 5.6ab   | 5.2a  | 4.1a           |
|                    | HOCl                    | 4.8b          | 4.3b    | 5.0a  | 5.3a           |
|                    | ClO <sub>2</sub>        | 7.1a          | 5.9a    | 6.0a  | 4.1a           |
|                    | Ac-EW                   | 6.8a          | 6.2a    | 5.7a  | 4.2a           |

<sup>1)</sup> The values are means of eight replicates at least. Means followed by the same letter within cells are not significantly different ( $p < 0.05$ , Duncan's test). As the value increases from 1 to 9, the intensity of sensory characteristics increases.

<sup>2)</sup> Buckwheat sprout samples were dipped into various treatment solutions at approximately 15°C for 1 min. Control: no treatment after harvest, rinsing: water alone, HOCl: 100 ppm sodium hypochlorite (pH 9.5), ClO<sub>2</sub>: 40 ppm chlorine dioxide, Ac-EW: acidic electrolyzed water (pH 2.5-2.9).

새싹채소의 유통 중 신선도 유지를 위하여 수확후 적정 전처리방법으로서 초기 품온을 신속하게 떨어뜨리는 예냉 처리효과를 살펴보고자, 채소류에 적용 가능한 대표적인 예냉 방법인 냉풍(0°C, 3시간)과 냉수(0°C, 1분)로 처리한 후 저온저장 중 메밀 새싹의 품질변화를 측정하였다. 각각의 예냉 처리직후 메밀 새싹 처리구간의 외관상 변화는 전혀 나타나지 않았으며, 저장 중 무처리 대조구와 비교하여 변색 정도에서 차이를 구분하기 어려웠다(Fig. 15). 처리구별로 메밀 새싹의 저장 중 생체중량 감소를 비교해 보면 냉수처리구가 1.8-2.3%로 무처리 대조구와 냉풍처리구의 1.2-1.7%에 비해 상대적으로 다소 더 높은 중량감소 수준을 유지하였는데(Fig. 15), 이는 냉수 처리직후 충분하게 탈수가 이루어지지 않아 메밀 새싹의 초기 자유수 함량이 약간 더 높은 것에 기인한 결과로 이해된다. 이에 반해 메밀 새싹의 초기 수분함량은 냉풍처리구가 93.0%, 대조구와 냉수처리구가 94.7%, 94.3%로서 3시간의 냉풍처리에 따른 약간의 수분손실이 이러한 차이를 유발한 것으로 생각된다(Fig. 16). 그러나 초기의 수분함량 차이는 저온저장 중 고습도 유지로 인해 점차



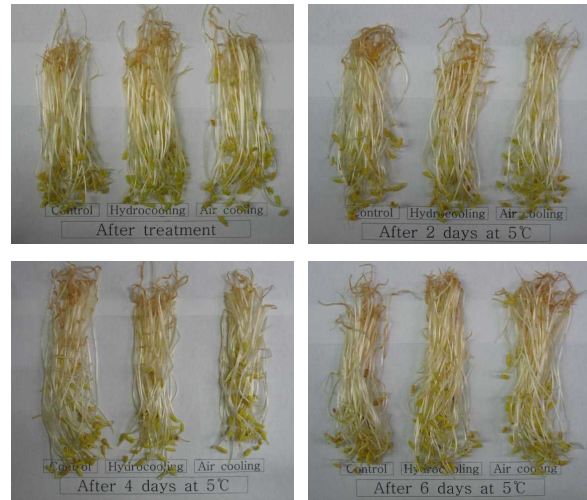
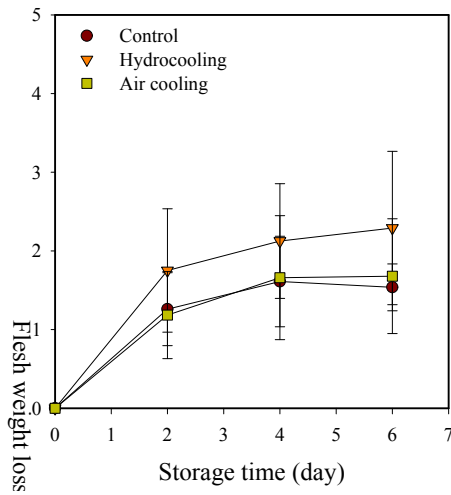


Fig. 15. Changes in flesh weight loss (left) and appearance (right) of buckwheat sprout treated with different precooling methods during storage at 5°C for 6 days.

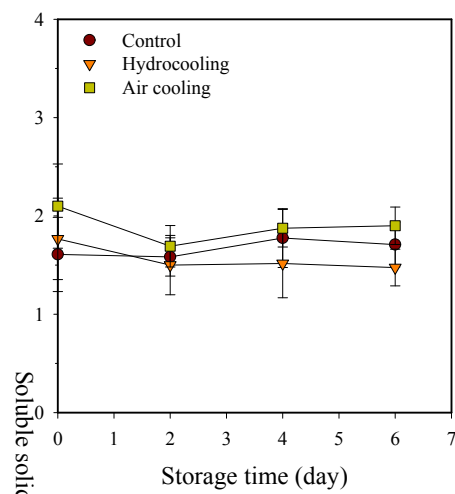
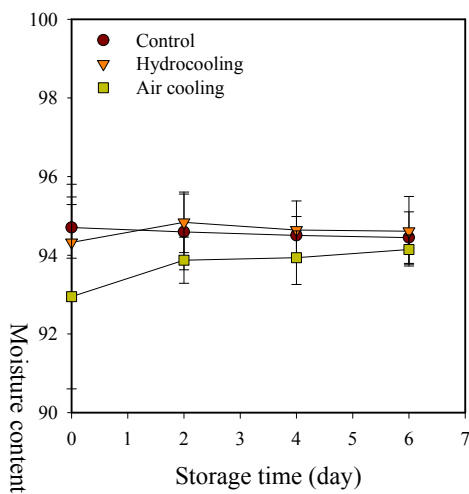


Fig. 16. Changes in moisture content (left) and soluble solids content (right) of buckwheat sprout treated with different precooling methods during storage at 5°C for 6 days.

축혀져서 6일후에는 처리구 모두 약 94% 이상을 나타내었다. 이와 관련하여 가용성 고형 분함량은 냉풍처리구에서 유의적이지 않으나 다소나마 더 높게 유지되었고(Fig. 16), 색깔은 처리구별로 의미 있는 차이를 구분하기 어려웠다(Fig. 17). 한편 처리직후 미생물 생균수는 예냉 전처리방법에 따라 일정한 차이를 나타내었다. 무처리 대조구와 냉풍처리구의 초기 호기성 중온균과 대장균군 생균수가  $1.3-1.7 \times 10^7$ ,  $7.4-7.8 \times 10^6$  CFU/g 수준인데 반해, 얼음냉수에 침지하는 예냉처리로 50% 이상의 미생물 저감효과를 나타내었다(Fig. 18). 그러나 이러한 미생물 감균효과는 저장 중 지속적인 생균수 증가로 인해 저장 4일 이후 완전히 상쇄되어 모든 처리구의 생균수가 거의 동일한 수준으로 일치하였다. 메밀 새싹의 관능적인 품질측면에서 냉풍과 냉수 예냉처리는 저장 중 새싹의 변색, 시듦, 연부와 같은

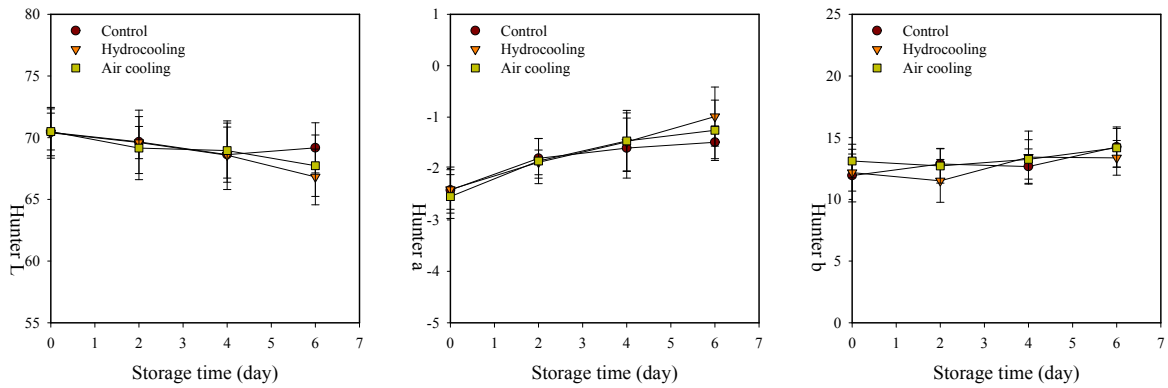


Fig. 17. Changes in Hunter L, a, b values of buckwheat sprout treated with different precooling methods during storage at 5°C for 6 days.

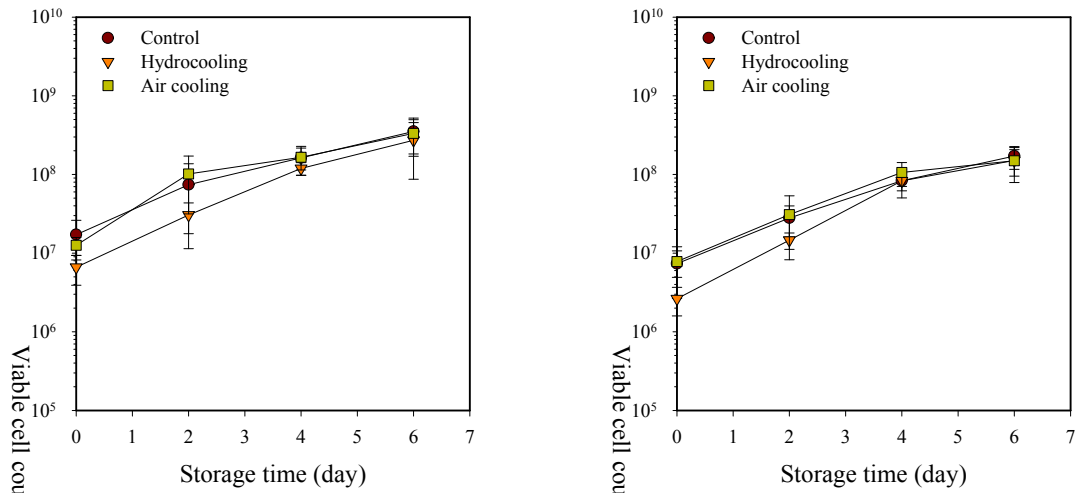


Fig. 18. Changes in mesophilic aerobes (left) and coliform bacteria (right) of buckwheat sprout treated with different precooling methods during storage at 5°C for 6 days.

외관품질 변화에 긍정적 혹은 부정적인 영향을 거의 미치지 않았는데(Table 9), 이는 예냉 처리가 실험실 규모로 소량 처리된 것에도 원인이 있겠으며 아울러 실제 유통 및 판매 현장과 비교하여 본 연구에서 저장 중 저온 유지가 잘 이루어졌기 때문에 상대적으로 새싹의 품질저하가 매우 느리게 진행된 것에 기인하는 결과로 판단된다. 메밀 새싹의 변색, 시듦, 연부 등을 전반적으로 고려하여 평가한 종합적 외관품질은 미생물 저감효과가 인정되었던 냉수 처리구가 저장 4일까지 유의적으로 우수하게 평가되었으나, 이후에는 처리구별로 차이를 구분할 수 없었다. 앞서 언급하였듯이 본 연구에서 예냉처리에 따른 저장 중 새싹채소의 품질유지 효과가 무처리 대조구와 비교하여 현저하게 차별화되지 않은 것은 예냉처리가 실험실 규모로 소량 실시된 이유도 있겠으나, 상품의 유통 및 판매 조건에서 만나게 되는 온도변화가 철저히 억제되었기 때문으로 실제 생산현장에서의 처리 효과는 더욱 배가될 것으로 예상된다.

Table 9. Changes in sensory characteristics<sup>1)</sup> of buckwheat sprout treated with different precooling methods during storage at 5°C for 6 days

| Storage time (day) | Treatment <sup>2)</sup> | Discoloration | Wilting | Decay | Visual quality |
|--------------------|-------------------------|---------------|---------|-------|----------------|
| 2                  | Control                 | 2.6c          | 2.1b    | 2.3a  | 7.9a           |
|                    | Hydrocooling            | 3.3b          | 2.6ab   | 2.6a  | 7.3a           |
|                    | Air cooling             | 4.3a          | 3.1a    | 2.8a  | 6.4b           |
| 4                  | Control                 | 4.1a          | 3.9a    | 3.4b  | 5.8ab          |
|                    | Hydrocooling            | 4.4a          | 3.8a    | 4.0ab | 6.0a           |
|                    | Air cooling             | 5.0a          | 4.6a    | 4.5c  | 5.3b           |
| 6                  | Control                 | 4.5b          | 4.6a    | 5.0a  | 5.3a           |
|                    | Hydrocooling            | 5.6a          | 5.0a    | 5.1a  | 4.6a           |
|                    | Air cooling             | 5.3ab         | 5.1a    | 5.4a  | 4.5a           |

<sup>1)</sup> The values are means of eight replicates at least. Means followed by the same letter within cells are not significantly different ( $p < 0.05$ , Duncan's test). As the value increases from 1 to 9, the intensity of sensory characteristics increases.

<sup>2)</sup> Buckwheat sprout samples were treated with dipping into iced water for 1 min or placing at average temperature of 0°C for 3 h. Control: no treatment after harvest.

### 3. 환경조건 및 포장방법에 따른 새싹채소의 저장성 평가

환경조건 및 포장방법에 따른 메밀 새싹의 저장성을 평가하기 위해 보관온도에 따른 저장 중 품질특성을 측정하였고, PP 재질의 tray와 film bag을 통기 또는 밀폐로 포장방법을 달리하여 저장 중 품질특성을 측정 분석함으로써 최적 유통용 포장처리조건을 도출하였다. 구체적으로 0, 5, 10, 20°C로 환경 온도조건을 달리하여 저장하였을 때 메밀 새싹의 저장수명을 결정하기 위해 외관, 생체중량 감소, 수분함량, 가용성 고형분함량, 색깔, 호기성 중온세균 및 대장균군의 생균수 등을 측정하고 전문평가요원을 활용하여 관능적 품질을 평가하였다. 저장 2일후 20°C 처리구는 뿌리와 줄기부위에서 갈변이 일어났으며 머리 부분은 개열과 갈변이 동시에 진행되어 이미 상품성을 잃은 상태로 변하였다(Fig. 19). 이에 반해 10°C 이하의 처리구에서는 저장 2일째까지 뚜렷한 외관변화를 발견할 수 없었으나, 저장 4일 이후 뿌리 부분의 갈변과 머리 부분의 개열이 진행되어 저장 6일째에는 일부 상품성을 잃는 시료가 발견되었다.

저장 중 새싹의 생체중량 감소는 냉장범위 이상인 20°C 처리구에서만 2.6-14.3%로 확연하게 증가하였으나, 다른 냉장범위의 처리구에서는 온도에 관계없이 1.2-2.2% 수준으로 매우 낮게 유지되었다(Fig. 19). 새싹의 수분함량과 가용성 고형분함량 변화는 온도별로 유의적인 차이를 구분할 수 없었으나(Fig. 20), 수분함량의 경우 특이하게 20°C 처리구에서 다른 처리구와 달리 저장 중 점차 증가하는 양상을 나타내었다. 이는 냉장온도범위 이

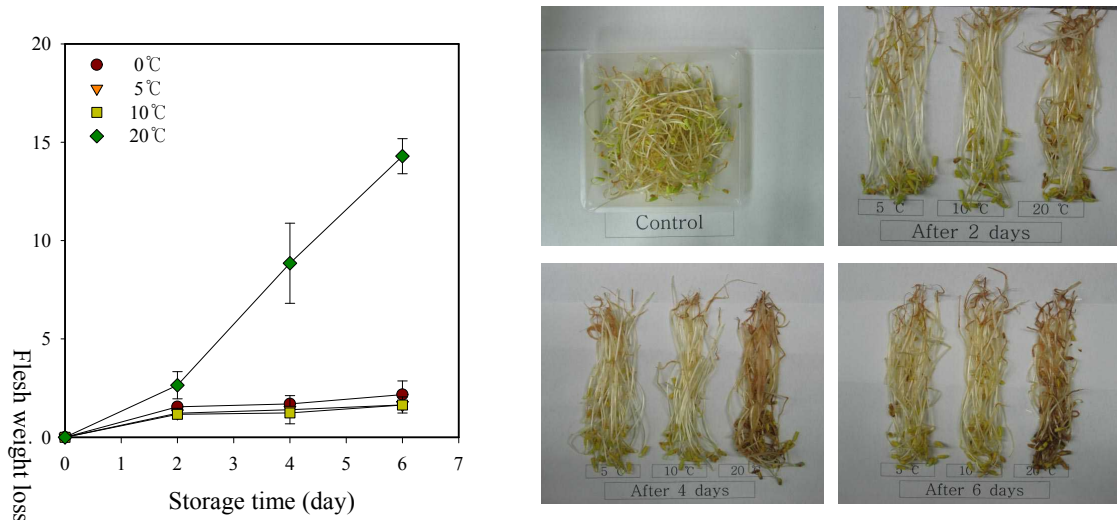


Fig. 19. Changes in flesh weight loss (left) and appearance (right) of buckwheat sprout during storage at different temperatures for 6 days.

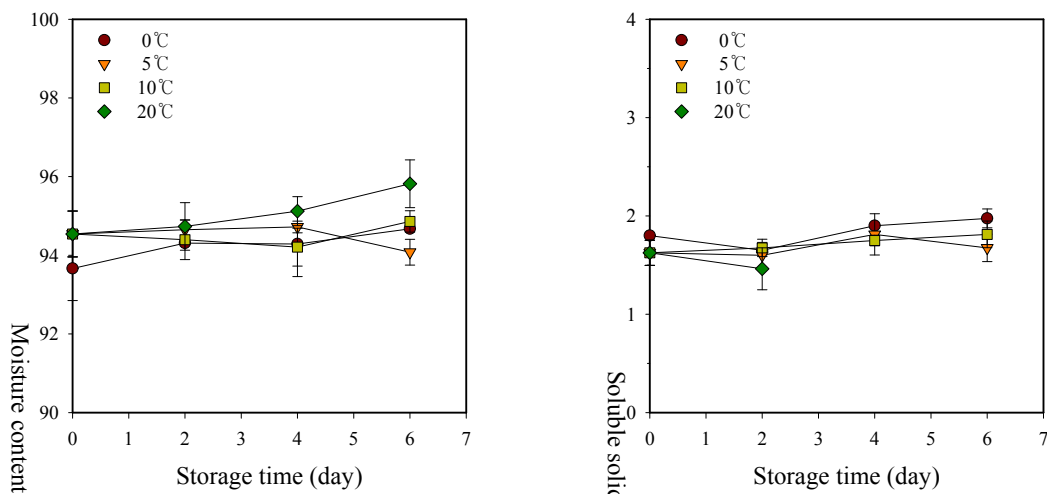


Fig. 20. Changes in moisture content (left) and soluble solids content (right) of buckwheat sprout during storage at different temperatures for 6 days.

상의 조건에서 지속적인 미생물 증식과 그에 따른 부패 및 연부의 진행으로 오히려 식물 조직에 자유수 함량이 증가한데 원인이 있을 것으로 이해되며, 실제로 저장 4일째부터는 연부현상이 심해져서 가용성 고형분함량의 측정이 불가능하였다. 색깔의 경우 메밀 새싹의 외관변화(Fig. 19)에서 관찰한 바와 같이 저장 2일째부터 다른 처리구와 달리 20°C 처리구에서 뿌리를 포함한 줄기와 머리부위의 갈변이 모두 진행되어 Hunter L값은 선형적으로 감소한 반면 Hunter a값은 선형적으로 증가함으로써 분명하게 구분되었다(Fig. 21). 이에 비해 0-10°C의 저온처리구에서는 어떠한 색변화의 경향도 발견되지 않았으며, Hunter L값은 67.1-71.0, Hunter a값은 -2.62-1.0, Hunter b값은 11.5-14.1 범위에서 일정하게 유지되어 처리구간 유의적인 차이가 없었다.

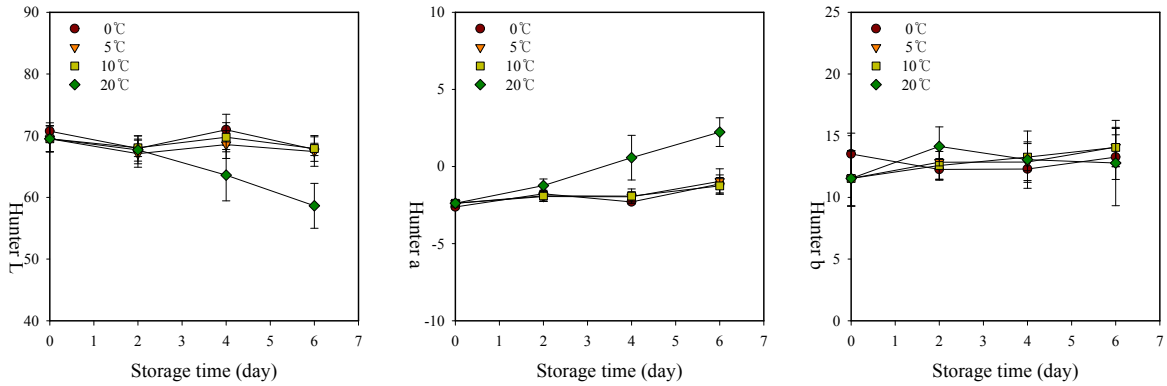


Fig. 21. Changes in Hunter L, a, b values of buckwheat sprout during storage at different temperatures for 6 days.

한편 미생물 생균수는 저장온도에 따라 일정한 차이를 나타내어 호기성 중온균이나 대장균군 모두 저장온도가 높을수록 현저하게 증식하였으며 저장 중 처리구간의 생균수 차이가 계속 확대되었다(Fig. 22). 즉, 0°C에 저장한 메밀 새싹은 호기성 중온균과 대장균군의 생균수가 초기  $1.3 \times 10^7$ ,  $8.8 \times 10^6$  CFU/g 수준에서 저장 6일째에  $1.1 \times 10^8$ ,  $1.2 \times 10^8$  CFU/g로 약 1 log cycle만큼 증가한 반면, 20°C에 저장한 새싹은 동일한 기간에 약 2.7 log cycle이나 증가하여 거의 3배나 높은 미생물 증식속도를 나타내었다. 이러한 상온조건에서 급속한 미생물 증식은 앞서 수분함량 변화에서 설명한 바와 같이 저장 중 메밀 새싹 식물조직의 부패 및 연부 현상을 유발하게 되는 것으로 판단된다.

관능적인 품질측면에서 환경온도는 저장 중 새싹의 변색, 시듦, 부패와 같은 외관품질 변화에 매우 큰 영향을 미치는데(Table 10), 당연히 높은 온도에서 품질열화가 더 빨리 진

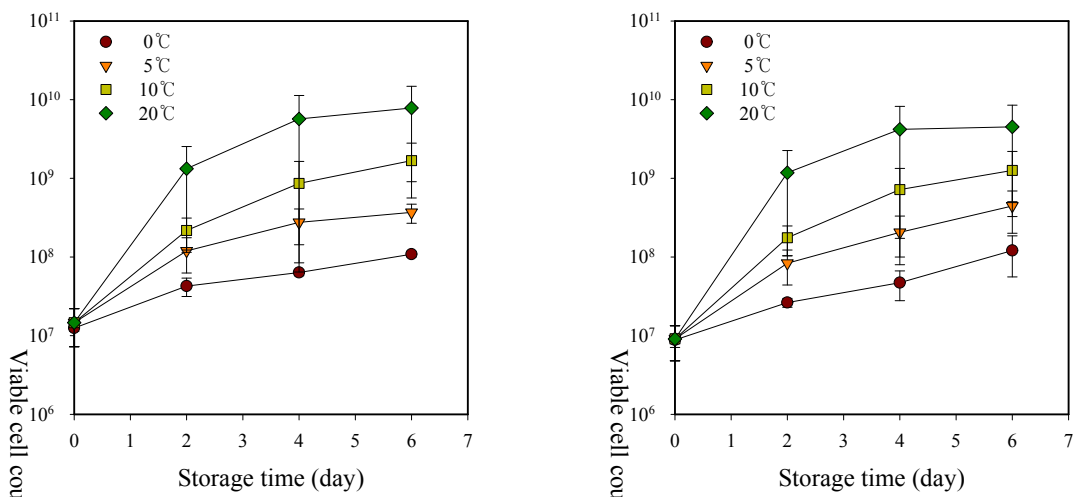


Fig. 22. Changes in mesophilic aerobes (left) and coliform bacteria (right) of buckwheat sprout during storage at different temperatures for 6 days.

Table 10. Changes in sensory characteristics<sup>1)</sup> of buckwheat sprout during storage at different temperatures for 6 days

| Storage time (day) | Treatment <sup>2)</sup> | Discoloration | Wilting | Decay | Visual quality |
|--------------------|-------------------------|---------------|---------|-------|----------------|
| 2                  | 5°C                     | 3.3a          | 3.1a    | 2.6a  | 7.3a           |
|                    | 10°C                    | 2.7a          | 2.7a    | 2.0a  | 7.7a           |
|                    | 20°C                    | 3.6a          | 3.0a    | 2.4a  | 6.9a           |
| 4                  | 5°C                     | 5.0b          | 4.5b    | 4.3b  | 4.6b           |
|                    | 10°C                    | 4.4b          | 4.3b    | 4.0b  | 5.9a           |
|                    | 20°C                    | 8.3a          | 7.6a    | 8.3a  | 2.0c           |
| 6                  | 5°C                     | 6.8b          | 6.3b    | 6.3b  | 3.6b           |
|                    | 10°C                    | 5.4c          | 5.5b    | 5.5b  | 4.9a           |
|                    | 20°C                    | 9.0a          | 8.6a    | 8.6a  | 1.1c           |

<sup>1)</sup> The values are means of eight replicates at least. Means followed by the same letter within cells are not significantly different ( $p < 0.05$ , Duncan's test). As the value increases from 1 to 9, the intensity of sensory characteristics increases.

<sup>2)</sup> Buckwheat sprout samples were treated with 100 ppm sodium hypochlorite and hydrocooled with iced water to store at different temperatures for 6 days.

행되어 20°C 저장시료의 경우 종합적인 외관품질 기준을 2일까지만 상품성을 유지할 수 있었다. 그러나 10°C 이하의 저온범위에서는 온도가 낮을수록 메밀 새싹의 신선도 유지기간이 더 길어질 것이라는 일반적인 예상과 달리, 5°C보다 10°C에 저장한 새싹시료가 변색, 시듦, 부패 항목을 포함하여 종합적인 외관품질 평가에서도 저장 중 유의적으로 더 우수하게 나타났고 저장일수가 늘어나더라도 관능평가점수의 차이는 그대로 유지되었다. 이러한 현상은 아직까지 원인이 명확하게 밝혀지지 않았으나 숙주나물과 같은 다른 새싹 채소에서도 경험적으로 잠재적 가능성이 알려진 사실로서, 아마도 일종의 저온장해(chilling injury)에 기인한 것이 아닐까 추측되고 있으며 새싹채소의 생리특성 측면에서 향후 보다 면밀한 연구가 필요하다.

포장방법에 따른 메밀 새싹의 저장성을 평가하기 위해 PP 소재의 tray와 film bag을 통기 또는 밀폐 형태로 포장방법을 달리하여 저온에 저장하면서 품질특성을 측정하였다. 플라스틱 용기와 필름봉투 포장재 내부의 기체조성을 GC로 측정한 결과(Fig. 23), 통기성 포장처리구는 용기나 봉투 형태에 관계없이 일반적인 대기조성의 산소농도(약 20%)를 유지하였으나 이산화탄소농도의 경우 봉투처리구에서만 대기조성인 0%를 나타냈을 뿐 용기처리구에서는 1% 내외를 유지하였다. 이는 비록 용기 포장재의 뚜껑 필름부분에 몇 개의 pinholes를 내더라도 경우에 따라 완전한 기체교환이 불가능하여 내부에 소량의 이산화탄소가 축적될 수 있음을 나타낸다. 밀봉 포장구에서는 저장 중 메밀 새싹의 지속적인 호기호흡으로 인해 산소농도가 감소하고 이산화탄소농도가 증가하는 양상을 나타내었으

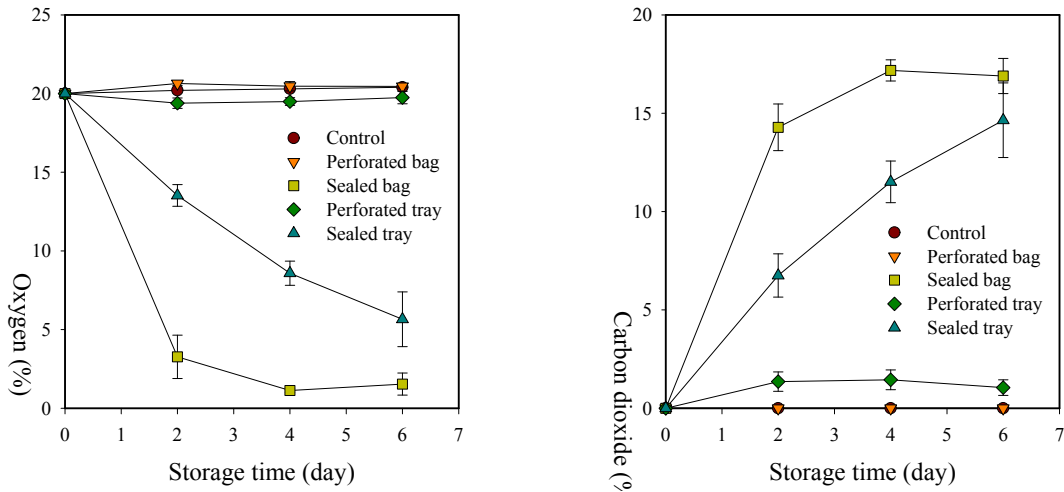


Fig. 23. Changes in oxygen (left) and carbon dioxide (right) concentrations of buckwheat sprout packages treated with different packing methods during storage at 5°C for 6 days.

며, 내용적이 상대적으로 작은 필름봉투에서 더 빠르게 산소가 감소하고 이산화탄소가 증가하였다. 밀봉 포장구라 하더라도 저장기간 동안 내부에 혐기조건이 생성되지 않았으며, 저장 6일째에 이산화탄소농도가 약 15-17% 수준으로서 충분한 MA 효과를 기대할 수 있다고 판단되었다.

구체적으로 포장처리구별 메밀 새싹의 품질변화를 살펴보면, 생체중량 감소는 통기/밀봉에 관계없이 강성 용기에 비해 연성 필름봉투 포장구에서 더 높았고 5°C 저장 6일째에 통기 필름봉투는 7.6%, 밀봉 필름봉투는 6.8%로 거의 비슷한 수치를 나타내었다(Fig. 24). 천공 PE 필름봉투에 새싹시료를 담은 대조구와 용기 포장구에서는 저장 중 2.5% 미만의 중량감소를 나타내어 사용한 포장재질에 따라 큰 차이가 있었다. 이는 본 연구에 사용된 PP 필름봉투가 김 서림 방지를 위해 내면에 방담 처리된 것으로 저장기간 동안 방담제로 도포된 계면활성제 성분이 점차 새싹시료로 전이되어 식물조직의 손상을 유발했기 때문으로 이해된다. 또한 동일한 재질의 필름봉투라 하더라도 밀봉한 처리구에 비해 통기구가 있는 처리구에서 수분 유출이 더 용이하므로, 결과적으로 통기 필름봉투 포장구에서 저장 중 새싹시료의 생체중량이 가장 많이 감소한 것으로 밝혀졌다. 그러나 수분함량, 가용성 고형분함량, 색깔 등의 측정 결과(Figs. 25 & 26)에서는 저장 중 포장처리구별로 새싹시료의 유의적인 차이를 발견할 수 없었다.

한편 미생물 생균수는 포장구별로 일정한 차이를 나타내어 호기성 중온균이나 대장균군 모두 밀봉 필름봉투 처리구에서  $3.2-5.6 \times 10^7$  CFU/g로 가장 낮은 수준을 나타내었으며 저장 중 일정하게 유지되었다(Fig. 27). 이는 필름봉투로부터의 계면활성제 성분이행과 MA 복합효과로 인해 가능한 결과이며, 밀봉 용기 포장구에서도 상대적으로 낮은 생균수

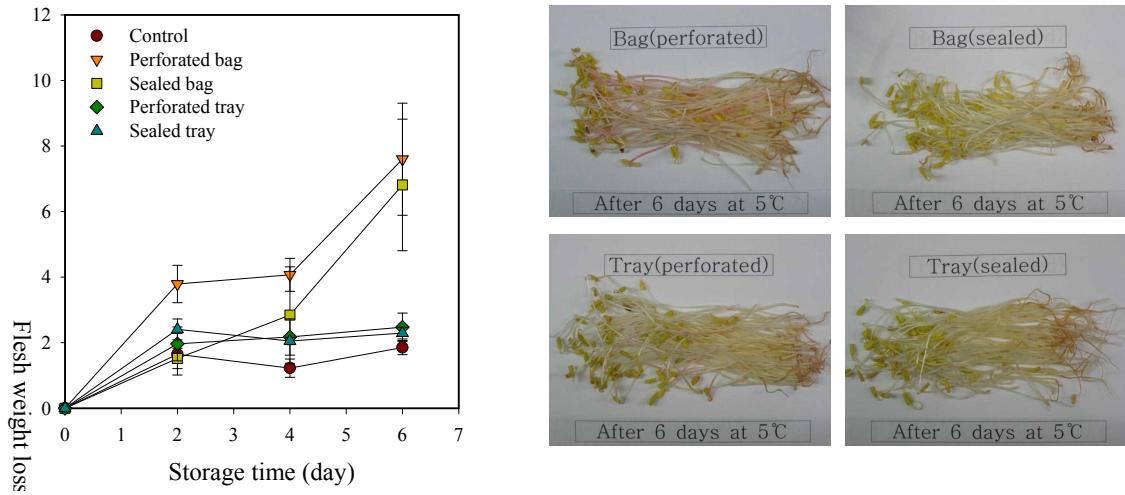


Fig. 24. Changes in flesh weight loss (left) and appearance (right) of buckwheat sprout treated with different packing methods during storage at 5°C for 6 days.

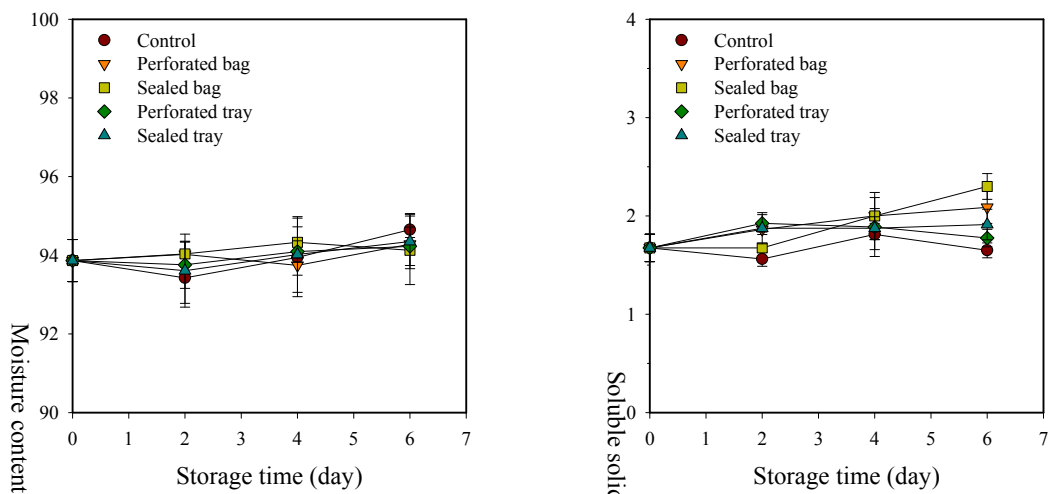


Fig. 25. Changes in moisture content (left) and soluble solids content (right) of buckwheat sprout treated with different packing methods during storage at 5°C for 6 days.

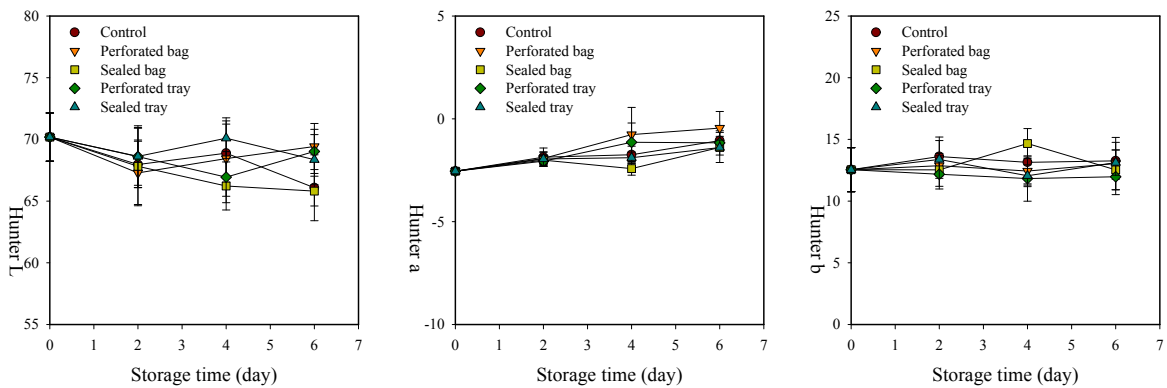


Fig. 26. Changes in Hunter L, a, b values of buckwheat sprout treated with different packing methods during storage at 5°C for 6 days.



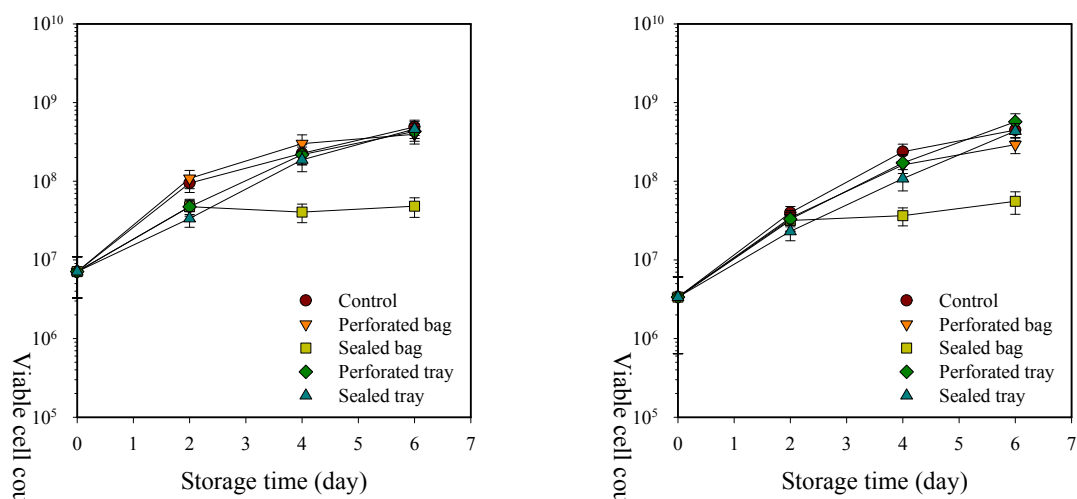


Fig. 27. Changes in mesophilic aerobes (left) and coliform bacteria (right) of buckwheat sprout treated with different packing methods during storage at 5°C for 6 days.

Table 11. Changes in sensory characteristics<sup>1)</sup> of buckwheat sprout treated with different packing methods during storage at 5°C for 6 days

| Storage time (day) | Treatment <sup>2)</sup> | Discoloration | Wilting | Decay | Visual quality |
|--------------------|-------------------------|---------------|---------|-------|----------------|
| 2                  | Control                 | 2.6ab         | 2.8a    | 2.1ab | 7.0a           |
|                    | Perforated bag          | 3.0a          | 2.4ab   | 2.1ab | 6.9a           |
|                    | Sealed bag              | 3.0a          | 2.8a    | 2.3a  | 6.9a           |
|                    | Perforated tray         | 1.9b          | 1.8b    | 1.4b  | 7.8a           |
|                    | Sealed tray             | 2.1b          | 2.1ab   | 1.6b  | 7.8a           |
| 4                  | Control                 | 3.9b          | 4.0a    | 2.9c  | 5.6b           |
|                    | Perforated bag          | 5.3a          | 4.5a    | 4.6b  | 4.0c           |
|                    | Sealed bag              | 4.9ab         | 4.8a    | 5.5a  | 3.8c           |
|                    | Perforated tray         | 4.3ab         | 2.6b    | 2.8c  | 5.9b           |
|                    | Sealed tray             | 2.0c          | 2.1b    | 1.8d  | 7.4a           |
| 6                  | Control                 | 5.1b          | 5.3a    | 4.8b  | 4.6b           |
|                    | Perforated bag          | 7.5a          | 5.0a    | 6.3a  | 2.6d           |
|                    | Sealed bag              | 5.0b          | 5.4a    | 6.0a  | 3.8c           |
|                    | Perforated tray         | 5.5b          | 4.4a    | 4.1b  | 5.0b           |
|                    | Sealed tray             | 3.1c          | 3.1b    | 3.0c  | 6.9a           |

<sup>1)</sup> The values are means of eight replicates at least. Means followed by the same letter within cells are not significantly different ( $p < 0.05$ , Duncan's test). As the value increases from 1 to 9, the intensity of sensory characteristics increases.

<sup>2)</sup> Buckwheat sprout samples were treated with 100 ppm sodium hypochlorite and iced water, and then packed with different packaging materials and methods to store at 5°C for 6 days.

를 나타내어 MA 조성이 긍정적인 영향을 미친 것으로 판단되었다. 결론적으로 미생물 증식억제에도 불구하고 밀봉 필름봉투 처리구는 새싹의 외관 및 관능적 품질유지에 가장 불리하였으나(Table 11), 밀봉 용기 포장구는 메밀 새싹의 품질유지에 가장 효과적인 방법으로 평가되었다.

#### 4. 기존 새싹채소 유통방식의 온도유지 효과 분석

외부 온도조건에 따른 품온 변화를 측정하기 위하여 내부 단열포장재와 축냉재를 사용하지 않고 EPS 상자(31.9×26×21.3 cm, thickness: 2.4 cm)와 새싹채소 용기(23×19×7 cm)만을 사용하여 측정시스템(Fig. 28)을 구축하고, 여름철 주간 온도인 31°C와 36°C의 정온조건에서 새싹채소의 배송을 가정해 온도변화를 측정하였다(Fig. 29). 온도 측정은 새싹용기의 중심부를 포함하여 EPS 상자 내부 및 외부 표면 등 다양한 위치에서 이루어졌으며, K형 열전대는 데이터로거에 연결하여 설정시간에 따라 온도를 측정하였다. 모든 조건에서 내부 온도가 증가하는 양상은 비슷하여 초기에는 빠르게 열전달이 일어나다가 온도 차이가 작아지는 후반에는 완만하게 증가하는 경향을 보였다. 열전달의 기작으로 보면 외부 온도가 높을수록 초기 품온이 낮을수록 전달되는 열량은 증가한다. 본 연구에서는 각각의 외부 온도조건에서 초기 품온이 다르지만 외부 온도와 차이는 약 15°C로서 같았다. 품온이 10°C 상승할 때 걸린 시간은 외부 온도조건에 관계없이 약 8시간이 걸렸고, 초기 5시간까지의 품온변화 차이를 비교하여 보면 마찬가지로 외부 온도에 관계없이 약 7.5°C 정도의 변화를 나타내었다. 이는 외부 온도의 상태나 초기 품온보다는 그들 간의 차이가 열전달에 더 큰 영향을 주는 것을 나타낸다. 즉, 초기의 열전달은 외부 온도와 품온의 차이가 클수록 증가하고 품온이 외부 온도와 평형에 가까워질수록 온도 차이는 적어지므로 열전달 속도는 외부 온도의 높낮이와 관계없이 비슷하였다.

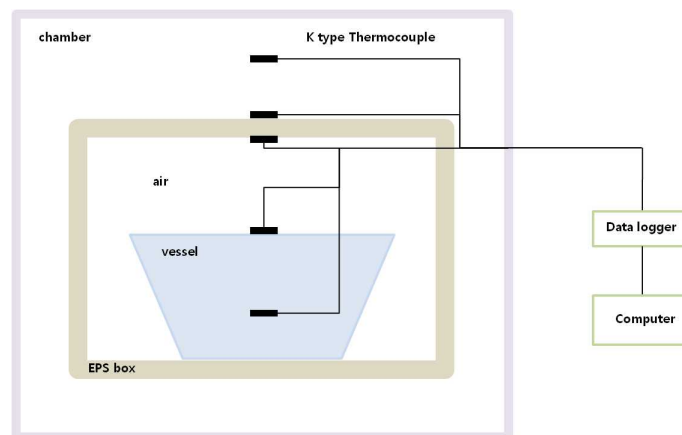


Fig. 28. Location of temperature sensors within chamber.

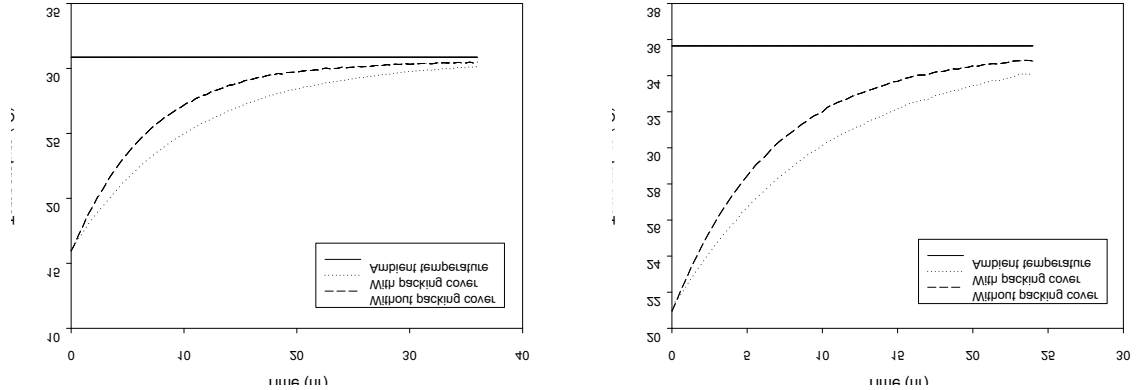


Fig. 29. Effect of the insulating cover on the internal temperature profiles at ambient temperatures of 30.9°C (left) and 35.7°C (right).

동일한 외부 온도조건에서 새싹채소 용기를 내부 단열포장재에 넣은 후 온도 profile을 측정한 결과(Fig. 30), 내부 단열포장재를 사용한 경우 모든 온도조건에서 단열포장재에 쌓여진 새싹채소 용기의 온도가 단열포장재가 없는 조건보다 천천히 증가하는 것을 확인할 수 있었다. 외부 온도가 31°C인 경우 품온이 30°C에 도달하는데 걸리는 시간은 단열포장재를 사용하지 않은 처리구에서 약 24시간이 걸렸으나, 단열포장재를 사용한 처리구에서는 34시간 정도가 걸려 단열포장재가 효과적으로 열전달을 저해하는 것을 확인할 수 있었다. 외부 온도가 36°C인 경우에도 30°C의 경우와 비슷한 결과를 나타내었다. 내부 단열포장재를 사용함으로써 외부로부터 전달되는 열에 대한 또 하나의 저항이 추가될 뿐만 아니라 단열포장재의 재질이 은박으로 코팅된 점을 고려할 때 EPS 상자 내부 표면으로부터의 복사열을 효과적으로 차단하기 때문에 전체적으로 열전달을 크게 지연시킨 것으로 판단된다.

축냉재가 열전달에 미치는 효과를 평가하기 위하여 외부 온도가 35°C일 때 EPS 상자 내부에 축냉재만 넣고 축냉재 표면의 온도변화를 측정한 결과(Fig. 31), 축냉재의 초기 온도는 약 -10°C이며 약 2시간 동안 고체 상태를 지속하다가 2-5시간까지 약 5°C에서 고체로부터 액체로의 상변화가 일어나고 5시간 이후부터는 액체 상태로 온도가 증가하였으며, 축냉재의 온도가 35°C까지 올라가는데 약 14시간이 걸렸다. 외부 온도 36°C에서 새싹채소 용기 하단부에 축냉재를 넣고 온도를 측정한 결과(Fig. 31), 축냉재가 없을 때와 달리 축냉재가 있을 경우 초기에 새싹용기 하단부에 있는 축냉재의 냉각효과가 상자 외부로부터 전달되는 열량보다 크기 때문에 내부 온도가 점차 감소하다가 계속되는 상자 내로의 열 유입으로 축냉재의 냉각효과가 점차 떨어져 차츰 내부 온도가 상승하게 된다. 축냉재에 의한 냉각효과는 외부 온도가 36°C인 조건에서도 초기 품온에 다시 도달할 때까지 약 8시간 지연시켰고 내부 단열포장재를 병용한 경우에는 약 11시간 지연시켰다.

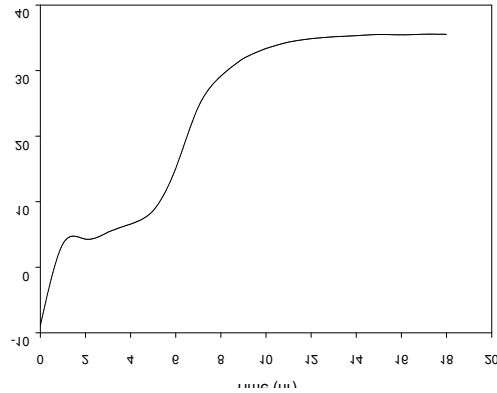


Fig. 30. Temperature profile of the refrigerant in EPS box at ambient temperature (35.8°C).

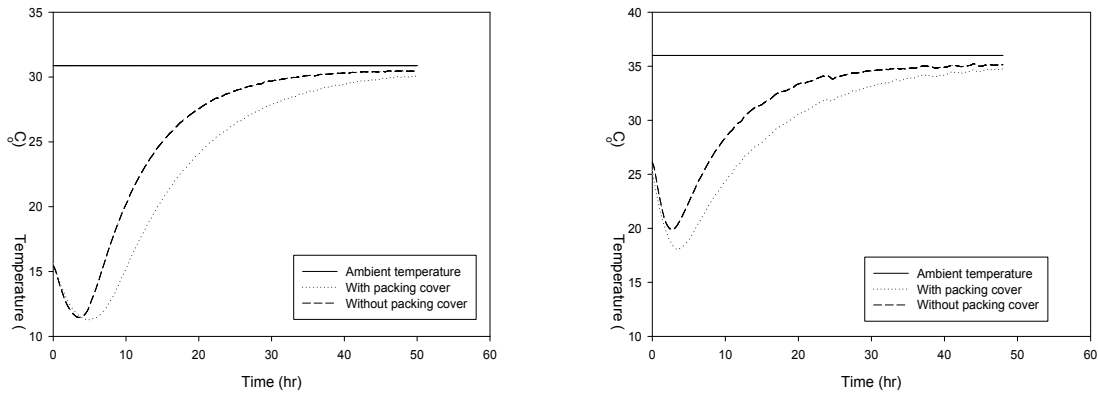


Fig. 31. Effect of the insulating cover and refrigerant on the internal temperature profiles at ambient temperatures of 30.9°C (left) and 36.0°C (right).

다양한 포장방법의 조합에 따른 열전달 지연효과를 비교하기 위하여 축냉재를 사용한 경우는 다시 초기 품온에 도달한 이후의 결과를 선택하고, 축냉재를 사용하지 않은 경우는 동일한 품온 이후의 결과를 선택하여 도시하였다(Fig. 32). 조정된 기준 품온 25°C로부터 5°C 상승할 때까지 내부 단열포장재와 축냉재를 사용한 경우는 7.8시간, 축냉재만 사용한 경우엔 5.3시간, 내부 단열포장재만 사용한 경우는 6.6시간, 아무 것도 사용하지 않은 경우엔 4.5시간이 소요되었다. 축냉재의 효과는 축냉재를 사용하지 않았을 경우보다는 열전달을 더 많이 저해하나 새싹채소의 품온이 다시 초기 온도를 회복한 이후에는 내부 단열포장재만을 사용하였을 경우보다 열전달을 저해하지 못하였다. 이는 축냉재의 온도가 용융점을 넘어 새싹채소의 품온과 일단 평형을 이루면 더 이상 열을 빼앗는 역할을 하지 못하고 외부에서 유입되는 열을 저장하는 또 다른 매체로서의 역할만을 하게 된다. 전체적으로 보면 일단 열 저장매체의 중량이 증가함으로써 새싹채소로 유입되는 열의 일부를 분산시키는 역할을 하나, 그 효과는 내부 단열포장재가 열을 저해하는 효과에 미치지 못하는 것으로 생각할 수 있다.

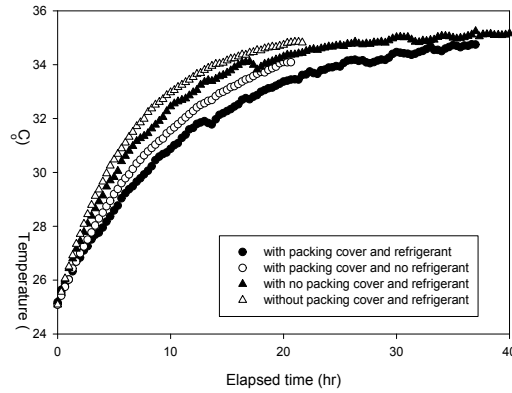


Fig. 32. Comparison of adjusted internal temperature profiles under various packing conditions at ambient temperature (35°C).

실제 배송 시 일어날 수 있는 외부 온도의 변화에 따른 새싹채소 품온 변화를 측정 한 결과(Fig. 33), 외부 온도 변화에 따라 EPS 상자 내로 유입되는 열전달 속도가 다르게 나타났다. 축냉재를 사용하지 않았을 경우 초기 품온은 약 22°C로서 외부 온도가 25.7°C일 때 온도 차이가 적어 품온 변화속도가 완만하나, 외부 온도가 35.7°C로 변하면 급격하게 품온이 상승하는 것을 볼 수 있다. 변온조건 초기에 내부 단열포장재를 사용하였을 때 외부 온도의 영향을 효과적으로 차단함으로써 품온 변화속도가 단열포장재를 사용하지 않았을 경우보다 작았으나, 흥미롭게도 8-12시간까지 새싹채소의 품온이 외부 온도보다 높은 경우엔 내부 단열포장재의 단열효과로 인하여 오히려 포장재가 없을 때의 경우가 더 빨리 냉각되었다. 이러한 조건에서 24시간이 되었을 때 오히려 단열포장재를 사용하지 않은 경우가 품온이 더 낮았다. 동일한 조건에서 축냉재와 내부 단열포장재를 병용 처리하였을 때 더욱 효과적으로 열전달을 저해하는 것으로 나타났다.

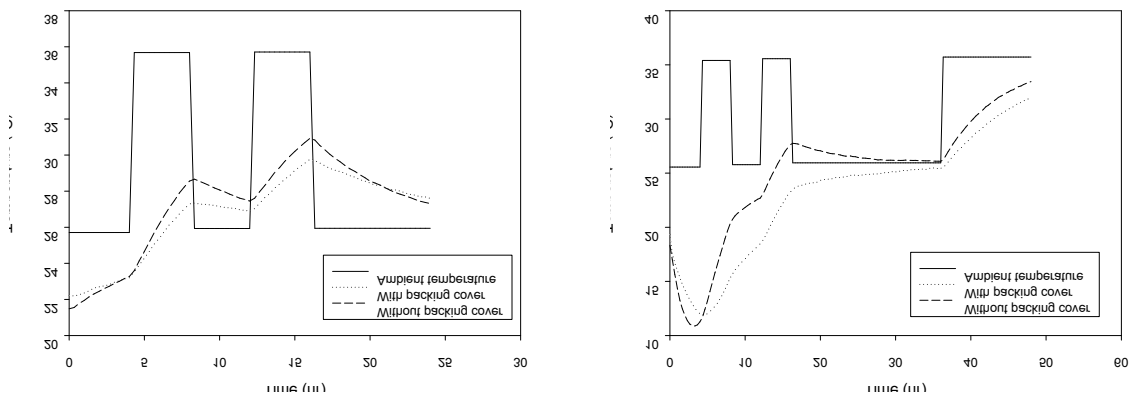


Fig. 33. Effect of the insulating cover (left) and refrigerant (right) on the internal temperature profiles under fluctuating ambient temperature conditions.

열전달 모델링 방법을 표현하기 위하여 열 이동에 대한 저항을 전기적 저항과 마찬가지로 가정하였다(Fig. 34). 모델링에 사용된 포장조건은 EPS 상자와 새싹채소 용기만을 사용한 경우로서 추후의 여러 가지 조합에 있어서 가장 기본적인 조건을 선정하였다. 선택된 포장조건에서 열전달의 기작을 살펴보면, 우선 외부 온도가  $T_e$ 인 chamber로부터 자연 대류와 복사의 형태로 EPS 상자 표면( $T_i$ )으로 열 전달되고, 표면으로 전달된 열은 다시 EPS 상자 내부( $T_o$ )로 전도에 의해 전달되며, 상자 내부에서 새싹채소 용기( $T_v$ )로 자연대류와 복사에 의해 열전달이 일어난다. 새싹채소 용기로 전달된 열은 다시 용기 내용물로 대류에 의해 전달되어 내부 온도( $T_w$ )가 상승하게 된다. EPS 상자 내부에서 열 축적을 무시하면 상자 외부로부터 전달된 열은 내용물이 얻은 열량과 동일하므로, 내부로 전달된 열은 내용물이 얻은 열량과 동일하다고 가정할 경우 예상되는 시간에 따른 내용물의 온도 변화를 나타내는 식은 아래와 같이 시간에 대한 지수함수 형태로 표현할 수 있다. 여기서 총괄전열계수( $h_g$ )는 외부 대류열전달계수( $h_{c,i}$ ), 외부 복사열전달계수( $h_{c,e}$ ), EPS 상자 내부에서의 열전도계수( $k$ ), 내부 복사열전달계수( $h_{r,i}$ ), 내부 대류열전달계수( $h_{c,i}$ ), 물의 대류열전달계수( $h_{c,w}$ ) 도합의 역수값으로서 측정된 온도 profile로부터 구할 수 있다. 각각의 외부 온도조건  $T_e$ 에 대하여  $\ln\{(T_e - T_w)/(T_e - T_{w,i})\}$  값을 시간  $t$ 에 대해 도시화한 후 회귀분석을 이용하여 기울기  $h_g/\rho C_p V$ 로부터  $h_g$ 을 계산한다. 이로서 모형식(1)에 의해서 내용물의 온도 변화 양상을 추측할 수 있었으며, 실제 결과와 비교하여 확인하였다.

$$T_w = T_e \left\{ 1 - \exp\left(-\frac{h_g}{\rho C_p V} t\right) \right\} + T_{w,i} \exp\left(-\frac{h_g}{\rho C_p V} t\right) \quad (1)$$

상기 식(1)에서,  $T_e$  = incubator 온도(°C),  $T_w$  = 내용물 온도(°C),  $T_{w,i}$  = 내용물 초기 온도(°C),  $h_g$  = 총괄전열계수(W/m<sup>2</sup>·K),  $\rho$  = 물의 밀도(kg/m<sup>3</sup>),  $C_p$  = 물의 비열(J/kg·°C),  $V$  = 내용물 부피(m<sup>3</sup>),  $t$  = 시간(hr)을 의미한다.

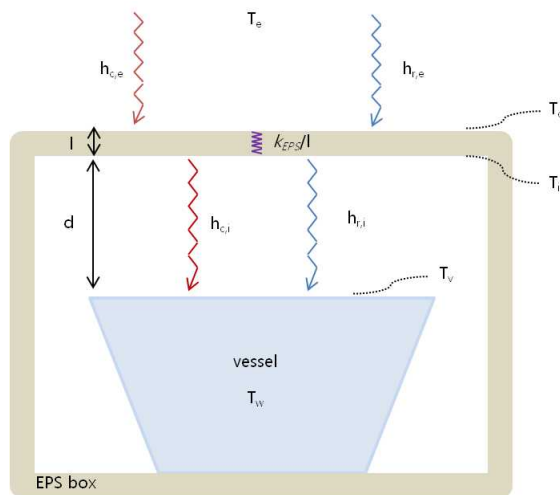


Fig. 34. Representation of external and internal heat transfer exchanges of the EPS box.

외부 온도조건을 31°C와 36°C 정온조건으로 하였을 때의 품온 변화와 예측 모형식으로부터 얻은 결과를 비교하였다(Fig. 35). 평균 총괄전열계수( $h_g$ )를 구하기 위하여 각각의 조건에서 얻은 실험결과로부터  $\alpha$ 값을 먼저 결정하고 새싹채소의 주성분으로서 물의 열 특성인자인 밀도( $\rho$ ), 비열( $C_p$ )을 평균온도를 계산하여 찾았으며, 부피( $V$ )는 1.4 L로 고정하고  $\alpha$ 값에서  $\rho C_p V$  값을 나누어 주면  $h_g$ 를 결정할 수 있다. 25°C에서 물의 밀도는 997.08 kg/m<sup>3</sup>이고 비열은 4.182 kJ/kg·K이며, 총괄전열계수는 외부 공기에서의 대류열전달계수, EPS 상자 내부 공기의 대류열전달계수, 물에서의 대류열전달계수, EPS 상자에서의 전도계수, 복사열전달계수가 포함된 값으로서 각각의 열전달 저항을 합한 역수값에 해당한다. 각 조건에서 찾은 평균 총괄전열계수는 Table 12과 같으며, 각 외부 온도조건에 대한 품온예측 모형식은 다음과 같다.

· 내부 단열포장재 사용 시,

$$\text{외부온도 } 31^\circ\text{C}: T_w = 16.0\{1 - \exp(-0.0889t)\} + 30.9\exp(-0.0889t)$$

$$\text{외부온도 } 36^\circ\text{C}: T_w = 21.3\{1 - \exp(-0.0937t)\} + 35.7\exp(-0.0937t)$$

· 내부 단열포장재 미사용 시,

$$\text{외부온도 } 31^\circ\text{C}: T_w = 16.0\{1 - \exp(-0.1368t)\} + 30.9\exp(-0.1368t)$$

$$\text{외부온도 } 36^\circ\text{C}: T_w = 20.9\{1 - \exp(-0.1378t)\} + 35.7\exp(-0.1378t)$$

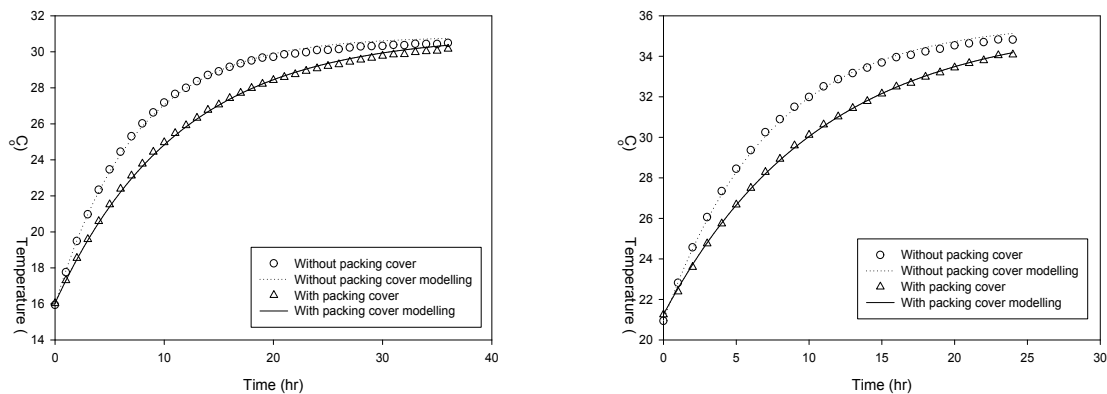


Fig. 35. Comparison of the predicted and experimental data for the internal temperature profiles at ambient temperatures of 31°C (left) and 36°C (right).

Table 12. Overall heat transfer coefficients for various packing conditions

| External temperature | Insulating cover | $h_g$ (W/m <sup>2</sup> ·K) |
|----------------------|------------------|-----------------------------|
| 31°C                 | O                | 0.519                       |
|                      | X                | 0.798                       |
| 36°C                 | O                | 0.546                       |
|                      | X                | 0.803                       |

모든 경우에 있어 예측 모형식의 결정계수( $r^2$ )는 0.998 이상으로 예측모형과 실험값이 잘 일치하는 것을 확인할 수 있었다. 또한 결과를 보면 평균 총괄전열계수에 미치는 외부 온도의 영향은 외부 온도의 절대값이 아니라 초기 품온과의 차이가 클수록 커지는 것을 알 수 있었다. 실측값에서 외부 온도와 초기 품온과의 차이가 거의 비슷하여 평균 총괄전열계수 또한 거의 비슷하게 나타났으며, 내부 단열포장재의 단열효과도 다시 한번 확인할 수 있었는데 외부 온도와 품온의 초기 온도 차이가 약 15°C일 때 평균 총괄전열계수는 단열포장재가 없는 경우에서 약 1.5배 정도 컸다. 단열포장재를 사용하지 않았을 때 시간에 따른 유효 총괄전열계수(effective overall heat transfer coefficient) 변화를 살펴보면 (Fig. 36), 외부 온도와 초기 온도의 차이가 가장 큰 초기에 급격하게 증가하여 일정 시간동안 일정한 값을 유지하다가 노출 시간이 증가할수록, 즉 외부 온도와 초기 온도의 차이가 작아질수록 감소하는 결과를 나타내었다.

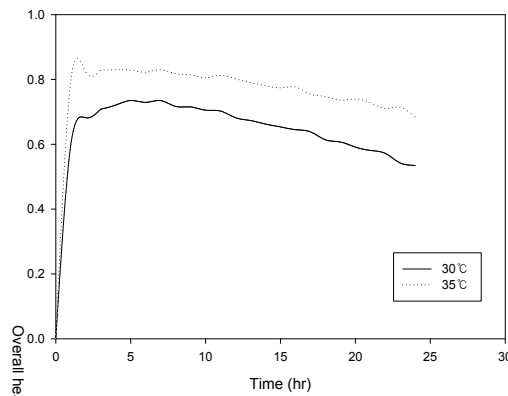


Fig. 36. Profiles of overall heat transfer coefficients in the model package system with no insulating cover.

변온조건에서의 예측 모형식은 온도조건이 바뀔 때마다 초기 조건값이 변하게 되므로 같은 온도조건에서 각각의 구간을 나누어 예측 모형식을 설정하였다. 변온되는 각 구간의 예측 모형식 결과는 다음과 같다.

- 최초 4시간(외부 온도 26°C),

$$T_w = 21.5\{1 - \exp(-0.1211t)\} + 25.7\exp(-0.1211t)$$

- 다음 4-8시간(외부 온도 36°C),

$$T_w = 23.6\{1 - \exp(-0.1412t)\} + 36.0\exp(-0.1412t)$$

- 다음 8-12시간(외부 온도 26°C),

$$T_w = 28.7\{1 - \exp(-0.1701t)\} + 26.1\exp(-0.1701t)$$

- 다음 12-16시간(외부 온도 36°C),

$$T_w = 27.6\{1 - \exp(-0.1398t)\} + 35.9\exp(-0.1398t)$$



· 16시간 이후(외부 온도 26°C),

$$T_w = 30.8\{1 - \exp(-0.1796t)\} + 26.2\exp(-0.1796t)$$

변온조건에서의 실험결과와 예측모형을 비교한 결과(Fig. 37), 4-8시간 동안의 온도변화를 보면 최초 4시간에 비하여 외부 온도와 품온과의 차이가 크므로 평균 총괄전열계수가 더 컸고(즉, 열전달이 빨랐고), 외부 온도조건이 같은 12-16시간 동안과 비교하여도 역시 품온과의 온도 차이가 크므로 총괄전열계수가 크게 나타났다. 결론적으로 예측모형은 적용된 모든 경우에 있어서 실제 결과와 잘 일치하였고, 수립된 예측모형들은 앞으로 보다 복잡하고 실제 배송 시 일어날 수 있는 다양한 조건에서의 품온 변화를 효과적으로 예측하기 위한 기본 자료로 활용될 수 있다.

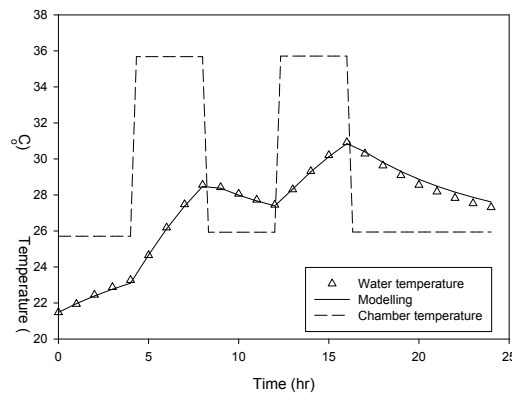


Fig. 37. Comparison of the predicted and experimental data for the internal temperature profiles at varying ambient temperatures.

##### 5. 새싹채소의 적정 수확후 처리 현장적용 실증시험

메밀 새싹의 적정 수확후 처리를 생산현장에서 적용하여 실증 시험하고자, 상기의 수행 연구결과에 근거하여 선정한 최적 염소수세처리, 예냉처리, 포장처리를 협동연구기관/참여기업인 참한싹(주)의 메밀 새싹 재배공장에서 각기 구분하여 실시하였다. 이를 바탕으로 관행적으로 출고하던 메밀 새싹과 비교하여 저온저장 중 품질특성 변화를 측정 분석함으로써 효율적인 메밀 새싹채소의 수확후 관리체계를 구축하였다. 구체적으로 메밀 새싹의 수확후 관리공정을 새싹 수확, 차아염소산염용액/전해수(유효 염소농도 100 ppm) 침지처리(3-5분), 1차 헹굼(청정수, 3-5분), 2차 헹굼(청정수, 3-5분), 냉수(얼음물) 예냉처리(3-5분), 자연 탈수 및 냉장(5°C) 보관의 순서로 구성하였으며(Fig. 38), 표면 자유수가 충분히 제거되고 품온이 완전하게 떨어진 후 소포장 및 덕용포장으로 구분하여 포장작업을 마친 다음 상품을 배송하도록 전체 공정 흐름도를 설계하였다. 이러한 수확후 처리공정을 거친 메밀 새싹에 대해 각 단계별로 미생물 생균수를 측정된 결과(Fig. 38), 호기성 중

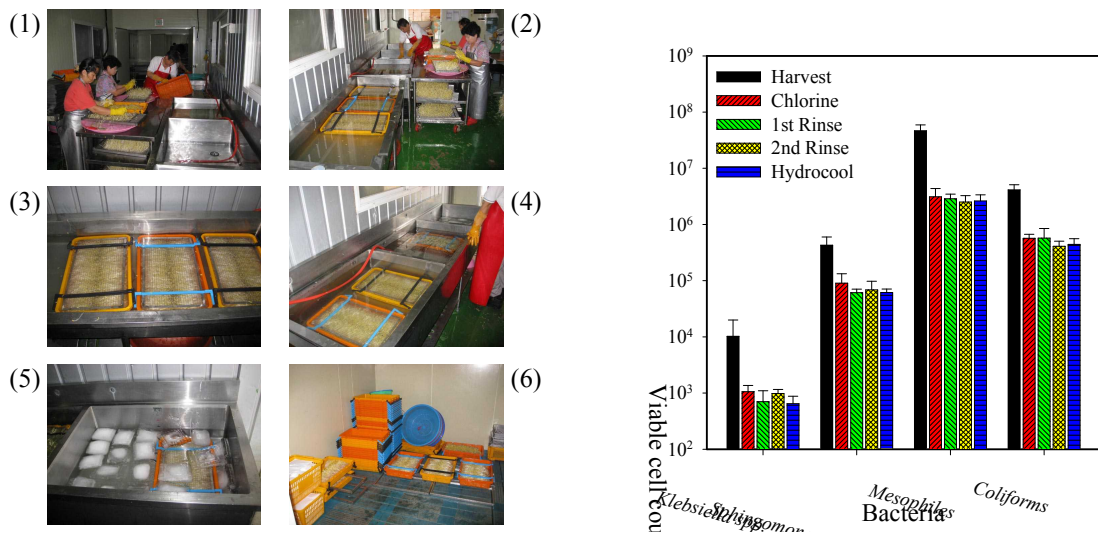


Fig. 38. Postharvest processing steps (left) and microbial population (right) of buckwheat sprout after each processing step. Work flow: (1) harvest, (2) chlorine disinfection, (3) 1st rinsing with portable water, (4) 2nd rinsing, (5) hydrocooling with iced water, (6) dewatering.

온균의 경우 수확후  $4.7 \times 10^7$  CFU/g이던 초기 생균수가 염소 처리후  $3.1 \times 10^6$  CFU/g, 1차 헹굼후  $2.9 \times 10^6$  CFU/g, 2차 헹굼후  $2.5 \times 10^6$  CFU/g, 냉수예냉 처리후  $2.6 \times 10^6$  CFU/g로 현저하게 감소하였으며, 대장균군도 마찬가지로 수확후  $4.1 \times 10^6$  CFU/g인 초기상태에서 염소 처리후  $5.7 \times 10^5$  CFU/g, 1차 헹굼후  $5.7 \times 10^5$  CFU/g, 2차 헹굼후  $4.1 \times 10^5$  CFU/g, 냉수예냉 처리후  $4.4 \times 10^5$  CFU/g로 유의적인 생균수 감소를 나타내었다. 결과적으로 새싹의 수확후 관리공정에서 염소수 등의 적정 소독처리를 통해 오염미생물을 저감시키고, 2회에 걸친 헹굼과정으로 잔류소독제성분을 제거하며, 냉수예냉처리를 거쳐 품온을 급속히 저하시킴으로서 새싹채소 상품의 유통 중 신선도 유지 및 미생물 안전성 확보를 기대할 수 있다.

선정된 적정 염소수세와 헹굼처리, 예냉처리, 포장처리를 메밀새싹 채배공장에서 각기 구분하여 실시하고 관행적으로 출고하던 메밀 새싹과 비교하여 5°C 저온에 저장하면서 이들 처리구의 품질특성 변화를 측정하였다. 구체적으로 새싹채소의 오염미생물 저감을 목적으로 사용한 차아염소산염용액(100 ppm) 침지 및 청정수 헹굼 처리, 얼음물에 일정시간 침지하는 냉수 예냉처리, 소량(400-500 g)의 내용물을 담은 용기 밀봉포장과 골판지상자 덕용포장(2 kg)으로 구분하여 포장처리를 실시한 후 저장 중 각 처리구별로 생체중량 감소, 수분함량, 가용성 고형분함량, 색깔, 외관, 미생물 생균수 등의 품질변화를 측정하고 아울러 관능검사를 실시하여 종합적인 품질을 평가하였다. 우선 메밀 새싹시료의 생체중량 감소를 살펴보면, 관행적 무처리 대조구를 포함하여 염소수세, 냉수예냉, PP 용기 밀봉포장 처리구는 저장기간 중 약 4% 이하의 낮은 수준을 유지하였으나 골판지상자 포장구에서는 6-22%의 선형적인 중량감소를 나타내었다(Fig. 39). 이는 통상적으로 골판지상자가 새싹채소의 덕용포장방법으로서 단시간 운송용으로만 사용된다 하더라도 골판지상

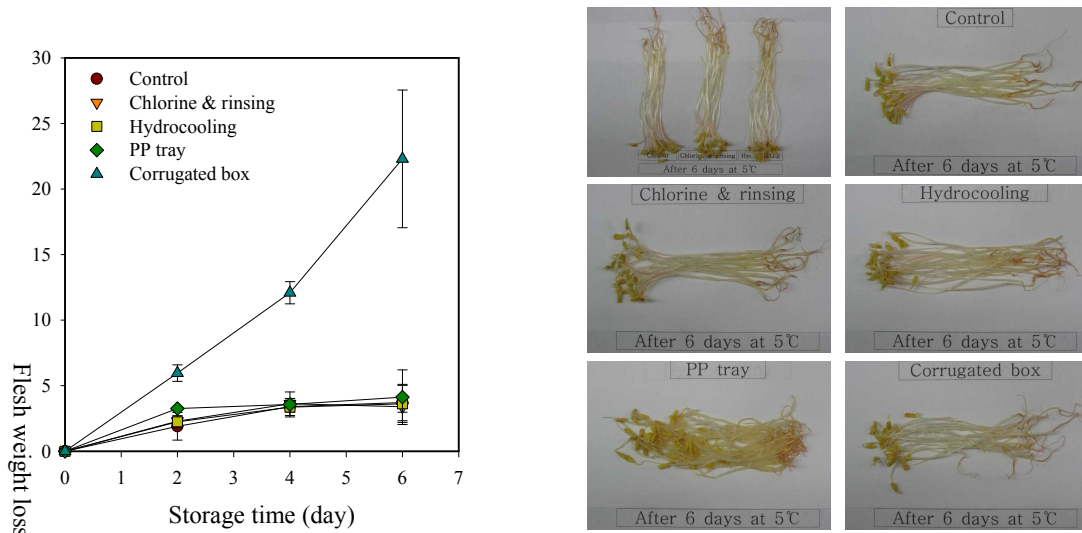


Fig. 39. Changes in flesh weight loss (left) and appearance (right) of buckwheat sprout treated with postharvest processing steps during storage at 5°C for 6 days.

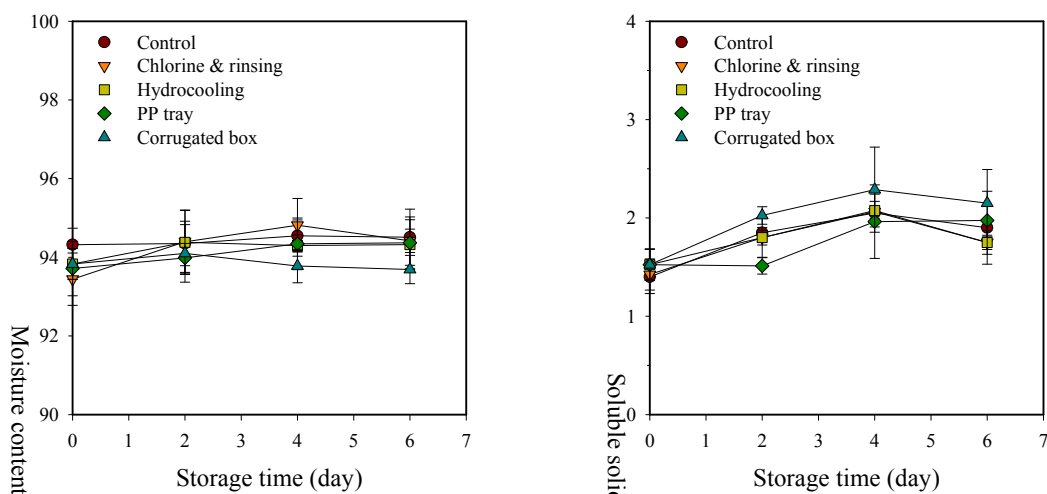


Fig. 40. Changes in moisture content (left) and soluble solids content (right) of buckwheat sprout treated with postharvest processing steps during storage at 5°C for 6 days.

자의 흡습성 때문에 내용물인 새싹채소의 수분손실에 미치는 영향이 지대함을 확인할 수 있었다. 이러한 결과는 메밀 새싹의 수분함량과 가용성 고형분함량 변화와도 밀접하게 관련되는데 다른 처리구에 비해 골판지상자 포장구의 수분함량이 상대적으로 낮게 유지된 반면, 가용성 고형분함량은 저장 중 수분손실에 따른 농축효과로 인해 더 높게 유지되었다(Fig. 40). 색변화에서는 PP 용기 포장구의 Hunter L값 저하를 제외하고는 다른 처리구간의 유의적인 차이를 구분할 수 없었다(Fig. 41). 저장 중 PP 포장구의 명도(Hunter L) 값 저하는 새싹시료의 수침(water-soaked) 현상 발생에 따른 외관상의 변화와 밀접한 상관성을 갖는다(Fig. 39). 한편 미생물 생균수는 관행적 무처리 대조구를 제외한 모든 처리구가 수확후 염소수세 및 헹굼 과정을 거친 새싹시료이므로 대조구에 비해 약 1 log cycle

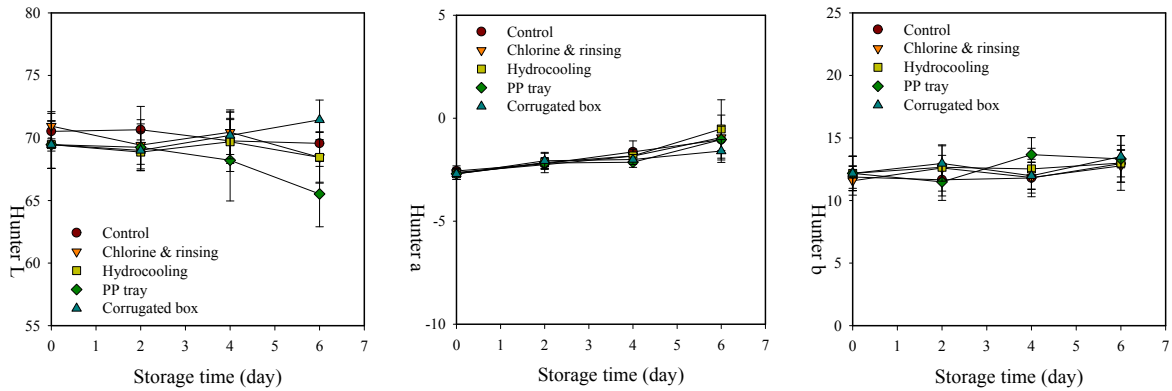


Fig. 41. Changes in Hunter L, a, b values of buckwheat sprout treated with postharvest processing steps during storage at 5°C for 6 days.

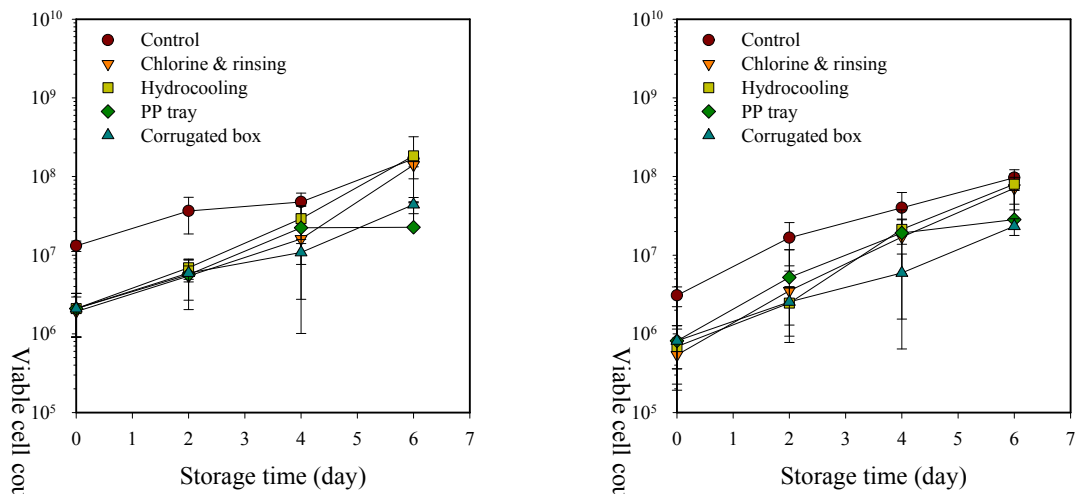


Fig. 42. Changes in mesophilic aerobes (left) and coliform bacteria (right) of buckwheat sprout treated with postharvest processing steps during storage at 5°C for 6 days.

정도 낮은 수준의 호기성 중온균과 대장균군을 저장기간 중 유지하였다(Fig. 42).

생산현장에서 각기 구분하여 처리한 메밀 새싹시료에 대해 관능적인 품질을 평가한 결과(Table 13), 저온저장 6일후 새싹의 변색, 시듦, 연부 등 외관품질 평가항목에서 처리구 별로 의미 있는 차이를 구분할 수 없었다. 이는 적용된 수확후 처리공정이 메밀 새싹의 유통 중 신선도 유지에 전혀 부정적인 영향을 미치지 않으면서도 미생물 안전성을 향상 시키는데 매우 효과적임을 의미한다. 다만 포장방법에 있어서는 PP 용기에 밀봉 포장하는 소포장 형태가 앞서의 연구결과와 다소 상충하였는데, 이는 새싹채소 내용물의 충전량에 따라 포장내부 여백 공간이 달라지고 그로인해 조성되는 MA 조건에 따라 긍정적 또는 부정적인 효과를 미칠 수 있음을 시사한다. 따라서 호흡대사가 왕성한 메밀 새싹의 경우 플라스틱 용기에 밀봉포장하고 할 때 반드시 충분한 기체투과성을 갖는 뚜껑(lid) 필름을 사용할 필요가 있다. 아울러 관행적으로 사용되고 있는 새싹채소의 덕용포장용 골

Table 13. Changes in sensory characteristics<sup>1)</sup> of buckwheat sprout treated with postharvest processing steps during storage at 5°C for 6 days

| Storage time (day) | Treatment <sup>2)</sup> | Discoloration | Wilting | Decay | Visual quality |
|--------------------|-------------------------|---------------|---------|-------|----------------|
| 2                  | Control                 | 3.0ab         | 2.6a    | 2.8a  | 7.1ab          |
|                    | Chlorine & rinsing      | 3.4ab         | 3.3a    | 2.8a  | 7.0b           |
|                    | Hydrocooling            | 2.9b          | 3.0a    | 2.4a  | 7.8a           |
|                    | PP tray                 | 3.8a          | 2.6a    | 2.9a  | 7.0b           |
|                    | Corrugated box          | 3.6ab         | 3.3a    | 2.6a  | 7.1ab          |
| 4                  | Control                 | 5.0a          | 4.6ab   | 4.9a  | 4.8ab          |
|                    | Chlorine & rinsing      | 5.5a          | 5.1a    | 5.1a  | 4.3b           |
|                    | Hydrocooling            | 4.6ab         | 4.0bc   | 4.0ab | 5.5ab          |
|                    | PP tray                 | 4.5ab         | 3.5c    | 4.1ab | 6.0a           |
|                    | Corrugated box          | 3.5b          | 3.3c    | 3.4b  | 6.3a           |
| 6                  | Control                 | 5.4a          | 4.3a    | 4.6ab | 5.1a           |
|                    | Chlorine & rinsing      | 6.0a          | 5.4a    | 5.5ab | 4.3a           |
|                    | Hydrocooling            | 5.6a          | 5.0a    | 5.8a  | 5.1a           |
|                    | PP tray                 | 4.9a          | 4.5a    | 5.4ab | 5.3a           |
|                    | Corrugated box          | 4.8a          | 4.6a    | 4.1b  | 5.5a           |

<sup>1)</sup> The values are means of eight replicates at least. Means followed by the same letter within cells are not significantly different ( $p < 0.05$ , Duncan's test). As the value increases from 1 to 9, the intensity of sensory characteristics increases.

<sup>2)</sup> Buckwheat sprout samples were treated with 100 ppm sodium hypochlorite solution, rinsed twice with tap water and iced water, and then packed with different packaging materials to store at 5°C for 6 days. Control: no treatment after harvest.

판지상자는 내면에 PE liner를 활용함으로써 운송 및 보관 과정에서 종이상자 자체의 흡습에 따른 파손을 방지하고 내용물인 새싹채소의 수분손실도 최소화하여 상품성을 유지하는데 크게 기여할 수 있었다(Fig. 43).



Fig. 43. Appearance of corrugated boxes for bulk packaging of buckwheat sprout just after boxing (left) and after storage of 7 days at 5°C (center & right).

## 6. 온도감응 기능성 포장재의 설계 및 제조

상용 상변화물질(PCM)을 이용한 새로운 온도감응 기능성 포장재로서 유연성을 갖는 보냉 포장재를 고안 설계하였다. 구체적으로 유연성을 갖는 보냉 포장재는 냉매로 사용된 상변화물질이 필름시트 내에 충전되되, 상기 냉매는 소정의 간격을 두고 구획된 다수의 공간부 내에 충전됨에 따라 필름시트가 구겨짐 또는 접힘이 가능한 유연성을 가짐으로서, 새싹채소 내용물을 그 크기나 모양에 관계없이 각각 날개로 외포장이 가능하도록 하거나, 내용물이 담긴 용기 전체를 감싸도록 하여 외부 공기와와의 접촉을 완전히 차단하고 보냉효과를 최대화할 수 있어 상품의 신선도를 장기간 유지시킬 수 있는 효과가 있다.

가장 일반적인 보냉재로서 비교적 가격이 싸고 구하기 쉬운 얼음이 많이 사용되었으나, 이러한 얼음의 경우 상온에서는 너무 쉽게 녹아 보냉시간이 짧아지게 되고, 제품과 직접적으로 접촉하게 되면 동해/냉해를 발생시킬 뿐만 아니라 얼음이 녹으면서 액화되는 용해현상으로 인해 오히려 상품성을 저하시키는 문제점이 있다. 따라서 최근에는 고흡수성 수지를 냉매로 사용하는 얼음팩을 보냉재로서 사용하고 있다. 이러한 얼음팩의 경우 폴리에틸렌(PE), 에틸렌비닐아세테이트(EVA), 폴리비닐카보네이트(PVC), 폴리아미드, 폴리에스테르 또는 폴리올레핀 재질의 내부필름이 상·하 두 겹으로 겹쳐진 상태로 가장자리를 따라 밀봉되어 있고, 상기 상·하 내부필름의 외측 면에는 부직포나 발포수지필름의 외부필름이 부착되어 있으며, 상기 내부필름 사이에는 겔 또는 분말상의 고흡수성 수지가 냉매로 충전된 것이 일반적이다. 이와 같은 종래 얼음팩은 냉매로 사용된 고흡수성 수지의 경우 얼음에 비하여 훨씬 긴 냉기 지속시간을 가지기 때문에 장거리 운반에도 내용물의 변질을 방지할 수 있으며, 냉매로 사용된 고흡수성 수지가 내부에 충전된 상태로 구성되기 때문에 액화에 의한 용해현상을 방지할 수 있다는 효과가 있다. 그러나 통상적으로 얼음팩은 그 중심부가 내부에 충전된 고흡수성 수지에 의해 불록하게 튀어나온 사각매트의 형태로 이루어져 있는데, 이러한 얼음팩은 동결상태에서 구겨짐이나 접힘과 같은 유연성이 부족하기 때문에 내용물이나 내용물이 담긴 용기의 표면을 전체적으로 감싸서 포장하는 것이 아니라 포장상자 내에 단지 삽입하여 포장상자 내부의 온도를 낮추는 역할만을 수행함으로써 실질적으로 상품과 외부공기의 차단이 제대로 이루어지지 않아 신선도가 떨어지는 문제점이 있었다.

이와 같은 문제점을 해결하기 위해 본 연구에서는 두 장의 필름시트가 가열압착에 의해 상호 접착되고, 상기 필름시트 사이에는 냉매가 충전된 다수의 구획 공간부가 유연성을 가질 수 있도록 구비된 것을 특징으로 하는 유연성 보냉 포장재를 설계하였다(Fig. 44). 이에 사용되는 필름시트로는 비교적 유연성이 높은 재질의 폴리에틸렌(PE), 에틸렌비닐아세테이트(EVA), 폴리비닐카보네이트(PVC), 폴리아미드, 폴리에스테르 또는 폴리올레핀 등에서 선택할 수 있다. 또한 냉매로는 겔 또는 분말상의 상변화물질이 인체에 무해하

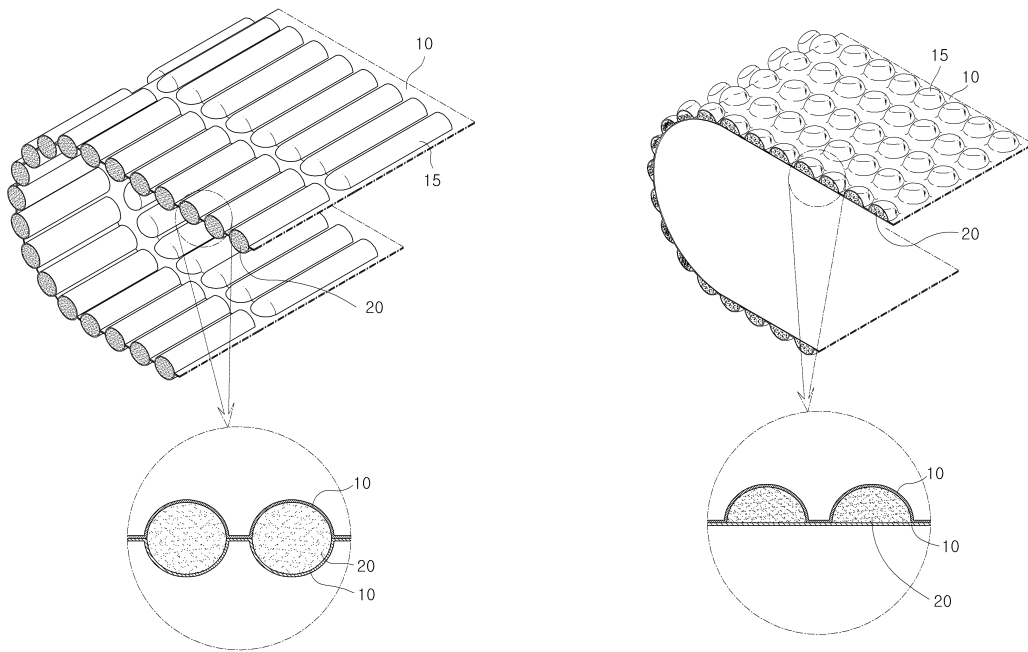


Fig. 44. Schematics of flexible insulating package materials and their cross sectional structures (patent pending). 10: polymeric film sheet, 15: compartmental space, 20: PCM or coolant.

고 냉기 지속시간이 길기 때문에 바람직하게 사용되며, 폴리아크릴아마이드(PAA), 폴리아크릴산(PA), 폴리메타크릴산, 폴리에틸렌옥사이드, 폴리비닐알코올(PVA), 탄화수소계열의 테트라데칸, 옥타데칸, 노나데칸 등을 원료로 사용할 수 있다. 이러한 보냉 포장재는 적용하고자 하는 대상물에 따라 다양한 형태로 제작이 가능하며, 실제로 PCM을 장방형 또는 엠보싱형의 구획 공간부에 연속 충전한 2가지 형태로 실험실에서 제작하였다(Figs. 45 & 46). 향후 이들 유연성 보냉 포장재를 대량 생산할 경우에는 두 장의 필름시트를 가열 압착하는 과정에서 필름시트 사이에 PCM을 주입하여 이에 의해 팽창되는 구획 공간부를 형성시킨 다음 상호 접착함으로써 그 제조가 가능하며, 또 다른 예로서 적어도 하나의 면에 다수의 구획 공간부가 형성된 필름시트에 미리 PCM을 충전시킨 다음 또 다른 필름시트를 상호 접착함으로써 제조가 가능하다.

장방형의 유연성 보냉재는 2종류의 각기 다른 PCM, 즉 hydrocarbon 계열(tetradecane)의 Rubitherm<sup>®</sup> RT-2와 polyacrylate 원료의 고흡습성 고분자(SAP)를 충전제로 사용하였고, 엠보싱 형태는 SAP만을 사용하였다. 사용된 PCM의 기본 특성을 살펴보면 RT-2는 파라핀 소재의 PCM으로 용융점 6°C, 응결점 2°C, 열저장용량 214 kJ/kg으로 비교적 잠열이 높은 물질이다. 또한 고흡습성 고분자물질(SAP)은 주로 sodium polyacrylate로 구성되며 세계의 금속이온 봉쇄제, 식품의 증점제, 코팅제, 인공설 등 여러 가지 용도로 사용되는 물질이다. 특히 자기 부피의 200-300배에 해당하는 수분을 흡수하는 특성을 가지고 있어 얼음팩

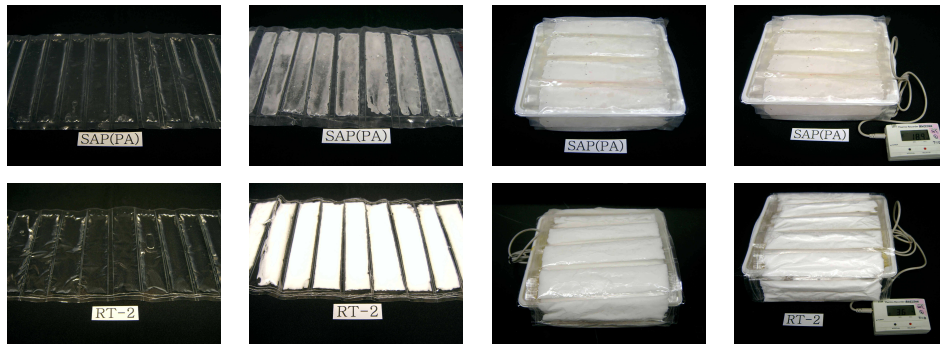


Fig. 45. Prototype flexible insulating package materials with an oblong pattern and their possible applications to a container. Two types of PCMs (SAP & RT-2) used as a refrigerant.

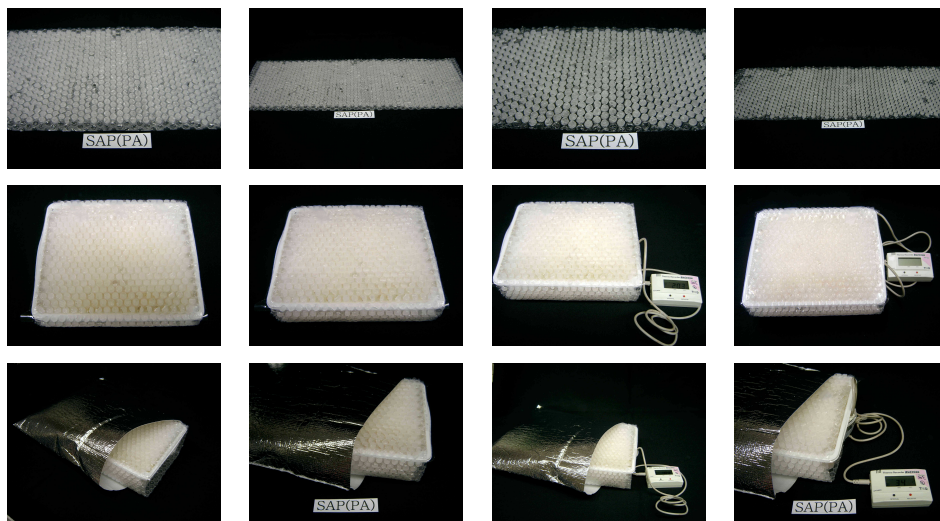


Fig. 46. Prototype flexible insulating package materials with an embossing pattern and their possible applications to a container. One type of PCM (SAP) used as a refrigerant.

보냉재의 주요 소재로 사용되고 있다. 이들 2가지 형태의 보냉재는 새싹 생산현장에서 주로 사용하는 얼음팩(16×21.5 cm, 350 g)과 동일한 중량으로 다음과 같이 제작하였다.

구체적으로 장방형의 유연성 보냉재는 두께 33-35  $\mu\text{m}$ , 크기 21×70 cm의 PET/ CPP 필름 봉투에 Rubitherm<sup>®</sup> RT-2를 약 30 mL씩(10 mL은 약 7.54 g) 주입한 후 열접착 하였고, 일정 간격을 띄운 후 다시 동일한 양을 넣어 열접착 하는 방식으로 전체 중량이 약 350 g에 이르도록 제작하였다. PCM으로서 polyacrylate를 사용한 보냉재는 두께 65-70  $\mu\text{m}$ , 크기 21×70 cm의 PE 필름봉투에 0.1%(w/v) polyacrylate 용액 약 50 mL씩(10 mL은 약 10 g)을 담고 앞서와 같은 방식으로 제조하였다. 한편 엠보싱 형태의 유연성 보냉재는 실생활에서 완충용 포장재로 흔히 사용하는 air cell 또는 air bubble 필름(21×60 cm)의 개별 cell



내부에 0.1%(w/v) polyacrylate 용액 약 0.5 mL씩을 주입한 후 냉동실에 보관하여 동결된 상태로 실험에 사용하였다.

#### 7. 새싹채소에 대한 온도감응 기능성 포장의 적용성 평가

온도감응 기능성 포장재의 적용방식에 따른 새싹채소의 품질특성 변화를 분석하고자, PCM 종류가 다른 장방형의 유연성 보냉재를 메밀 새싹의 소비자 직배용 포장에 적용하고 하절기 주야간의 외기온도를 감안하여 25-35°C의 변온조건에서 24시간 동안 보관하면서 온도 및 품질변화를 측정하였다. 구체적으로 메밀 새싹은 협동연구기관/참여기업인 참한씩(주)에서 재배한 것을 실험 당일 오전에 수확한 다음, PP tray 용기에 400 g씩 담고 용기 내부의 온도변화를 측정하기 위해 온습도 기록계(data logger)를 함께 동봉하여 덮개 필름으로 가열 접착하였다. 운반 시 내부온도가 10°C를 넘지 않도록 얼음팩과 단열재로 포장한 다음 발포 폴리스티렌(EPS) 상자에 담아 운송한 후 실험에 사용하였다. 실험실로 운반한 메밀 새싹시료는 자체 제작한 2종의 장방형 유연성 보냉재(SAP, RT-2)로 용기의 길이 방향으로 둘러싼 후 용기 측면에 EPS 상자 내부 온도를 측정하기 위해 온습도 기록계를 부착하였다. 이러한 메밀 새싹시료 용기를 별도의 은박 단열재로 포장하지 않은 채 EPS 상자에 밀봉하고 온도조절이 가능한 저장고에 넣은 다음, 35°C에서 4시간, 25°C에서 16시간, 30°C에서 4시간 동안 보관하면서 용기 내외부의 온도변화와 새싹시료의 품질변화를 측정하였다. 유연성 보냉재의 적용효과를 비교하기 위해 대조구로 사용된 일반 얼음팩은 tray 용기의 밑면에 놓고 상기와 동일하게 포장하였다.

하절기 외기온도 가상조건에서 새싹채소 포장용기에 온도감응 기능성 포장재로서 유연성 보냉재를 적용한 후 용기 내외부의 온도변화를 측정한 결과(Fig. 47), 35°C에서 4시간 방치하는 동안 RT-2 처리구의 내부온도는 3시간 동안 5°C 이하로, SAP 처리구의 내부온도는 4시간 동안 3°C 이하로 유지되었고, 용기 내외부의 온도 차이도 각각 8°C와 10°C 정도를 유지하였다. 이에 반해 대조구의 경우에는 초기부터 용기 내외부의 온도 차이가 없이 모두 20°C에 가까운 것을 확인할 수 있었다. 25°C에서 16시간 방치한 구간에서는 초기 4시간 동안 SAP 처리구의 내외부 온도 상승속도가 다른 처리구에 비해 상대적으로 느렸지만, 이후에는 다른 처리구와 마찬가지로 내부온도가 증가하기 시작하여 최종적으로 외기온도까지 증가하였다. 마지막 30°C 온도상승 구간에서도 용기 내부온도는 외부온도까지 상승하였고, 처리구간의 차이는 물론 용기 내외부의 온도 차이를 전혀 발견할 수 없었다. 이로부터 일반 보냉재에 비해 RT-2나 SAP와 같은 유연성 보냉재가 내용물의 저온유지에 효과적이며, 특히 SAP 처리구의 내외부 온도가 RT-2에 비해 더 낮게 유지되어 SAP의 보냉능력이 더 우수한 것을 확인할 수 있었다.

메밀 새싹의 품질변화 측면에서 수분함량은 초기시료의 경우 94.6±0.3%이었고, 24시간

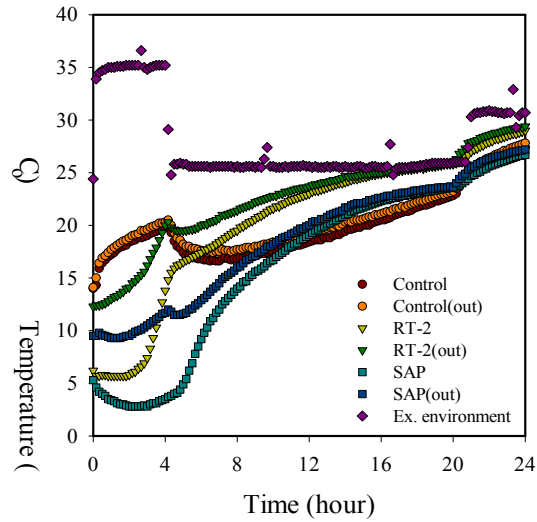


Fig. 47. Temperature profiles of the inside and outside of buckwheat sprout tray treated with various refrigerants in EPS boxes during storage at simulated temperatures (25-35°C).

경과 후 대조구  $95.1 \pm 0.5\%$ , RT-2 처리구  $95.1 \pm 0.5\%$ , SAP 처리구  $95.4 \pm 0.5\%$ 로 다소 증가하는 경향이 있으나 유의적이지 않으며, 처리구간의 차이도 구분할 수 없었다(Fig. 48). 가용성 고형분함량은 초기시료의 경우  $2.03 \pm 0.14\%$ 이었고, 24시간 경과 후 대조구  $2.21 \pm 0.31\%$ , RT-2 처리구  $2.21 \pm 0.33\%$ , SAP 처리구  $2.03 \pm 0.2\%$ 로 초기에 비해 다소 증가하는 양상을 보이나 역시 처리구간의 유의적인 차이는 확인할 수 없었다(Fig. 48).

메밀 새싹시료의 초기 증온성 호기 미생물 생균수는  $1.7 \pm 0.8 \times 10^6$  CFU/g이었으나 35°C에서 4시간, 25°C에서 16시간, 30°C에서 4시간 방치 후에는 대조구에서  $1.4 \pm 0.2 \times 10^7$  CFU/g,

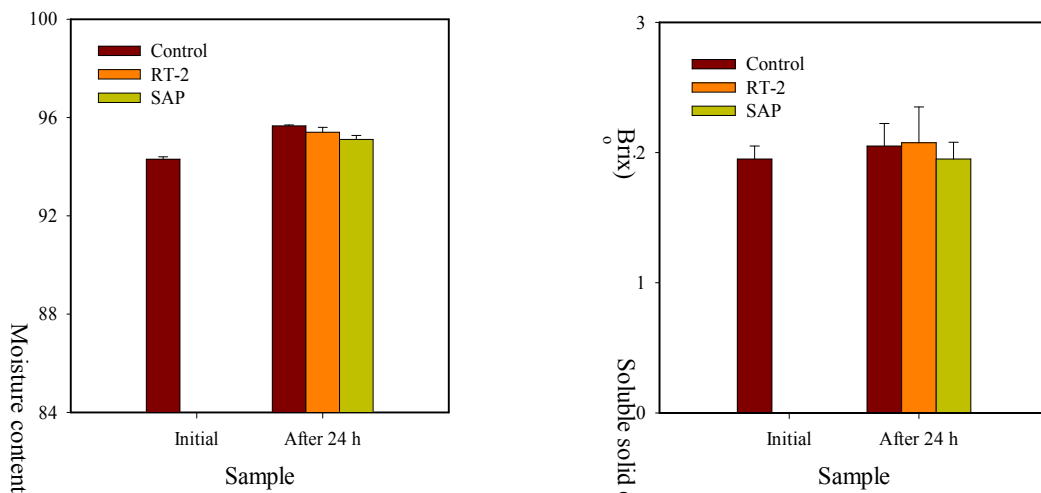


Fig. 48. Changes in moisture (left) and soluble solids contents (right) of buckwheat sprout treated with various refrigerants in EPS boxes after 24 h storage at simulated temperatures (25-35°C).

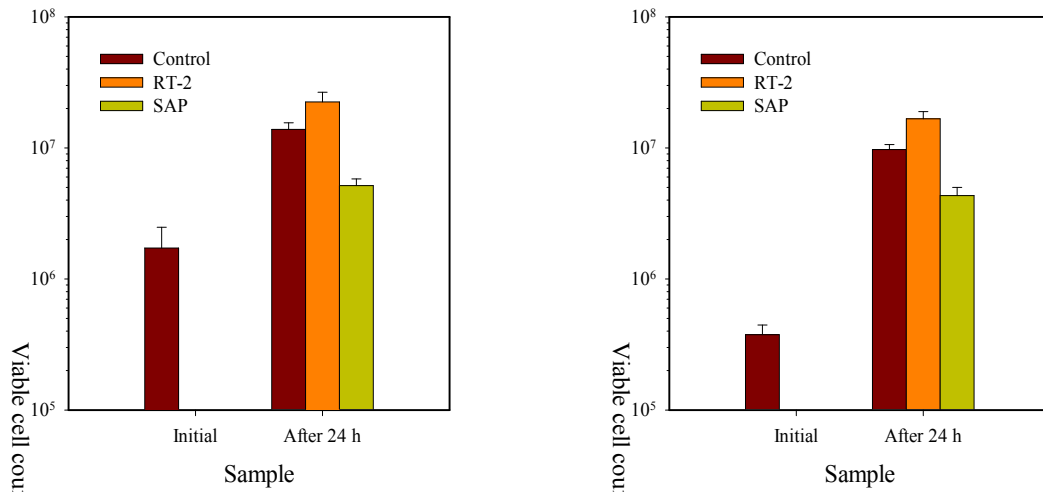


Fig. 49. Changes in mesophilic aerobes (left) and coliforms (right) of buckwheat sprout treated with various refrigerants in EPS boxes after 24 h storage at simulated temperatures (25-35°C).

RT-2 처리구에서  $2.2 \pm 0.4 \times 10^7$  CFU/g, SAP 처리구에서  $5.2 \pm 0.7 \times 10^6$  CFU/g를 나타내었다 (Fig. 49). 대장균군의 경우, 초기 시료는  $3.8 \pm 0.7 \times 10^5$  CFU/g 수준이었으나 25-35°C의 변온 조건에서 24시간 동안 방치한 다음 대조구에서  $9.7 \pm 0.9 \times 10^6$  CFU/g, RT-2 처리구에서  $1.7 \pm 0.2 \times 10^7$  CFU/g, SAP 처리구에서  $4.3 \pm 0.7 \times 10^6$  CFU/g를 나타내었다(Fig. 49). 결과적으로 중온성 호기균과 대장균군 모두 초기에 비해 24시간 경과 후 1 log cycle 정도 생균수가 증가하였고, 그 중에서 SAP 처리구의 미생물 생균수가 유의적으로 낮게 증가한 것을 확인할 수 있었다.

메밀 새싹시료의 색상변화는 적색 또는 녹색으로 변하는 화두 부분과 갈변이 일어나는 줄기, 뿌리 부분을 통해 확인할 수 있으나, 화두 부분의 변색은 빛 노출과 관련이 있고 줄기와 뿌리 가운데, 특히 뿌리 부분의 갈변현상은 외부 환경온도에 민감하게 반응하였다. 따라서 다양한 종류의 보냉재로 포장한 메밀 새싹시료의 색상변화는 주로 뿌리 부분을 관찰하여 평가하였다. 변온조건에서 24시간 방치한 후 메밀 새싹의 뿌리색은 대조구와 RT-2 처리구의 경우 L 값이 낮아지고 a 값이 증가하여 점차 짙어지는 것을 알 수 있었으나, SAP 처리구에서는 다른 처리구에 비해 L 값이 다소 높은 값을 유지하고 b 값도 가장 높아 메밀 새싹 고유의 색상을 비교적 잘 유지하였다(Figs. 50 & 51). 이러한 색변화를 처리구별로 정량적으로 구분하고자 초기 대비 색차를 확인한 결과(Table 14), 대조구는 6.0, RT-2 처리구는 6.6, SAP 처리구는 5.1로 SAP 처리구의 뿌리부분 색변화가 상대적으로 가장 적은 것을 알 수 있었다. 관능평가에서도 외관상 광택이 잘 유지되었고, 변색, 시듦, 이취 항목에서 초기 대조구와 큰 차이가 없었던 SAP 처리구가 가장 높게 평가되었다 (Table 15).

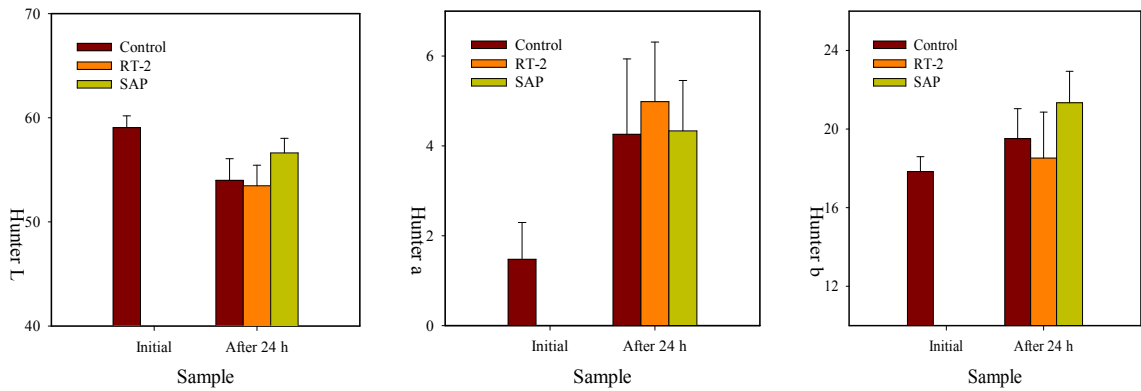


Fig. 50. Changes in Hunter L, a, and b values of buckwheat sprout roots treated with various refrigerants in EPS boxes after 24 h storage at simulated temperatures (25-35°C).

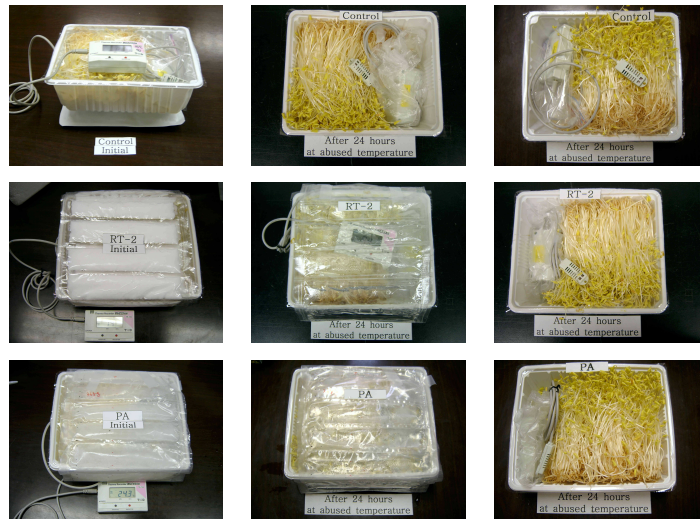


Fig. 51. Appearance of buckwheat sprout packaging treated with various refrigerants in EPS boxes after 24 h storage at simulated temperatures (25-35°C).

Table 14. Total color difference ( $\Delta E$ ) of roots part of buckwheat sprout treated with various refrigerants in EPS boxes after 24 h storage at simulated temperatures (25-35°C)

| Treatment  | Control | RT-2 | SAP |
|------------|---------|------|-----|
| $\Delta E$ | 6.0     | 6.6  | 5.1 |

한편 온도감응 기능성 포장재의 적용비율(용량)에 따른 품질특성 변화를 분석하고자, 선행 실험에서 새싹의 품질유지에 가장 효과적이었던 SAP 보냉재를 각기 충전 용량을 다르게 제조하여 메밀 새싹의 소비자 직배용 포장에 적용하고 선행과 동일한 변온조건에서 24시간 동안 보관하면서 온도 및 품질변화를 측정하였다. SAP 보냉재는 PCM으로서

Table 15. Sensory characteristics<sup>1)</sup> of buckwheat sprout treated with various refrigerants in EPS boxes after 24 h storage at simulated temperatures (25-35°C)

| Treatment | Discoloration | Wilting | Gross | Off-flavor | Overall quality |
|-----------|---------------|---------|-------|------------|-----------------|
| Control   | ++++          | ++++    | +     | ++         | ++              |
| RT-2      | +++           | +       | +++   | ++         | ++              |
| SAP       | ++            | +       | +++   | +          | ++++            |

<sup>1)</sup> As the number of mark increases, the intensity of sensory characteristics increases.

0.1% polyacrylate 용액을 총 중량 200 g, 350 g, 500 g에 맞춰 선행과 같은 방법으로 준비한 후 실험에 사용하였다. 아울러 메밀 새싹시료의 조달, 포장, 보관조건, 온도측정, 품질 평가 등도 모두 선행 실험과 동일하게 수행하였다.

하절기 외기온도 가상조건에서 새싹채소 포장용기에 충전 용량이 다른 SAP 보냉재를 적용한 후 용기 내외부의 온도변화를 측정된 결과(Fig. 52), 35°C에서 4시간 저장하는 동안 일반 얼음팩을 사용한 대조구는 초기 15°C에서 20°C로 온도가 상승하였다. 이에 반해 200 g 중량의 SAP 보냉재는 2시간, 350 g 중량 보냉재는 4시간, 500 g 중량 보냉재는 5.5 시간 동안 용기 내부온도를 5°C 이하로 유지하여 예상한 바와 같이 사용된 보냉재 용량이 클수록 저온유지 효과가 연장되는 것을 확인할 수 있었다. 그러나 14시간 이후로는 모든 SAP 보냉재 적용 용기의 내외부 온도가 거의 동일하게 20°C 이상을 상회하였고, 이후 외기온도 30°C 상승구간에서는 모든 포장용기의 내외부 온도가 저장고 설정온도까지 상승하였으며 처리구간 또는 용기 내외부의 차이를 전혀 구분할 수 없었다.

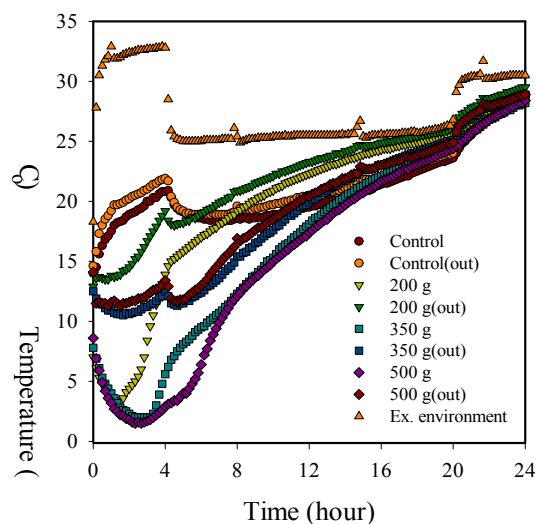


Fig. 52. Temperature profiles of the inside and outside of buckwheat sprout tray treated with varied amounts of SAP refrigerants in EPS boxes during storage at simulated temperatures (25-35°C).

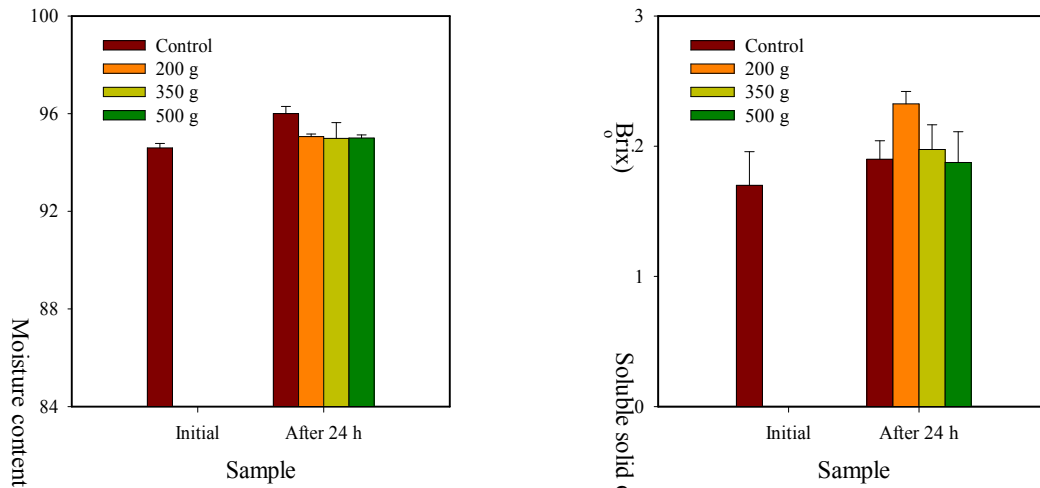


Fig. 53. Changes in moisture (left) and soluble solids contents (right) of buckwheat sprout treated with varied amounts of SAP refrigerants in EPS boxes after 24 h storage at simulated temperatures (25-35°C).

메밀 새싹의 품질변화 측면에서 수분함량은 초기시료의 경우  $94.6 \pm 0.2\%$ 이었고, 24시간 경과 후 대조구  $96.0 \pm 0.3\%$ , 200 g 처리구  $95.1 \pm 0.1\%$ , 350 g 처리구  $95.0 \pm 0.6\%$ , 500 g 처리구가  $95.0 \pm 0.1\%$ 를 나타내어, 상대적으로 대조구 시료의 수분함량이 높았고 SAP 보냉재 중량별 처리구간에는 유의적인 차이 없이 약 95% 수분함량을 유지하였다(Fig. 53).

동절기 메밀 새싹시료의 초기 중온 호기성 세균수는  $4.2 \pm 1.0 \times 10^6$  CFU/g이었으나 35°C에서 4시간, 25°C에서 16시간, 30°C에서 4시간 보관 후에는 대조구에서  $3.7 \pm 0.8 \times 10^7$  CFU/g, 200 g SAP 보냉재 처리구에서  $4.0 \pm 1.9 \times 10^7$  CFU/g, 350 g 처리구에서  $3.0 \pm 0.9 \times 10^7$  CFU/g, 500 g 처리구에서  $1.5 \pm 1.0 \times 10^7$  CFU/g를 나타내었다(Fig. 54). 대장균군의 경우에도, 초기  $1.1 \pm 0.2 \times 10^6$  CFU/g이었으나 25-35°C의 변온조건에서 24시간 동안 보관한 다음, 대조구에서  $5.2 \pm 0.8 \times 10^7$  CFU/g, 200 g SAP 보냉재 처리구에서  $3.8 \pm 1.6 \times 10^7$  CFU/g, 350 g 처리구에서  $3.6 \pm 0.8 \times 10^7$  CFU/g, 500 g 처리구에서  $1.4 \pm 0.2 \times 10^7$  CFU/g를 나타내었다(Fig. 54). 결과적으로 메밀 새싹시료의 중온성 호기균과 대장균군은 모두 초기에 비해 25-35°C의 변온조건에서 24시간 경과 후 약 1-1.5 log cycle 가량 증가하였고, 사용한 SAP 보냉재의 중량이 클수록 미생물 생균수 증가는 적게 나타나 500 g 처리구에서 미생물 생균수가 다른 처리구에 비해 약 0.5 log cycle 정도 낮은 것을 확인할 수 있었다.

메밀 새싹시료의 색상변화는 전체 처리구 가운데 대조구의 L 값이 가장 낮고 a 값이 가장 높아 색이 매우 짙어진 것을 알 수 있었다(Figs. 55 & 56). 중량별 SAP 보냉재 처리구의 경우 대조구에 비해 메밀 새싹 고유의 색상을 잘 유지하였고, 보냉재 중량에 따라 명도(Hunter L)와 황색도(Hunter b)가 높아 500 g 처리구가 초기 상태를 가장 잘 유지하는

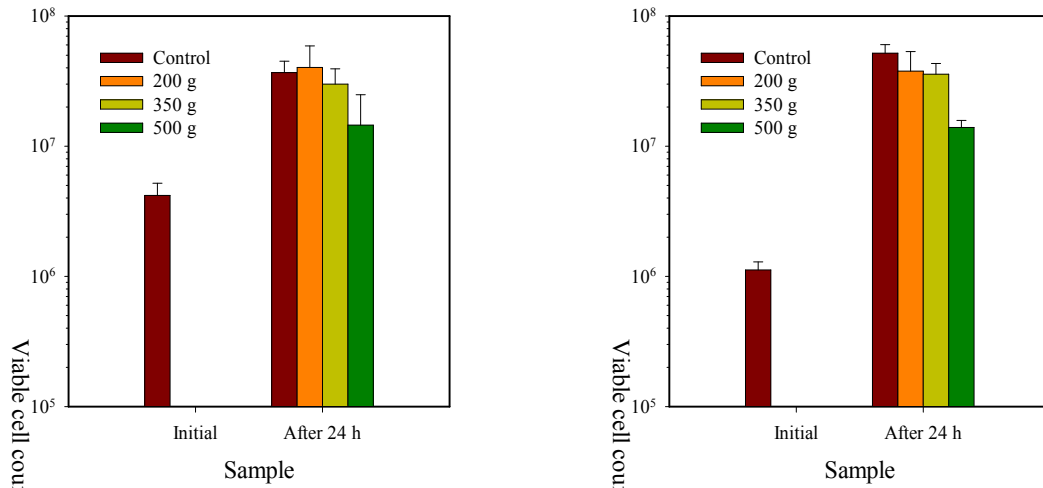


Fig. 54. Changes in mesophilic aerobes (left) and coliforms (right) of buckwheat sprout treated with varied amounts of SAP refrigerants in EPS boxes after 24 h storage at simulated temperatures (25-35°C).

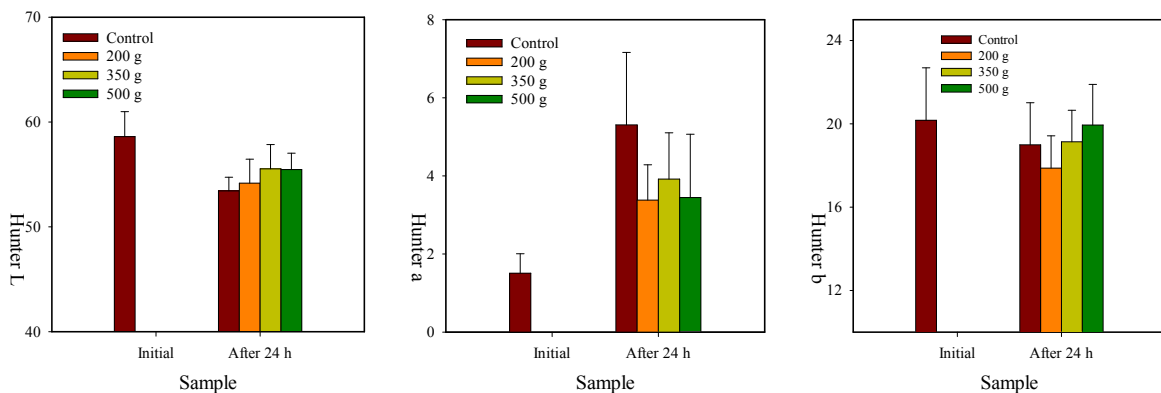


Fig. 55. Changes in Hunter L, a, b values of buckwheat sprout roots treated with varied amounts of SAP refrigerants in EPS boxes after 24 h storage at simulated temperatures (25-35°C).

것으로 나타났다. 정량화된 색차 결과(Table 16)에서도 대조구 6.5, 200 g 처리구 5.3, 350 g 처리구 4.0, 500 g 처리구 3.7을 나타내어 보냉재 중량이 클수록 새싹시료의 색상변화가 작은 것을 확인할 수 있었다. 아울러 관능평가에서도 SAP 보냉재 처리구가 종래의 얼음팩 대조구에 비해 전반적으로 광택이 잘 유지되고 이취가 적게 나타났으며, 그 중에서도 500 g 처리구의 변색정도가 가장 적어 우수하게 평가되었다(Table 17).

결론적으로 가상의 하절기 유통조건에서 메밀 새싹 포장용기의 내부온도를 초기 약 4 시간 동안 3°C 이하로 유지한 SAP 보냉재가 미생물 생균수의 증가를 억제하며 색상과 관능품질을 비교적 잘 유지하는 것으로 판단되었다. 또한 SAP 보냉재의 중량을 달리하여 적용한 경우 보냉재 중량이 커질수록 포장용기의 내부온도를 낮은 온도에서 더 오랫동안

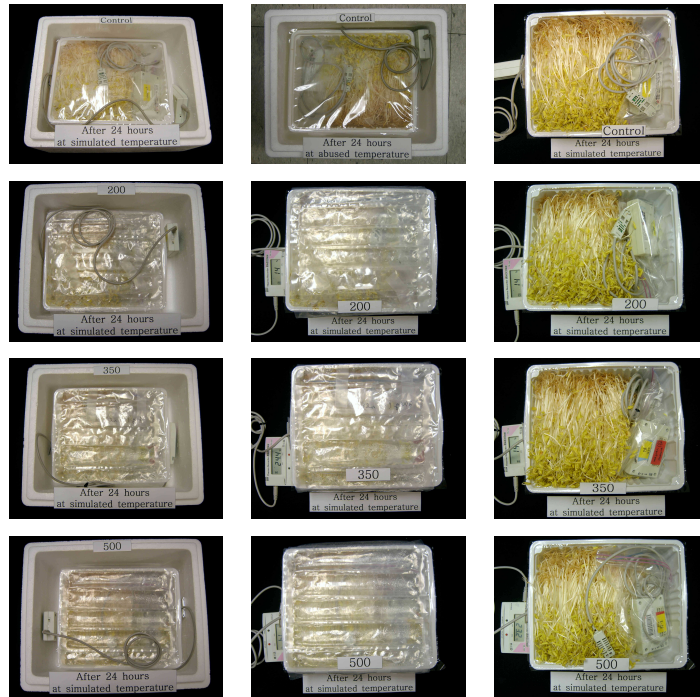


Fig. 56. Appearance of buckwheat sprout packaging treated with varied amounts of SAP refrigerants in EPS boxes after 24 h storage at simulated temperatures (25-35°C).

Table 16. Total color difference ( $\Delta E$ ) of buckwheat sprout roots treated with varied amounts of SAP refrigerants in EPS boxes after 24 h storage at simulated temperatures (25-35°C)

| Treatment  | Control | 200 g | 350 g | 500 g |
|------------|---------|-------|-------|-------|
| $\Delta E$ | 6.5     | 5.3   | 4.0   | 3.7   |

Table 17. Sensory characteristics<sup>1)</sup> of buckwheat sprout treated with varied amounts of SAP refrigerants in EPS boxes after 24 h storage at simulated temperatures (25-35°C)

| Treatment | Discoloration | Wilting | Gross | Off-flavor | Overall quality |
|-----------|---------------|---------|-------|------------|-----------------|
| Control   | +++++         | ++++    | +     | ++         | +               |
| 200 g     | +++           | +       | +++   | -          | +++             |
| 350 g     | +++           | +       | +++   | -          | +++             |
| 500 g     | ++            | +       | +++   | -          | ++++            |

<sup>1)</sup> As the number of mark increases, the intensity of sensory characteristics increases.

유지하였다. 특히 SAP 보냉재는 실제로 생산현장에서 사용하는 일반 얼음팩과 동일한 중량의 PCM을 사용하더라도, 적용형태를 달리하여 포장용기 전체를 둘러싸므로써 새싹의 품은 및 품질 유지에 효과적이라는 것을 확인하였다.



### 8. 온도감응 기능성 포장의 유통 중 온도유지 효과 분석

새싹채소의 소비자 직배 유통용으로 포장 내부의 품온 유지를 위하여 사용된 축냉재를 각기 (a) polyacrylate (PA) 용액으로 구성된 기존의 얼음팩 축냉재(MPA), (b) 온도감응 기능성 포장으로서 유연성을 갖는 형태의 polyacrylate 용액으로 구성된 축냉재(SAP), (c) 마찬가지로 유연성을 갖는 형태의 hydrocarbon 계열 축냉재(RT-2)로 구분하였다. PCM으로서 RT-2는 용융점 6°C, 응결점 2°C, 열저장 용량 214 kJ/kg의 특성을 지니며, 반드시 물을 함유하는 PA 계열보다 새싹채소에 미치는 냉해 정도가 적을 것이라고 예상되었다.

유통 중 기능성 포장재의 적용방식에 따른 품온 유지효과를 확인하기 위하여 여름철 주간 온도인 25°C, 30°C와 35°C의 정온조건에서 새싹채소의 배송을 가정해 축냉재(MPA, SAP, RT-2) 유무에 따라 내부온도 5°C를 시작점으로 온도 profile을 측정하였다(Figs. 57-59). 축냉재의 배치는 MPA의 경우 새싹용기의 상부에 위치하였고, SAP나 RT-2의 경우는 자체 길이가 길어 포장용기의 장축을 기준으로 SAP는 한 번, RT-2는 두 번 감은 뒤 내부온도 변화를 측정하였다.

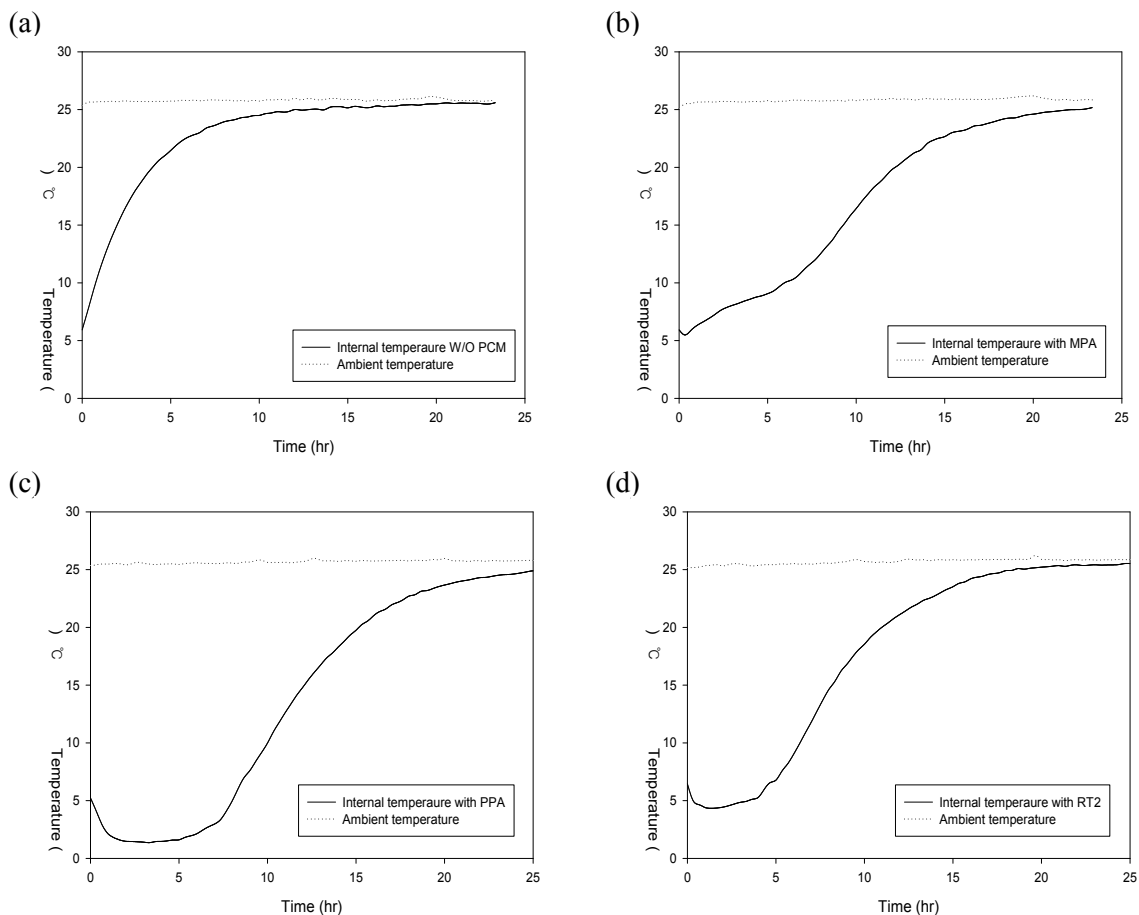


Fig. 57. Internal temperature profiles of EPS boxes stored at 25°C without a refrigerant (a) and with MPA (b), SAP (c), and RT-2 (d).

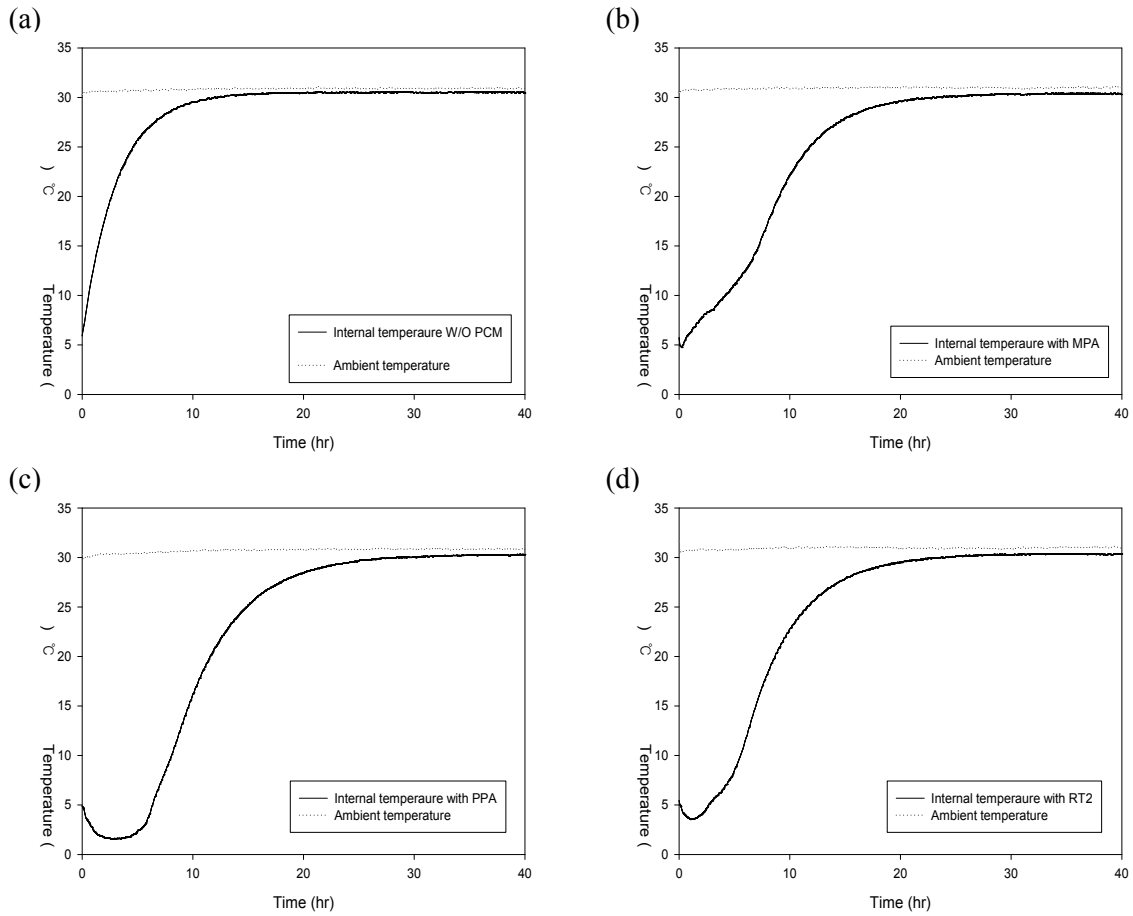


Fig. 58. Internal temperature profiles of EPS boxes stored at 30°C without a refrigerant (a) and with MPA (b), SAP (c), and RT-2 (d).

무처리 대조구의 경우 초기 5시간까지 품온 변화량은 외부온도가 25°C, 30°C와 35°C인 경우 각각 15.5°C, 19.8°C, 23.9°C이었고, 또한 15°C 증가하는데 소요되는 시간은 각각 4.6시간, 2.9시간이었다. MPA, SAP와 RT-2를 처리한 경우 5시간 후의 품온 변화, 15°C 상승에 소요되는 시간, 상변화가 종결되는 시간, 그리고 그 때의 EPS 상자 내부의 온도 값을 Table 18에 정리하였다. 축냉재를 사용한 처리구에서는 사용하지 않은 처리구에 비하여 품온 상승이 느리게 나타나 축냉재가 효과적으로 열전달을 저해하는 것을 확인하였다. SAP와 RT-2의 경우는 동일 질량에 대해 축냉재의 표면적이 커서 모든 실험 외부온도 범위에서 상변화에 따른 항온기간이 관찰되었고 외부온도가 높을수록 항온기간은 감소하였다. 품온 상승 저해효과는 SAP가 가장 좋았으며, MPA와 RT-2는 비슷하였다. 이는 SAP의 경우, MPA에 비하여 축냉재 표면적이 크고 RT-2에 비하여 상변화 온도가 상대적으로 낮기 때문이며, 결과적으로 더 장기간 저온상태를 유지하였고 상변화 후에도 온도 상승속도가 상대적으로 느렸다. RT-2의 경우 상변화 온도가 PA 계열 보다는 높지만 적용 표면적이 커서 MPA 보다 더 장기간 저온 상태를 유지하였으나, 상변화 후에는 PA 계열의 축

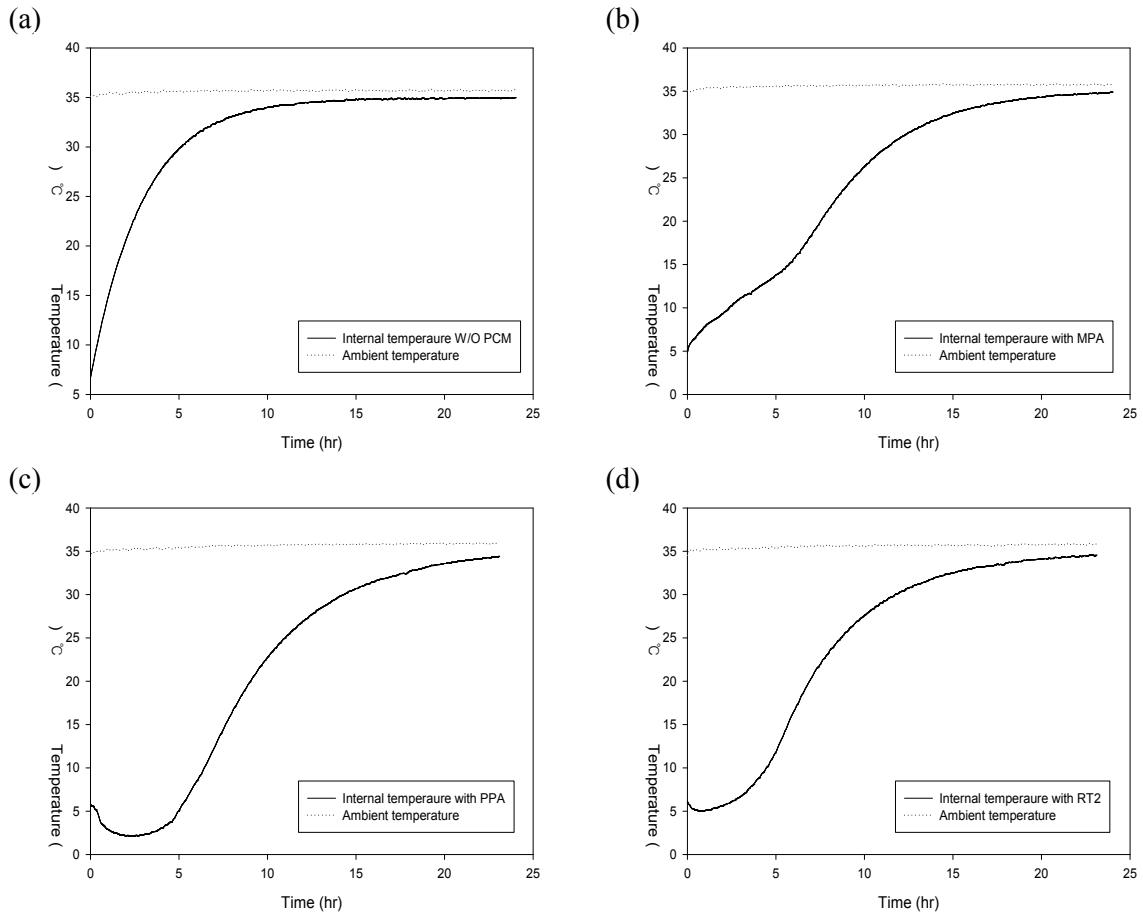


Fig. 59. Internal temperature profiles of EPS boxes stored at 35°C without a refrigerant (a) and with MPA (b), SAP (c), and RT-2 (d).

냉재를 사용한 경우 보다 빠른 속도로 온도가 상승하는 것을 확인하였다.

새싹 포장용기 위에 위치한 MPA 상부면과 하부면의 온도, 즉 EPS 상자 내면 쪽으로 향한 지점과 새싹용기와 접촉하고 있는 지점의 온도변화를 측정된 결과(Fig. 60), 상부면의 온도보다 하부의 온도가 일반적인 상변화 온도 profile과 일치하는 경향을 보였다. 축냉재 상부면 온도의 경우 EPS 상자 내부 공기에 노출되어 있으며, 상변화에 따른 액체-고체 경계면의 이동에 의한 축냉재 상의 불균일화에 의하여 온도가 낮은 포장용기 내용물로 향해 있는 하부면 온도보다 높게 나타나는 것으로 생각된다. MPA의 상하부 온도를 측정된 결과에 의하면 상변화는 1-4°C 온도 범위에서 이루어지고 상변화가 종결되는 시간은 외부온도가 25°C, 30°C, 35°C일 때 각각 8시간, 6.8시간, 6.2시간이었다. 이 시점에서 축냉재 무처리구에 비하여 내부 품온은 각각 11.4°C, 13.6°C, 15.4°C 만큼 더 낮았고 품온이 15°C 증가하는데 소요된 시간은 각각 12.9시간, 9.3시간, 7.5시간으로 무처리구에 비하여 각기 8.3시간, 6.4시간, 5.4시간의 연장효과를 나타내었다.

Table 18. Effect of refrigerants on internal temperature profiles under 25°C, 30°C and 35°C

| External temperature (°C) | Refrigerant type | $\Delta T$ (°C) at $t=5\text{hr}$ | Time (hr) at $\Delta T=15^\circ\text{C}$ | Time (hr) at phase change finished ( $=t_{\text{pcf}}$ ) | Temp. (°C) at $t=t_{\text{pcf}}$ |
|---------------------------|------------------|-----------------------------------|--|--|----------------------------------|
| 25                        | W/O              | 15.5                              | 4.6                                      | ·  | 23.9                             |
|                           | MPA              | 3.1                               | 12.9                                     | 8  | 12.5                             |
|                           | SAP              | -3.6                              | 15.5                                     | 7.1  | 3.3                              |
|                           | RT-2             | 0.3                               | 12.3                                     | 4.9  | 6.7                              |
| 30                        | W/O              | 19.8                              | 2.9                                      | ·  | 27.8                             |
|                           | MPA              | 5.7                               | 9.3                                      | 6.8  | 14.2                             |
|                           | SAP              | -2.5                              | 11.5                                     | 6.1  | 4.2                              |
|                           | RT-2             | 3.05                              | 8.9                                      | 4  | 6.6                              |
| 35                        | W/O              | 23.9                              | 2.1                                      | ·  | 31.6                             |
|                           | MPA              | 9                                 | 7.5                                      | 6.2  | 16.2                             |
|                           | SAP              | 0.77                              | 9.3                                      | 5  | 5.1                              |
|                           | RT-2             | 5.7                               | 7.2                                      | 2.9  | 2.3                              |

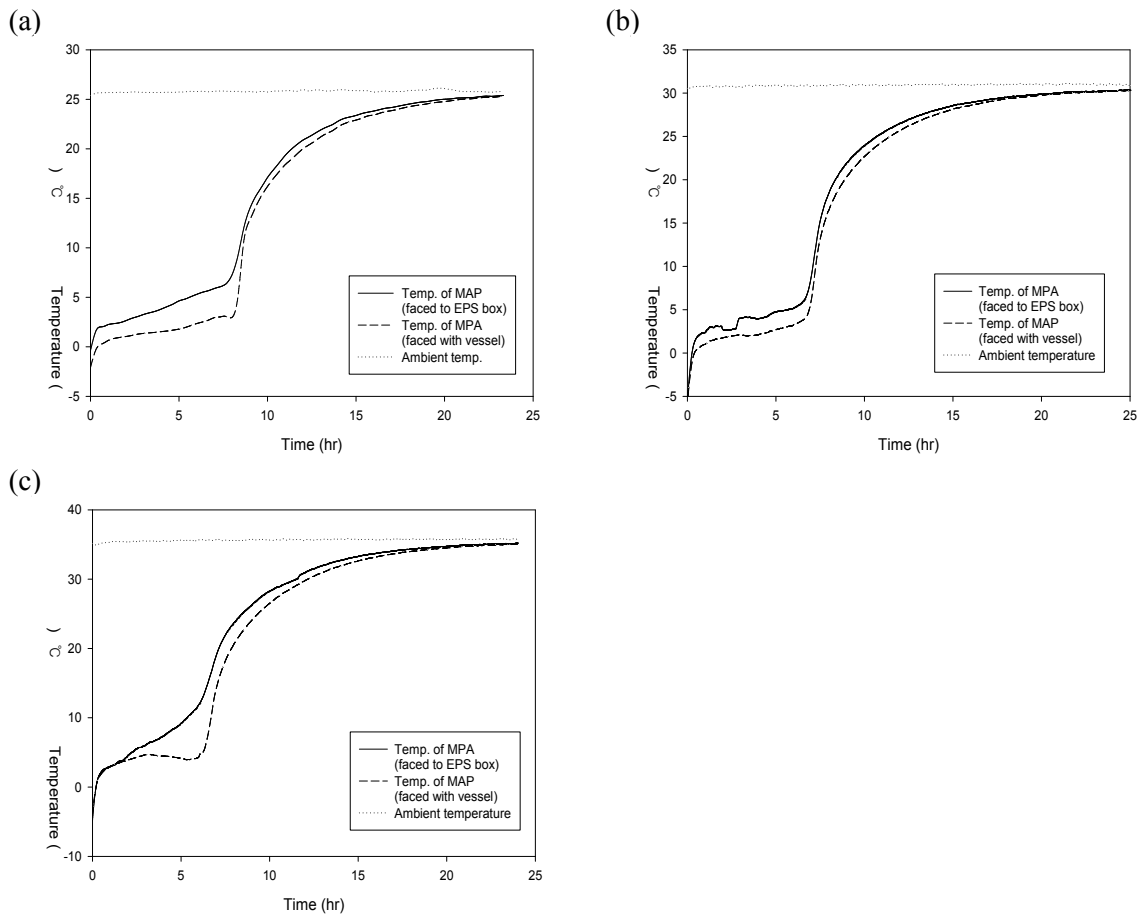


Fig. 60. Temperature profiles of MPA packages under 25°C (a), 30°C (b) and 35°C (c).

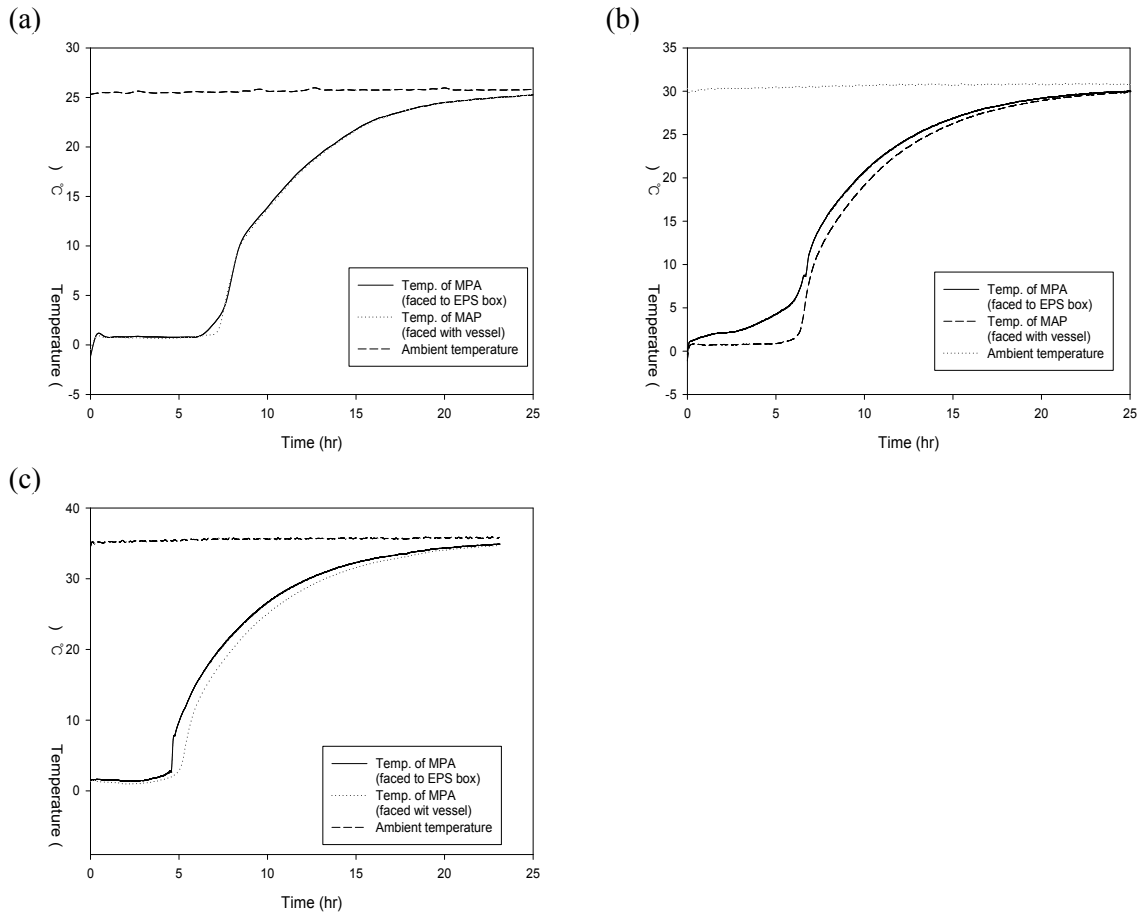


Fig. 61. Temperature profiles of SAP packages under 25°C (a), 30°C (b) and 35°C (c).

새싹용기를 한 번 감아 둘러싼 형태로 배치한 SAP 축냉재의 상부면과 하부면 온도 profile을 측정된 결과(Fig. 61), 축냉재의 상변화가 1-2°C의 좁은 온도범위에서 진행된 것을 알 수 있었다. 반면에 새싹용기를 두 번 감아 둘러싼 형태로 배치한 RT-2 축냉재의 상부면과 하부면 온도 profile을 측정된 결과를 살펴보면(Fig. 62), 축냉재의 상변화가 1-6°C의 넓은 범위에서 진행되었다. 상부면과 하부면의 온도 profile 차이는 축냉재를 두 번 감은 뒤 상부와 하부면 사이에 한 겹의 RT-2가 존재하기 때문이다. 축냉재로 RT-2를 사용한 경우 초기 온도에서 약간의 온도 하강 부분이 존재하며, 이러한 온도 하강 후 SAP 축냉재와 동일하게 온도가 유지되는 부분, 온도 상승이 급격하게 일어나는 부분이 각각 존재한다. 각기 다른 외기온도에서 SAP와 RT-2를 사용한 경우 내부온도 profile은 온도의 급격한 상승을 방지하는 면에서 SAP가 뛰어나지만, 초기의 온도 하강정도가 적은 RT-2는 냉매에 의한 새싹의 냉해/동해방지 측면에서 뛰어나다고 판단된다. MPA를 사용하였을 경우 온도가 유지되는 부분은 존재하지 않지만, 일정 시간 후 온도 상승 억제효과는 RT-2와 비슷하였다.

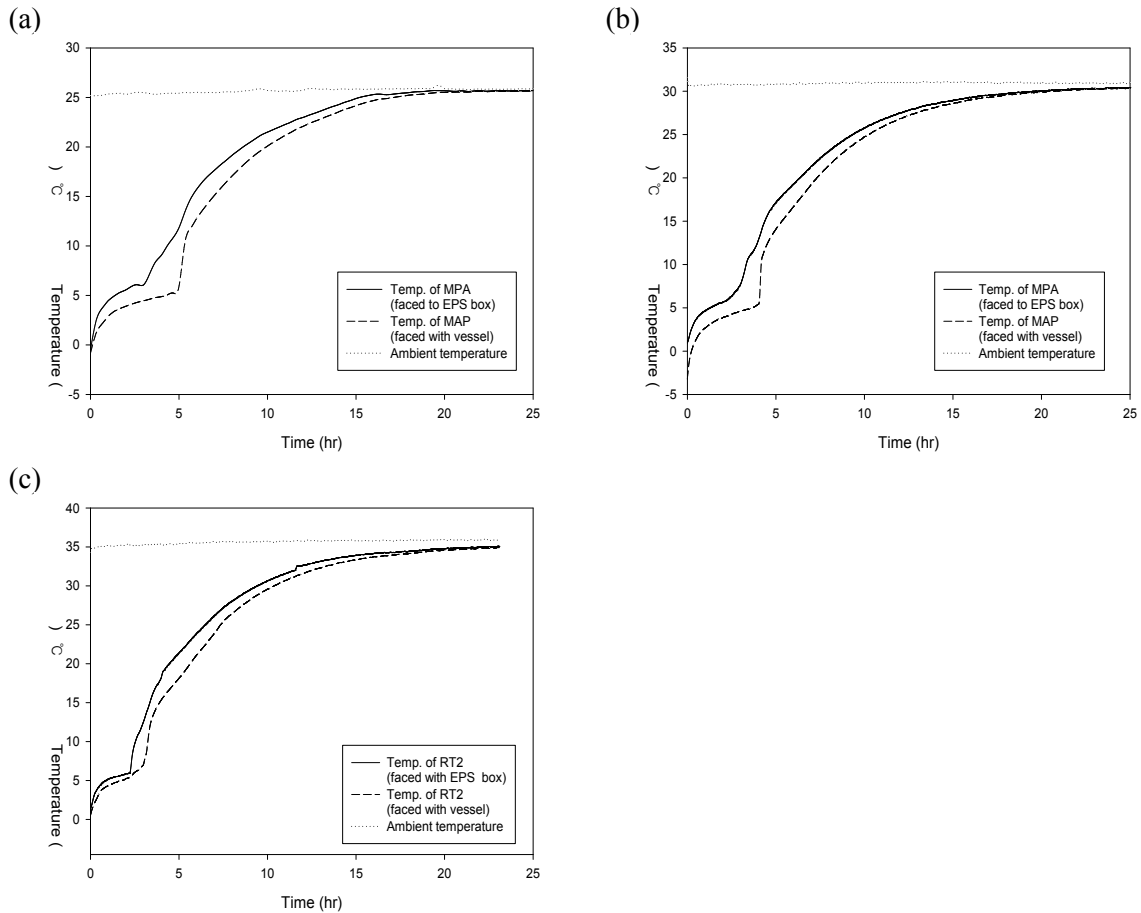


Fig. 62. Temperature profiles of RT-2 packages under 25°C (a), 30°C (b) and 35°C (c).

온도감응 기능성 포장재의 적용방식과 적용비율에 따른 품온 변화를 비교하기 위하여 MPA 축냉재를 기존처럼 상부에 하나 배치한 경우(Fig. 58(b), Fig. 63(a)), 하부에 하나 배치한 경우(Fig. 63(b)), EPS 상자 내부의 측면과 새싹용기 사이의 공간에 수직으로 양쪽 끝에 하나씩 총 두 개를 배치한 경우(Fig. 63(c))로 구분하여 각기 품온 변화를 측정 비교하였다. 초기 품온으로부터 15°C 상승하는 시간은 각각 9.5시간, 10.3시간, 13.2시간으로 상부나 하부에 한 개의 축냉재를 배치한 경우 보다 양쪽 측면에 배치하는 것이 열전달을 더 효과적으로 억제하는 것으로 나타났다. MPA를 하부에 배치하였을 때 초기에 온도가 상승하며 1.8시간부터 5.8시간까지의 온도 변화는 3°C의 좁은 범위에서 서서히 증가하는 양상을 나타내었으며, 그 후 온도 상승속도가 빨라졌다. MPA를 새싹용기의 양쪽 측면에 각각 수직으로 배치한 경우, 초기부터 내부 온도의 상승이 현저하게 지연되었다. MPA 축냉재를 하부에 배치한 경우와 양측 면에 배치한 경우 5시간 경과 후 내부온도 변화는 각각 5.9°C, 5.8°C이며, 10시간 경과 후에는 각각 14.3°C, 10.3°C이고, 15시간 경과 후에는 각각 21.2°C, 18°C로 MPA를 2개 사용하였을 때 배송 초기보다는 후기에 더 영향을 주고 온도 유지효과가 지속적인 것을 알 수 있다.

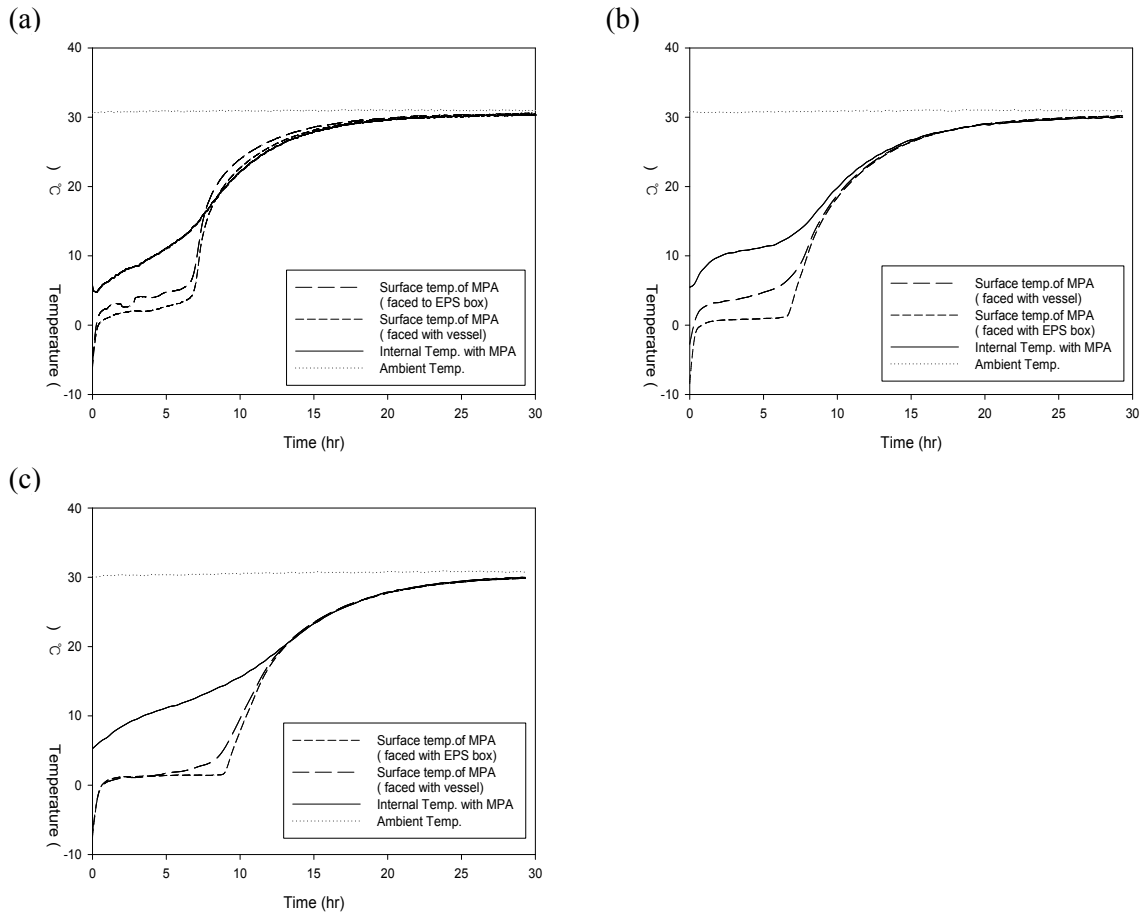


Fig. 63. Temperature profiles of internal side and MPA surface when MPA is placed over the tray (a), under the tray (b), and at both sides of the tray vertically (c).

RT-2 축냉재의 경우, 외부온도가 35°C일 때 기존처럼 두 번 감은 것, 한 번 감은 것, 2 개를 이용하여 먼저 한 번 감고 그 위에 추가한 것을 비교하였다(Fig. 64). 사용된 축냉재의 양은 각각 304 g, 527 g, 1057 g이었고, 사용량이 증가할수록 상변화에 따른 항온기간이 예상대로 증가하였다. 또한 초기 품온으로부터 15°C 상승하는데 소요되는 시간은 각각 5.3시간, 7.2시간, 11.3시간이며, 초기 품온에서부터 떨어지는 온도는 각각 1.7°C, 1.1°C, 1.1°C로서 축냉재의 사용량이 늘어나도 온도 감소의 폭은 큰 변화를 나타내지 않았다.

온도감응 기능성 포장재로서 유연성 보냉재 적용에 따른 유통조건에서 품온변화 profile 분석 및 예측모형 검증에 위하여 컴퓨터 simulation을 통해 내부온도의 3차원적 분포를 분석하였다. Heat transfer module이 포함된 Comsol Multi-physics ver. 3.5a를 사용하여 컴퓨터 simulation을 수행하였고, 예측모형 검증을 위해 모든 물질은 균질하며 열 특성은 온도에 대해 일정한 상수이고 초기 온도는 각 소영역에서 일정하며 물의 증발은 무시하고 모든 면은 완전히 평면이라는 가정을 전제하였다. 새싹용기에 물 1.4 L 또는 500 mL를 담아

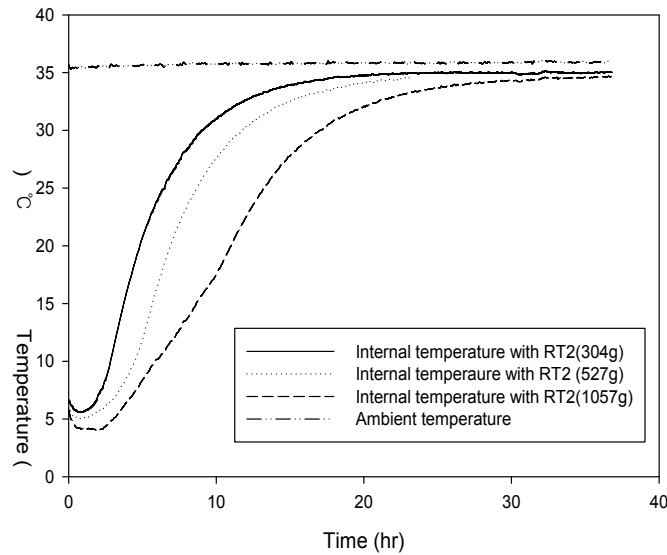


Fig. 64. Comparison of internal temperature profiles with different amounts of RT-2 applied.

내부온도 profile을 측정한 결과와 예측모형 결과를 비교 분석하였다. 초기 온도 15°C의 물 1.4 L를 사용하여 외기온도가 25°C, 30°C, 35°C일 때 컴퓨터 simulation을 통한 EPS 상자의 온도분포 및 내부 중심온도 profile을 얻었다(Figs. 65-68). 외부로부터의 열전달 양상을 살펴보면 EPS 상자와 맞닿은 측면과 하부로부터의 열전달이 상부로 침투하는 열보다 더 빨랐고, 이는 EPS 상자와 새싹용기 사이에 존재하는 공기층이 열전달을 저해하는 효과 때문이다. 이러한 결과는 축냉재를 상부보다는 하부나 측면에 배치하였을 때 품온 상승억제에 더 효과적인 이전 실험결과(Fig. 63)와 일치한다.

외기온도가 25°C일 경우 컴퓨터 simulation한 온도를 실측 결과와 비교하면, 1시간 경과 후 0.6°C, 5시간 경과 후 1.1°C, 20시간 경과 후 2.5°C 낮게 예측되었다. 외기온도가 30°C일 경우 1시간 경과 후 0.6°C, 5시간 경과 후 1.8°C, 20시간 경과 후 1.1°C 낮게 예측되었다. 또한 외기온도가 35°C일 경우 1시간 경과 후 1.2°C, 5시간 경과 후 2.7°C, 20시간 경과 후 1.3°C 낮게 예측되었다. 포장 내용물 1.4 L, 15°C 예측 모형일 경우, 초기 시간범위에서 시간이 경과할수록, 외기온도가 높아질수록 실측 결과와의 온도 편차가 증가함을 알 수 있다. 측정 결과와 예측모형 간의 오차발생 주원인은 포장용기면이 완전 평면이라는 가정과 외부대기와 EPS 상자 사이의 열전달 저해막 역할이 강조된 것으로 추정된다.



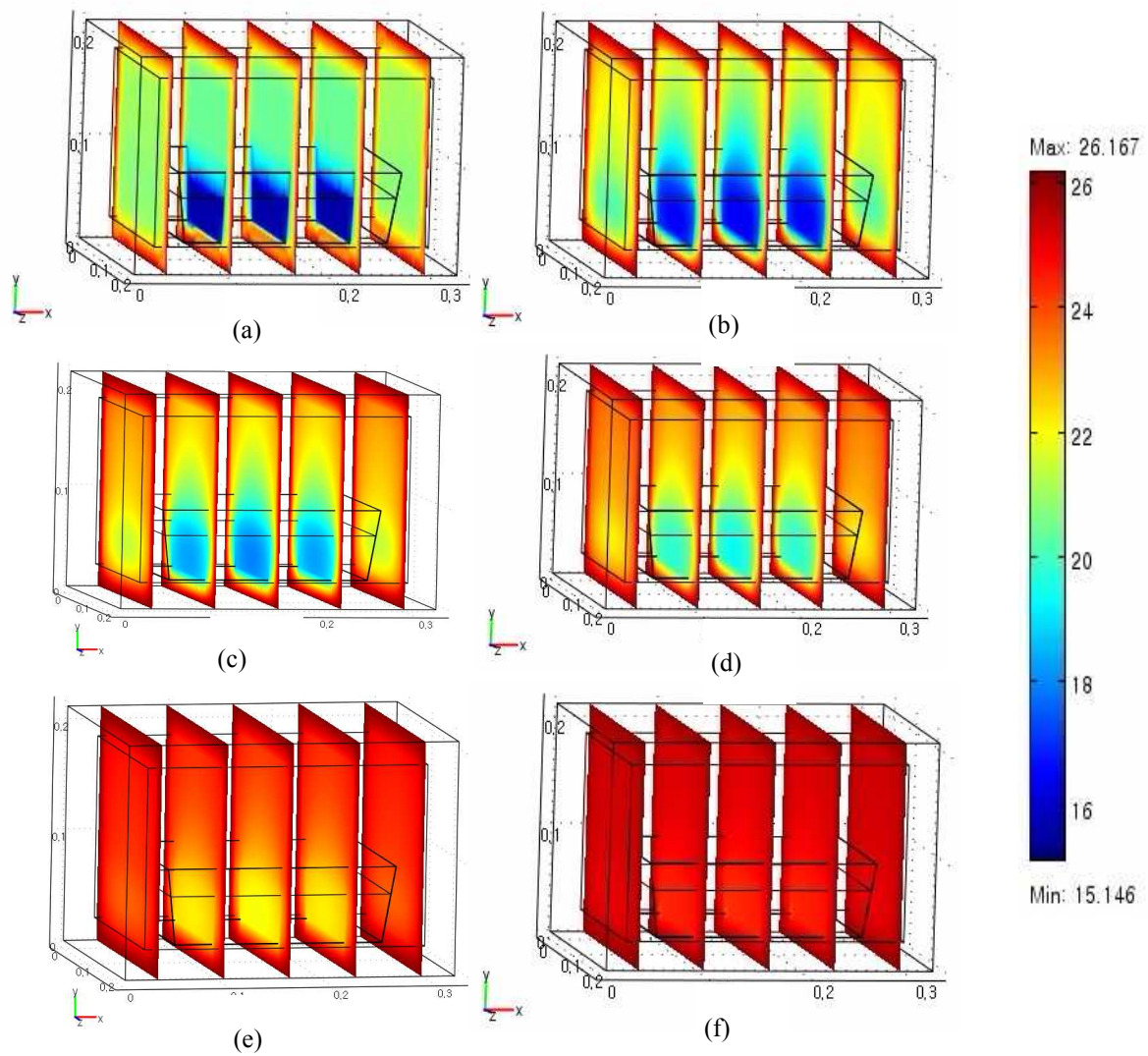


Fig. 65. Simulation of temperature distribution in the EPS box at 25°C with different time courses of 0 hr (a), 1 hr (b), 3 hr (c), 5 hr (d), 10 hr (e), 20 hr (f). Initial load of 1.4 L water at 15°C.

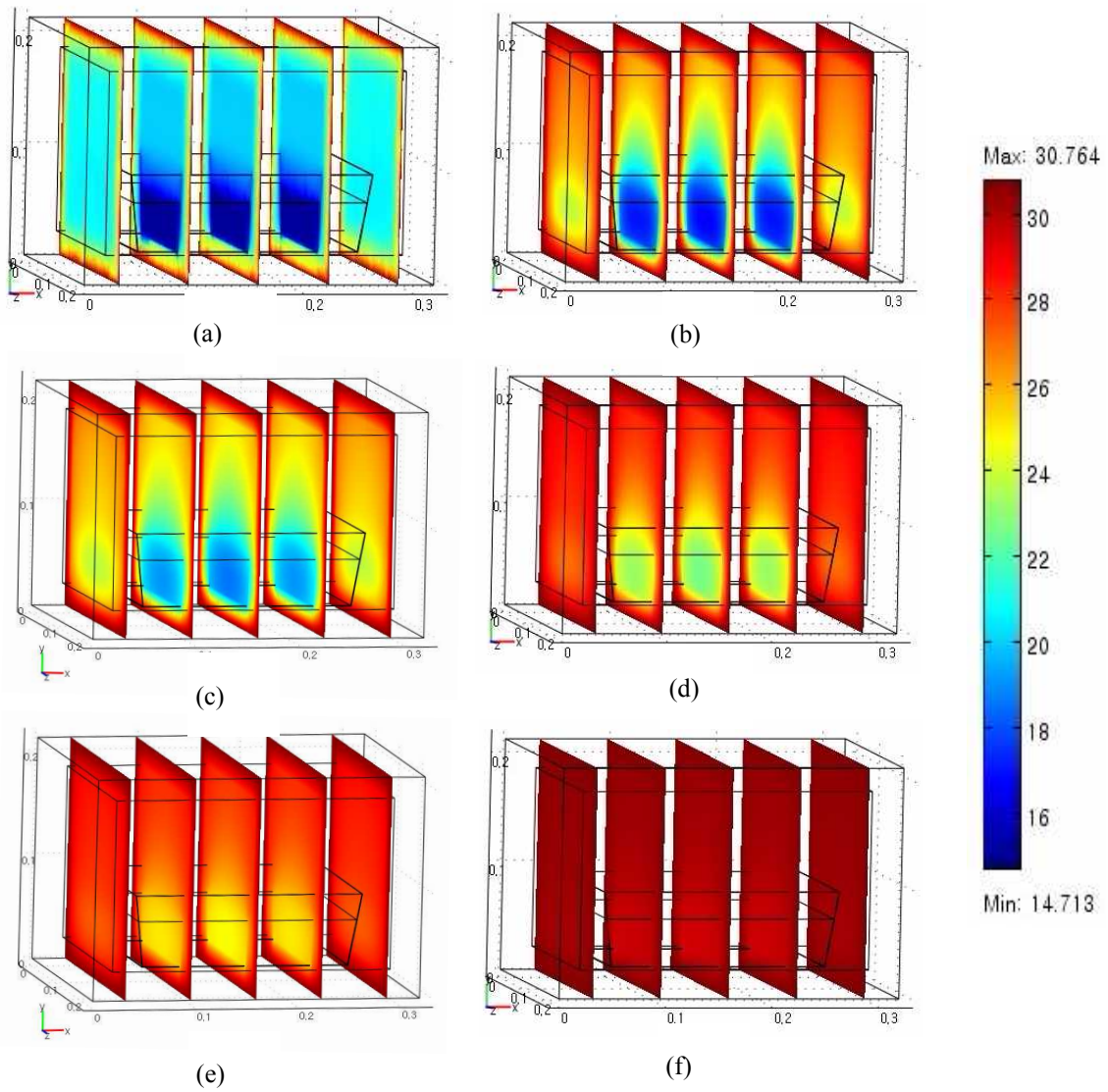


Fig. 66. Simulation of temperature distribution in the EPS box at 30°C with different time courses of 0 hr (a), 1 hr (b), 3 hr (c), 5 hr (d), 10 hr (e), 20 hr (f). Initial load of 1.4 L water at 15°C.

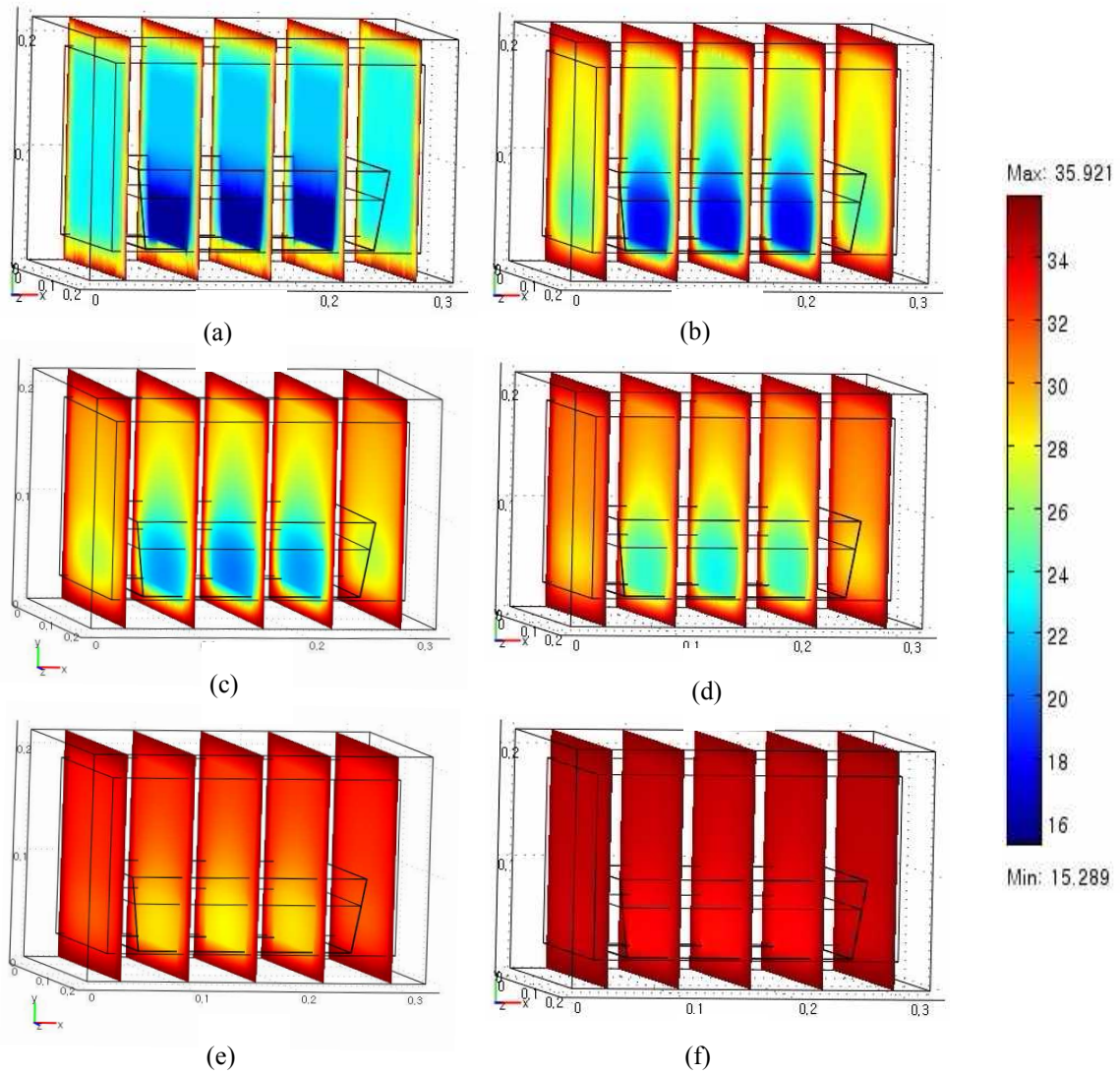


Fig. 67. Simulation of temperature distribution in the EPS box at  $35^{\circ}\text{C}$  with different time courses of 0 hr (a), 1 hr (b), 3 hr (c), 5 hr (d), 10 hr (e), 20 hr (f). Initial load of 1.4 L water at  $15^{\circ}\text{C}$ .

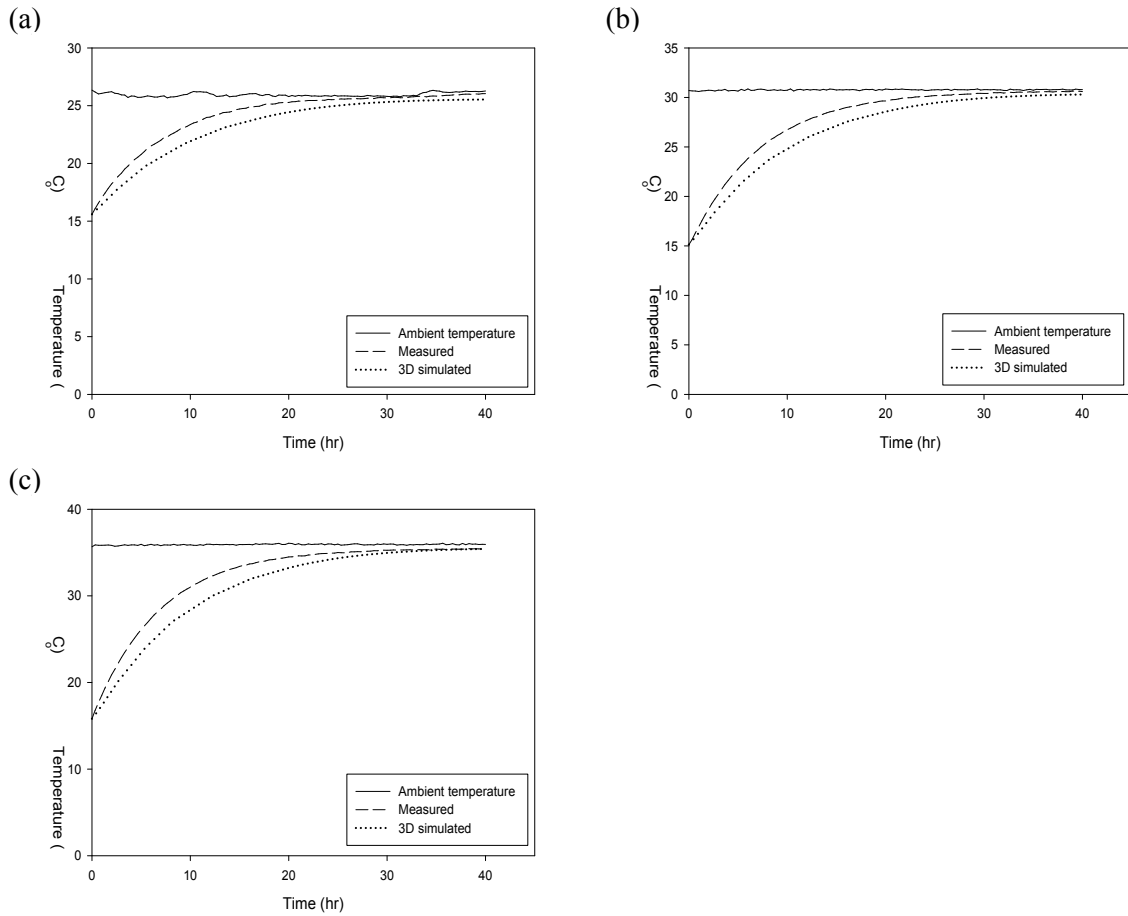


Fig. 68. Comparison of experimental and simulated temperature profiles for the packages containing water (1.4 L, 15°C) under 25°C (a), 30°C (b) and 35°C (c).

피포장물로 5°C의 물 500 mL를 사용하여 외기온도가 25°C, 30°C, 35°C일 때 컴퓨터 simulation을 통해 EPS 상자의 온도분포와 내부온도의 profile 결과를 얻었다(Figs. 69-72). 외기온도가 25°C일 경우 simulation한 온도를 실측 결과와 비교하면, 1시간 경과 후 1.7°C 높게, 5시간 경과 후 0.7°C, 10시간 경과 후 0.6°C 낮게 예측되었다. 외기온도가 30°C일 경우 1시간 경과 후 0.3°C 높게, 5시간 경과 후 1.8°C, 10시간 경과 후 0.9°C 낮게 예측되었다. 또한 외기온도가 35°C일 경우 1시간 경과 후 1.6°C, 5시간 경과 후 2.0°C, 10시간 경과 후 0.8°C 낮게 예측되었다. 포장 내용물이 1.4 L, 15°C인 예측 모형의 경우 외기온도가 높아질수록 실측 결과와의 편차가 크게 나타났으나, 내용물이 500 mL인 경우 앞서와 비교하면 실측 결과와 예측치의 온도편차는 다소 줄어들어서 약 2°C 사이의 좁은 범위 내에서 오차가 발생하였다. 실측 결과와 예측 모형간의 이러한 오차는 전술한 바와 같이 전제로 하는 가정 조건과 설정된 초기 조건에 기인하므로 이들에 대한 보다 면밀한 검토가 필요한 것으로 생각된다.

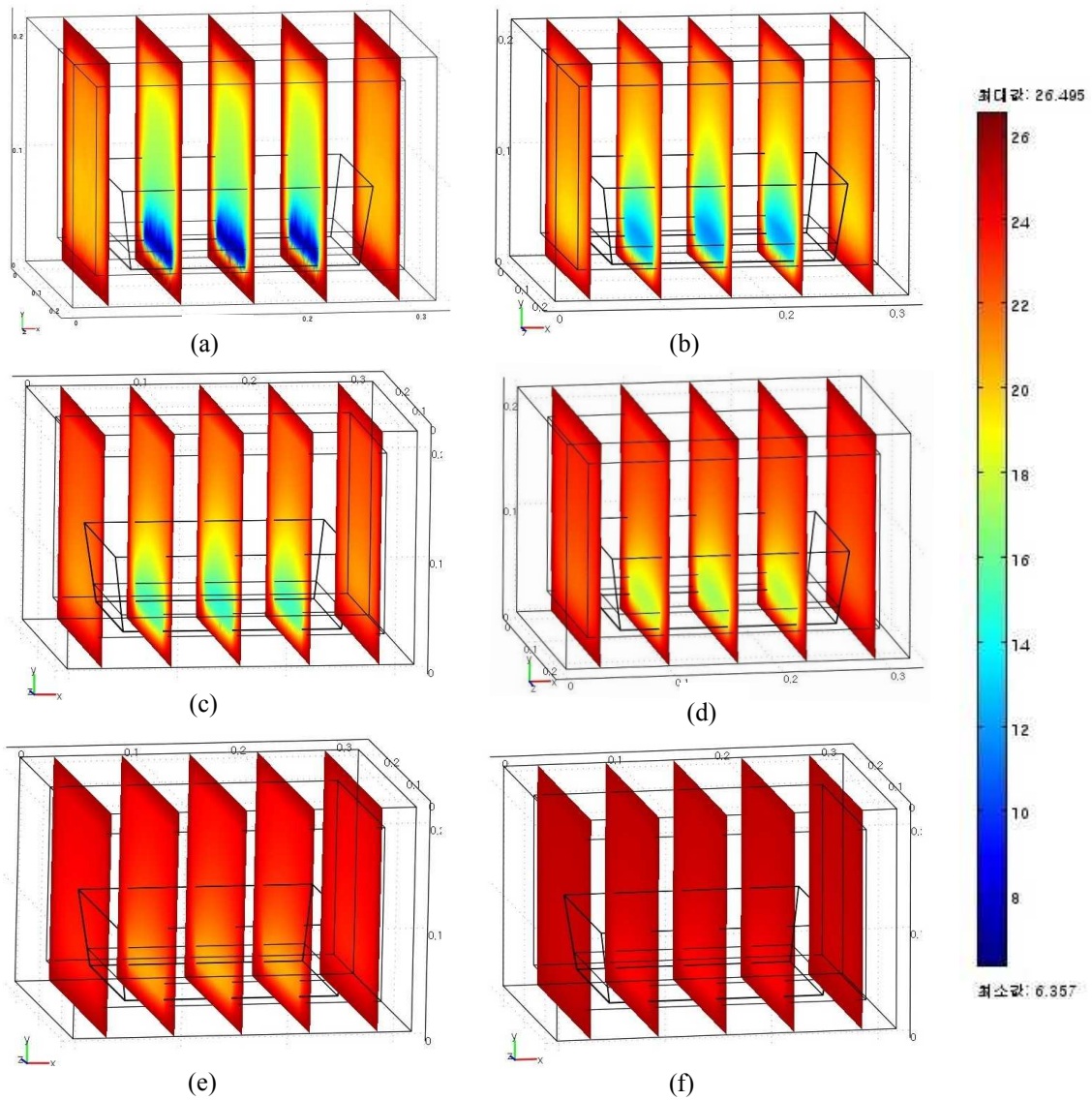


Fig. 69. Simulation of temperature distribution in the EPS box at 25°C with different time courses of 0 hr (a), 1 hr (b), 2 hr (c), 3 hr (d), 5 hr (e), 10 hr (f). Initial load of 500 mL water at 15°C.

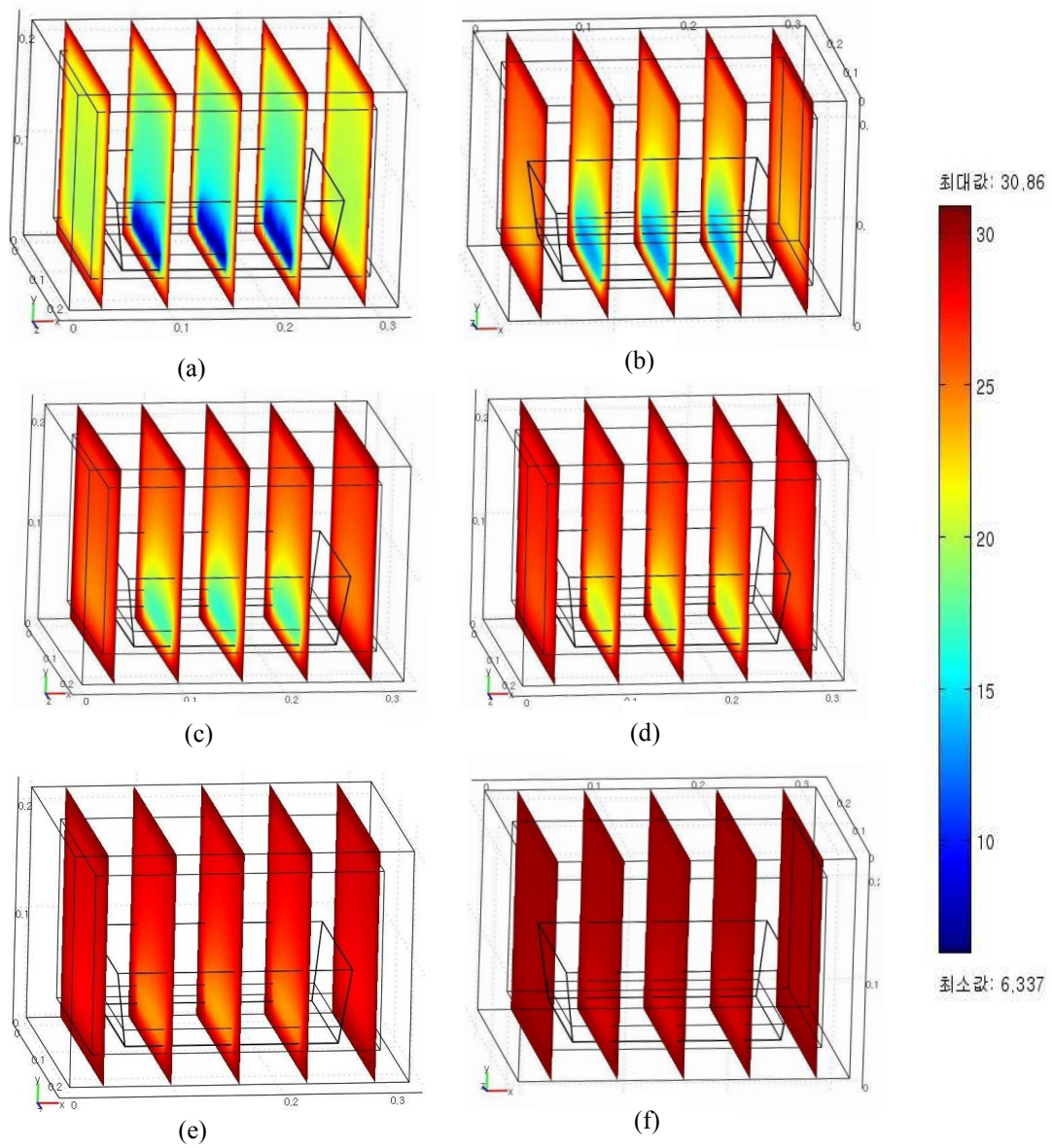


Fig. 70. Simulation of temperature distribution in the EPS box at 30°C with different time courses of 0 hr (a), 1 hr (b), 2 hr (c), 3 hr (d), 5 hr (e), 10 hr (f). Initial load of 500 mL water at 15°C.

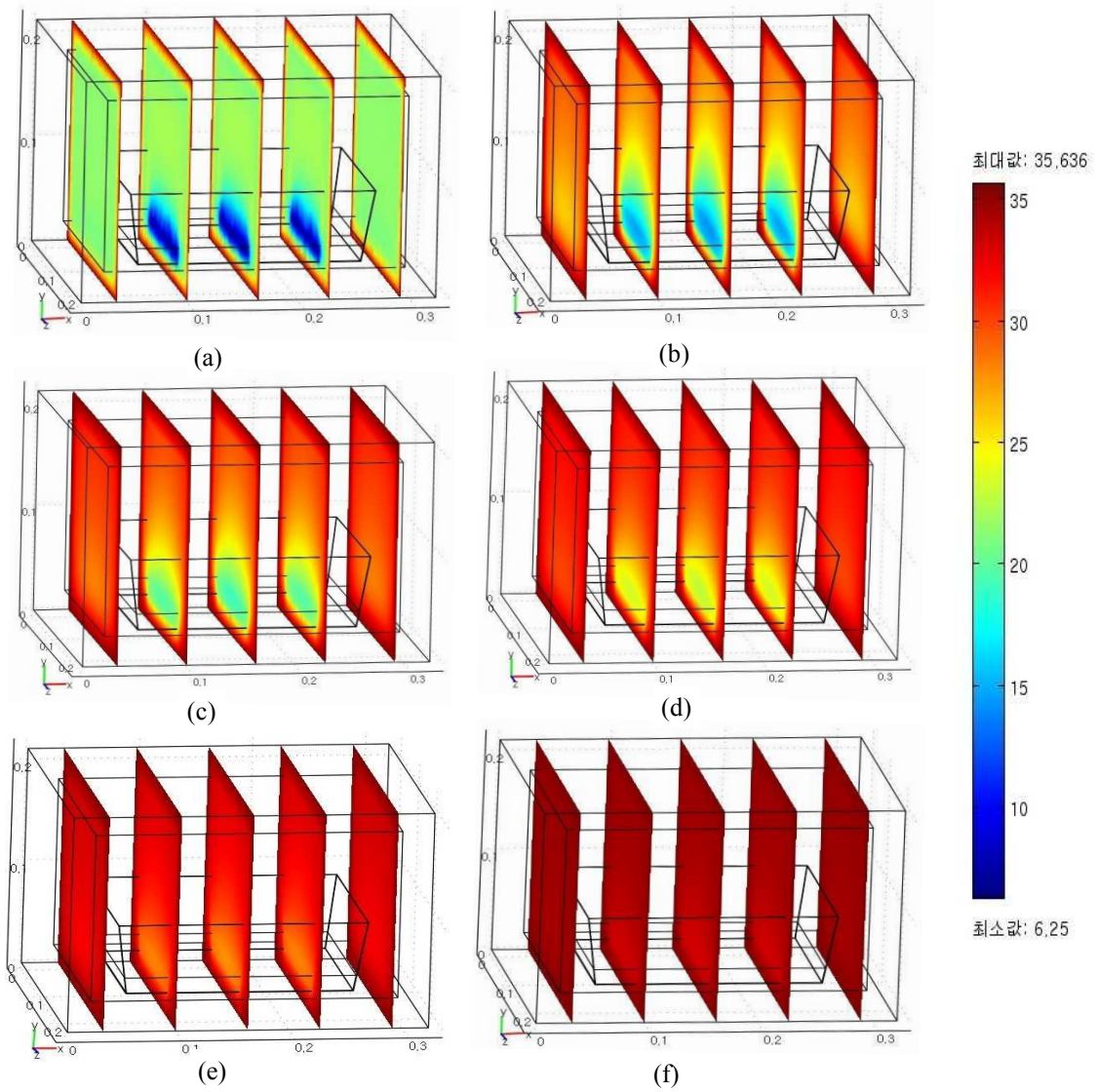


Fig. 71. Simulation of temperature distribution in the EPS box at 35°C with different time courses of 0 hr (a), 1 hr (b), 2 hr (c), 3 hr (d), 5 hr (e), 10 hr (f). Initial load of 500 mL water at 15°C.

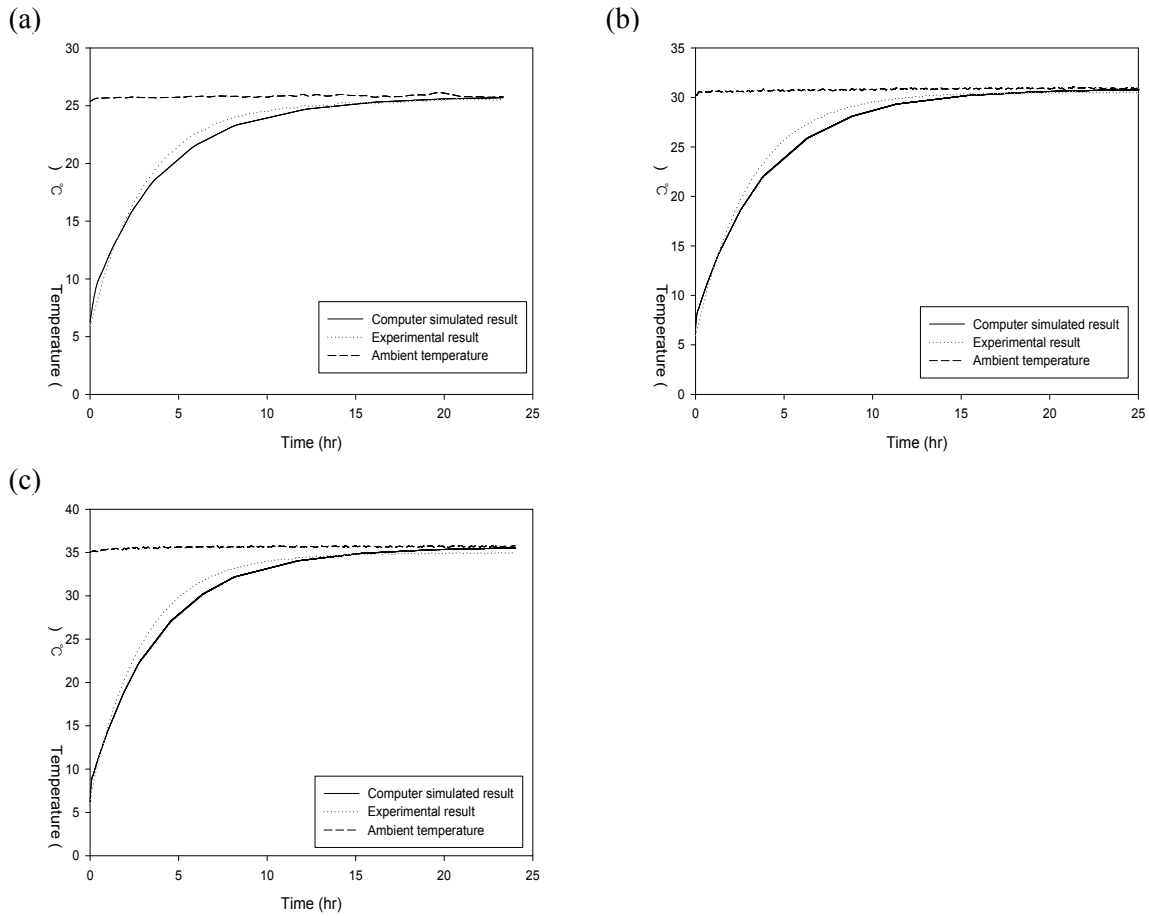


Fig. 72. Comparison of experimental and simulated temperature profiles for the packages containing water (500 mL, 15°C) under 25°C (a), 30°C (b) and 35°C (c).

하절기 일출 이후의 온도변화 조건을 모사하기 위하여 외기온도 변화를 step function으로 설정하고 포장 내부의 온도변화를 측정하였다(Fig. 73). 즉, 외기온도가 초기 5.5시간 동안 25°C로 유지되다가 이후 6시간 동안 35°C로 상승한 다음 다시 25°C로 감소하는 step function으로 모사하였다. 여름철 새싹채소의 택배운송 중 오후 6시간 동안 35°C로 유지되고 나머지 시간에는 외기온도를 35°C보다 낮게 설정하여 실제 배송조건에 근접하도록 온도 자극을 주었다. 축냉제로 MPA를 사용하고 축냉제 유무에 따른 온도변화를 비교하면, 축냉제를 사용하지 않은 경우 25°C에서 일반적인 온도상승 양상을 보이다가 35°C에 노출되었을 때 더 빠른 온도상승 양상을 나타내었고 35°C 노출이 끝난 뒤 서서히 평형온도로 낮아졌다. 축냉제를 사용하였을 경우 초기 25°C에 노출되었을 때 상변화에 의한 온도 유지효과로 9.2°C까지 증가하며 35°C 노출 시 완만한 온도상승이 진행되었고, 35°C 노출이 끝나는 11.5시간 이후 평형온도인 26°C에 도달하였다. 즉, 축냉제를 사용하면 변온조건에서도 9.3시간 동안 20°C 이하로 내부온도가 유지되었다.



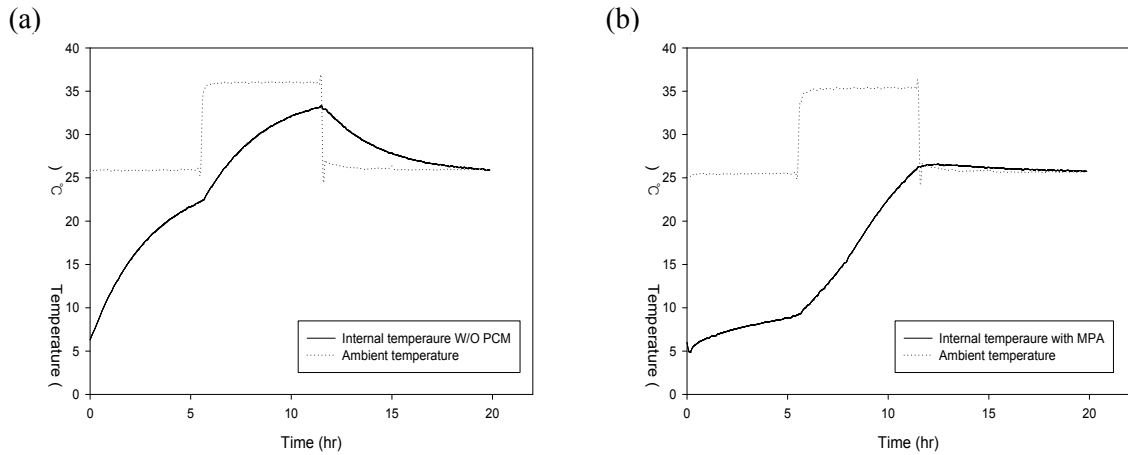


Fig. 73. Internal temperature profiles of the EPS box under fluctuating temperature condition.

한편 축냉재 없이 외기온도 변온조건에서의 실측 결과와 예측모형 결과를 비교했을 때 (Fig. 74), 5.5시간 경과 후 온도편차는  $1.3^{\circ}\text{C}$ , 10시간 경과 후 온도편차는  $2.0^{\circ}\text{C}$ , 11.5시간 경과 후 온도편차는  $0.8^{\circ}\text{C}$ 로 좁은 범위의 온도편차를 나타내었다. 그러나 변온조건에서 온도감응 기능성 포장재로서 보냉재(MPA, SAP, RT-2)를 사용할 경우 예측모형 검증을 위해 축냉재의 열 특성을 DSC로 측정할 필요가 있으며, 축냉재의 온도에 따른 열용량 변화를 이용하여 예측모형에 적용하는 것이 바람직하다. 또한 실측 결과를 보다 정확하게 예측할 수 있도록 예측모형의 가정 조건과 초기 조건을 검토하고 개선하는 작업이 필요하였다.

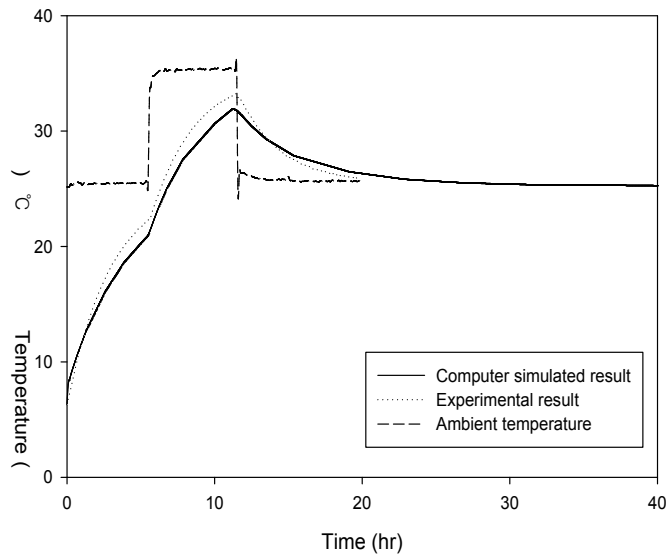


Fig. 74. Comparison of experimental and simulated temperature profiles under a fluctuating temperature condition as a step function.

### 9. 온도감응 기능성 포장의 현장적용 실증시험

주관연구기관의 선행연구에 기초하여 최적 형태의 온도감응 기능성 포장재 적용에 따른 새싹채소의 유통 중 품질특성 변화를 측정하고, 관행적 방식 대비 온도감응 기능성 포장재 적용에 따른 품질유지 효과를 비교 분석하였다. 즉, 가상의 하절기 외기온도 조건에서 메밀 새싹시료의 외관품질을 효과적으로 유지시켰던 장방형 SAP 보냉재(350 g)를 실제 생산현장의 새싹채소 상품에 적용하여 유통 중 포장용기 내외부의 온도변화 및 배송 완료된 새싹채소의 품질변화를 관찰하였다. 구체적으로 협동연구기관/참여기업인 참한씩(주)의 재배실에서 당일 오전에 수확한 메밀 새싹을 규정된 절차에 의거하여 전처리한 후 PP tray 용기에 400 g씩 담고 용기의 내외부에 온습도 기록계를 장착한 다음, 실험실에서 동일한 방법으로 유연성 SAP 보냉재를 사용하여 개별 포장하고, 이를 은박 단열재로 2차 포장하여 최종적으로 EPS 상자에 담아 밀봉한 후 우체국 택배를 이용하여 발송하였다. 선행연구에서와 마찬가지로 유연성 보냉재의 적용효과를 비교하기 위해 대조구로 사용된 일반 얼음팩은 tray 용기의 밑면에 놓고 상기와 동일하게 포장하였다. 생산현장에서 발송한지 약 24시간이 지난 다음 실험실에서 택배물을 수령하였고, 이를 대상 시료로 하여 포장용기의 내외부 온도변화와 메밀 새싹의 품질특성을 측정하였다. 참고로 시료 발송 당일의 외기온도는 최저  $10\pm 2^{\circ}\text{C}$ , 최고  $20\pm 2^{\circ}\text{C}$ 로 확인되었다.

메밀 새싹채소의 1차 포장용기를 350 g 기준의 유연성 SAP 보냉재와 은박 단열재로 감싸고 EPS 상자에 밀봉한 후 실제 택배운송으로 유통시키면서 포장용기 내외부의 온도 변화 추이를 살펴본 결과(Fig. 75), 최적 형태의 SAP 보냉재가 적용된 포장용기의 내외부 온도는 초기  $7-8^{\circ}\text{C}$ 에서 3시간 이내에 내부온도가  $1^{\circ}\text{C}$  이하(최저  $0.2^{\circ}\text{C}$ )로, 외부온도가 약

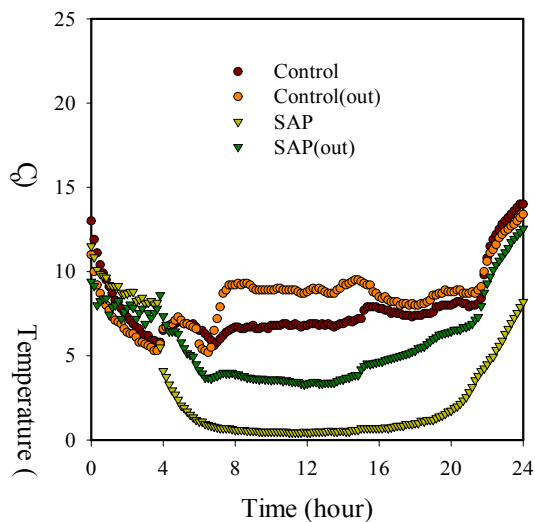


Fig. 75. Temperature profiles of the inside and outside of buckwheat sprout tray treated with a typical block refrigerant and flexible SAP in EPS boxes during transportation and delivery at ambient temperature in March 2009.

4°C 정도로 떨어졌다. 이후 약 13시간 동안 이 온도범위가 유지되었으며 포장용기 내외부의 온도차도 약 3°C 정도로 일정하게 유지되었다. 이러한 포장용기 내외부의 온도는 점차 상승하여 발송 24시간 후에는 용기 내부온도가 10°C에 도달하였다. 반면 대조구 포장용기의 경우 동일한 시간구간에서 내부온도가 평균 약 7°C, 외부온도는 평균 약 9°C이었으며, 발송 22시간 경과 후에는 외기온도에 가깝게 급격히 상승하였다. 이로부터 장방형의 SAP 보냉재가 유통 중 새싹채소 포장용기의 온도를 효과적으로 낮게 유지하는 것을 확인할 수 있었다.

실증실험에서 메밀 새싹시료의 수분함량은 초기 94.6±0.1%이었고, 24시간 유통한 다음 대조구 96.7±0.2%, SAP 처리구 96.7±0.1%로 처리구간에 유의적인 차이 없이 초기보다 약간 증가하는 경향을 나타내었다(Fig. 76). 또한 메밀 새싹의 초기 중온성 호기 미생물 생균수는 4.6±0.6×10<sup>6</sup> CFU/g이었으며, 24시간 유통 후 대조구에서는 4.2±1.6×10<sup>6</sup> CFU/g, SAP 처리구에서는 3.8±1.0×10<sup>6</sup> CFU/g로 유통 전후는 물론 처리구간에 전혀 차이를 구분할 수 없었다(Fig. 77). 대장균군의 경우에도 초기 1.2±0.3×10<sup>6</sup> CFU/g이었고, 실제 유통 후에도 대조구에서 1.5±0.5×10<sup>6</sup> CFU/g, SAP 처리구에서 9.6±0.5×10<sup>5</sup> CFU/g로 유통 전후와 처리구간의 유의적인 차이를 발견할 수 없었다. 이로부터 실제 새싹채소 상품유통 시 포장용기 내부의 온도는 SAP 처리구가 좀 더 낮게 유지되지만 전반적인 미생물 생균수 변화에 있어서는 종래의 얼음팩을 적용한 것과 크게 다르지 않음을 확인하였는데, 이는 실증실험을 수행한 시기를 고려해 볼 때 아직까지 외기온도가 충분히 높지 않았기 때문에 가능한 결과로 판단되었다.

또한 택배운송을 마친 메밀 새싹시료의 뿌리부분 색상은 대조구나 SAP 처리구간에 별다른 차이가 없었으나, 줄기부분의 색상은 다소 분명한 차이를 나타내었다(Fig. 78). 즉,

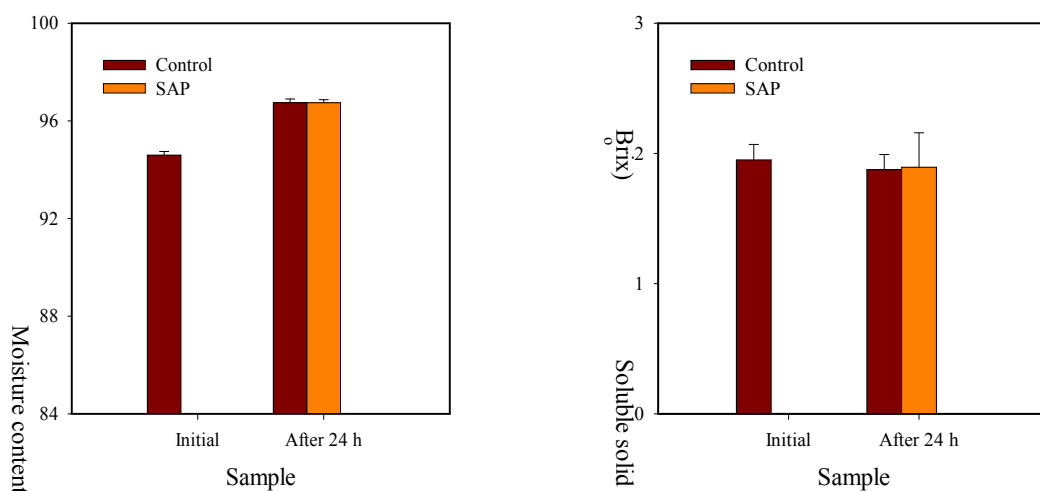


Fig. 76. Changes in moisture (left) and soluble solids contents (right) of buckwheat sprout treated with a typical block refrigerant and flexible SAP in EPS boxes after 24 h transportation and delivery at ambient temperature.

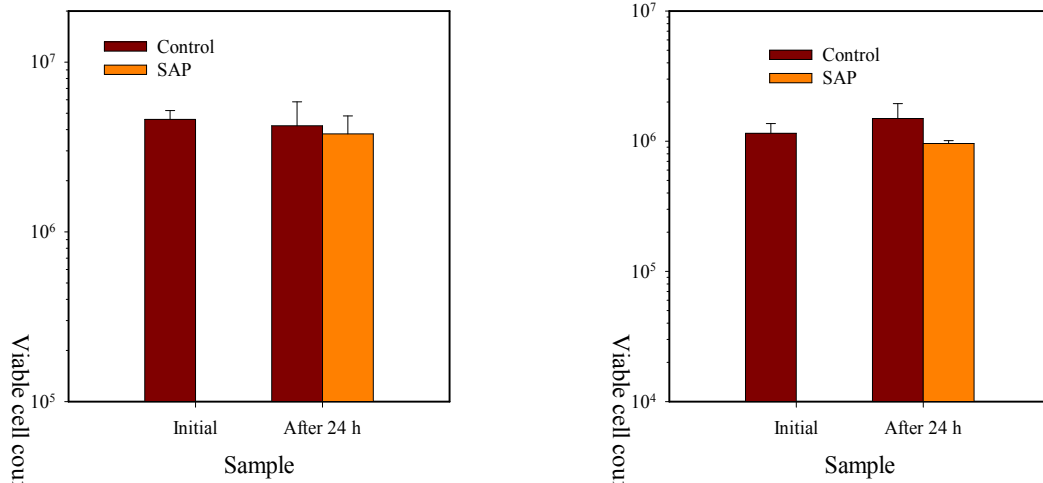


Fig. 77. Changes in mesophilic aerobes (left) and coliforms (right) of buckwheat sprout treated with a typical block refrigerant and flexible SAP in EPS boxes after 24 h transportation and delivery at ambient temperature.

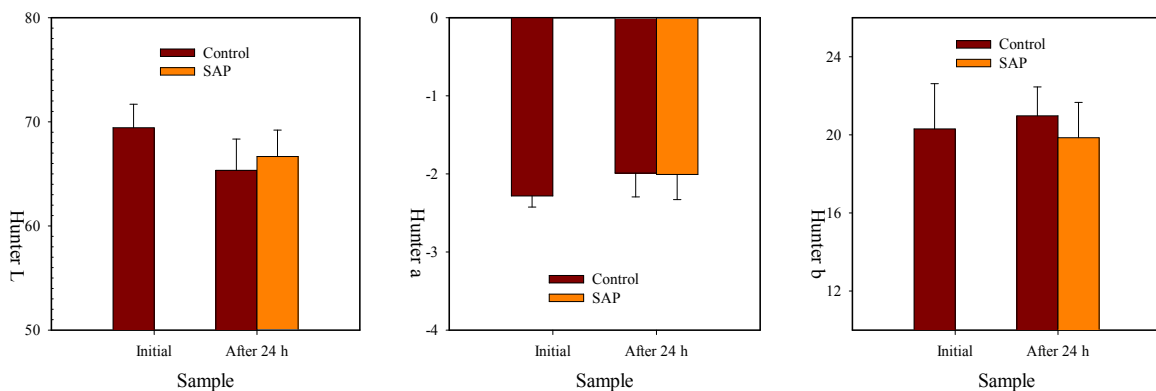


Fig. 78. Changes in Hunter L, a, b values of buckwheat sprout stems treated with a typical block refrigerant and flexible SAP in EPS boxes after 24 h transportation and delivery at ambient temperature.

생산현장에서 새싹시료 발송 이후 대조구의 줄기부분 L 값이 낮아지고 b 값이 높아져서 다소의 황변이 진행된 것을 알 수 있었으며, 초기 대비 색차( $\Delta E$ ) 결과도 대조구에서 4.3, SAP 처리구에서 2.9를 나타내어 유연성 보냉재를 적용하였을 때 새싹채소의 색 변화가 다소 억제됨을 확인할 수 있었다(Table 19). 그러나 육안으로 판별하는 관능평가에서는 대조구와 SAP 처리구의 차이를 식별하기가 어려워 거의 유사한 평가를 받았다(Table 20 & Fig. 79).

결론적으로 가상의 하절기 외기온도 조건에서 얻어진 최적 형태의 온도감응 기능성 포장재인 유연성 SAP 보냉재를 사용하여 메밀 새싹채소를 운송용기에 포장한 후 실제 생산현장에서 유통시킨 결과, 메밀 새싹을 담고 있는 tray 용기의 내부온도를 약 13시간 동

Table 19. Total color difference ( $\Delta E$ ) of buckwheat sprout stems treated with a typical block refrigerant and flexible SAP in EPS boxes after 24 h transportation and delivery at ambient temperature

| Treatment  | Control | SAP |
|------------|---------|-----|
| $\Delta E$ | 4.3     | 2.9 |

Table 20. Sensory characteristics<sup>1)</sup> of buckwheat sprout treated with a typical block refrigerant and flexible SAP in EPS boxes after 24 h transportation and delivery at ambient temperature

| Treatment | Discoloration | Wilting | Gross | Off-flavor | Overall quality |
|-----------|---------------|---------|-------|------------|-----------------|
| Control   | ++            | +       | ++    | -          | +++             |
| SAP       | ++            | +       | ++    | -          | +++             |

<sup>1)</sup> As the number of mark increases, the intensity of sensory characteristics increases.

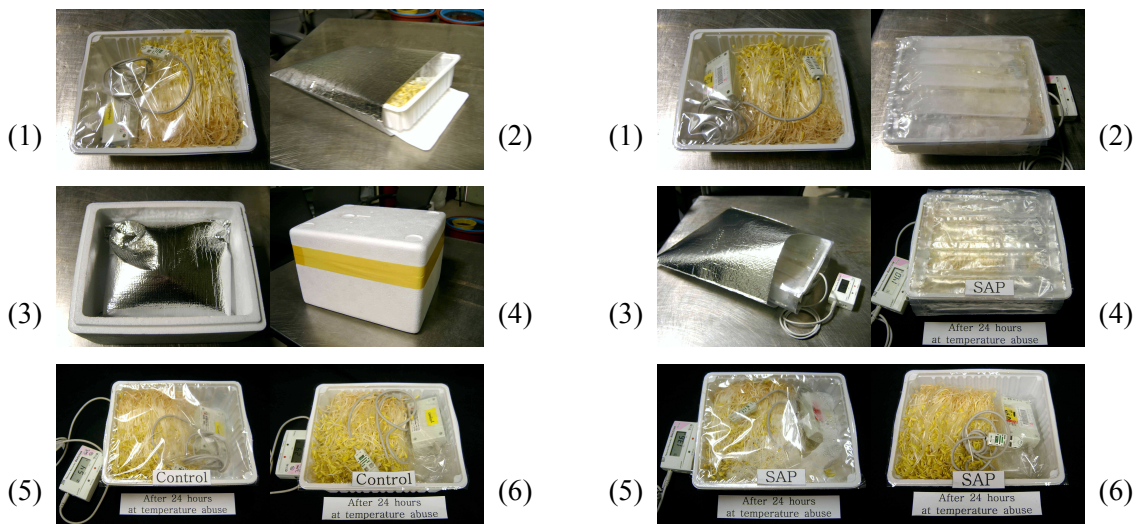


Fig. 79. Packaging steps of buckwheat sprout treated with a typical block refrigerant (left) and flexible SAP (right) in EPS boxes for the feasibility test of consumer distribution, and appearance of buckwheat sprout after 24 h delivery. Work flowchart: (1) tray sealing with lid film, (2) wrapping with aluminum barrier, (3-4) packing in EPS boxes, (5-6) after delivery.

안 1°C 이하로 유지할 수 있었으나, 여러 가지 새싹채소의 품질인자 측면에서는 종래의 얼음팩을 사용한 대조구와 별다른 차이가 없었다. 이러한 결과는 선행연구에서 사용하지 않았던 은박 단열재의 적용에 따른 차단효과에 일부 기인하나, 주로는 외기온도가 하절기와 비교하여 충분히 높지 않았던 것에 원인이 있다고 판단된다.

### 10. 새싹채소에 대한 능동형 MAP 처리조건 설정 및 적용성 평가

새싹채소의 유통 중 품질 안정성 향상을 위한 최적 능동형 MAP 조건을 설정하고자, 고산소 단독으로 또는 고산소와 이산화탄소를 혼합한 여러 가지 기체조성으로 메밀 새싹 시료를 기체충진 포장한 후 5°C에 4일간 저온저장하면서 품질특성을 비교 평가하였다. 우선 새싹채소의 호흡특성에 대한 고산소 조건의 영향을 파악하고자 20-80% 산소와 나머지 질소로 기체농도를 달리하여 밀폐 시스템에서 호흡률을 측정된 결과(Fig. 80), 메밀 새싹의 O<sub>2</sub> 소비율은 공기 대조구에서 21.6 mL/kg·h, 40% O<sub>2</sub> 처리구 25.4 mL/kg·h, 60% O<sub>2</sub> 처리구 33.3 mL/kg·h, 80% O<sub>2</sub> 처리구에서 43.8 mL/kg·h를 나타내었고, CO<sub>2</sub> 생성율은 각각 25.9, 26.0, 28.0, 25.1 mL/kg·h로 나타나 O<sub>2</sub> 분압이 높을수록 O<sub>2</sub> 소비율은 증가하였으나 CO<sub>2</sub> 생성율은 일정 범위에서 유지되었다. 또한 호흡지수(RQ)는 대조구와 40% O<sub>2</sub> 처리구에서 1.19-1.03으로 정상적인 호기호흡이 유지되었으나, 60%와 80% O<sub>2</sub> 처리구에서는 0.84, 0.57을 나타내어 산소 소모량에 비해 이산화탄소 생산량은 제한적으로 유지됨으로서 비정상적 호흡양상을 나타내었다(Fig. 80). 한편 4일간의 저장기간 동안 PP tray 포장재 내부의 기체조성 변화는 O<sub>2</sub>의 경우 각각 2%, 10%, 30%, 49%로 감소한 반면(감소량은 각각 18%, 24%, 28%, 30%), CO<sub>2</sub> 농도는 19-23% 수준으로 유지되었다(Fig. 81). 즉, 포장용기 내에서도 초기 O<sub>2</sub> 농도에 비례하여 O<sub>2</sub> 감소 속도는 높았으나 CO<sub>2</sub> 생성 속도는 이에 상관없이 일정 범위 이상 증가하지 않는 것을 알 수 있었다.

메밀 새싹의 품질변화 측면에서 수분함량은 초기에 96.6±0.2%이었고, 4일 저장 후에도 대조구(통기포장) 96.9±0.1%, 20% O<sub>2</sub> 처리구 96.8±0.1%, 40% 처리구 96.9±0.1%, 60% 처리구 97.0±0.1%, 80% 처리구 96.9±0.1%로 매우 일정하였으며 처리구간의 차이도 구분할 수 없었다(Fig. 82). 가용성 고형분함량은 초기 시료가 1.93±0.20°Brix이었고, 4일 저장 후 대

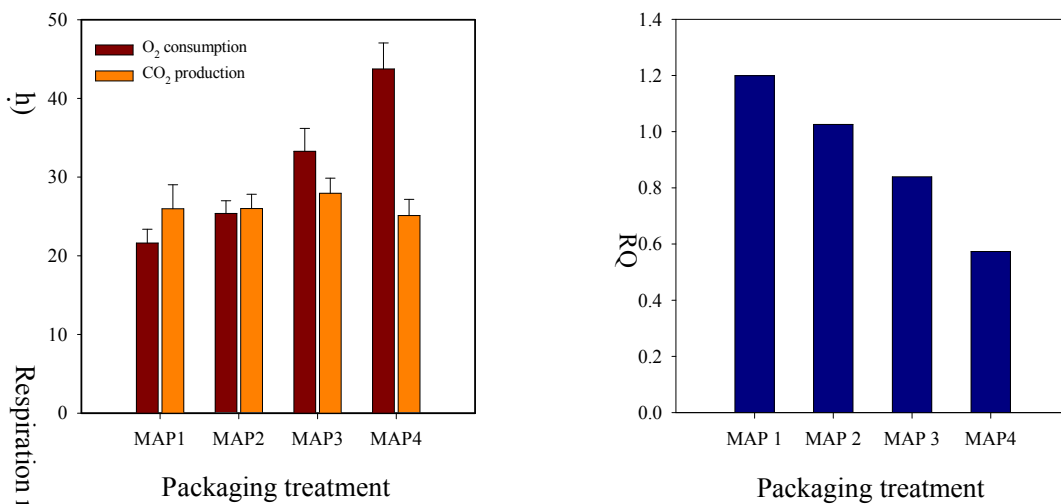


Fig. 80. Respiration rate (left) and respiratory quotient (right) of buckwheat sprout as affected by various modified atmosphere conditions at 5°C. MAP1: 20% O<sub>2</sub> + 80% N<sub>2</sub>, MAP2: 40% O<sub>2</sub> + 60% N<sub>2</sub>, MAP3: 60% O<sub>2</sub> + 40% N<sub>2</sub>, MAP4: 80% O<sub>2</sub> + 20% N<sub>2</sub>.

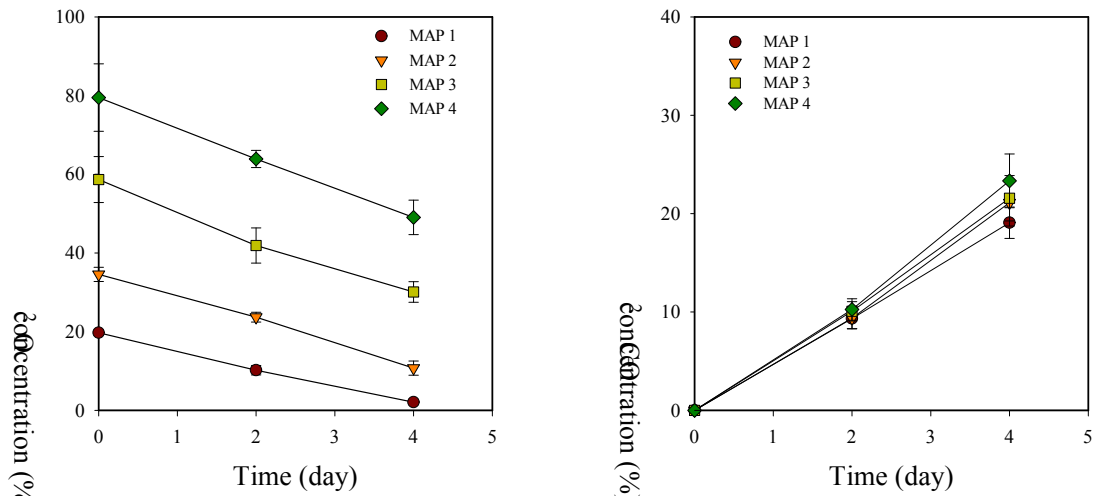


Fig. 81. Changes in oxygen (left) and carbon dioxide (right) concentrations of buckwheat sprout packages treated with various modified atmosphere conditions during storage at 5°C for 4 days. MAP1: 20% O<sub>2</sub> + 80% N<sub>2</sub>, MAP2: 40% O<sub>2</sub> + 60% N<sub>2</sub>, MAP3: 60% O<sub>2</sub> + 40% N<sub>2</sub>, MAP4: 80% O<sub>2</sub> + 20% N<sub>2</sub>.

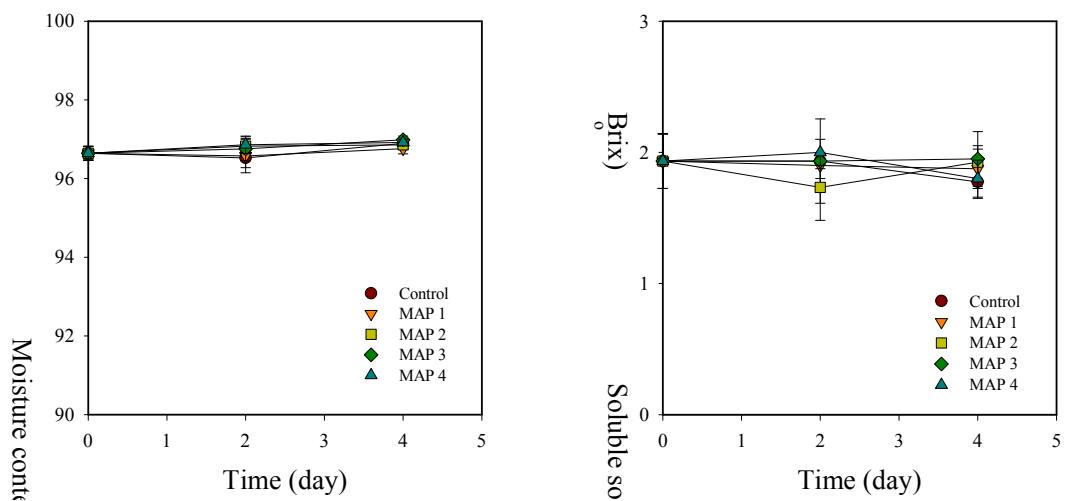


Fig. 82. Changes in moisture content (left) and soluble solids content (right) of buckwheat sprout treated with various MA packaging conditions during storage at 5°C for 4 days. Control: perforated tray, MAP1: 20% O<sub>2</sub> + 80% N<sub>2</sub>, MAP2: 40% O<sub>2</sub> + 60% N<sub>2</sub>, MAP3: 60% O<sub>2</sub> + 40% N<sub>2</sub>, MAP4: 80% O<sub>2</sub> + 20% N<sub>2</sub>.

조구 1.78±0.12°Brix, 20% O<sub>2</sub> 처리구 1.87±0.15°Brix, 40% 처리구 1.92±0.12°Brix, 60% 처리구 1.95±0.20°Brix, 80% 처리구가 1.80±0.14°Brix로 처리된 고산소 농도에 상관없이 초기 값을 거의 그대로 유지하였다(Fig. 82).

성숙기 메밀 새싹의 증온성 호기세균 생균수는 4.1±1.7×10<sup>6</sup> CFU/g이었으나, 5°C에서 4일간 저장한 후에는 대조구(통기포장) 1.7±1.8×10<sup>7</sup> CFU/g, 20% O<sub>2</sub> 처리구 3.3±2.4×10<sup>6</sup>

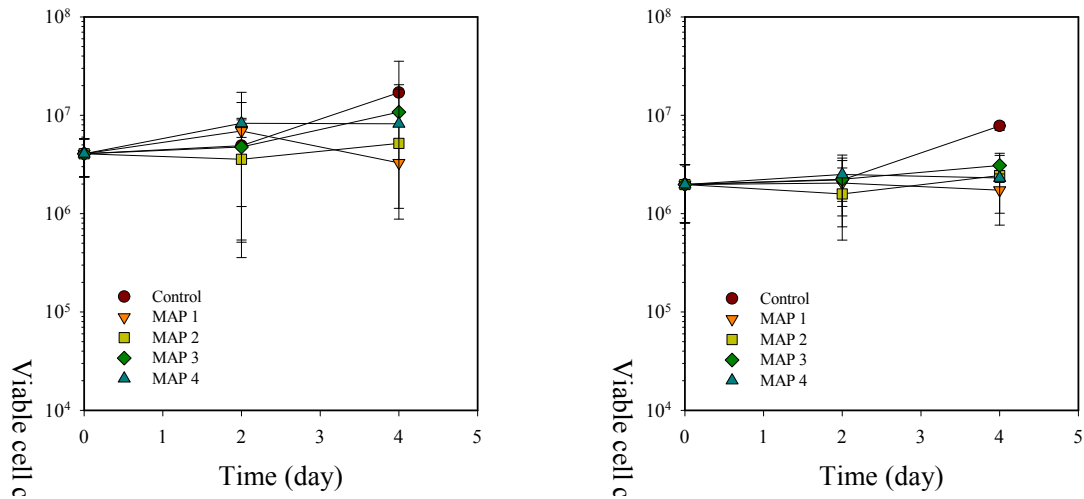


Fig. 83. Changes in mesophilic aerobes (left) and coliform bacteria (right) of buckwheat sprout treated with various MA packaging conditions during storage at 5°C for 4 days. Control: perforated tray, MAP1: 20% O<sub>2</sub> + 80% N<sub>2</sub>, MAP2: 40% O<sub>2</sub> + 60% N<sub>2</sub>, MAP3: 60% O<sub>2</sub> + 40% N<sub>2</sub>, MAP4: 80% O<sub>2</sub> + 20% N<sub>2</sub>.

CFU/g, 40% 처리구  $5.2 \pm 5.3 \times 10^6$  CFU/g, 60% 처리구  $1.1 \pm 0.9 \times 10^7$  CFU/g, 80% 처리구에서  $8.2 \pm 1.0 \times 10^6$  CFU/g를 나타내었다(Fig. 83). 대장균군의 경우, 초기  $2.0 \pm 1.2 \times 10^6$  CFU/g이었으나 4일 저장 후에는 대조구  $7.8 \pm 7.3 \times 10^6$  CFU/g, 20% O<sub>2</sub> 처리구  $1.7 \pm 0.7 \times 10^6$  CFU/g, 40% 처리구  $2.4 \pm 1.7 \times 10^6$  CFU/g, 60% 처리구  $3.1 \pm 0.8 \times 10^6$  CFU/g, 80% 처리구에서  $2.3 \pm 2.3 \times 10^6$  CFU/g를 나타내었다. 결과적으로 통기 포장한 새싹시료의 중온성 호기균수와 대장균군수는 모두 5°C에서 4일 경과 후 약 0.5 log cycle 가량 증가하였으나, MAP 포장할 경우 산소농도에 크게 상관없이 초기 균수와 비슷한 수준을 유지하였다.

고산소 농도별로 포장한 메밀 새싹의 색 변화는 적, 녹색으로 변하는 머리 부분과 갈변이 일어나는 줄기와 뿌리 부분에서 모두 확인할 수 있었다. 저장 중 메밀 새싹시료의 뿌리색은 대조구와 MAP 처리구 모두 L, b 값은 거의 변하지 않았으나 a 값이 뚜렷하게 증가하여 뿌리색의 갈변을 확인할 수 있었으며, 통기포장 대조구에 비해 MAP 밀폐 포장구에서 a 값이 다소 높게 나타났다(Fig. 84). 메밀 새싹의 줄기색은 처리구간의 차이 없이 a와 b값이 점차 증가하여 누렇게 변색이 일어나는 것을 확인할 수 있었으며, 머리 부분은 대조구가 다른 처리구에 비해 어두운 색을 나타내었다. 이러한 새싹시료의 색변화를 정량적으로 구분하고자 초기 대비 색차( $\Delta E$ )로 계산한 결과(Fig. 85), 대조구와 20%, 40%, 60%, 80% O<sub>2</sub> 처리구의 뿌리색 변화는 각각 2.75, 3.27, 3.18, 3.02, 3.56이었으며, 줄기색 변화는 2.78, 3.18, 3.30, 2.82, 2.69이었고, 머리 부분의 색 변화는 6.14, 5.10, 4.86, 5.34, 4.10으로 나타났다. 결과적으로 메밀 새싹을 다양한 고산소 조건에서 MAP 포장한 경우 표면색의 밝기를 다소 유지할 수 있었지만, 줄기와 뿌리 부분의 갈변은 억제할 수 없었



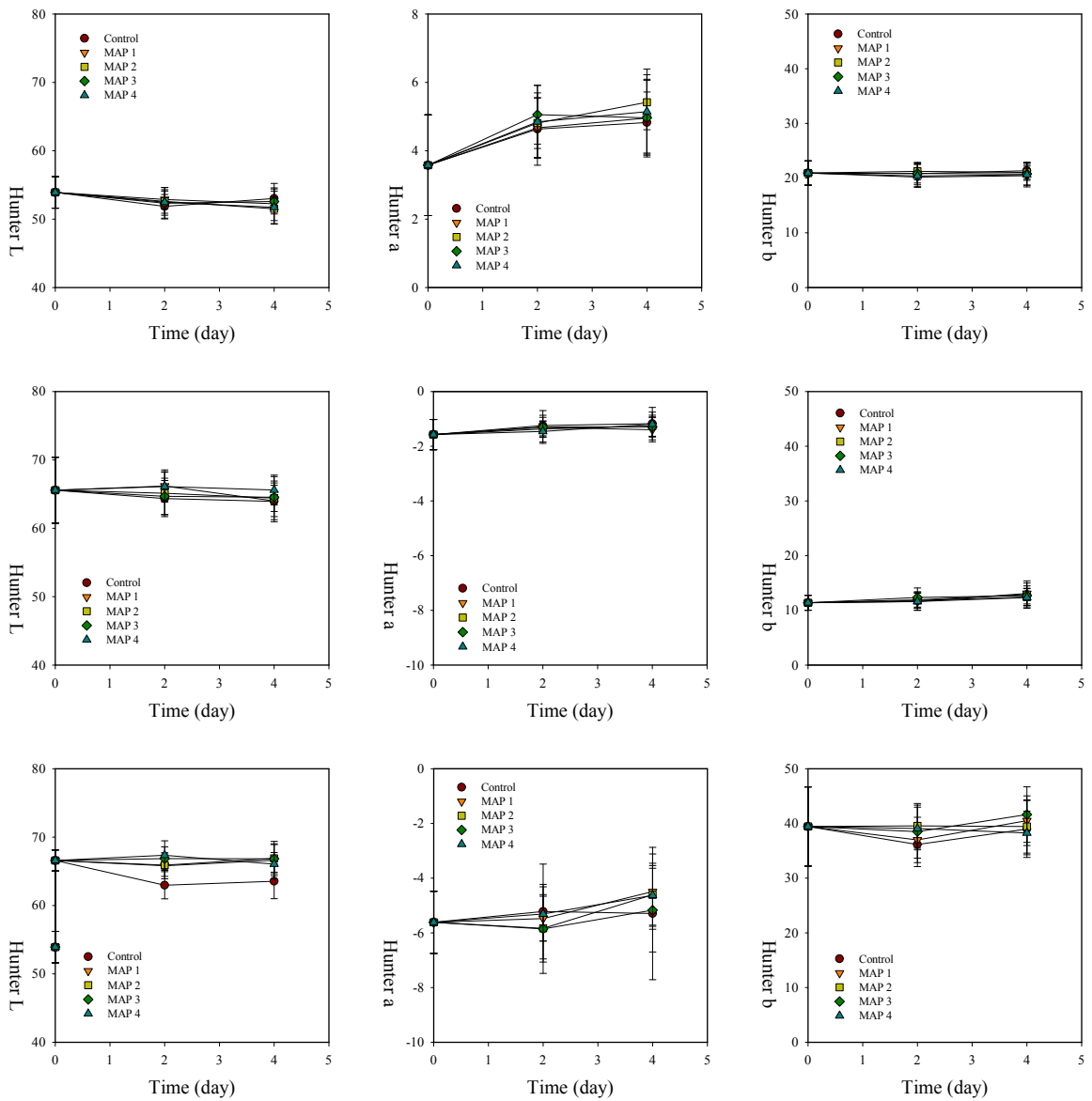


Fig. 84. Changes in Hunter L, a, and b values of buckwheat sprout (root: upper, stem: middle, and head: lower) treated with various MA packaging conditions during storage at 5°C for 4 days. Control: perforated tray, MAP1: 20% O<sub>2</sub> + 80% N<sub>2</sub>, MAP2: 40% O<sub>2</sub> + 60% N<sub>2</sub>, MAP3: 60% O<sub>2</sub> + 40% N<sub>2</sub>, MAP4: 80% O<sub>2</sub> + 20% N<sub>2</sub>.

다. 관능평가에서도 대조구보다 고산소 처리구의 외관색 변화가 적은 것을 알 수 있으며, 특히 20%와 40% O<sub>2</sub> 처리구가 가장 좋은 평가를 얻었다(Table 21 & Fig. 86).

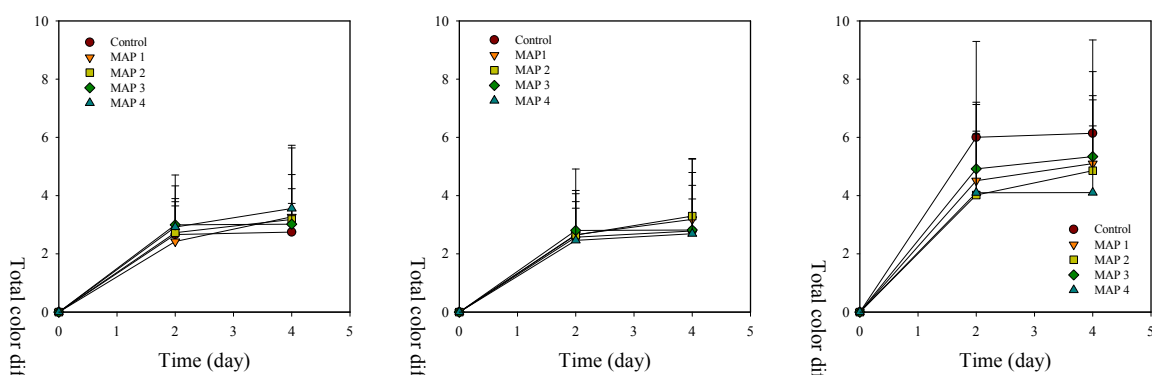


Fig. 85. Changes in total color difference ( $\Delta E$ ) of buckwheat sprout (root: left, stem: center, and head: right) treated with various MA packaging conditions during storage at 5°C for 4 days. Control: perforated tray, MAP1: 20% O<sub>2</sub> + 80% N<sub>2</sub>, MAP2: 40% O<sub>2</sub> + 60% N<sub>2</sub>, MAP3: 60% O<sub>2</sub> + 40% N<sub>2</sub>, MAP4: 80% O<sub>2</sub> + 20% N<sub>2</sub>.

Table 21. Changes in sensory characteristics<sup>1)</sup> of buckwheat sprout treated with various MA packaging conditions during storage at 5°C for 4 days

| Storage time (day) | Treatment <sup>2)</sup> | Discoloration |       |       | Wilting | Decay | Overall quality |
|--------------------|-------------------------|---------------|-------|-------|---------|-------|-----------------|
|                    |                         | head          | stem  | root  |         |       |                 |
| 2                  | Control                 | 5.3a          | 4.4b  | 4.9b  | 4.4ab   | 2.8a  | 5.3ab           |
|                    | MAP1                    | 4.2a          | 4.0b  | 4.9b  | 3.9b    | 2.7a  | 6.0a            |
|                    | MAP2                    | 4.5a          | 4.3b  | 5.7ab | 3.9b    | 2.9a  | 5.3ab           |
|                    | MAP3                    | 4.9a          | 5.5a  | 6.5a  | 5.2a    | 3.7a  | 4.6b            |
|                    | MAP4                    | 4.7a          | 4.3b  | 5.9ab | 4.9ab   | 3.5a  | 5.0ab           |
| 4                  | Control                 | 6.8a          | 6.6a  | 6.9a  | 5.4a    | 3.4a  | 3.5b            |
|                    | MAP1                    | 4.7b          | 4.4d  | 5.6bc | 5.1a    | 3.1a  | 4.9a            |
|                    | MAP2                    | 4.9b          | 4.8cd | 5.4c  | 5.3a    | 3.0a  | 4.6a            |
|                    | MAP3                    | 5.1b          | 5.4bc | 6.6ab | 5.4a    | 3.2a  | 3.5b            |
|                    | MAP4                    | 5.4b          | 5.7b  | 6.8a  | 5.4a    | 3.4a  | 3.4b            |

<sup>1)</sup> The values are means of eight replicates at least. Means followed by the same letter within cells are not significantly different ( $p < 0.05$ , Duncan's test). As the value increases from 1 to 9, the intensity of sensory characteristics increases.

<sup>2)</sup> Control: perforated tray, MAP1: 20% O<sub>2</sub> + 80% N<sub>2</sub>, MAP2: 40% O<sub>2</sub> + 60% N<sub>2</sub>, MAP3: 60% O<sub>2</sub> + 40% N<sub>2</sub>, MAP4: 80% O<sub>2</sub> + 20% N<sub>2</sub>.



Fig. 86. Appearance of buckwheat sprout treated with various MA packaging conditions during storage at 5°C for 4 days. Control: perforated tray, MAP1: 20% O<sub>2</sub> + 80% N<sub>2</sub>, MAP2: 40% O<sub>2</sub> + 60% N<sub>2</sub>, MAP3: 60% O<sub>2</sub> + 40% N<sub>2</sub>, MAP4: 80% O<sub>2</sub> + 20% N<sub>2</sub>.

고농도 산소에 이산화탄소를 혼합 처리하여 부가적인 선도유지 효과를 얻고자, 20%와 60% O<sub>2</sub>에 15% CO<sub>2</sub>를 가감하여 혼합기체를 조성하고 이를 메밀 새싹시료와 함께 충전 포장한 후 5°C에 4일간 저장하면서 품질특성을 비교 평가하였다. 먼저 새싹채소의 호흡 특성에 대한 고산소와 이산화탄소 유무의 영향을 파악하기 위하여 각각의 조건에서 호흡률을 측정된 결과(Fig. 87), 메밀 새싹의 O<sub>2</sub> 소비율은 공기 대조구에서 28.4 mL/kg/h, 20% O<sub>2</sub> + 15% CO<sub>2</sub> + 65% N<sub>2</sub> 처리구 27.5 mL/kg/h, 60% O<sub>2</sub> + 40% N<sub>2</sub> 처리구 34.8 mL/kg/h, 60% O<sub>2</sub> + 15% CO<sub>2</sub> + 25% N<sub>2</sub> 처리구에서 27.8 mL/kg/h를 나타내었고, CO<sub>2</sub> 생성율은 각각 30.9 mL/kg/h, 20.6 mL/kg/h, 27.5 mL/kg/h, 24.2 mL/kg/h로 이산화탄소가 없는 고산소 조건에서의 호흡률이 이산화탄소가 있는 고산소 조건에서 유의적으로 더 높았다. 한편 호흡지수는 대조구에서 1.09로 정상적인 호기호흡이 유지된 반면, 20% O<sub>2</sub> + 15% CO<sub>2</sub> + 65% N<sub>2</sub> 처리구에서 0.75, 60% O<sub>2</sub> + 40% N<sub>2</sub> 처리구에서 0.79, 60% O<sub>2</sub> + 15% CO<sub>2</sub> + 25% N<sub>2</sub> 처리구에서 0.87을 나타내어 고농도 이산화탄소에 의한 호흡억제가 고산소 조건에서는 CO<sub>2</sub> 생성보다 O<sub>2</sub> 소비반응에 다소 더 강하게 작용하는 것을 알 수 있다(Fig. 87). 저장 중 MAP 밀폐포장 내부의 기체조성 변화를 살펴본 결과(Fig. 88), 일반 대기수준의 산소 조건에서는 고농도 이산화탄소 유무에 상관없이 20% O<sub>2</sub> 농도가 4일후 1-3%로 감소하였으나, 60% 고산소 조건에서는 이산화탄소에 의해 새싹시료의 산소 소모가 다소 저해되어 5-6% 정도의 최종 산소농도 차이를 나타내었다. 이에 반해 최종 CO<sub>2</sub> 농도는 초기 산소 조건에 따라 각각 19-20%, 26-27%로 증가하여 이산화탄소 유무의 영향을 거의 받지 않았다. 이러한 포장내 기체조성 변화는 앞서 호흡률 결과에서 살펴본 바와 같이 고산소 조건에서 이산화탄소의 호흡억제 효과가 메밀 새싹의 CO<sub>2</sub> 발생 자체보다는 O<sub>2</sub> 소비를 더 저해하는 형태로 나타났다고 판단된다.

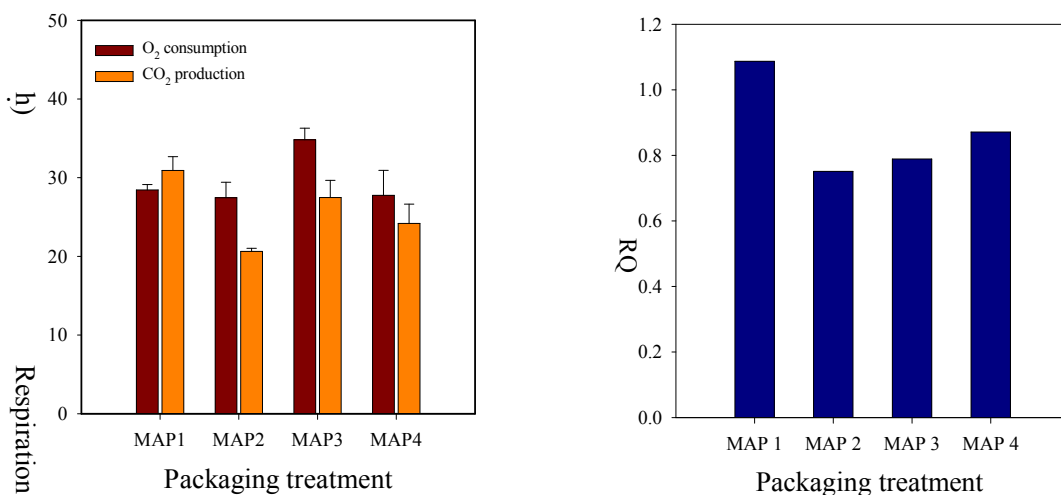


Fig. 87. Respiration rate (left) and respiratory quotient (right) of buckweat sprout as affected by various MA conditions at 5°C. MAP1: 20% O<sub>2</sub> + 80% N<sub>2</sub>, MAP2: 20% O<sub>2</sub> + 15% CO<sub>2</sub> + 65% N<sub>2</sub>, MAP3: 60% O<sub>2</sub> + 40% N<sub>2</sub>, MAP4: 60% O<sub>2</sub> + 15% CO<sub>2</sub> + 25% N<sub>2</sub>.

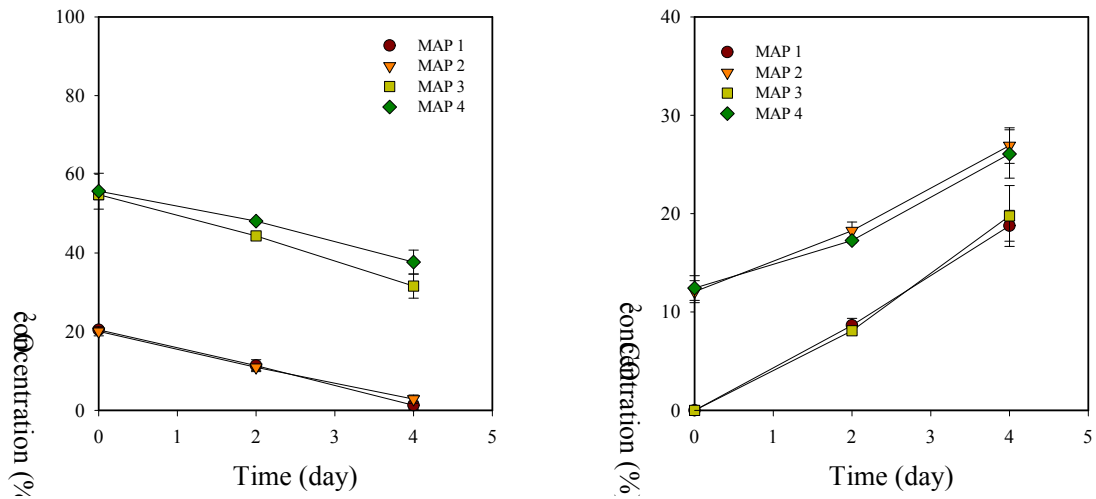


Fig. 88. Changes in oxygen (left) and carbon dioxide (right) concentrations of buckwheat sprout packages treated with various MA conditions during storage at 5°C for 4 days. MAP1: 20% O<sub>2</sub> + 80% N<sub>2</sub>, MAP2: 20% O<sub>2</sub> + 15% CO<sub>2</sub> + 65% N<sub>2</sub>, MAP3: 60% O<sub>2</sub> + 40% N<sub>2</sub>, MAP4: 60% O<sub>2</sub> + 15% CO<sub>2</sub> + 25% N<sub>2</sub>.

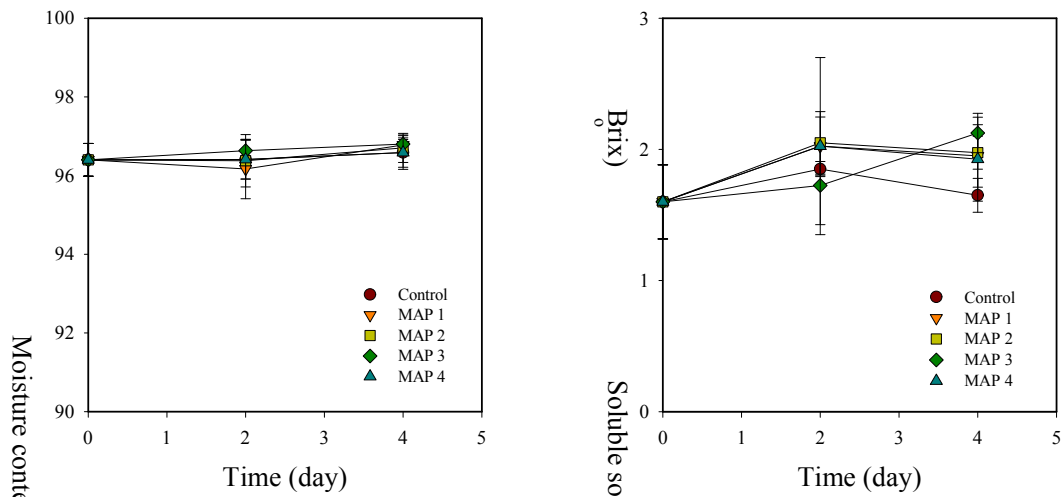


Fig. 89. Changes in moisture content (left) and soluble solids content (right) of buckwheat sprout treated with various MA packaging conditions during storage at 5°C for 4 days. Control: perforated tray, MAP1: 20% O<sub>2</sub> + 80% N<sub>2</sub>, MAP2: 20% O<sub>2</sub> + 15% CO<sub>2</sub> + 65% N<sub>2</sub>, MAP3: 60% O<sub>2</sub> + 40% N<sub>2</sub>, MAP4: 60% O<sub>2</sub> + 15% CO<sub>2</sub> + 25% N<sub>2</sub>.

새싹시료의 품질변화 측면에서 수분함량은 초기 96.4±0.4%에서 4일후에도 포장처리구에 상관없이 96.5-96.8% 수준을 유지하여 전혀 변화가 없었다(Fig. 89). 가용성 고형분함량의 경우 초기 1.6±0.3°Brix이던 것이 4일 저장 후에는 대조구 1.7±0.1°Brix, 20% O<sub>2</sub> + 80% N<sub>2</sub> 처리구 1.9±0.2°Brix, 20% O<sub>2</sub> + 15% CO<sub>2</sub> + 65% N<sub>2</sub> 처리구 2.0±0.1°Brix, 60% O<sub>2</sub> + 40% N<sub>2</sub> 처리구 2.1±0.2°Brix, 60% O<sub>2</sub> + 15% CO<sub>2</sub> + 25% N<sub>2</sub> 처리구 1.9±0.3°Brix로 대조구를 제외한 MAP 처리구에서 약간 증가하는 경향이었으나 처리구간의 유의적인 차이는 없

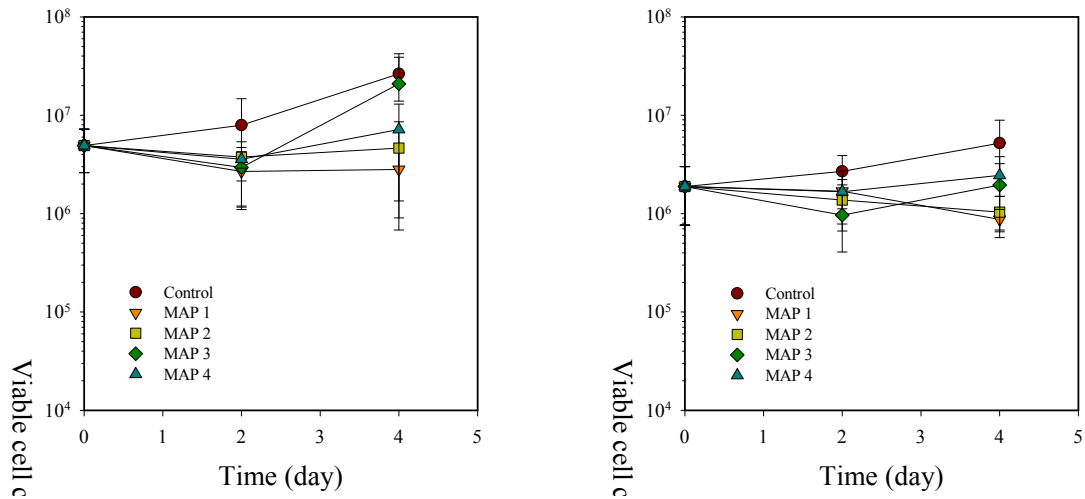


Fig. 90. Changes in mesophilic aerobes (left) and coliform bacteria (right) of buckwheat sprout treated with various MA packaging conditions during storage at 5°C for 4 days. Control: perforated tray, MAP1: 20% O<sub>2</sub> + 80% N<sub>2</sub>, MAP2: 20% O<sub>2</sub> + 15% CO<sub>2</sub> + 65% N<sub>2</sub>, MAP3: 60% O<sub>2</sub> + 40% N<sub>2</sub>, MAP4: 60% O<sub>2</sub> + 15% CO<sub>2</sub> + 25% N<sub>2</sub>.

었다(Fig. 89).

신선한 메밀 새싹의 호기성 미생물 생균수는  $4.9 \pm 2.3 \times 10^6$  CFU/g이었으며, 저온에서 4일 후 통기포장 대조구는  $2.6 \pm 1.2 \times 10^7$  CFU/g, 20% O<sub>2</sub> + 80% N<sub>2</sub> 처리구는  $2.8 \pm 1.9 \times 10^6$  CFU/g, 20% O<sub>2</sub> + 15% CO<sub>2</sub> + 65% N<sub>2</sub> 처리구는  $4.6 \pm 4.0 \times 10^6$  CFU/g, 60% O<sub>2</sub> + 40% N<sub>2</sub> 처리구는  $2.1 \pm 2.1 \times 10^7$  CFU/g, 60% O<sub>2</sub> + 15% CO<sub>2</sub> + 25% N<sub>2</sub> 처리구는  $7.2 \pm 5.8 \times 10^6$  CFU/g를 나타내었다(Fig. 90). 대장균군의 경우에도 초기  $1.9 \pm 1.1 \times 10^6$  CFU/g이었으나, 4일 후 대조구에서  $5.2 \pm 3.7 \times 10^6$  CFU/g, 20% O<sub>2</sub> + 80% N<sub>2</sub> 처리구에서  $8.7 \pm 2.2 \times 10^5$  CFU/g, 20% O<sub>2</sub> + 15% CO<sub>2</sub> + 65% N<sub>2</sub> 처리구에서  $1.0 \pm 0.5 \times 10^6$  CFU/g, 60% O<sub>2</sub> + 40% N<sub>2</sub> 처리구에서  $2.0 \pm 1.3 \times 10^6$  CFU/g, 60% O<sub>2</sub> + 15% CO<sub>2</sub> + 25% N<sub>2</sub> 처리구에서  $2.5 \pm 1.3 \times 10^6$  CFU/g를 나타내었다(Fig. 90). 결과적으로 대조구의 중온성균과 대장균군은 5°C에서 4일 동안 0.5 log cycle 정도 증식하였으나, 전반적으로 MAP 처리구에서는 미생물 증식이 상당부분 억제되는 것을 확인할 수 있었다.

고산소와 이산화탄소 조성의 MAP로 포장한 메밀 새싹의 색 변화를 머리, 줄기, 뿌리로 구분하여 살펴본 결과(Fig. 91), 저장 중 새싹시료의 뿌리는 모든 처리구에서 L과 b 값이 저하되었고 a 값이 분명하게 증가되어 갈변이 심하게 일어나는 것을 확인할 수 있었다. 처리구별로는 유의적이지 않으나 이산화탄소 유무에 상관없이 고산소 처리구(60% O<sub>2</sub> + 40% N<sub>2</sub>와 60% O<sub>2</sub> + 15% CO<sub>2</sub> + 25% N<sub>2</sub>)의 뿌리 부분 색변화가 상대적으로 크게 나타났다. 모든 처리구의 줄기 부분은 L 값이 감소하고 a와 b 값은 증가하여 누렇게 변색되는 양상을 보였다. 메밀 새싹의 머리 부분은 통기포장한 대조구에서 다른 처리구에 비해 어

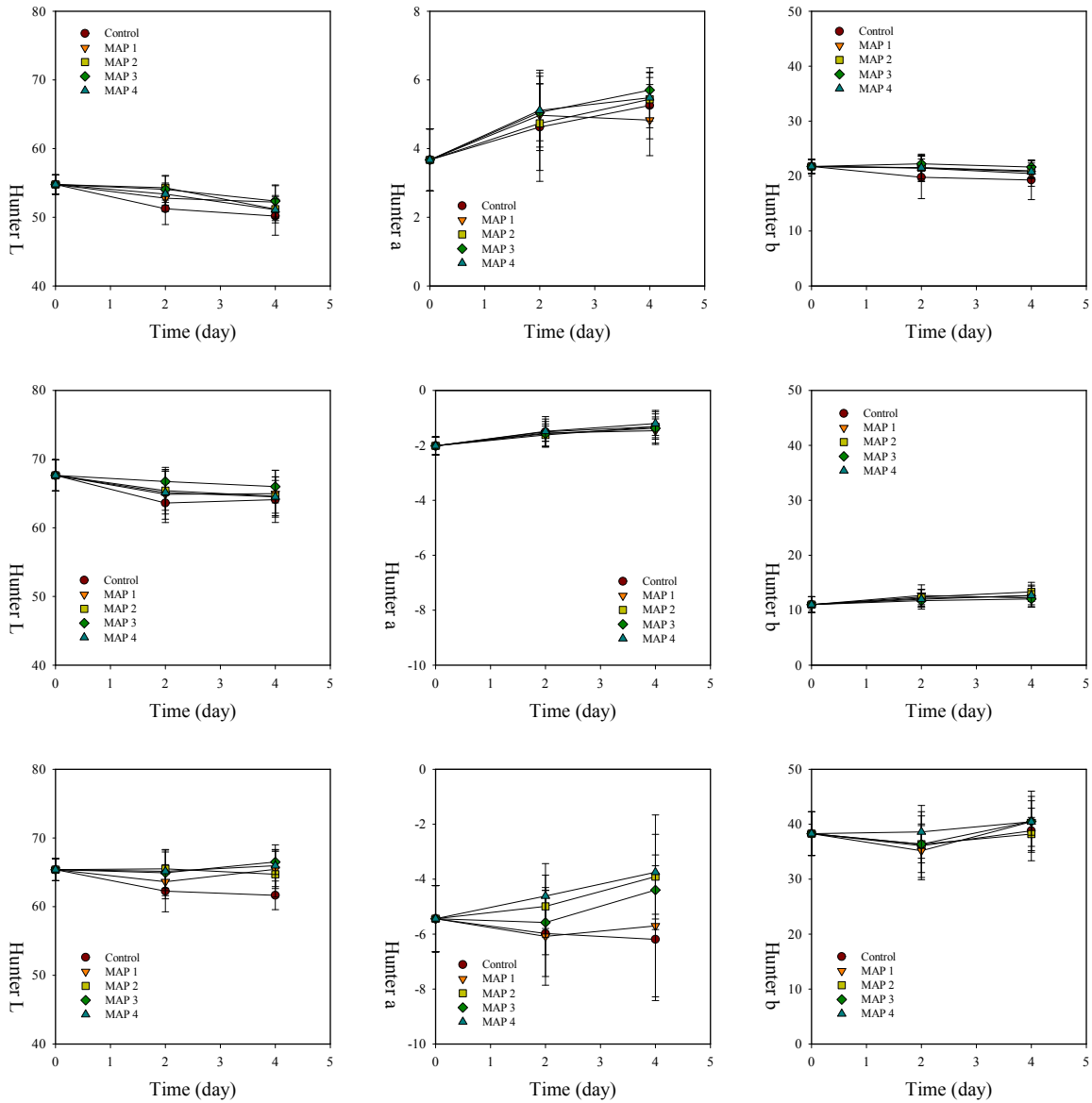


Fig. 91. Changes in Hunter L, a, and b values of buckwheat sprout (root: upper, stem: middle, and head: lower) treated with various MA packaging conditions during storage at 5°C for 4 days. Control: perforated tray, MAP1: 20% O<sub>2</sub> + 80% N<sub>2</sub>, MAP2: 20% O<sub>2</sub> + 15% CO<sub>2</sub> + 65% N<sub>2</sub>, MAP3: 60% O<sub>2</sub> + 40% N<sub>2</sub>, MAP4: 60% O<sub>2</sub> + 15% CO<sub>2</sub> + 25% N<sub>2</sub>.

두운 녹색을 띠는 반면 고산소 처리구(60% O<sub>2</sub> + 15% CO<sub>2</sub> + 25% N<sub>2</sub>, 60% O<sub>2</sub> + 40% N<sub>2</sub>)에서는 오히려 푸른색이 열어졌다. 색변화 측면에서는 여러 포장처리구 가운데 20% O<sub>2</sub> + 80% N<sub>2</sub> 처리구가 초기 상태를 비교적 잘 유지하였다. 이러한 색변화를 개별시료의 초기 대비 색차(ΔE)로 확인한 결과(Fig. 92), 대조구와 20% O<sub>2</sub> + 80% N<sub>2</sub>, 20% O<sub>2</sub> + 15% CO<sub>2</sub> + 65% N<sub>2</sub>, 60% O<sub>2</sub> + 40% N<sub>2</sub>, 60% O<sub>2</sub> + 15% CO<sub>2</sub> + 25% N<sub>2</sub> 처리구의 뿌리색 변화는 각각 6.25, 4.30, 4.42, 3.70, 4.49이었으며, 줄기색 변화는 4.98, 4.35, 4.51, 2.74, 4.24이었고,

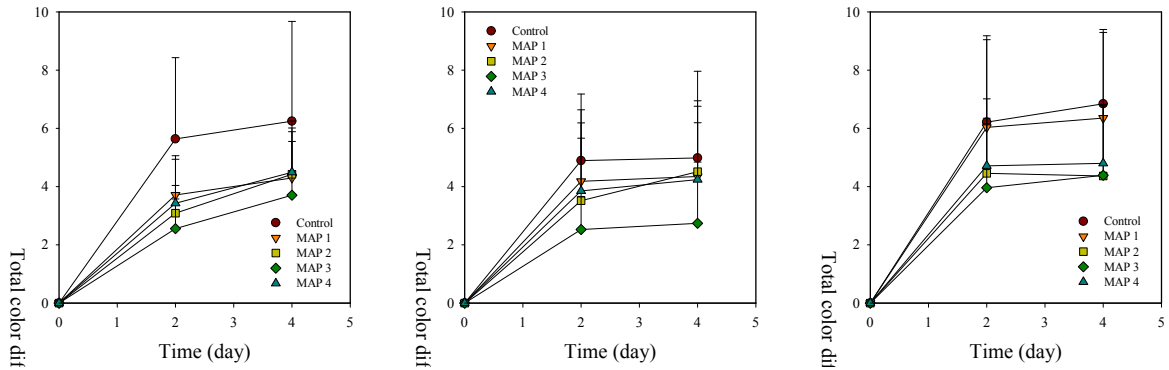


Fig. 92. Changes in total color difference ( $\Delta E$ ) of buckwheat sprout (root: left, stem: center, and head: right) treated with various MA packaging conditions during storage at 5°C for 4 days. Control: perforated tray, MAP1: 20% O<sub>2</sub> + 80% N<sub>2</sub>, MAP2: 20% O<sub>2</sub> + 15% CO<sub>2</sub> + 65% N<sub>2</sub>, MAP3: 60% O<sub>2</sub> + 40% N<sub>2</sub>, MAP4: 60% O<sub>2</sub> + 15% CO<sub>2</sub> + 25% N<sub>2</sub>.

머리 부분의 색변화는 6.84, 6.35, 4.37, 4.39, 4.80로서 모든 부위에서 60% O<sub>2</sub> + 40% N<sub>2</sub> 고산소 처리구의 색차 값이 가장 작은 것을 확인할 수 있었다. 결과적으로 MAP 밀폐 포장된 메밀 새싹의 외관은 줄기와 뿌리 부분의 갈변 현상을 피할 수 없었지만, 일반 통기 포장에 비해 변화 정도가 적었다(Fig. 93). 처리조건 가운데서는 고산소 보다 대기 수준의 산소농도가 이산화탄소 유무에 관계없이 메밀 새싹의 외관 유지에 효과적임을 알 수 있었다. 또한 관능적 외관평가에서도 변색, 시늉과 부패 항목에서 낮은 점수를 얻은 20% O<sub>2</sub> + 80% N<sub>2</sub>와 20% O<sub>2</sub> + 15% CO<sub>2</sub> + 65% N<sub>2</sub> 처리가 상대적으로 우수하게 평가되었으나(Table 22), 밀폐용기를 개봉할 때 고산소 처리구에서는 이취가 발생되지 않았지만 고이산화탄소 처리구에서는 이취가 발생하는 문제점이 있다.

결론적으로 고산소와 이산화탄소의 혼합조성보다는 60% 이하의 고산소 단독조성이 저온유통 메밀 새싹의 품질유지에 더 효과적이었으며, 이러한 결과를 토대로 20% O<sub>2</sub> + 80% N<sub>2</sub>, 40% O<sub>2</sub> + 60% N<sub>2</sub>, 60% O<sub>2</sub> + 40% N<sub>2</sub>를 병원미생물 안전성 평가 확인 및 온도 감응 포장재 적용실험의 MAP 조건으로 활용하였다.

한편 능동형 MAP 처리에 따른 새싹채소의 유통 중 미생물 안전성을 평가하고자 4종의 병원성 미생물(*E. coli* O157:H7, *S. Typhimurium*, *S. aureus*, *L. monocytogenes*)이 미리 접종된 메밀 새싹시료를 상기의 20% O<sub>2</sub> + 80% N<sub>2</sub>, 40% O<sub>2</sub> + 60% N<sub>2</sub>, 60% O<sub>2</sub> + 40% N<sub>2</sub>, 60% O<sub>2</sub> + 15% CO<sub>2</sub> + 25% N<sub>2</sub>의 기체조건으로 밀봉충진 포장하고, 5°C에서 4일간 저장하면서 포장용기 내부의 기체조성과 새싹시료의 품질, 접종된 병원균의 생균수를 측정하였다. 먼저 메밀 새싹 원료 자체의 미생물 오염정도는 호기성 총균수 기준으로 4.1-4.9×10<sup>6</sup> CFU/g 수준이었으며, 미생물 균종별로 초기 접종량은 대략 7.7×10<sup>5</sup>-3.2×10<sup>6</sup> CFU/g로 균일하게 조절하였다(Fig. 94).





Fig. 93. Appearance of buckwheat sprout treated with various MA packaging conditions during storage at 5°C for 4 days. Control: perforated tray, MAP1: 20% O<sub>2</sub> + 80% N<sub>2</sub>, MAP2: 20% O<sub>2</sub> + 15% CO<sub>2</sub> + 65% N<sub>2</sub>, MAP3: 60% O<sub>2</sub> + 40% N<sub>2</sub>, MAP4: 60% O<sub>2</sub> + 15% CO<sub>2</sub> + 25% N<sub>2</sub>.

Table 22. Changes in sensory characteristics<sup>1)</sup> of buckwheat sprout treated with various MA packaging conditions during storage at 5°C for 4 days

| Storage time (day) | Treatment <sup>2)</sup> | Discoloration |       |       | Wilting | Decay | Overall quality |
|--------------------|-------------------------|---------------|-------|-------|---------|-------|-----------------|
|                    |                         | head          | stem  | root  |         |       |                 |
| 2                  | Control                 | 5.8a          | 5.4a  | 6.5a  | 4.8a    | 3.6a  | 3.9b            |
|                    | MAP1                    | 4.5a          | 4.6a  | 5.2a  | 3.8a    | 2.9a  | 5.3a            |
|                    | MAP2                    | 4.8a          | 4.4a  | 5.4a  | 4.2a    | 3.1a  | 4.8ab           |
|                    | MAP3                    | 5.2a          | 5.0a  | 6.6a  | 5.0a    | 3.3a  | 5.1ab           |
|                    | MAP4                    | 4.9a          | 4.6a  | 6.4a  | 4.8a    | 3.6a  | 5.1ab           |
| 4                  | Control                 | 7.8a          | 7.1a  | 7.6a  | 5.9a    | 3.7a  | 2.5b            |
|                    | MAP1                    | 5.7b          | 5.0c  | 6.3b  | 4.9a    | 3.3a  | 4.5a            |
|                    | MAP2                    | 6.1b          | 5.3c  | 6.2b  | 5.5a    | 3.2a  | 4.1a            |
|                    | MAP3                    | 6.0b          | 5.9bc | 7.2ab | 5.6a    | 3.5a  | 3.3ab           |
|                    | MAP4                    | 5.8b          | 6.7ab | 7.8a  | 6.2a    | 4.2a  | 2.7b            |

<sup>1)</sup> The values are means of eight replicates at least. Means followed by the same letter within cells are not significantly different ( $p < 0.05$ , Duncan's test). As the value increases from 1 to 9, the intensity of sensory characteristics increases.

<sup>2)</sup> Control: perforated tray, MAP1: 20% O<sub>2</sub> + 80% N<sub>2</sub>, MAP2: 20% O<sub>2</sub> + 15% CO<sub>2</sub> + 65% N<sub>2</sub>, MAP3: 60% O<sub>2</sub> + 40% N<sub>2</sub>, MAP4: 60% O<sub>2</sub> + 15% CO<sub>2</sub> + 25% N<sub>2</sub>.

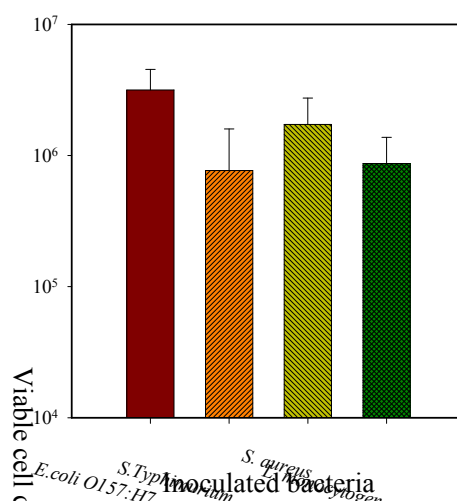


Fig. 94. Initial viable cell counts of respective pathogen bacteria inoculated on buckwheat sprout prior to various MA packaging treatments.

MAP 포장처리구의 저장 중 내부기체 조성변화를 살펴보면, 새싹시료의 호흡작용으로 인해 20% O<sub>2</sub> + 80% N<sub>2</sub>, 40% O<sub>2</sub> + 60% N<sub>2</sub>, 60% O<sub>2</sub> + 40% N<sub>2</sub>, 60% O<sub>2</sub> + 15% CO<sub>2</sub> + 25% N<sub>2</sub> 처리의 초기 O<sub>2</sub> 농도는 4일후 각각 3%, 16%, 38%, 43% 수준으로 감소하였고 CO<sub>2</sub> 농도는 16%, 17%, 19%, 24% 수준으로 증가하였다(Fig. 95). 이는 앞서의 연구결과와

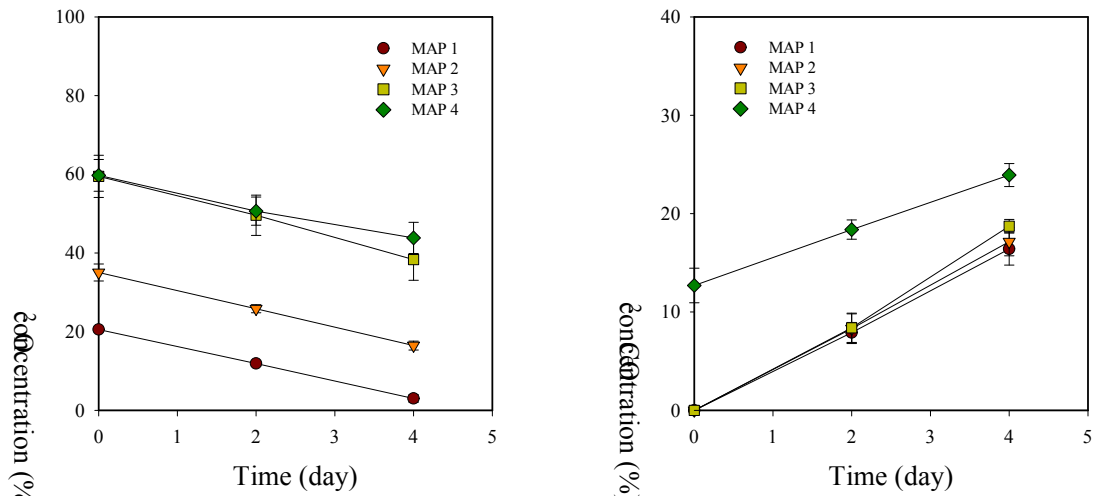


Fig. 95. Changes in gas composition (oxygen: left and carbon dioxide: right) within the MA packages of buckwheat sprout inoculated with pathogen bacteria during storage at 5°C for 4 days. MAP1: 20% O<sub>2</sub> + 80% N<sub>2</sub>, MAP2: 40% O<sub>2</sub> + 60% N<sub>2</sub>, MAP3: 60% O<sub>2</sub> + 40% N<sub>2</sub>, MAP4: 60% O<sub>2</sub> + 15% CO<sub>2</sub> + 25% N<sub>2</sub>.

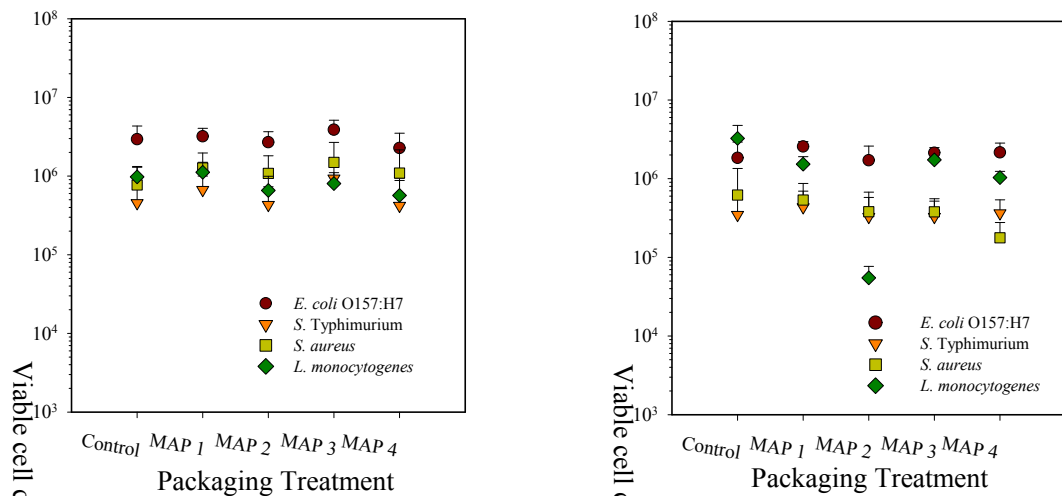


Fig. 96. Effect of MA packaging treatments on pathogen bacteria inoculated on buckwheat sprout after storage of 2 days (left) and 4 days (right) at 5°C. Control: perforated tray, MAP1: 20% O<sub>2</sub> + 80% N<sub>2</sub>, MAP2: 40% O<sub>2</sub> + 60% N<sub>2</sub>, MAP3: 60% O<sub>2</sub> + 40% N<sub>2</sub>, MAP4: 60% O<sub>2</sub> + 15% CO<sub>2</sub> + 25% N<sub>2</sub>.

매우 유사하였으며, 접종된 병원성 미생물의 대사작용이 포장내부 기체조성에 전혀 영향을 미치지 않은 것으로 판단된다.

메밀 새싹시료에 접종된 4종의 병원균 생균수는 저장기간 중 거의 변화 없었고 포장처리구별로도 유의적인 차이를 나타내지 않았다(Fig. 96). 시험균주 가운데 *E. coli* O157:H7의 경우 초기  $3.2 \pm 1.4 \times 10^6$  CFU/g의 생균수가 4일 동안 MAP 포장처리구간의 차이 없이  $1.7-2.6 \times 10^6$  CFU/g 수준으로 유지되었고, *S. Typhimurium*도 초기  $7.7 \pm 0.8 \times 10^5$  CFU/g에서 저

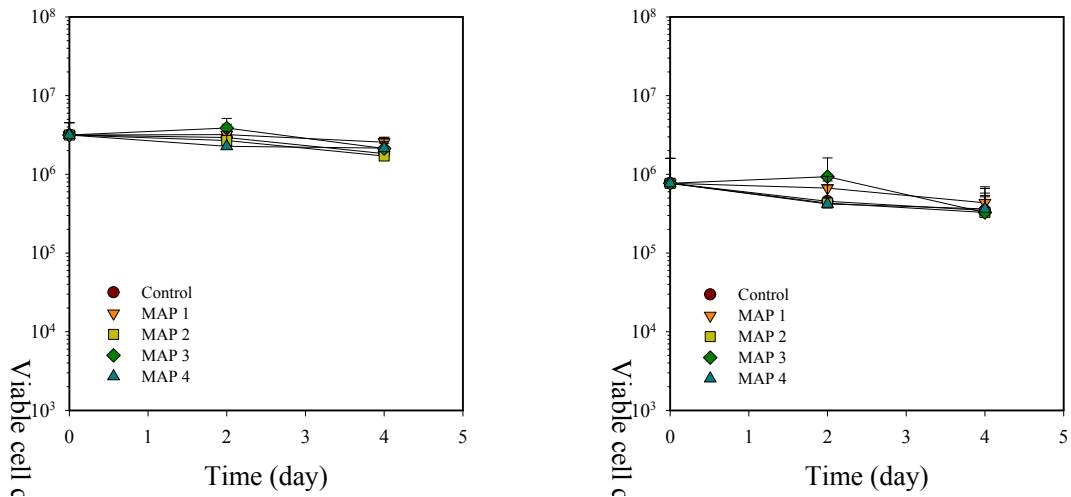


Fig. 97. Changes in viable cell counts of *E. coli* O157:H7 (left) and *S. Typhimurium* (right) of buckwheat sprout treated with various MA packaging conditions during storage at 5°C for 4 days. Control: perforated tray, MAP1: 20% O<sub>2</sub> + 80% N<sub>2</sub>, MAP2: 40% O<sub>2</sub> + 60% N<sub>2</sub>, MAP3: 60% O<sub>2</sub> + 40% N<sub>2</sub>, MAP4: 60% O<sub>2</sub> + 15% CO<sub>2</sub> + 25% N<sub>2</sub>.

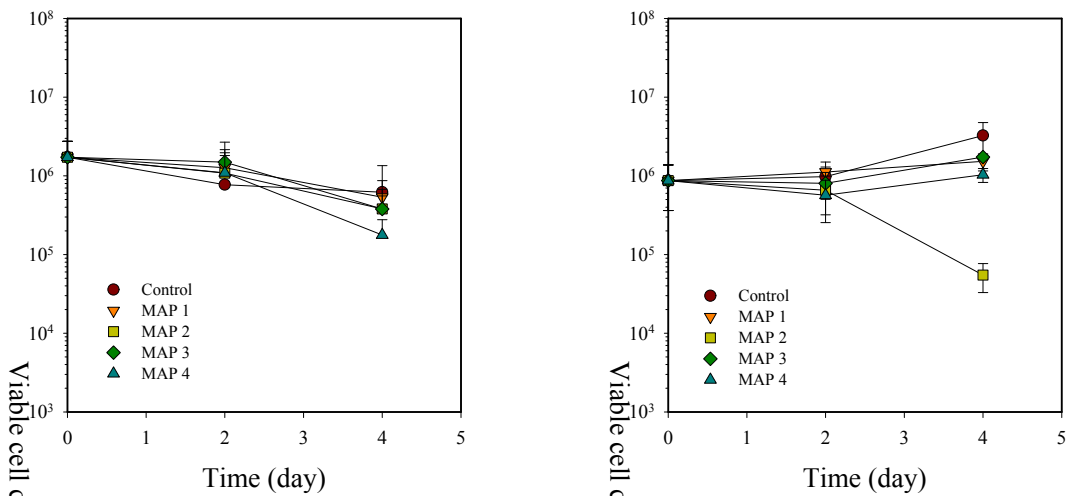


Fig. 98. Changes in viable cell counts of *S. aureus* cell count (left) and *L. monocytogenes* (right) of buckwheat sprout treated with various MA packaging conditions during storage at 5°C for 4 days. Control: perforated tray, MAP1: 20% O<sub>2</sub> + 80% N<sub>2</sub>, MAP2: 40% O<sub>2</sub> + 60% N<sub>2</sub>, MAP3: 60% O<sub>2</sub> + 40% N<sub>2</sub>, MAP4: 60% O<sub>2</sub> + 15% CO<sub>2</sub> + 25% N<sub>2</sub>.

장 4일후 3.3-4.4×10<sup>5</sup> CFU/g 수준으로 생균수가 거의 그대로 유지되었다(Fig. 97). 다만 *S. aureus* 균주에서는 저장 중 약간의 생균수 감소가 발견되었는데, 산소농도가 높고 이산화탄소와 혼합 적용한 경우 대조구에 비해 0.5 log cycle 정도 생균수가 낮았다(Fig. 98). *L. monocytogenes*의 경우 분쇄된 새싹시료의 항균활성물질에 의해 접종 미생물이 생육하지 않았기 때문에 메밀 새싹시료를 분쇄하지 않고 시료표면을 희석수로 닦아내는 방법으로 생균수를 다시 측정하였다. 그 결과 *L. monocytogenes*의 생균수는 다른 시험균주들과 달리

초기  $8.7 \pm 5.1 \times 10^5$  CFU/g에서 4일후  $1.0-3.3 \times 10^6$  CFU/g 수준으로 다소 증가하였다(Fig. 98). 결과적으로 메밀 새싹의 품질유지에 비교적 긍정적인 효과를 나타냈던 고산소 MAP 처리 조건으로는 기대하였던 병원균의 감균 효과를 충분히 볼 수 없었다.

### 11. 새싹채소에 대한 온도감응/능동형 MAP 병용처리 효과 분석

단기유통 중 저온유지에 매우 효과적인 온도감응 기능성 포장재로서 유연성 보냉재와 새싹채소의 품질유지에 유리한 능동형 MAP를 병용 처리함으로써 새싹채소의 신선도 유지 효과를 최대화하고자, 메밀 새싹을 여러 가지 고산소 MAP 조건으로 충전 포장하고 밀봉된 용기를 유연성 SAP 보냉재와 함께 EPS 단열상자에 담은 다음 상품의 배송을 가정한 평균 25°C 내외의 외부 환경에서 약 하루 동안 보관하면서 포장구내의 온도 변화 및 메밀 새싹시료의 품질변화를 측정하였다(Fig. 99).

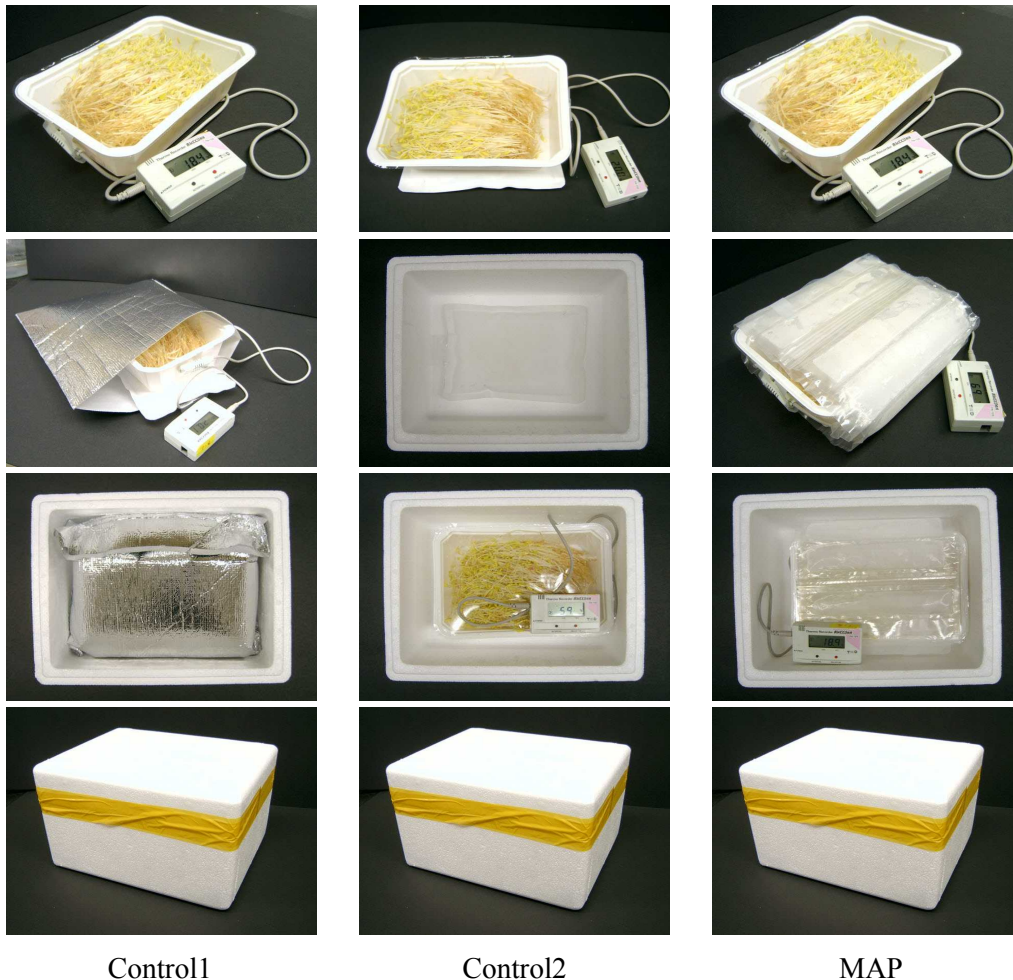


Fig. 99. Packing flowchart of buckwheat sprout treated with various MA packaging conditions and refrigerants (a typical block refrigerant: left & center, and flexible SAP: right) in EPS boxes for storage at ambient temperature for 19 h.

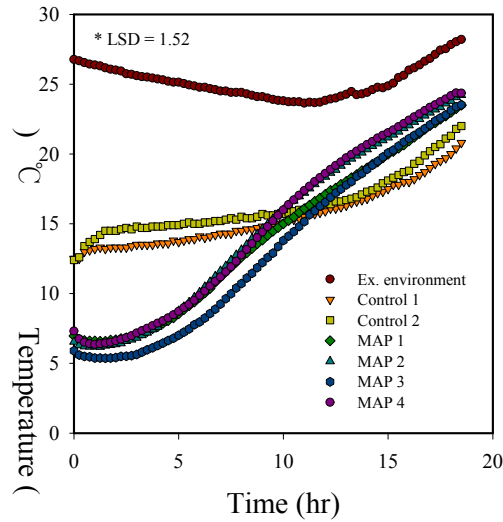


Fig. 100. Temperature profiles of the outside of buckwheat sprout tray treated with various MA packaging conditions and refrigerants in EPS boxes during storage at ambient temperature for 19 h. Control1: perforated tray with an ice pack (a typical block refrigerant) and insulation bag (aluminum barrier), Control2: perforated tray with an ice pack, MAP1: 20% O<sub>2</sub> + 80% N<sub>2</sub> with SAP, MAP2: 40% O<sub>2</sub> + 60% N<sub>2</sub> with SAP, MAP3: 60% O<sub>2</sub> + 40% N<sub>2</sub> with SAP, MAP4: 60% O<sub>2</sub> + 15% CO<sub>2</sub> + 25% N<sub>2</sub> with SAP.

MAP와 SAP 보냉재로 포장한 후 외부 환경에서 보관한 새싹채소 용기의 내부 온도변화를 측정된 결과(Fig. 100), SAP처리 포장용기의 초기 내부온도는 평균  $6.2 \pm 0.95^\circ\text{C}$ 이었으며 약 3시간 동안 초기 온도를 유지하였다. 그러나 평균  $25^\circ\text{C}$ 의 외기 환경에서 19시간 보관하는 동안 용기의 내부 온도는 서서히 상승하여 11시간 이후에는 일반 얼음팩 포장구의 내부 온도인  $14\text{--}15^\circ\text{C}$ 보다 더 높아지기 시작하였으며 19시간째에는 외기 온도에 점차 근접하여  $23\text{--}24^\circ\text{C}$ 까지 상승하였다. 반면에 대조구로 사용된 일반 얼음팩 포장용기의 초기 내부온도는  $13\text{--}14^\circ\text{C}$ 이었지만 10시간 동안 약  $1^\circ\text{C}$ 의 온도 상승이 있었으며 이후에도 완만하게 상승하여 외기 온도에 근접하였다. 대조구에서도 은박 단열재로 포장한 것과 포장하지 않은 처리구의 내부온도 차이는 약  $1^\circ\text{C}$ 이었으며 단열재 포장처리구의 온도가 더 낮게 유지되었다. 결과적으로 일반 얼음팩 보다 더 낮은 초기 온도를 유지할 수 있는 유연성 SAP 보냉재의 경우,  $15^\circ\text{C}$  이하 저온 유지시간은 10-12시간 이내였으며 이후 시간대에서는 일반 보냉재보다 다소 먼저 온도가 상승함으로 인하여 내용물인 새싹채소의 품질관리에 유리하지 않을 수도 있음을 시사하였다.

다양한 고산소 조건에서 메밀 새싹의 호흡률을 측정된 결과(Fig. 101), O<sub>2</sub> 소비율은 공기 대조구에서  $21.0 \text{ mL/kg h}$ , 40% O<sub>2</sub> + 60% N<sub>2</sub> 처리구  $25.7 \text{ mL/kg h}$ , 60% O<sub>2</sub> + 40% N<sub>2</sub> 처리구  $31.1 \text{ mL/kg h}$ , 60% O<sub>2</sub> + 15% CO<sub>2</sub> + 25% N<sub>2</sub> 처리구에서  $28.2 \text{ mL/kg h}$ 를 나타내었고, CO<sub>2</sub> 생성율은 각각  $22.6 \text{ mL/kg h}$ ,  $23.6 \text{ mL/kg h}$ ,  $25.8 \text{ mL/kg h}$ ,  $25.0 \text{ mL/kg h}$ 로서 산소농

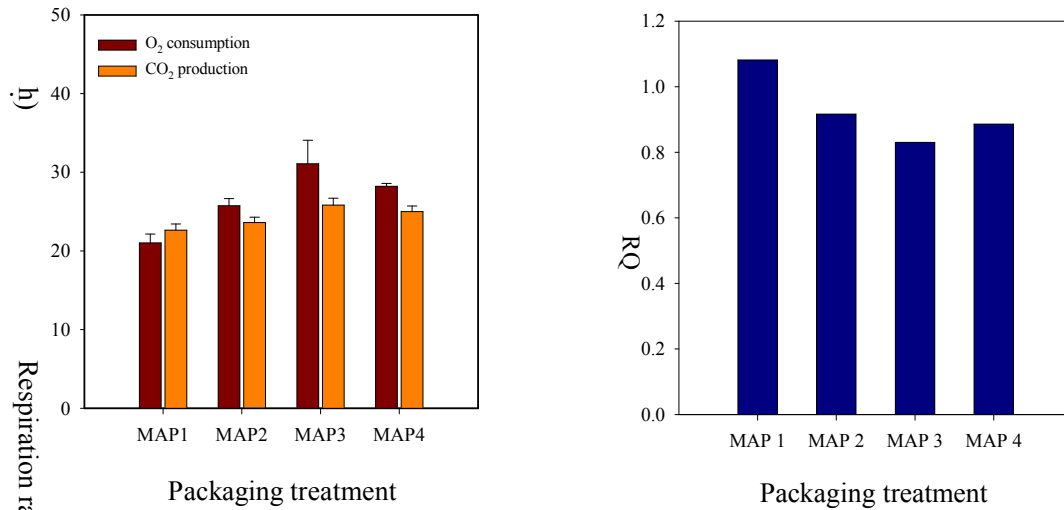


Fig. 101. Respiration rate (left) and respiratory quotient (right) of buckwheat sprout as affected by various MA conditions at 5°C. MAP1: 20% O<sub>2</sub> + 80% N<sub>2</sub>, MAP2: 40% O<sub>2</sub> + 60% N<sub>2</sub>, MAP3: 60% O<sub>2</sub> + 40% N<sub>2</sub>, MAP4: 60% O<sub>2</sub> + 15% CO<sub>2</sub> + 25% N<sub>2</sub>.

도에 따라 O<sub>2</sub> 소비율과 CO<sub>2</sub> 생성율이 증가하지만 CO<sub>2</sub> 생성율의 산소농도 의존성은 O<sub>2</sub> 소비율에 비해 제한적이었다. 또한 이산화탄소의 유무에 따라서도 호흡률이 현저하게 영향을 받아 15%의 고농도 이산화탄소가 공존할 경우 O<sub>2</sub> 소비율과 CO<sub>2</sub> 생성율이 분명하게 감소하였다. 한편 호흡지수(RQ) 결과로부터 공기 대조구에서는 1.08로 정상적인 호기호흡이 유지되었으나, 40% O<sub>2</sub> + 60% N<sub>2</sub> 처리구에서 0.92, 60% O<sub>2</sub> + 40% N<sub>2</sub> 처리구에서 0.83, 60% O<sub>2</sub> + 15% CO<sub>2</sub> + 25% N<sub>2</sub> 처리구에서 0.89를 나타내어 고산소 조건에서는 CO<sub>2</sub> 생성량에 비해 O<sub>2</sub> 소모량이 급격하게 증가하는 비정상적 호흡양상이 일어나는 것을 알 수 있었다.

외기 환경에서 19시간 경과 후 밀봉된 메밀 새싹채소 포장 내부의 기체조성 변화를 살펴본 결과(Fig. 102), 초기의 20% O<sub>2</sub> + 80% N<sub>2</sub>, 40% O<sub>2</sub> + 60% N<sub>2</sub>, 60% O<sub>2</sub> + 40% N<sub>2</sub>, 60% O<sub>2</sub> + 15% CO<sub>2</sub> + 25% N<sub>2</sub> 조성에서 O<sub>2</sub> 농도는 각각 4.2%, 16.9%, 44.0%, 43.3%로 감소하였고, CO<sub>2</sub> 농도는 16.1%, 21.4%, 20.3%, 34.3%로 증가하였다. 새싹시료 포장용기 내부의 O<sub>2</sub> 농도는 초기 주입한 O<sub>2</sub> 농도가 높을수록 소모량도 많았으며, CO<sub>2</sub> 농도의 경우 고산소 단독처리구에서 초기 O<sub>2</sub> 농도에 비례하게 증가하지 않고 20% 내외로 생성되었으며 초기 15% CO<sub>2</sub>가 주입된 혼합처리구에서는 30% 이상의 생성량을 나타내었다. 이로부터 MAP 포장구를 SAP 보냉재와 EPS 상자로 단열처리한 후 외기 환경에서 보관한 포장용기 내부의 기체조성 변화는 일반적으로 저온 저장고에서 수행한 선행 연구결과와 상이하지 않음을 확인하였다.

유연성 SAP 보냉재와 능동형 MAP로 포장 처리한 메밀 새싹의 수분함량은 초기 시료

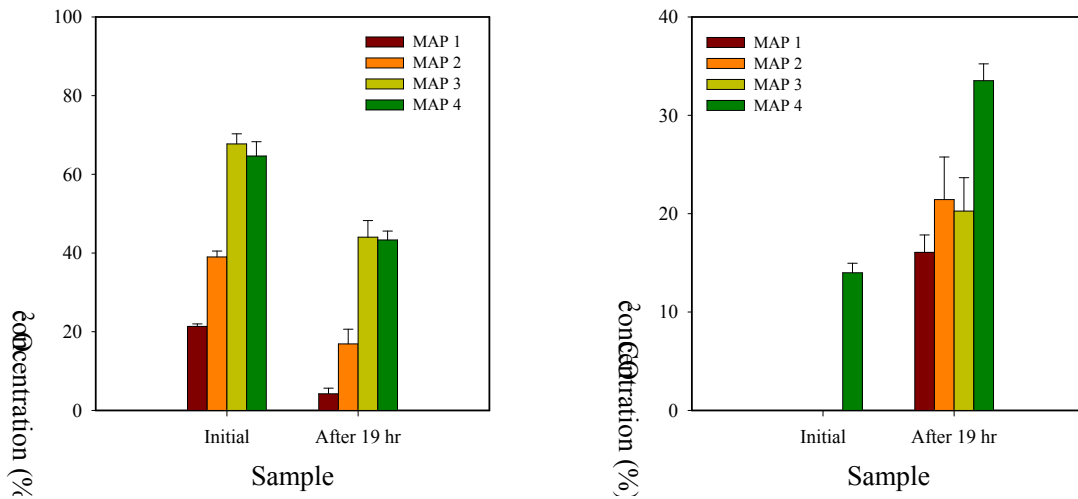


Fig. 102. Changes in oxygen (left) and carbon dioxide (right) concentrations of buckwheat sprout packages treated with various MA conditions and refrigerants before and after storage at ambient temperature for 19 h. MAP1: 20% O<sub>2</sub> + 80% N<sub>2</sub> with SAP, MAP2: 40% O<sub>2</sub> + 60% N<sub>2</sub> with SAP, MAP3: 60% O<sub>2</sub> + 40% N<sub>2</sub> with SAP, MAP4: 60% O<sub>2</sub> + 15% CO<sub>2</sub> + 25% N<sub>2</sub> with SAP.

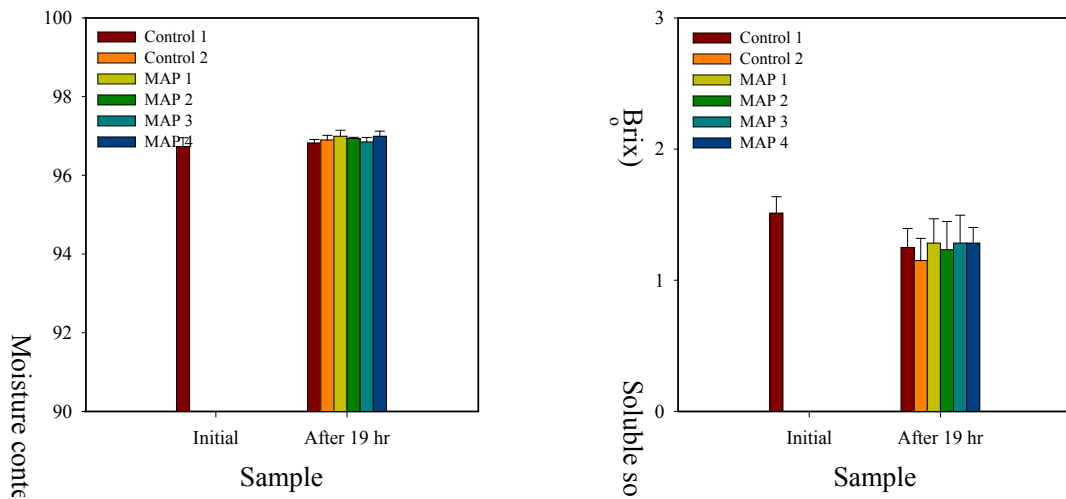


Fig. 103. Changes in moisture content (left) and soluble solids content (right) of buckwheat sprout treated with various MA packaging conditions and refrigerants before and after storage at ambient temperature for 19 h. Control1: perforated tray with an ice pack and insulation bag, Control2: perforated tray with an ice pack, MAP1: 20% O<sub>2</sub> + 80% N<sub>2</sub> with SAP, MAP2: 40% O<sub>2</sub> + 60% N<sub>2</sub> with SAP, MAP3: 60% O<sub>2</sub> + 40% N<sub>2</sub> with SAP, MAP4: 60% O<sub>2</sub> + 15% CO<sub>2</sub> + 25% N<sub>2</sub> with SAP.

의 경우  $96.73 \pm 0.22\%$ 이었고, 외기 환경에서 19시간 경과 후 은박 단열재를 사용한 대조구는  $96.82 \pm 0.09\%$ , 은박 단열재를 사용하지 않은 대조구는  $96.90 \pm 0.12\%$ , 20% O<sub>2</sub> 처리구는  $96.99 \pm 0.15\%$ , 40% O<sub>2</sub> 처리구는  $96.94 \pm 0.03\%$ , 60% O<sub>2</sub> 처리구는  $96.85 \pm 0.12\%$ , 60% O<sub>2</sub> +



15% CO<sub>2</sub> 혼합처리구는 96.99±0.13%로 처리구간의 차이 없이 초기 값을 그대로 유지하는 경향을 나타내었다(Fig. 103). 이는 새싹 포장용기의 기밀성에 기인한 것으로 밀봉포장에서는 호흡과 증산에 의해 생성된 수분이 포장재 외부로 배출되지 않기 때문에 모든 시료가 고습도 조건에 놓인 상태로 볼 수 있다. 특히 완전 밀폐조건인 MAP 포장구의 경우 19시간 경과 후 포장을 개봉하였을 때 용기 내부에 축적된 수분으로 인해 새싹시료가 완전히 젖어 있는 상태나 마찬가지로였다. 한편 메밀 새싹채소의 가용성 고형분함량은 초기에 1.51±0.12°Brix이었으나, 19시간 경과 후 은박 단열재 처리한 대조구는 1.25±0.14°Brix, 은박 단열재 무처리 대조구는 1.15±0.17°Brix, 20% O<sub>2</sub> 처리구 1.28±0.19°Brix, 40% O<sub>2</sub> 처리구 1.23±0.21°Brix, 60% O<sub>2</sub> 처리구 1.28±0.21°Brix, 60% O<sub>2</sub> + 15% CO<sub>2</sub> 혼합기체 처리구에서 1.28±0.12°Brix로 분명하게 감소하는 양상이었으나 포장처리구간의 유의적 차이는 나타나지 않았다(Fig. 103).

메밀 새싹의 중온 호기성 미생물 생균수는 초기 3.7±2.2×10<sup>6</sup> CFU/g이었으나, 평균온도 25°C에서 19시간이 경과한 후 은박 단열재처리 대조구 3.3±1.9×10<sup>7</sup> CFU/g, 무처리 대조구 4.1±1.9×10<sup>7</sup> CFU/g, 20% O<sub>2</sub> 처리구 1.9±1.5×10<sup>7</sup> CFU/g, 40% O<sub>2</sub> 처리구 2.7±2.5×10<sup>7</sup> CFU/g, 60% O<sub>2</sub> 처리구 1.9±1.0×10<sup>7</sup> CFU/g, 60% O<sub>2</sub> + 15% CO<sub>2</sub> 처리구에서 1.8±2.0×10<sup>7</sup> CFU/g를 나타내었다(Fig. 104). 이는 2개 대조구의 생균수가 초기에 비해 약 1 log cycle 증가하였으나, MAP 포장처리구의 생균수는 이에 미치지 못하여 MAP 포장의 고산소와 이산화탄소 기체조성이 미생물 증식억제에 다소 긍정적인 효과를 나타낸 것으로 판단되었다. 대장균

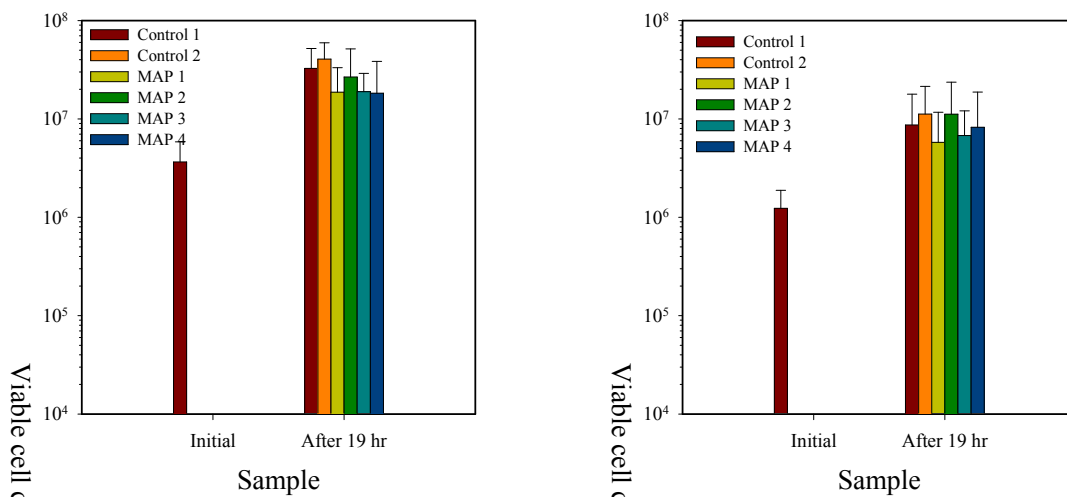


Fig. 104. Changes in mesophilic aerobes (left) and coliform bacteria (right) of buckwheat sprout treated with various MA packaging conditions and refrigerants before and after storage at ambient temperature for 19 h. Control1: perforated tray with an ice pack and insulation bag, Control2: perforated tray with an ice pack, MAP1: 20% O<sub>2</sub> + 80% N<sub>2</sub> with SAP, MAP2: 40% O<sub>2</sub> + 60% N<sub>2</sub> with SAP, MAP3: 60% O<sub>2</sub> + 40% N<sub>2</sub> with SAP, MAP4: 60% O<sub>2</sub> + 15% CO<sub>2</sub> + 25% N<sub>2</sub> with SAP.

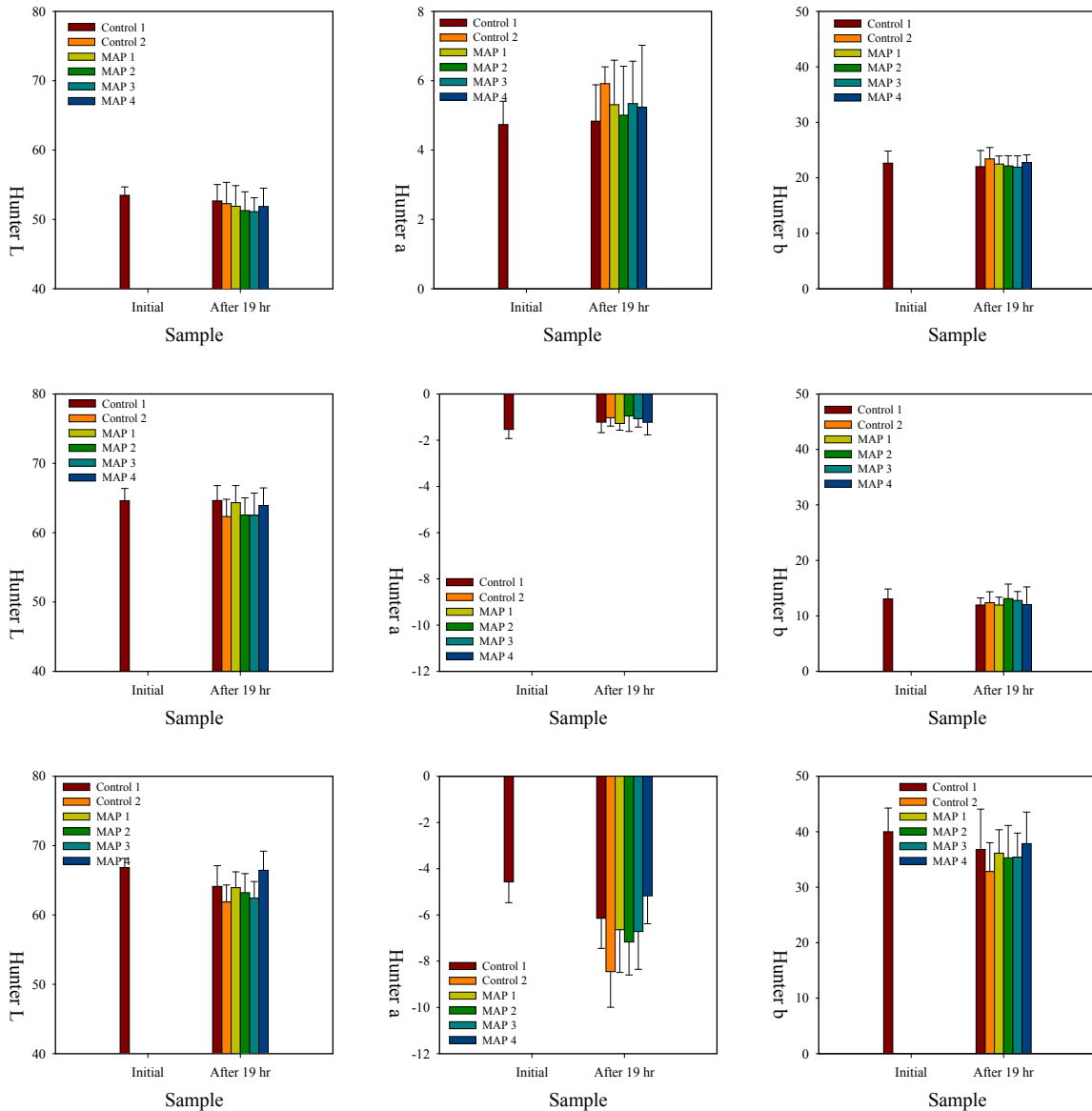


Fig. 105. Changes in Hunter L, a, and b values of buckwheat sprout (root: upper, stem: middle, and head: lower) treated with various MA packaging conditions and refrigerants before and after storage at ambient temperature for 19 h. Control1: perforated tray with an ice pack and insulation bag, Control2: perforated tray with an ice pack, MAP1: 20% O<sub>2</sub> + 80% N<sub>2</sub> with SAP, MAP2: 40% O<sub>2</sub> + 60% N<sub>2</sub> with SAP, MAP3: 60% O<sub>2</sub> + 40% N<sub>2</sub> with SAP, MAP4: 60% O<sub>2</sub> + 15% CO<sub>2</sub> + 25% N<sub>2</sub> with SAP.

군의 경우, 초기  $1.2 \pm 0.6 \times 10^6$  CFU/g이었으나 외기 환경에 19시간 보관한 후에는 은박 단열재처리 대조구  $8.7 \pm 9.2 \times 10^6$  CFU/g, 무처리 대조구  $1.1 \pm 1.0 \times 10^7$  CFU/g, 20% O<sub>2</sub> 처리구  $5.8 \pm 5.9 \times 10^6$  CFU/g, 40% O<sub>2</sub> 처리구  $1.1 \pm 1.2 \times 10^7$  CFU/g, 60% O<sub>2</sub> 처리구  $6.8 \pm 5.3 \times 10^6$  CFU/g, 60% O<sub>2</sub> + 15% CO<sub>2</sub> 처리구  $8.2 \pm 9.9 \times 10^6$  CFU/g로 호기성 생균수와는 다르게 초기에 비해 모든 처리구에서 약 1 log cycle씩 증가하였으며, 대조구에 비해 MAP 포장처리구의 생균

수가 약간 낮은 경향이었으나 구분되지 않았다(Fig. 104). 결과적으로 중온성 호기균과 대장균군 모두 초기에 비해 19시간 경과 후 약 1 log cycle 정도 증식하였고, 이 가운데 호기성 미생물의 생균수는 통기 처리된 대조구에 비해 고산소 MAP 포장처리구에서 비교적 느리게 증식하는 양상을 볼 수 있었다.

고산소 MAP와 유연성 SAP 보냉재로 병용 처리한 메밀 새싹의 뿌리부분은 모든 처리구에서 a 값이 다소 증가하였는데, 특히 은박 단열재 무처리 대조구의 a 값이 가장 높게 증가하여 뿌리의 갈변이 심하게 일어난 것을 확인할 수 있었다(Fig. 105). 그러나 은박 단열재처리 대조구와 MAP 처리구에서는 무처리 대조구에 비해 a 값이 크게 증가하지 않아 은박 단열재 봉투와 유연성 SAP 보냉재가 외부 빛을 차단하는 역할을 하여 새싹시료의 변색을 억제하는데 조금이나마 유리하게 작용한 것으로 이해되었다. 메밀 새싹의 줄기부분은 무처리 대조구에서 갈변이 일어났고 고산소 MAP 처리구에서는 황변이 일어났는데, 그럼에도 단열재처리 대조구와 20% O<sub>2</sub> + 80% N<sub>2</sub> 처리구는 상대적으로 초기와 거의 유사한 색깔상태를 유지하였다. 고산소 MAP 처리구에서 발생하는 황변은 밀폐상태에서 축적되는 물기에 의해 시료가 젖어 일어나는 water soaking 현상으로 생각되었다. 메밀 새싹의 머리부분 역시 무처리 대조구에서 가장 낮은 -a 값을 나타내어 분명하게 녹변이 발생하였음을 알 수 있다. MAP 처리구와 은박 단열재처리 대조구에서도 메밀 새싹 머리부분의 녹변현상을 일부 발견할 수 있었지만, 녹변 정도가 무처리 대조구에 비해 약하였으며, 60% O<sub>2</sub> + 15% CO<sub>2</sub> + 25% N<sub>2</sub> 혼합처리구에서는 거의 발생하지 않았다. 메밀 새싹의 부위별 색차 결과(Fig. 106)에서도 뿌리부분은 은박 단열재처리 대조구가 2.9, 무처리 대조구가 4.2, 20% O<sub>2</sub> + 80% N<sub>2</sub> 처리구 2.9, 40% O<sub>2</sub> + 60% N<sub>2</sub> 처리구 3.0, 60% O<sub>2</sub> + 40% N<sub>2</sub> 처리구 3.3, 60% O<sub>2</sub> + 15% CO<sub>2</sub> + 25% N<sub>2</sub> 처리구 3.2로 무처리 대조구에서 색차가 가장

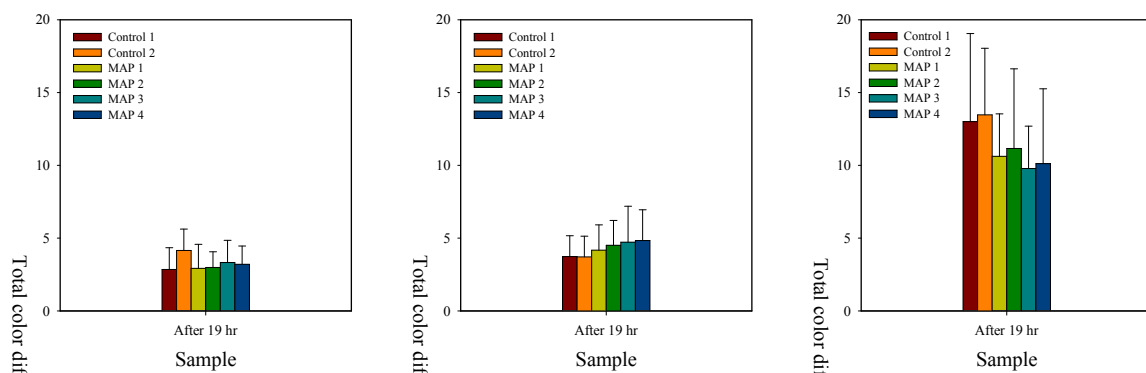


Fig. 106. Changes in total color difference ( $\Delta E$ ) of buckwheat sprout (root: left, stem: center, and head: right) treated with various MA packaging conditions and refrigerants before and after storage at ambient temperature for 19 h. Control1: perforated tray with an ice pack and insulation bag, Control2: perforated tray with an ice pack, MAP1: 20% O<sub>2</sub> + 80% N<sub>2</sub> with SAP, MAP2: 40% O<sub>2</sub> + 60% N<sub>2</sub> with SAP, MAP3: 60% O<sub>2</sub> + 40% N<sub>2</sub> with SAP, MAP4: 60% O<sub>2</sub> + 15% CO<sub>2</sub> + 25% N<sub>2</sub> with SAP.

크게 나타났다. 줄기부분의 색차는 각각 3.7, 3.7, 4.2, 4.5, 4.7, 4.8로 고산소 MAP 처리구의 색변화가 상대적으로 컸으며, 머리부분은 13.0, 13.5, 10.6, 11.2, 9.8, 10.1로 대조구 모두에서 색차가 두드러지게 나타났다. 한편 관능적 외관평가에서도 처리구간에 유의적이지는 않지만 은박 단열재처리 대조구, 20%와 40% O<sub>2</sub> MAP 처리구가 다소나마 더 나은 평가를 받았다(Fig. 107 & Table 23). 결과적으로 통기포장에서는 메밀 새싹의 뿌리와 머리부위에서 변색이 심하게 일어났으며 고산소 MAP 처리구에서는 새싹시료가 물에 젖은 상태가 되어 줄기부위에 황변이 발생하기 때문에, 20% O<sub>2</sub> 또는 40% O<sub>2</sub> 단일조성의 MAP와 유연성 보냉재 병용처리가 메밀 새싹채소의 소비자 직배유통에 적합한 포장방법이라고 판단되었다.

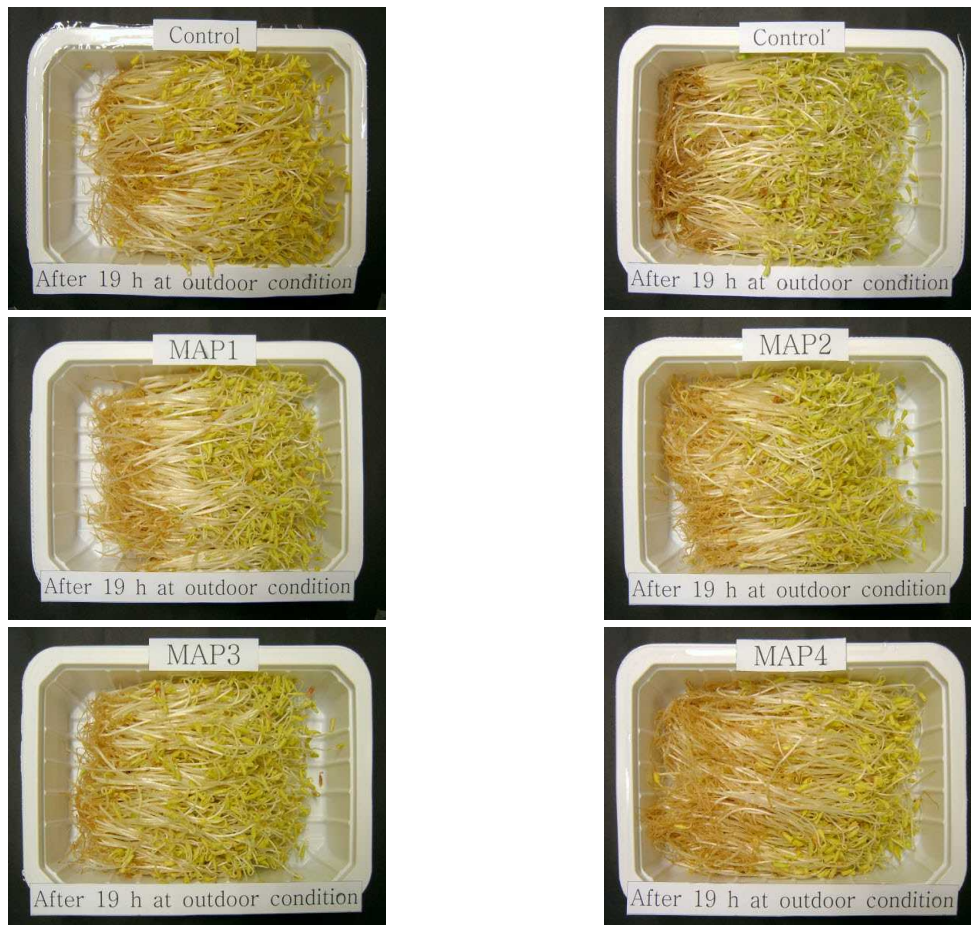


Fig. 107. Appearance of buckwheat sprout treated with various MA packaging conditions and refrigerants in EPS boxes after storage at ambient temperature for 19 h. Control1: perforated tray with an ice pack and insulation bag, Control2: perforated tray with an ice pack, MAP1: 20% O<sub>2</sub> + 80% N<sub>2</sub> with SAP, MAP2: 40% O<sub>2</sub> + 60% N<sub>2</sub> with SAP, MAP3: 60% O<sub>2</sub> + 40% N<sub>2</sub> with SAP, MAP4: 60% O<sub>2</sub> + 15% CO<sub>2</sub> + 25% N<sub>2</sub> with SAP.

Table 23. Changes in sensory characteristics<sup>1)</sup> of buckwheat sprout treated with various MA packaging conditions and refrigerants after storage at ambient temperature for 19 h

| Treatment <sup>2)</sup> | Discoloration |       |       | Wilting | Decay | Overall quality |
|-------------------------|---------------|-------|-------|---------|-------|-----------------|
|                         | head          | stem  | root  |         |       |                 |
| Control1                | 4.0c          | 6.4a  | 6.6a  | 4.9a    | 3.4a  | 4.8a            |
| Control2                | 7.8a          | 4.4b  | 7.0a  | 4.7a    | 3.2a  | 4.1a            |
| MAP1                    | 6.3b          | 5.1ab | 6.2ab | 5.1a    | 3.4a  | 4.6a            |
| MAP2                    | 6.4b          | 5.8ab | 6.9a  | 5.0a    | 3.2a  | 4.4a            |
| MAP3                    | 6.7b          | 5.6ab | 5.9ab | 4.8a    | 3.5a  | 4.1a            |
| MAP4                    | 4.9c          | 5.3ab | 5.4b  | 6.1a    | 3.5a  | 4.2a            |

<sup>1)</sup> The values are means of eight replicates at least. Means followed by the same letter within cells are not significantly different ( $p < 0.05$ , Duncan's test). As the value increases from 1 to 9, the intensity of sensory characteristics increases.

<sup>2)</sup> Control1: perforated tray with an ice pack and insulation bag, Control2: perforated tray with an ice pack, MAP1: 20% O<sub>2</sub> + 80% N<sub>2</sub> with SAP, MAP2: 40% O<sub>2</sub> + 60% N<sub>2</sub> with SAP, MAP3: 60% O<sub>2</sub> + 40% N<sub>2</sub> with SAP, MAP4: 60% O<sub>2</sub> + 15% CO<sub>2</sub> + 25% N<sub>2</sub> with SAP.

## 12. 유통 중 품질 영향인자의 변동 분석 및 예측

능동형 MAP와 온도감응 기능성 포장재의 복합적용에 따른 품온 변화 profile을 측정 분석하고, 예측모형을 검증하여 새싹채소에 대한 포장재 적용방식의 최적화 방안을 도출하고자 하였다. 우선 변온조건에서의 온도감응 기능성 포장재 적용시 온도변화 profile의 분석 및 예측모형 검증을 위해 하절기 가장 더운 날의 온도변화를 형상화한 sine 곡선형태의 변온조건을 설정하였다. 새싹채소의 출고시간을 오전 8시라 가정하면 여름철 가장 더운 날을 기준으로 오전 11시부터 30°C를 넘어 오후 2시경 최고온도를 기록하고 오후 5시까지 30°C 이상을 유지하다 서서히 온도가 내려가는 형태를 보인다. 이를 형상화하여 최초 3시간은 25°C를 유지하다가 3-6시간에 35°C까지 sine 곡선형태로 상승시키고 6-9시간에는 다시 25°C로 내린 뒤 9-24시간에는 25°C를 유지하는 조건이다.

온도감응 기능성 포장재 적용에 따른 품온 변화 profile 예측모형을 설정하여 검증하기 위해 축냉재의 상변화가 끝나는 시간을 기준으로 구간을 나누어 일반 얼음팩 보냉재인 MPA를 적용하였을 때는 두 구간, 유연성 보냉재인 SAP와 RT-2를 적용하였을 때는 세 구간에 대한 각각의 일반식을 개발하고 각 정온조건에서의 실험결과를 회귀분석하여 외부온도에 의존적인 각 일반식의 계수를 결정하였다. 축냉재의 상변화가 끝나는 시간도 실험결과의 회귀분석을 통하여 외부온도에 대한 지수함수 형태로 나타내어 사용하였다. 이 모형식의 검증을 위해 각 정온조건에서의 실험결과와 예측모형식에 의한 계산값을 비교하였다. 또 변온조건에서의 모형식 검증을 위해 sine 곡선형태 변온조건에서의 실험결과와 모형식에 의한 계산값을 비교하였다. 이때 상변화 종료시간은 변온조건의 평균온도

를 이용하여 계산하였다.

유통 중 기능성 포장재의 적용에 따른 품온변화를 분석하고 예측하기 위하여 여름철 온도범위인 20°C, 25°C, 30°C, 35°C와 40°C의 정온조건에서 3종류의 축냉재(MAP, SAP, RT-2)를 적용했을 때의 온도 profile을 측정하였다(Figs. 108-110). 이때 사용한 축냉재의 용기쪽 표면온도를 측정하여 축냉재의 상변화가 종료되는 시간(=t<sub>pcf</sub>)을 Table 24에 정리하였다. 모든 정온조건에서 MPA는 상변화가 종료되기까지 SAP의 위쪽면보다는 5시간, RT-2의 위쪽면보다는 6시간가량 오래 걸렸다. 이는 3가지 축냉재의 중량이 모두 300-360 g (MPA: 300 g, SAP와 RT-2: 360 g)이지만 위쪽면에 있는 양은 1/2인 180 g밖에 되지 않기 때문으로 생각된다. RT-2는 SAP보다 열저장용량이 적어 더 빨리 녹는 것으로 생각된다. SAP의 경우 용기의 위쪽 축냉재가 아래쪽보다 약 2배 빨리 녹았으며, RT-2는 위쪽이 아래쪽보다 약 3배 빨리 녹는 것을 관찰할 수 있었다. MPA를 적용하였을 때는 품온이 5°C 까지 떨어져 5°C를 유지하다가 축냉재의 상변화가 종료되기 1시간 전부터 증가하는데 이때 외부온도가 상승할수록 증가폭은 커지고 5°C를 유지하는 시간은 짧아진다. 35°C나 40°C 정온조건에서는 품온이 5°C에서 거의 유지되지 못하고 바로 상승한다. 주목할 점은

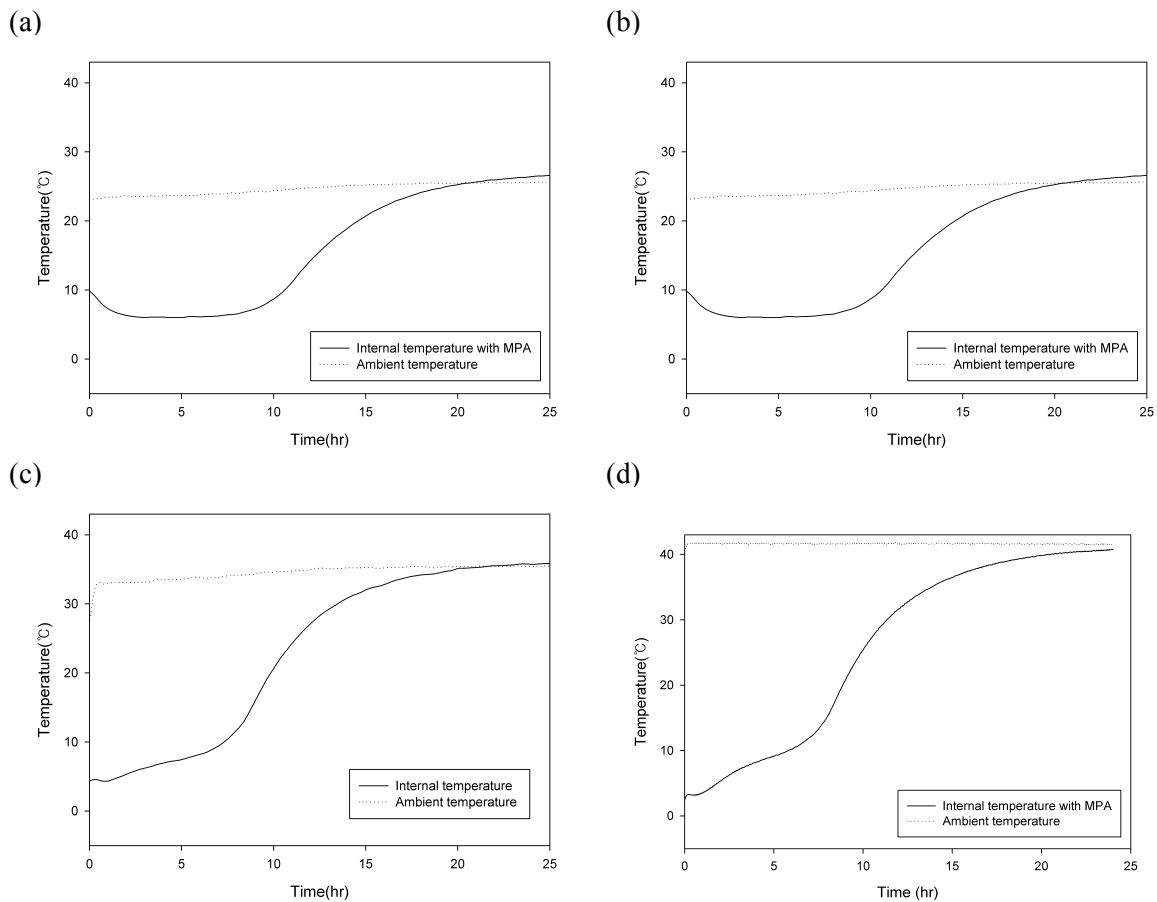


Fig. 108. Temperature profiles of sprouts under 25°C (a), 30°C (b), 35°C (c), and 40°C (d) with MPA.

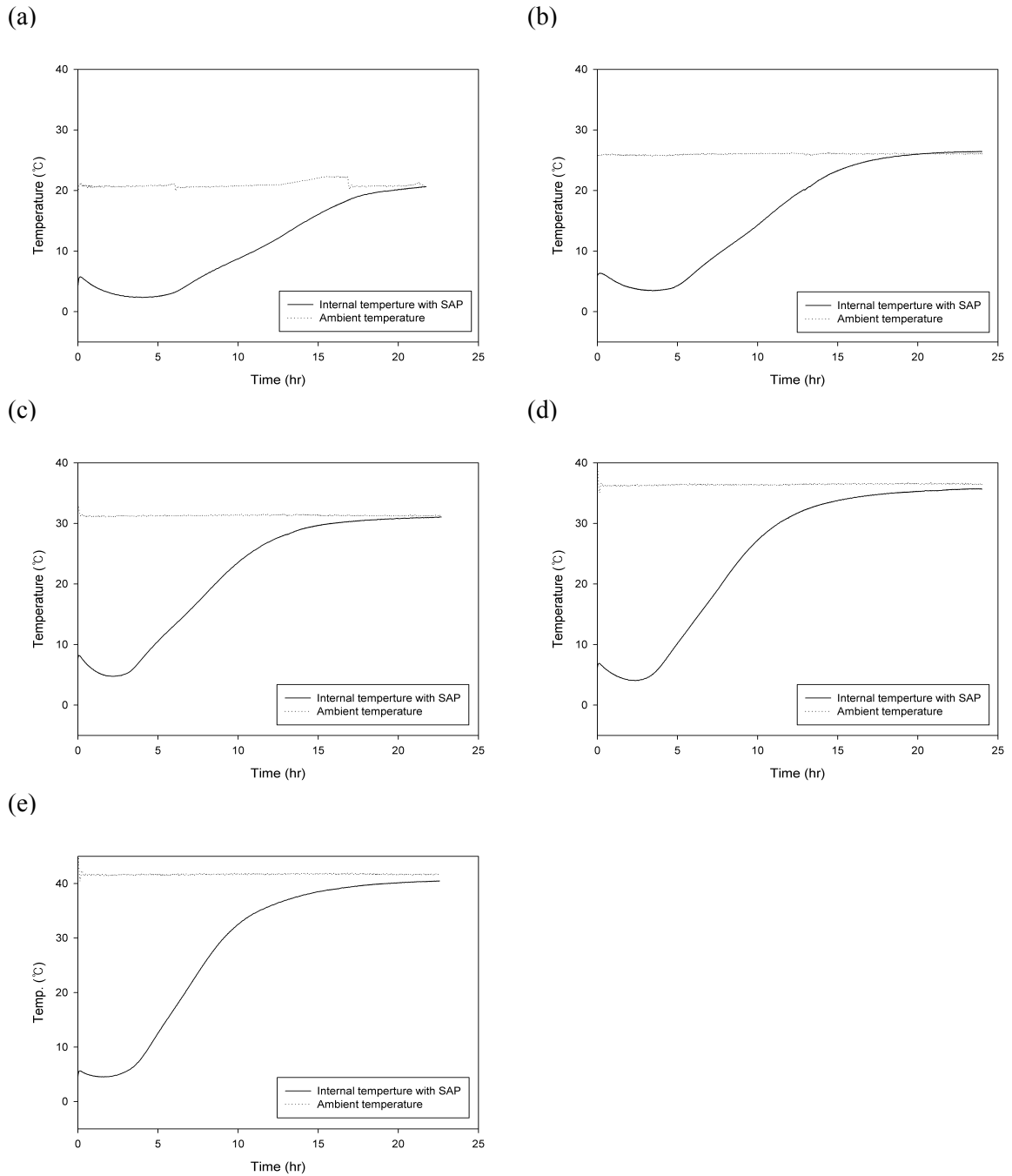


Fig. 109. Temperature profiles of sprouts under 20°C (a), 25°C (b), 30°C (c), 35°C (d), and 40°C (e) with SAP.

최종온도가 외부온도보다 높다는 점인데, 외부온도가 완전히 일정하게 유지되지 못하고 시간에 따라 점점 증가하다 감소하는 경향을 보이는데 에서 기인한 것으로 보인다. SAP 를 적용하였을 때도 품온은 약 3°C까지 떨어져 3°C를 일정시간 유지하다 다시 상승하는데 다른 축냉재에 비해 품온이 떨어졌다가 다시 회복하는 데에 긴 시간이 걸린다. 이는 SAP의 구조적인 장점과 큰 열저장용량 때문인 것으로 생각된다. RT-2를 적용하였을 때는

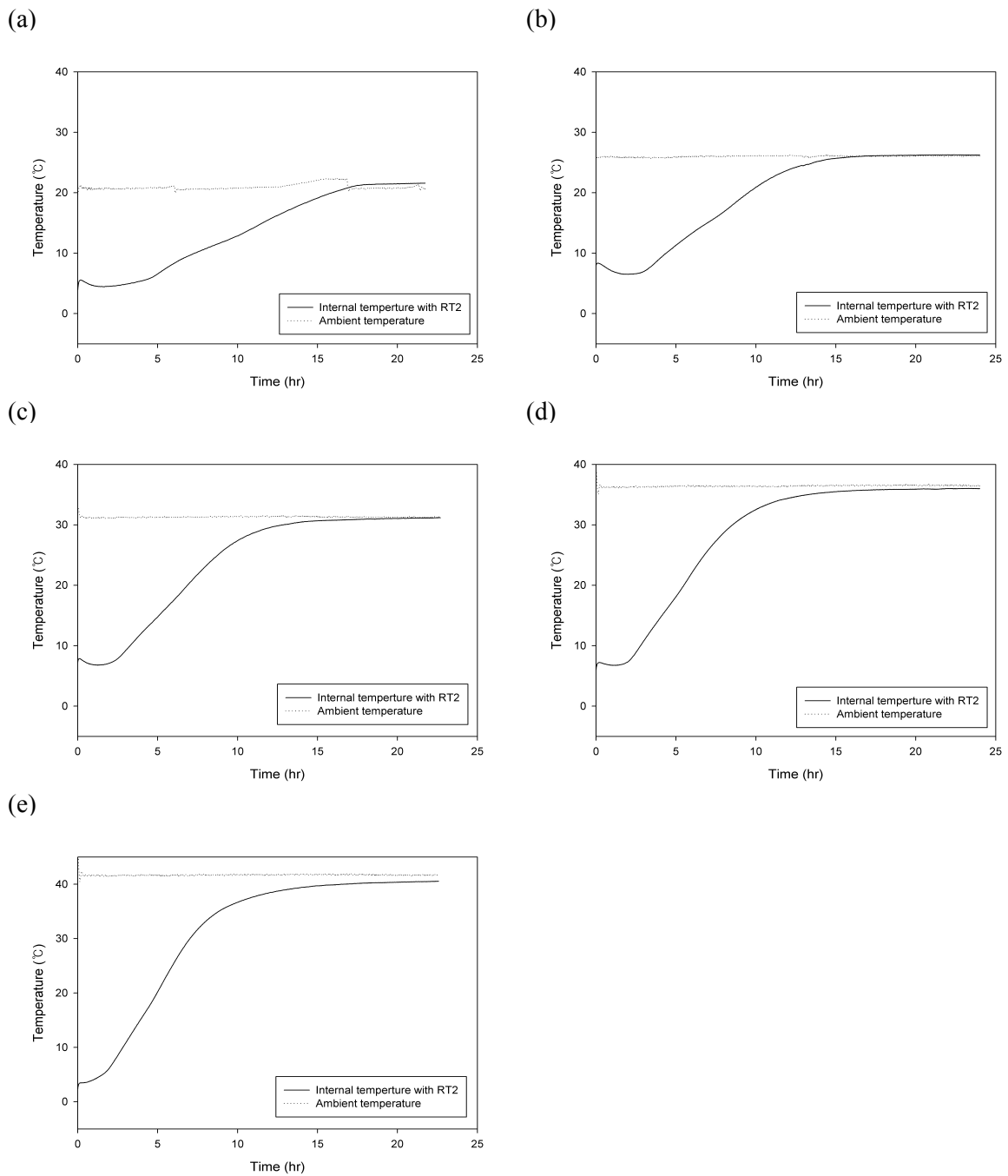


Fig. 110. Temperature profiles of sprouts under 20°C (a), 25°C (b), 30°C (c), 35°C (d), and 40°C (e) with RT-2.

품온이 5°C까지 떨어져 5°C에서 일정시간 유지되고 다시 상승하는 경향을 보인다. 다른 두 축냉제에 비해 빨리 상변화가 종료되고 품온이 상승하는데 이는 작은 열저장용량에 기인하는 것으로 생각된다.

용기 위쪽 축냉제의 상변화가 끝나기 전까지 새싹채소는 축냉제로부터 열을 빼앗겨



Table 24. Phase change finished times( $t_{pcf}$ ) of refrigerant under constant temperatures

| Refrigerant type | Ambient temp. | Initial temp. (°C) | Upper side       |                             | Bottom side      |                             |
|------------------|---------------|--------------------|------------------|-----------------------------|------------------|-----------------------------|
|                  |               |                    | $t_{pcf,u}$ (hr) | Temp. (°C) at $t=t_{pcf,u}$ | $t_{pcf,b}$ (hr) | Temp. (°C) at $t=t_{pcf,b}$ |
| MPA              | 25.02         | 9.07               | 10.000           | 8.72                        | -                | -                           |
|                  | 29.91         | 7.60               | 8.33             | 8.81                        | -                | -                           |
|                  | 34.87         | 5.24               | 7.33             | 10.06                       | -                | -                           |
|                  | 41.63         | 2.41               | 7.47             | 13.21                       | -                | -                           |
| SAP              | 20.96         | 4.27               | 5.85             | 3.04                        | 11.28            | 10.38                       |
|                  | 26.02         | 5.86               | 4.27             | 3.70                        | 9.13             | 12.50                       |
|                  | 31.31         | 7.63               | 2.98             | 5.20                        | 5.82             | 12.70                       |
|                  | 36.43         | 6.08               | 2.83             | 4.20                        | 5.60             | 12.30                       |
|                  | 41.71         | 4.57               | 2.85             | 5.30                        | 5.28             | 13.90                       |
| RT-2             | 20.96         | 3.84               | 4.07             | 5.46                        | 10.07            | 12.93                       |
|                  | 26.02         | 7.97               | 2.80             | 6.80                        | 7.20             | 15.40                       |
|                  | 31.31         | 7.23               | 1.80             | 7.00                        | 5.15             | 15.20                       |
|                  | 36.43         | 5.91               | 1.57             | 6.88                        | 4.62             | 16.75                       |
|                  | 41.71         | 2.25               | 1.55             | 5.00                        | 4.32             | 16.84                       |

1-2°C 품온이 하락하였다가 외부로부터 전달되는 열에 의해 다시 회복하는 경향을 보였다. MPA 적용 시에는 5°C까지 감소하였다가(초기온도가 5°C 이하일 경우에는 증가) 서서히 증가하는 형태를 보였는데, 상변화가 종료된 시점에서의 품온은 외부온도가 25°C일 때는 8.72°C, 30°C일 때는 8.81°C, 35°C일 때는 10.06°C, 40°C일 때는 13.21°C로 외부온도가 증가함에 따라 함께 증가하는 경향을 보였다. SAP를 적용하였을 경우에는 품온이 초기온도로부터 3°C 떨어졌다가 점점 회복하여 상변화가 종료된 시점에서의 품온은 초기온도보다 약 2°C 낮은 온도를 보였다. RT-2를 적용하였을 때는 품온이 초기온도로부터 약 2°C 떨어졌다가 다시 회복하여 상변화가 종료될 때는 거의 초기온도를 회복하는 경향을 보였다. 용기 위쪽 축냉재의 상변화가 끝나고 아래쪽 축냉재의 상변화가 끝날 때까지 구간에서 품온이 선형으로 증가하는 것을 확인할 수 있었다. 이 구간을 선형구간이라 하고 이 구간의 품온변화(Fig. 111)로 선형모형식을 만들었을 때, 모든 경우 높은 선형성을 보였다. 이 때 직선의 기울기는 SAP와 RT-2를 적용하였을 때 모두 외부온도가 증가함에 따라 1차적으로 증가하는 경향을 보였다. 양쪽 축냉재의 상변화가 모두 끝난 이후 구간의 품온변화(Fig. 112)는 축냉재를 적용하지 않았을 때의 형태와 유사하게 시간에 대한 지수함수 형태로 증가하였다. 이 구간을 지수구간이라 하고 선형 및 지수 두 구간에 대한 모형식을 회귀분석을 통하여 설정했다. 두 구간에 대한 모형식은 다음과 같다.

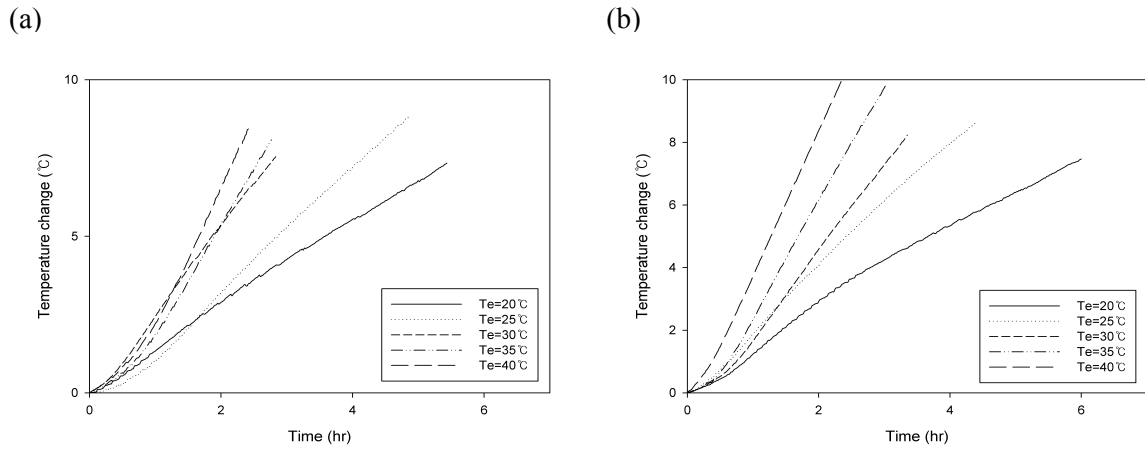


Fig. 111. Temperature changes of sprouts between  $t_{pcf,u}$  and  $t_{pcf,b}$  with SAP (a), and RT-2 (b).

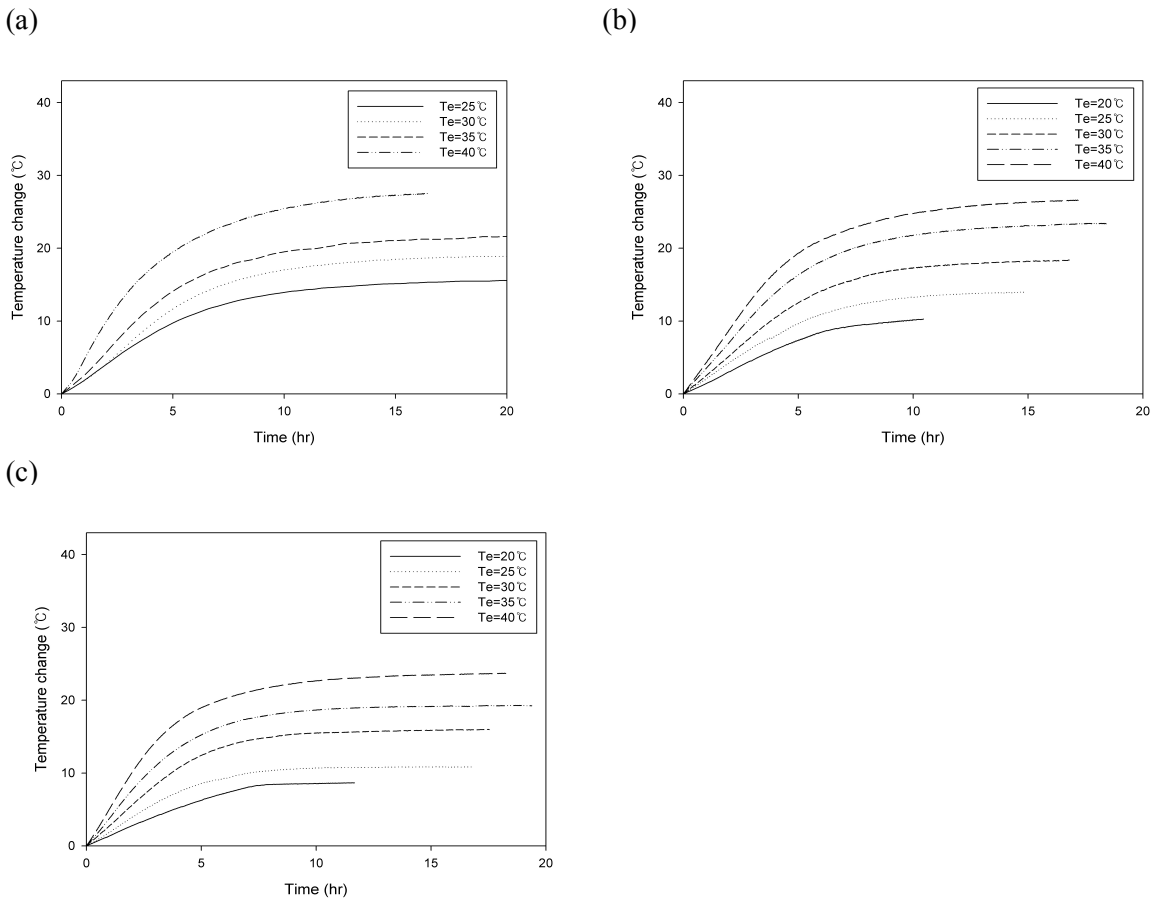


Fig. 112. Temperature changes of sprouts after  $t_{pcf}$  with MPA (a), SAP (b), and RT-2 (c).

· 선형구간:  $T = T_1 + at$  (2)

· 지수구간:  $T = T_2 + (T_e - T_2)(1 - e^{-at}) = T_e + (T_2 - T_e)e^{-at}$  (3)

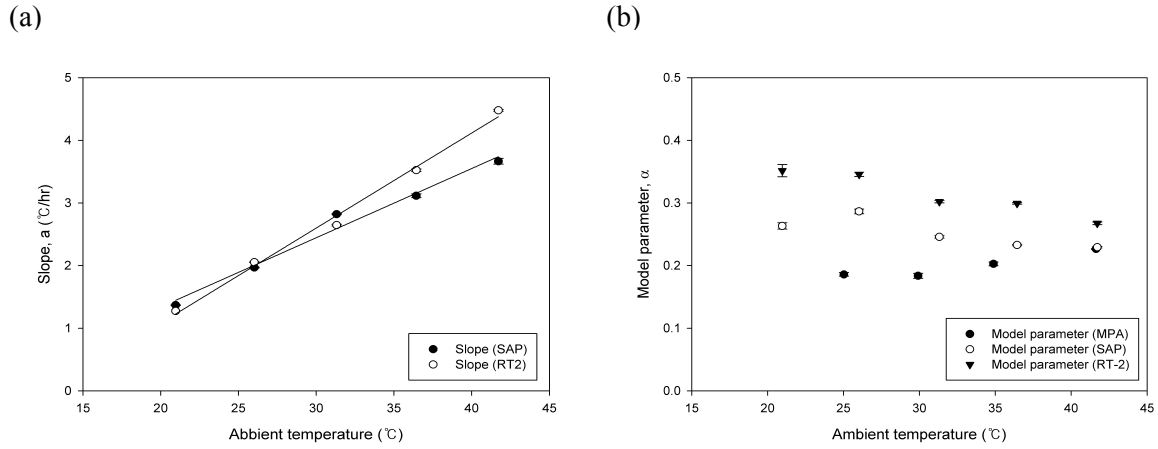


Fig. 113. Slope of linear section (a) and model parameter of exponential section (b).

위의 식 (2)-(3)에서  $T_e$  = incubator 온도(°C),  $T$  = 내용물 온도(°C),  $T_1$  = 용기 위쪽 축냉재의 상변화가 끝날 때 내용물 온도(°C),  $T_2$  = 용기 아래쪽 축냉재의 상변화가 끝날 때 내용물 온도(°C),  $t$  = 상변화가 끝난 이후 시간(hr)을 의미한다. 선형구간의 기울기는 외부온도가 상승함에 따라 1차적으로 증가하는 것을 확인할 수 있었으며 지수구간 모델식의  $\alpha$ 는 온도에 따라 약간의 변화는 있었지만 이 온도범위에서는 일정한 값을 가진다고 가정한다(Fig. 113).

상기 Table 24의 위쪽과 아래쪽의 상변화가 종료되는 시간은 각각 외부온도가 상승함에 따라 감소하였으나 외부온도가 30°C를 넘어가면서 큰 차이를 보이지 않았다. 이를 지수형 모형식으로 나타내면 다음과 같다.

· MPA

$$\text{Upper side: } t_{pcf,u} = 7.2650 + 699.2192 e^{-0.2213 T_e} \quad (4)$$

· SAP

$$\text{Upper side: } t_{pcf,u} = 2.5940 + 92.3731 e^{-0.1590 T_e} \quad (5)$$

$$\text{Bottom side: } t_{pcf,b} = 4.3791 + 70.4982 e^{-0.1097 T_e} \quad (6)$$

· RT-2

$$\text{Upper side: } t_{pcf,u} = 1.3123 + 55.6530 e^{-0.1429 T_e} \quad (7)$$

$$\text{Bottom side: } t_{pcf,b} = 3.8501 + 107.3697 e^{-0.1356 T_e} \quad (8)$$

위의 식 (4)-(8)에서  $t_{pcf,u}$  = 용기 위쪽 축냉재의 상변화가 끝나는 시간(hr),  $t_{pcf,b}$  = 용기 아

래쪽 축냉재의 상변화가 끝나는 시간(hr),  $T_e = \text{incubator}$  온도( $^{\circ}\text{C}$ )를 의미한다. 이를 이용하면 임의의 정온조건하에서 세 축냉재의 상변화가 종료되는 시간을 구할 수 있다.

위의 식 (4)-(8)을 종합하여 정온조건하에서 각 축냉재를 적용하였을 때 품온을 예측하는 모형식을 개발하였다.

· MPA

$$T = \begin{cases} T_0 + \left( \frac{1.1073 + 0.2767 T_e - T_0}{t_{pcf}} \right) t & (t < t_{pcf,u}) \\ T_e + (T_1 - T_e) e^{-0.1997(t - t_{pcf,u})} & (t_{pcf,u} \leq t) \end{cases} \quad (9)$$

· SAP

$$T = \begin{cases} T_0 - 2 & (t < t_{pcf,u}) \\ T_1 + (-0.8717 + 0.1106 T_e)(t - t_{pcf,u}) & (t_{pcf,u} \leq t < t_{pcf,b}) \\ T_e + (T_2 - T_e) e^{-0.2516(t - t_{pcf,b})} & (t_{pcf,b} \leq t) \end{cases} \quad (10)$$

· RT-2

$$T = \begin{cases} T_0 & (t < t_{pcf,u}) \\ T_1 + (-1.9532 + 0.1518 T_e)(t - t_{pcf,u}) & (t_{pcf,u} \leq t < t_{pcf,b}) \\ T_e + (T_2 - T_e) e^{-0.3132(t - t_{pcf,b})} & (t_{pcf,b} \leq t) \end{cases} \quad (11)$$

위의 식 (9)-(11)에서  $T =$  내용물 온도( $^{\circ}\text{C}$ ),  $T_0 =$  내용물 초기 온도( $^{\circ}\text{C}$ ),  $T_1 = t_{pcf,u}$ 에서의 내용물 온도( $^{\circ}\text{C}$ ),  $T_2 = t_{pcf,b}$ 에서의 내용물 온도( $^{\circ}\text{C}$ ),  $T_e =$  외부 온도( $^{\circ}\text{C}$ ),  $t =$  시간(hr),  $t_{pcf,u} =$  용기 위쪽 축냉재의 상변화가 끝나는 시간(hr),  $t_{pcf,b} =$  용기 아래쪽 축냉재의 상변화가 끝나는 시간(hr)을 의미한다.

품온 예측모형을 검증하기 위하여  $20^{\circ}\text{C}$ ,  $25^{\circ}\text{C}$ ,  $30^{\circ}\text{C}$ ,  $35^{\circ}\text{C}$  및  $40^{\circ}\text{C}$  정온조건에서 세 축냉재를 적용하였을 때 실험결과와 해당 조건에서 예측모형에 의한 품온 변화 profile을 비교하였다(Figs. 114-116). MPA 적용시 축냉재의 상변화가 끝나기 전까지의 구간에서 예측값이 측정값보다  $1\text{-}2^{\circ}\text{C}$  높게 나타나지만 초기의 낮은 온도 범위에서는 품질에 크게 영향을 미치지 않을 것으로 판단되어 모형을 간단하게 하기 위해 이 차이는 무시하였다. 축냉재의 상변화가 끝난 이후의 지수구간에서는 전 구간에 걸쳐  $25\text{-}35^{\circ}\text{C}$  온도범위에서 측정값이 예측값보다  $1\text{-}2^{\circ}\text{C}$  높게 나타났고  $40^{\circ}\text{C}$  조건에서는 지수구간 중반에서 약  $1^{\circ}\text{C}$  차이가 나타났으나 최종온도는 일치하였다. 이는 예측모형의  $T_e$ 에는 외부온도의 평균을 대입하여 계산하는데,  $25^{\circ}\text{C}$ ,  $30^{\circ}\text{C}$ ,  $35^{\circ}\text{C}$  조건의 실제 실험에서는 외부온도가 서서히 증가하는 모습을 보여 실제 최종온도가 예측값보다 높게 나온 것으로 생각된다. SAP와 RT-2 적용

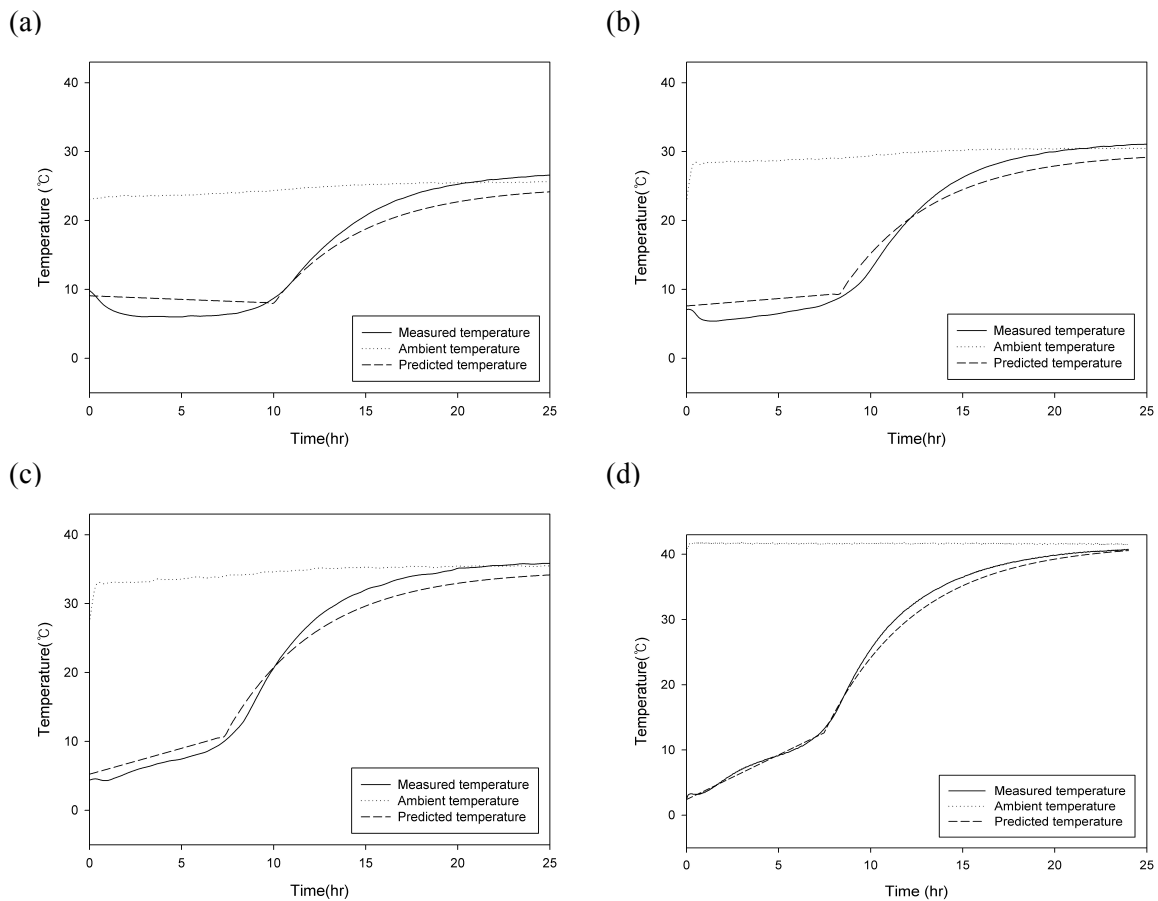


Fig. 114. Measured and predicted temperature profiles of sprouts under 25°C (a), 30°C (b), 35°C (c), and 40°C (d) with MPA.

시에에는 초기 구간에서의 온도를 상수로 고정함으로써 오차가 발생하였지만, 이 역시 초기의 낮은 온도범위에서는 새싹채소의 품질에 큰 영향을 주지 않을 것으로 생각되어 차이를 무시하였다. 이후 구간에서는 모든 조건에서 지수구간이 시작하는 부분에서 약간의 오차가 발생하였으나, 최종온도는 거의 일치하는 등 측정값과 예측값이 매우 근사한 모습을 나타내었다.

변온조건에서 모형식을 검증하기 위하여 sine 곡선형태의 변온조건을 설정하여 SAP와 RT-2 적용시의 온도 profile을 측정하였다. 또 위의 식 (10)과 (11)을 이용하여 온도 profile을 예측한 결과를 비교하였다(Fig. 117). 이 때 각 구간을 나누는 상변화 종료시간은 변온조건에서 0-24시간동안의 평균온도인 27.84°C를 이용하여 식 (5)-(8)을 통해 계산한 값을 사용하였다. SAP 적용시에는 3.7시간에 용기 위쪽 축냉재의 상변화가 끝나 일정하게 유지되던 품온이 선형으로 증가하다가 7.7시간에 용기 아래쪽 축냉재의 상변화까지 끝나면서 지수함수 형태로 품온이 상승한다. 초기 3시간동안 1-2°C의 품온 차이를 보이는 구간과 선형구간에서 지수구간으로 변하는 구간에서 1-2°C의 차를 보이는 것 외에 전 구간에

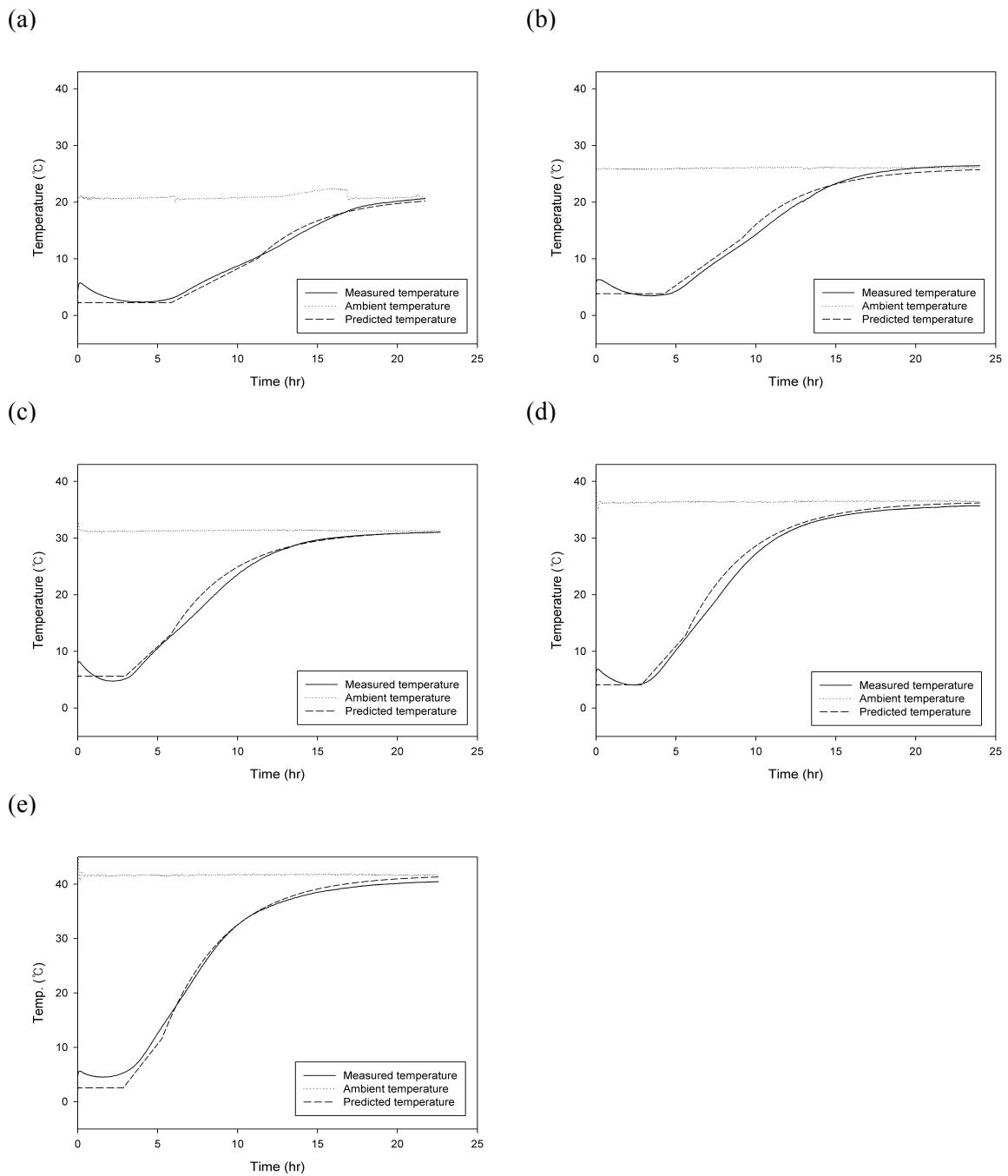


Fig. 115. Measured and predicted temperature profiles of sprouts under 20°C (a), 25°C (b), 30°C (c), 35°C (d), and 40°C (e) with SAP.

서 매우 근사한 값을 보였으며 최종온도는 실험결과와 예측값이 동일한 값을 가졌다. RT-2 적용시에는 2.35시간에 용기 위쪽 축냉재의 상변화가 끝나면서 품온이 선형으로 증가하다가 6.3시간에 용기 아래쪽 축냉재의 상변화까지 끝나면서 지수함수 형태로 품온이 상승한다. 9시간 이후 실험결과에서 온도가 외부 온도보다 높게 올라가 예측값과 1-2°C의 온도 차이를 보이거나 다시 온도 차이를 줄이며 최종온도는 동일한 값을 보였다. 이를 통해

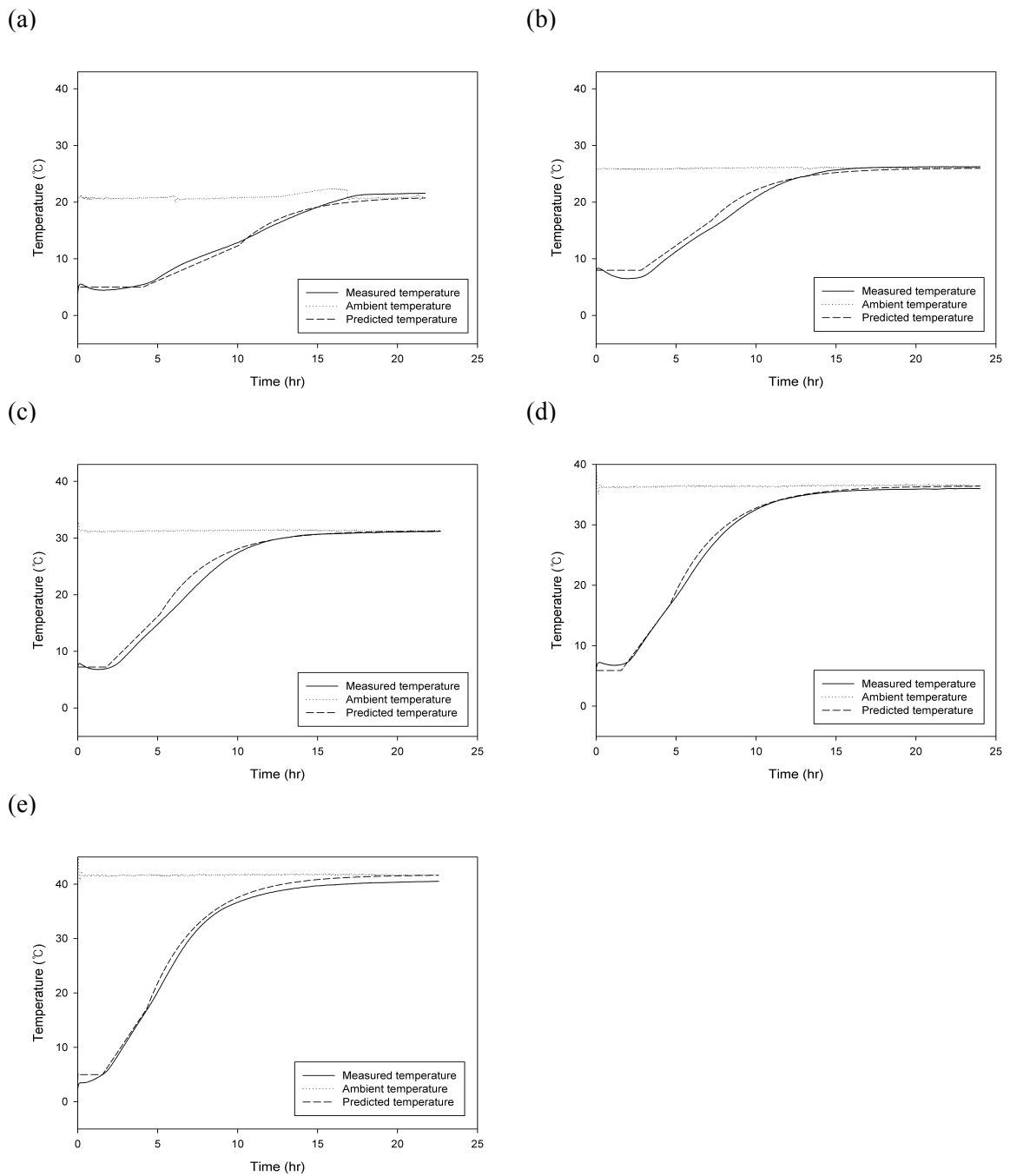


Fig. 116. Measured and predicted temperature profiles of sprouts under 20°C (a), 25°C (b), 30°C (c), 35°C (d), and 40°C (e) with RT-2.

식 (10)-(11)의 모형식이 변온조건에서도 품온을 예측할 수 있음을 확인할 수 있었다.

마지막으로 새싹채소의 유통 가능시간 예측모형을 설정하여 검증하기 위해 유통 중 새싹채소의 품질을 유지할 수 있는 기준 온도를 10°C, 15°C 및 20°C로 가정하고 각 정온조건에서의 온도 profile에서 새싹채소의 온도가 10°C, 15°C 및 20°C에 도달하였을 때의 시

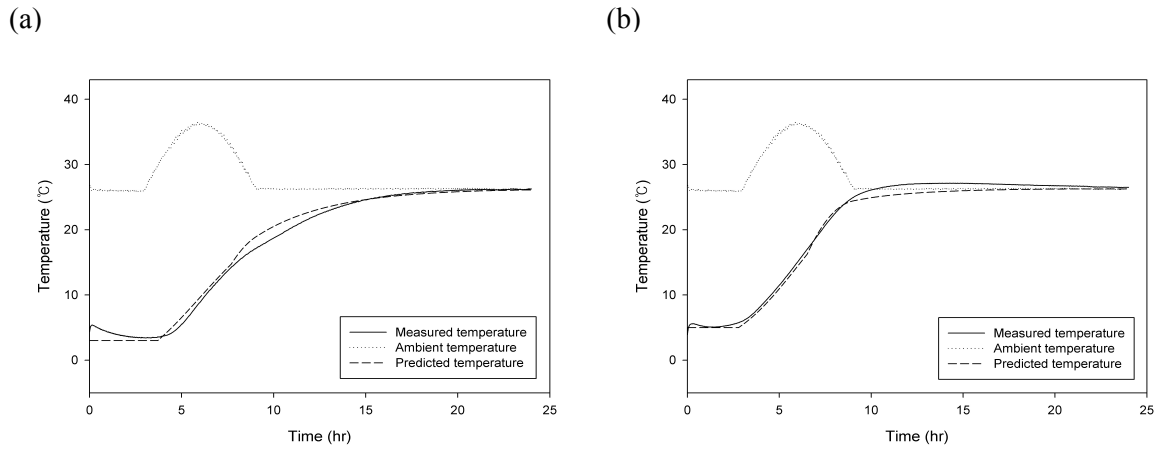


Fig. 117. Measured and predicted temperature profiles of sprouts under sine type temperature fluctuation with SAP (a), and RT-2 (b).

간을 찾아 외부온도와 도달시간에 대한 plot과 외부온도의 역수와 도달시간에 자연로그를 취한 값에 대한 plot을 그린 후 회귀분석을 통하여 외부온도에 따른 새싹채소의 유통 가능시간 예측 모형을 설정하였다. 이 모형을 검증하기 위하여 sine 곡선형태 변온조건 의 평균온도를 대입한 모형식의 계산값과 실제 변온조건에서의 실험결과를 비교하였다.

새싹채소는 유통 중 온도관리가 신선도 및 품질을 유지하는데 가장 중요한 요인으로 유통 중 새싹채소의 품질을 유지할 수 있는 기준 온도를 10°C, 15°C와 20°C로 가정하면, 포장 내부의 품온이 10°C, 15°C와 20°C에 도달할 때까지 걸린 시간(Fig. 118)을  $t_{10}$ ,  $t_{15}$ 와  $t_{20}$ 이라 하고, 이를 새싹채소의 유통 가능시간으로 사용할 수 있다. MPA를 적용하였을 경우 외부온도의 상승에 따라  $t_{10}$ ,  $t_{15}$ 와  $t_{20}$ 은 1차적으로 감소하는 경향을 보였고 Arrhenius type의 plot에서도 강한 선형성을 보였다. 하지만 SAP와 RT-2를 적용하였을 경우에는 온도가 상승함에 따라  $t_{10}$ ,  $t_{15}$ 와  $t_{20}$ 이 감소하였으나 30°C 이상의 온도에서는 뚜렷한 차이를 보이지 않았다. 이는 외부로부터 보냉용기에 전달되는 열이 제한적이어서 외부온도와 온도차이가 커져도 내용물에 전달되는 열량에는 상한선이 있는 것으로 생각된다. 이러한 경향성을 통해 SAP와 RT-2를 적용하였을 때의  $t_{10}$ ,  $t_{15}$ 와  $t_{20}$ 와 외부온도의 상관관계는 지수함수 형태를 보일 것으로 예상하였다. 각각의 plot에 대해 회귀분석을 통해 다음과 같은 예측모형을 나타내었다.

· MPA

$$(a): t_{10(\text{or } 15 \text{ and } 20)} = a + bT_e \quad (12)$$

$$(b): \ln(t_{10(\text{or } 15, 20)}) = a + \frac{b}{T_e} \quad (13)$$



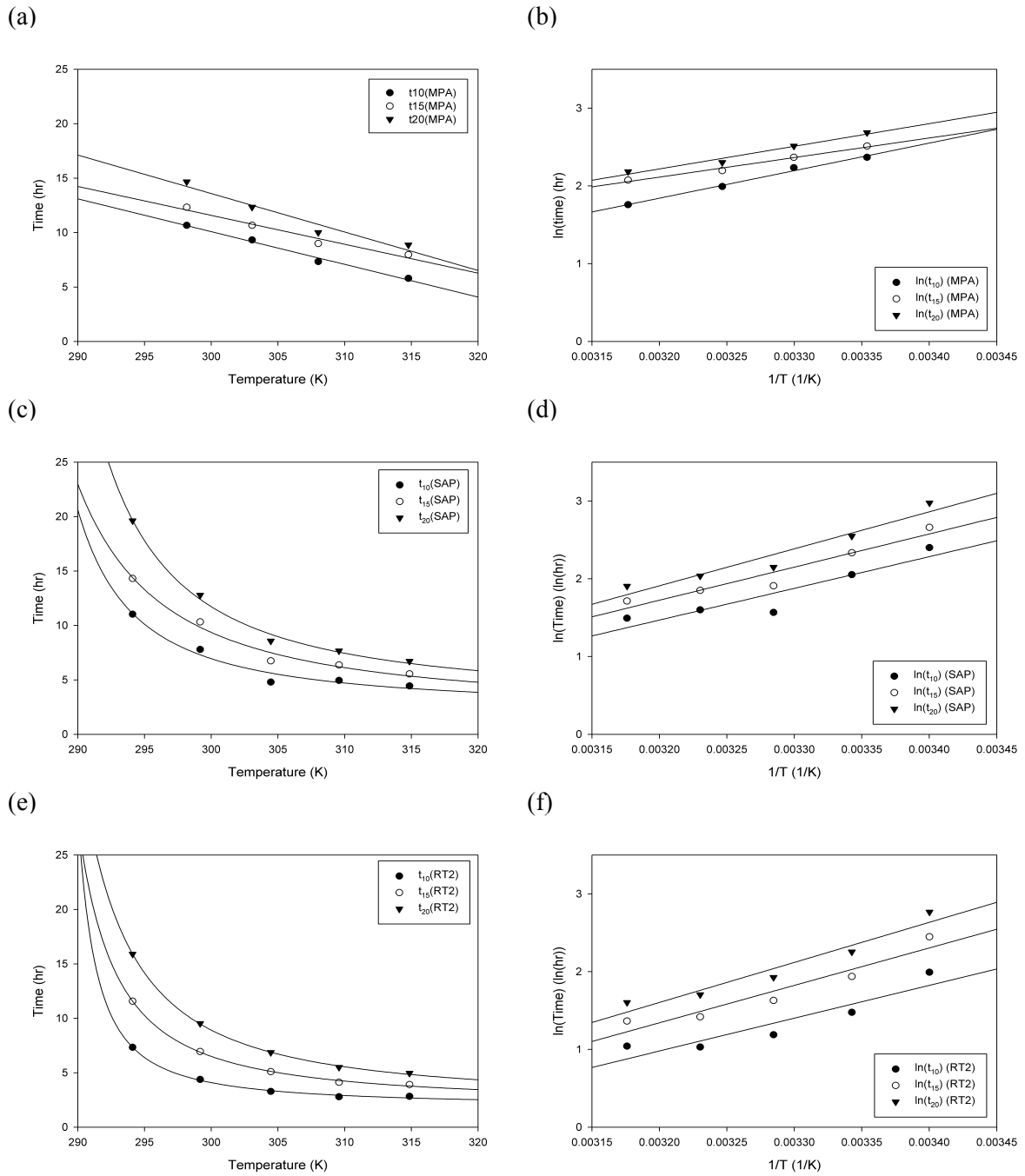


Fig. 118. Time at  $T=10^{\circ}\text{C}$ ,  $15^{\circ}\text{C}$  and  $20^{\circ}\text{C}$  ( $t_{10}$ ,  $t_{15}$  and  $t_{20}$ ) under  $20^{\circ}\text{C}$ ,  $25^{\circ}\text{C}$ ,  $30^{\circ}\text{C}$ ,  $35^{\circ}\text{C}$  and  $40^{\circ}\text{C}$  with MPA (a)-(b), SAP (c)-(d), and RT-2 (e)-(f).

• SAP and RT-2

$$(c) \text{ and } (e): t_{10(\text{or } 15, 20)} = a \exp\left(\frac{b}{T_e + c}\right) \quad (14)$$

$$(d) \text{ and } (f): \ln(t_{10(\text{or } 15, 20)}) = a + \frac{b}{T_e} \quad (15)$$

Table 25. Parameters of models for  $t_{10}$ ,  $t_{15}$  and  $t_{20}$

| Refrigerant type |          | Linear / Exponential decay |         |           |                | Arrhenius type |           |                |
|------------------|----------|----------------------------|---------|-----------|----------------|----------------|-----------|----------------|
|                  |          | a                          | b       | c         | R <sup>2</sup> | a              | b         | R <sup>2</sup> |
| MPA              | $t_{10}$ | 100.3411                   | -0.3008 | -         | 0.9877         | -9.4950        | 3542.9987 | 0.9904         |
|                  | $t_{15}$ | 91.1854                    | -0.2653 | -         | 0.9650         | -5.9343        | 2515.0699 | 0.9849         |
|                  | $t_{20}$ | 119.5737                   | -0.3537 | -         | 0.9481         | -7.0996        | 2912.1226 | 0.9732         |
| SAP              | $t_{10}$ | 2.0743                     | 25.5623 | -278.8682 | 0.9676         | -11.5797       | 4077.9470 | 0.8555         |
|                  | $t_{15}$ | 1.8758                     | 44.8862 | -272.0840 | 0.9835         | -11.9200       | 4263.9478 | 0.9254         |
|                  | $t_{20}$ | 2.6401                     | 34.1270 | -277.1139 | 0.9947         | -13.3127       | 4757.2252 | 0.9298         |
| RT-2             | $t_{10}$ | 1.7887                     | 11.8115 | -285.7416 | 0.9964         | -12.5204       | 4218.9628 | 0.8571         |
|                  | $t_{15}$ | 1.9340                     | 22.2122 | -281.6928 | 0.9988         | -14.0564       | 4812.3055 | 0.9162         |
|                  | $t_{20}$ | 2.0730                     | 30.3075 | -279.2346 | 0.9996         | -14.8812       | 5151.7736 | 0.9382         |

위의 식 (12)-(15)에서  $t_{10}$  (or 15, 20) = 품온이 10°C(or 15°C, 20°C)에 도달하는데 걸린 시간 (hr),  $T_e$  = 외부 온도(°C)를 의미한다. 이 예측모형들의 계수는 Table 25에 나타내었다. 이 예측모형을 이용하면 임의의 정온조건에서 새싹채소의 유통 가능시간을 간편하게 계산할 수 있다.

변온조건에서 유통 가능시간 예측모형을 검증하기 위하여 sine 함수형태의 변온조건 (Fig. 113)에서의  $t_{10}$ ,  $t_{15}$  및  $t_{20}$ 을 식 (14)와 (15)를 이용하여 예측하고 실험결과에서 구한 값과 비교하여 Table 26에 나타내었다. RT-2를 적용하였을 때의  $t_{20}$ 을 제외하면 1시간 이상 차이나는 경우가 없으며 error(%)도 대부분 10%를 넘지 않았다. 이처럼 변온조건에서도 평균온도를 이용하면 예측모형을 활용하여 새싹채소의 유통 가능시간을 간편하게 예측할 수 있다.

전술한 변온조건은 여름철 가장 더운 날의 기온변화를 모형화한 한 조건으로 주간 최고기온을 35°C로 가정하고 출고시간을 8시로 가정하여 11시부터 기온이 상승하여 오후 2시에 최고기온을 기록한 뒤 오후 5시까지 서서히 떨어지는 형태를 갖고 있다. 이러한 최

Table 26. Measured and predicted values for  $t_{10}$ ,  $t_{15}$  and  $t_{20}$  under sine type temperature fluctuation

| Refrigerant type |               | $t_{10}$ (hr) | Error (%) | $t_{15}$ (hr) | Error (%) | $t_{20}$ (hr) | Error (%) |
|------------------|---------------|---------------|-----------|---------------|-----------|---------------|-----------|
| SAP              | Measured      | 6.317         | -         | 8.000         | -         | 10.800        | -         |
|                  | Equation (14) | 6.589         | -4.3      | 8.865         | -10.8     | 11.028        | -2.1      |
|                  | Equation (15) | 6.715         | -6.3      | 8.824         | -10.3     | 11.201        | -3.7      |
| RT-2             | Measured      | 4.550         | -         | 5.983         | -         | 7.333         | -         |
|                  | Equation (14) | 3.882         | 14.7      | 6.116         | -2.2      | 8.351         | -13.9     |
|                  | Equation (15) | 4.182         | 8.1       | 6.393         | -6.9      | 8.602         | -17.3     |

악의 외부 환경에서 SAP 축냉재를 적용하면 품온 15°C 이하에서 8시간, RT-2 축냉재를 적용하면 약 6시간동안 품질유지를 할 수 있을 것으로 나타났다. 이 결과는 최악의 상황에서 일어나는 것으로 보다 온도가 낮은 일반적인 조건에서는 유통 가능시간이 12-16시간 이상 보장될 것이다.

한편 새싹채소의 호흡이 유통 중 포장내부 온도변화에 미치는 영향을 분석하고자 메밀 새싹의 호흡특성을 조사하였다. 이미 선행연구에서 검토된 바와 같이 메밀 새싹의 호흡률은 5°C에서 24 mL/kg·hr, 10°C에서 49 mL/kg·hr, 20°C에서 212 mL/kg·hr, 30°C에서 359 mL/kg·hr로서 온도증가에 따라 지수적인 상승을 나타내었으며, 5-30°C 온도조건 내에서는 RQ가 1.10-1.21 범위로서 정상적인 호기호흡을 하고 있는 것을 알 수 있었다(Fig. 1). 메밀 새싹 호흡반응의 온도의존성을 정확하게 확인하기 위해 Arrhenius 방정식을 이용하여 온도와 호흡률간의 상관관계를 살펴본 결과(Fig. 1), 산소 소비속도와 이산화탄소 발생속도가 모든 온도범위 내에서 상관성 높은 선형관계를 나타내었다( $R^2 = 0.9653-0.9655$ ). 메밀 새싹의 호흡반응 활성화 에너지( $E_a$ )는 78.6-79.2 kJ/mol, 빈도인자( $k$ )는  $1.6-2.4 \times 10^{16}$ 로 나타났다. 메밀 새싹의 호흡반응에 의해 발생하는 호흡열은 이산화탄소 발생속도로부터 환산식( $1 \text{ mg CO}_2 = 2.55 \text{ cal}$ )을 이용하여 구할 수 있는데, 400 g의 메밀 새싹을 2.4 L 용기에 넣어 정온조건에서 측정하였을 때, 5°C에서 1.9 J/hr, 10°C에서 3.8 J/hr, 20°C에서 15.8 J/hr, 30°C에서 25.9 J/hr를 나타내었다. SAP 보냉재의 열저장용량이 350.7 kJ/kg이고 350 g의 SAP 보냉재가 다 녹는데 걸린 시간이 20°C에서는 11.28시간이다. SAP 보냉재가 다 녹을 때까지 외부로부터 받은 열량이 일정하다고 가정하면 SAP는 10.88 kJ/hr의 속도로 열이 전달된다고 할 수 있다. 이에 비해 20°C에서의 새싹 호흡열은 15.8 J/hr로 외부로부터의 전달 열에 비해 극히 미미하다고 할 수 있으며, 이는 유통 중 품온 변화에 큰 영향을 주지 않는다고 할 수 있다.

유통 중 새싹채소의 품질유지 효과를 최적화할 수 있는 포장방법을 설계하기 위하여 본 연구를 통해 얻은 결과를 정리해 보면, 온도감응 기능성 포장재를 적용했을 때 품온 상승 억제효과는 동일한 양의 축냉재를 적용하였을 경우 SAP 보냉재가 가장 크고, RT-2, MPA 순으로 나타났다. SAP과 RT-2 보냉재는 새싹용기를 감싸는 형태로 용기의 상·하부 및 두 측면에서 새싹채소로부터의 열을 빼앗거나 외부로부터의 전달 열을 막음으로써 더 효과적으로 품온 상승을 억제하는 것으로 나타났으며, 특히 SAP 보냉재는 RT-2에 비해 열저장용량이 약 150 kJ/kg 더 크기 때문에 더 오래 저온을 유지하는 것으로 나타났다. SAP은 용융점이 2°C, RT-2는 6°C로 RT-2는 SAP에 비해 새싹채소에 냉해를 덜 미칠 것으로 판단되었으나, 내부 단열포장재를 함께 적용하였을 경우 SAP 적용시 품온이 3°C, RT-2 및 MPA 적용시에는 5°C 이하로 떨어지지 않아 축냉재 모두 냉해는 입히지 않을 것으로 생각된다. 아울러 새싹채소에 대한 MAP 처리는 밀폐포장시 호흡과 증산으로 발

생한 수분을 포장용기 밖으로 배출하지 못하는 문제와 이산화탄소 농도를 높였을 때 이취가 발생하는 문제로 단기 유통에 있어서는 통기형 포장이 더 바람직할 수도 있다. 이를 종합해볼 때 새싹채소를 소포장 단위로 유통하기 위해서는 새싹채소 용기를 통기형 포장한 후 내부 단열포장재로 감싸거나 혹은 직접 SAP 보냉재를 적용한 다음 EPS 단열용기에 넣어 유통함으로써 외부 환경으로부터 새싹채소의 품질을 가장 오랫동안 낮은 상태로 유지하여 초기 품질을 최대한 보존할 수 있을 것이다.

### 13. 능동형 MAP 처리의 현장적용 실증시험

새싹채소 생산업체에서 사용하는 관행적 방식의 포장방법과 비교하여 본 연구에서 개발한 온도감응 기능성 포장재인 유연성 보냉재와 능동형 MAP 병용처리 포장방법의 선도 유지 효과를 평가하고자, 선행연구에서 메밀 새싹의 품질유지에 적합한 MAP 조건과 장방형의 SAP 보냉재를 함께 사용하여 소비자 직배송 상품형태로 포장하고 실제 택배운송으로 유통시킨 후 새싹의 품질변화를 측정하였다(Figs. 119 & 120).

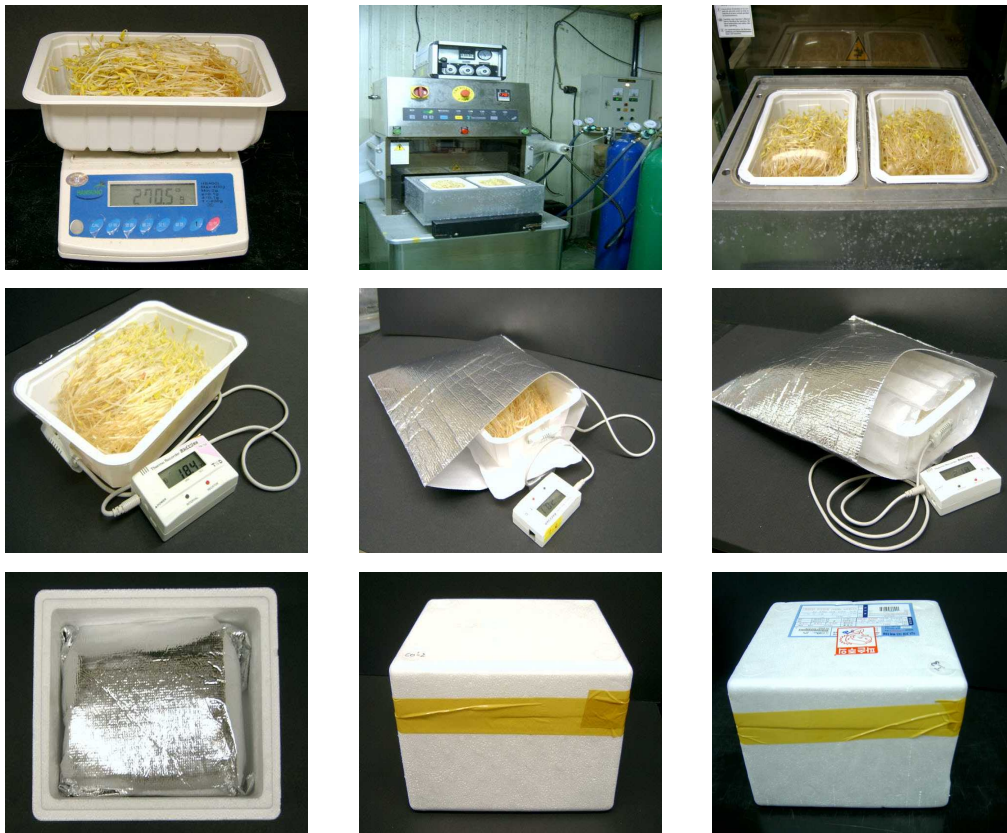


Fig. 119. Packaging steps of buckwheat sprout treated with the selected MA conditions and flexible SAP refrigerant in EPS boxes for the feasibility test of consumer distribution. Work flowchart: weighing, gas flushing and tray sealing in automatic MAP machine, wrapping in aluminum barrier envelope with refrigerants, packing in EPS boxes and sealing, delivering.

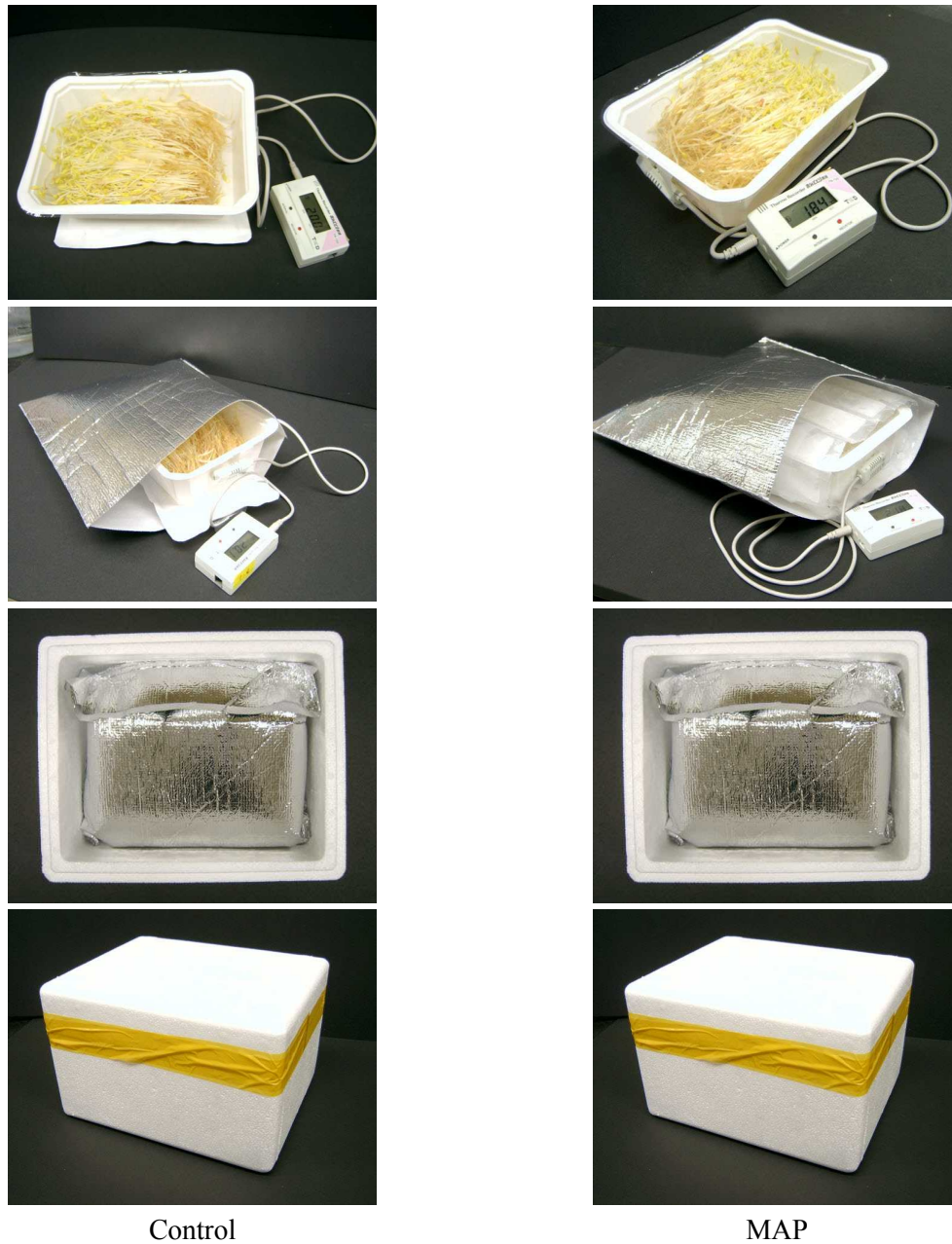


Fig. 120. Packing flowchart of buckwheat sprout treated with the selected MA packaging conditions and refrigerants (a typical block refrigerant: left and flexible SAP: right) in EPS boxes for transportation and delivery at ambient temperature.

적정 조건의 MAP와 유연성 SAP 보냉재로 단열 포장하여 실제 상품배송 경로로 유통시켰을 때 새싹채소 포장용기의 내부 온도변화를 측정된 결과(Fig. 121), SAP 포장용기의 초기 내부온도는 평균 5.8°C이었으며 약 5시간 동안 초기 온도를 유지하였다. 그러나 유통 중 용기의 내부 온도는 서서히 상승하여 발송 12시간 이후에는 일반 얼음팩 포장구의 내부 온도인 13°C를 상회하기 시작하였으며, 21시간 후에는 점차 외기 온도에 근접하여 약 22°C까지 상승하였다. 반면에 대조구로 사용된 일반 얼음팩 포장용기의 초기 내부온

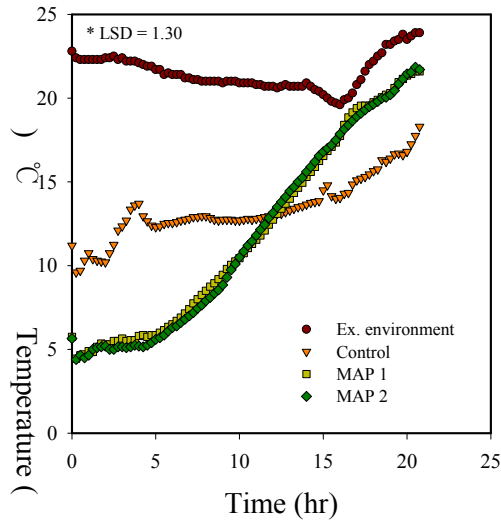


Fig. 121. Temperature profiles of the outside of buckwheat sprout tray treated with the selected MA packaging conditions and refrigerants in EPS boxes during transportation and delivery at ambient temperature in October 2009. Control: perforated tray with an ice pack and insulation bag, MAP1: 40% O<sub>2</sub> + 60% N<sub>2</sub> with SAP and insulation bag, MAP2: 60% O<sub>2</sub> + 40% N<sub>2</sub> with SAP and insulation bag.

도는 9.6°C이었지만 발송 후 10시간동안 약 3°C의 온도상승이 있었으며 이후에도 완만히 상승하여 21시간째에 18°C에 도달하였다. 결과적으로 일반 얼음팩 보다 훨씬 더 낮은 초기 온도를 유지할 수 있는 유연성 SAP 보냉재의 15°C 이하 저온 유지시간은 약 12-13시간이었으며, 이후 시간대에서는 일반 보냉재보다 먼저 온도가 상승함으로 인하여 내용물인 새싹채소의 유통 중 품질관리에 다소 어려움을 겪을 수 있는 가능성을 확인하였다.

실제 택배운송 과정을 거쳐 유통시킨 후 새싹채소 포장용기 내부의 기체조성 변화를 살펴본 결과(Fig. 122), 40% O<sub>2</sub>와 60% O<sub>2</sub> 처리구의 산소농도는 17.7±3.8%와 41.7±5.6%로 감소하였고, 각각의 CO<sub>2</sub> 농도는 19.1±4.4%, 21.8±3.9%로 증가하였다. 포장용기 내부의 산소농도는 초기 주입한 O<sub>2</sub> 농도에 상관없이 새싹채소의 호흡에 의해 일정한 비율로 소모되었으며, CO<sub>2</sub> 농도도 마찬가지로 일정하게 생성되어 최종 20% 내외에 도달하였다.

장방형의 유연성 SAP 보냉재와 고산소 MAP를 병용 처리하여 유통시켰을 때 메밀 새싹채소의 수분함량은 초기 시료에서 96.74±0.18%를 나타내었고, 21시간 경과 후 대조구는 96.69±0.23%, 40% O<sub>2</sub> 처리구는 96.60±0.22%, 60% O<sub>2</sub> 처리구는 96.63±0.15%로 초기 값과 전혀 차이가 없었다(Fig. 123). 가용성 고형분함량도 마찬가지로 초기 1.63±0.15%Brix이던 것이 21시간 경과 후 대조구는 1.80±0.23%, 40% O<sub>2</sub> 처리구는 1.48±0.21%, 60% O<sub>2</sub> 처리구는 1.48±0.31%로서 오차범위내에서 일정하게 유지되었음을 알 수 있다(Fig. 123).

새싹채소의 유통 중 미생물 증식과 관련하여 메밀 새싹의 중온 호기성 미생물 생균수

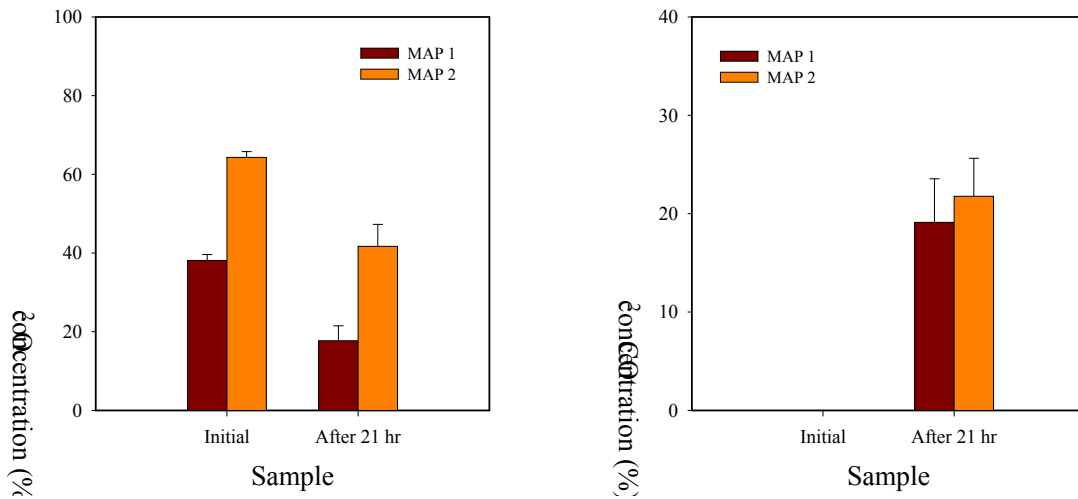


Fig. 122. Changes in oxygen (left) and carbon dioxide (right) concentrations of buckwheat sprout packages treated with the selected MA packaging conditions and refrigerants in EPS boxes after transportation and delivery at ambient temperature for 21 h. MAP1: 40% O<sub>2</sub> + 60% N<sub>2</sub>, MAP2: 60% O<sub>2</sub> + 40% N<sub>2</sub>.

는 초기  $6.5 \pm 2.0 \times 10^5$  CFU/g이었으나, 평균온도 22°C에서 21시간 유통시킨 후에는 대조구  $2.6 \pm 1.1 \times 10^6$  CFU/g, 40% O<sub>2</sub> 처리구  $2.0 \pm 1.1 \times 10^6$  CFU/g, 60% O<sub>2</sub> 처리구  $3.8 \pm 3.2 \times 10^6$  CFU/g로 증가하였다(Fig. 124). 대장균군의 경우에도 초기  $3.7 \pm 1.0 \times 10^5$  CFU/g이었으나 상온 유통 후 대조구  $2.1 \pm 1.3 \times 10^6$  CFU/g, 40% O<sub>2</sub> 처리구  $1.3 \pm 0.5 \times 10^6$  CFU/g, 60% O<sub>2</sub> 처리구  $2.0 \pm 0.9 \times 10^6$  CFU/g로 생균수가 증가하였다. 모든 시험대상 처리구에서 초기 생균수에 비

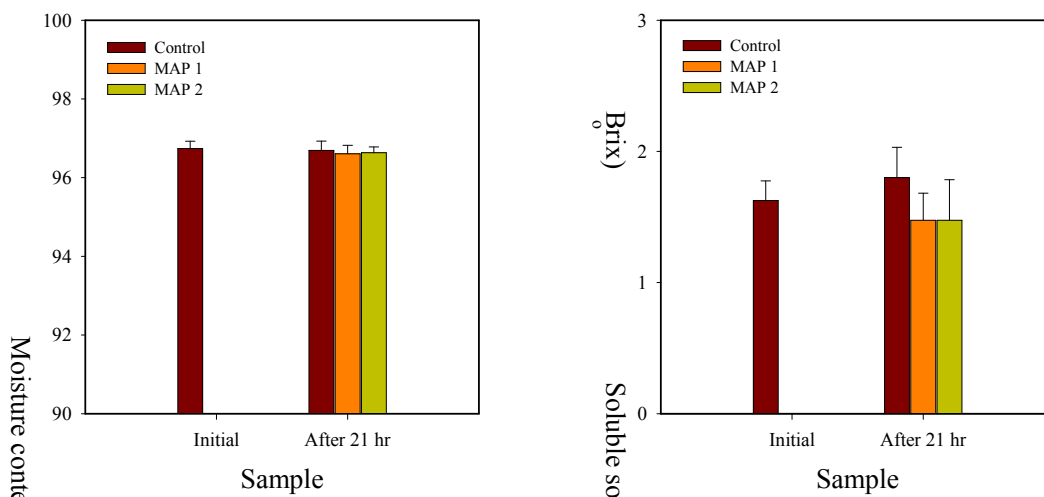


Fig. 123. Changes in moisture content (left) and soluble solids content (right) of buckwheat sprout treated with the selected MA packaging conditions and refrigerants in EPS boxes after transportation and delivery at ambient temperature for 21 h. Control: perforated tray with an ice pack and insulation bag, MAP1: 40% O<sub>2</sub> + 60% N<sub>2</sub> with SAP and insulation bag, MAP2: 60% O<sub>2</sub> + 40% N<sub>2</sub> with SAP and insulation bag.

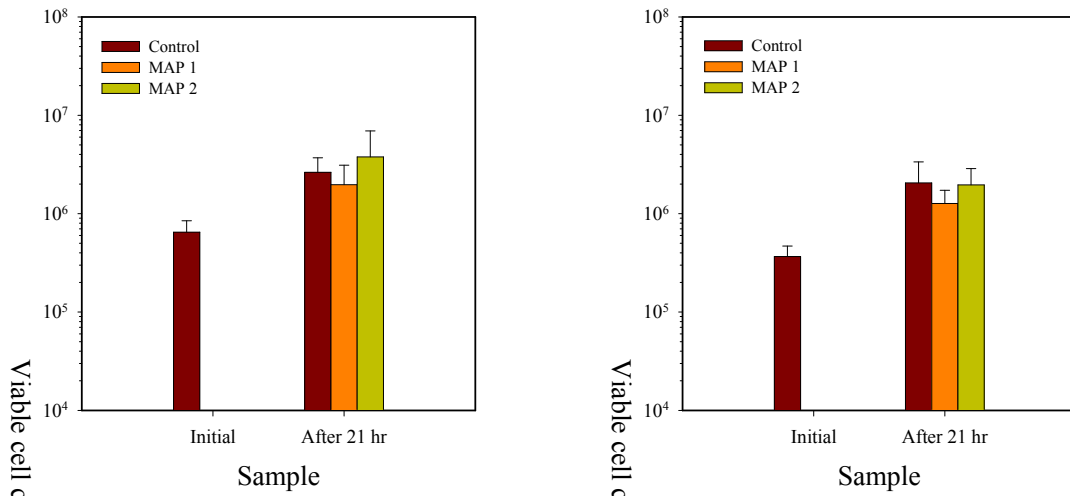


Fig. 124. Changes in mesophilic aerobes (left) and coliform bacteria (right) of buckwheat sprout treated with the selected MA packaging conditions and refrigerants in EPS boxes after transportation and delivery at ambient temperature for 21 h. Control: perforated tray with an ice pack and insulation bag, MAP1: 40% O<sub>2</sub> + 60% N<sub>2</sub> with SAP and insulation bag, MAP2: 60% O<sub>2</sub> + 40% N<sub>2</sub> with SAP and insulation bag.

해 약 1 log cycle 정도 증가하였으며, 대조구와 60% O<sub>2</sub> 처리구에 비해 40% O<sub>2</sub> 처리구의 생균수가 다소 낮게 나타났으나 유의적인 수준은 아니었다.

메밀 새싹의 색변화 측면에서 뿌리부분은 대조구에서 갈변현상이 나타나 Hunter a 값이 다른 처리구에 비해 다소 높게 증가하였으며, 줄기부분에서는 60% O<sub>2</sub> 처리구의 Hunter a 값이 초기 보다 눈에 띄게 변화하였고, 머리부분은 역시 대조구의 Hunter a 값이 가장 낮고 Hunter b 값이 가장 높아 녹변이 일어난 것을 입증할 수 있었다(Fig. 125). 이에 반해 MAP 처리구는 상대적으로 초기 값과의 차이가 크지 않아 변색이 심하지 않음을 알 수 있었다. 이는 부위별 색차 결과를 통해서도 확인할 수 있었는데(Fig. 126), 메밀 새싹의 변색은 주로 머리부분에서 녹변형태로 가장 현저하게 드러나고 줄기와 뿌리 순으로 갈변 또는 황변이 일어나는 것으로 이해된다. 실제로 사람이 육안으로 색을 구분하기 위해서는 통상 기계적인 색차 수치가 약 4.5 정도에 도달할 때에 가능한 것으로 알려져 있으므로, 이를 근거로 메밀 새싹의 부위별 색차 결과를 살펴보면 색차가 10 수준에 달하는 머리부분이 쉽게 확인 가능한 주요 변색지점임을 가늠할 수 있다.

관능평가에서도 변색, 시늬, 부패 항목에서 가장 낮은 점수를 받은 40% O<sub>2</sub> 처리구의 종합적인 외관품질 평가점수가 더 높게 나타났다(Table 27 & Fig. 127). 그러나 MAP 처리구는 밀폐포장이라는 점 때문에 용기 내에 습기가 차 있고 새싹시료는 약간 젖어있는 상태로 보였다. 결과적으로 현재 사용되고 있는 통기방식의 포장으로는 메밀 새싹을 20시간 이상 상온에서 유통시킬 경우 새싹의 뿌리와 머리부분이 심하게 변색될 수 있고 미생



물 증식도 억제하기 어렵다. 그러나 외관품질 변화 및 미생물 증식이 다소나마 억제되는 고산소(40% O<sub>2</sub>) MAP 처리와 단기간 저온유지 능력이 뛰어난 유연성 SAP 보냉재를 사용하여 단열 포장하고 10-12시간 이내의 단기유통에 적용한다면 고품질의 새싹채소를 보다 안전하게 소비자에게 전달할 수 있을 것이라고 생각한다.

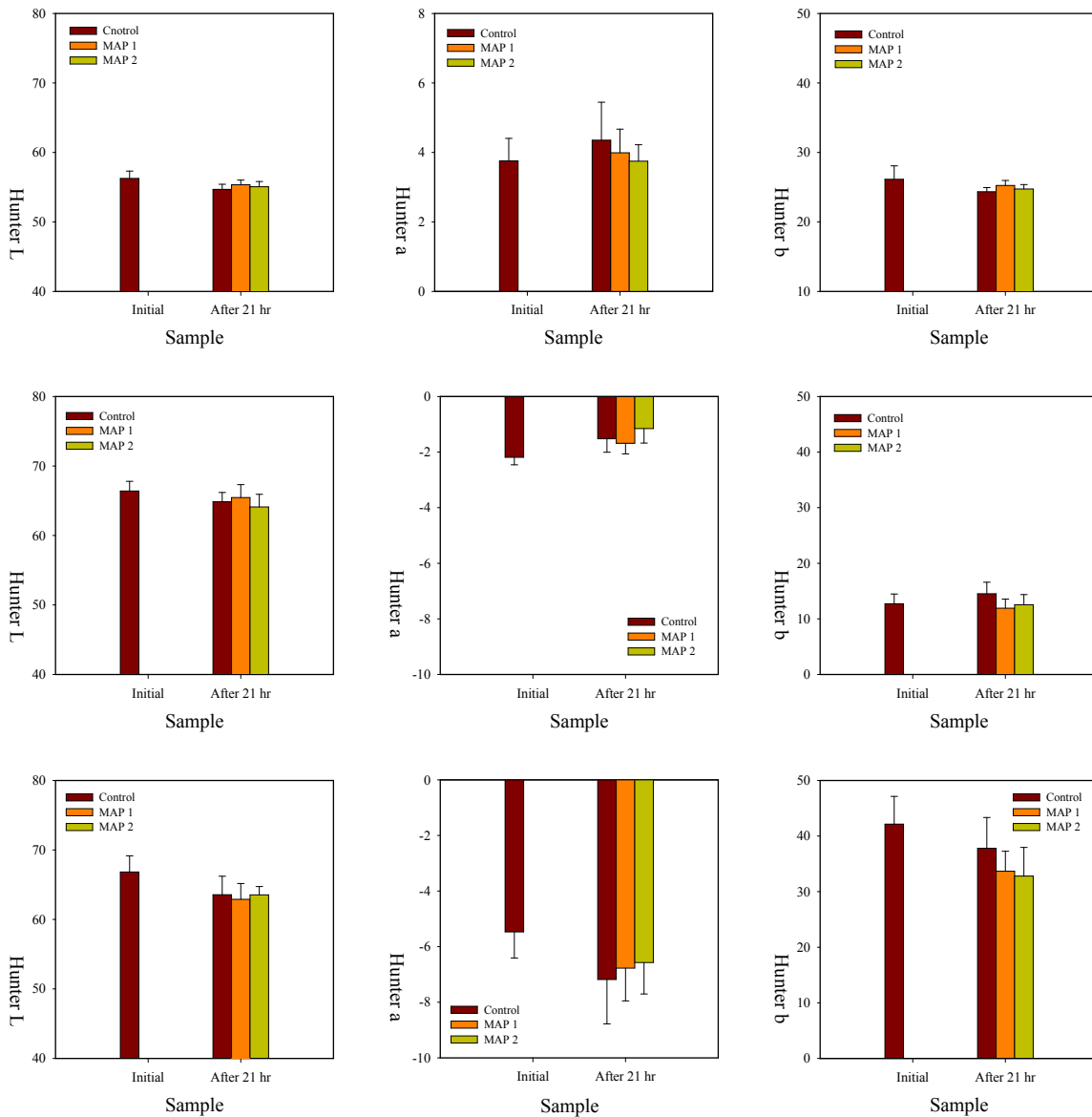


Fig. 125. Changes in Hunter L, a, and b values of buckwheat sprout (root: upper, stem: middle, and head: lower) treated with the selected MA packaging conditions and refrigerants in EPS boxes after transportation and delivery at ambient temperature for 21 h. Control: perforated tray with an ice pack and insulation bag, MAP1: 40% O<sub>2</sub> + 60% N<sub>2</sub> with SAP and insulation bag, MAP2: 60% O<sub>2</sub> + 40% N<sub>2</sub> with SAP and insulation bag.

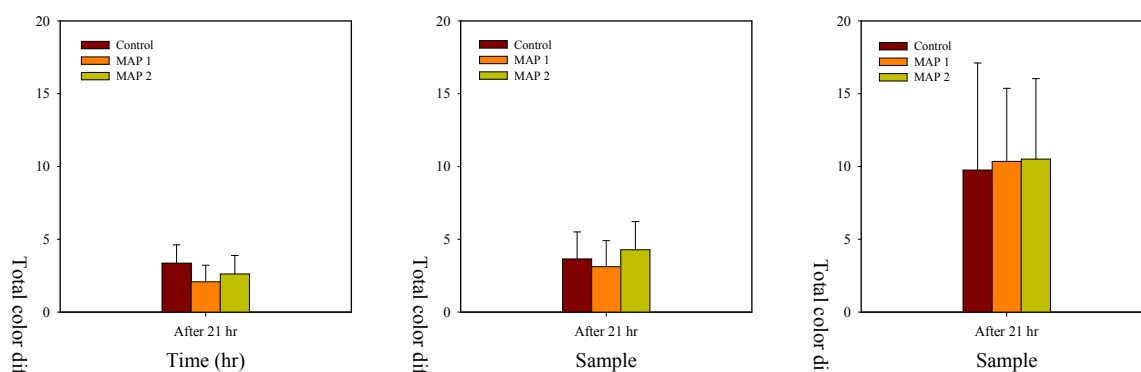


Fig. 126. Changes in total color difference ( $\Delta E$ ) of buckwheat sprout (root: left, stem: center, and head: right) treated with the selected MA packaging conditions and refrigerants in EPS boxes after transportation and delivery at ambient temperature for 21 h. Control: perforated tray with an ice pack and insulation bag, MAP1: 40% O<sub>2</sub> + 60% N<sub>2</sub> with SAP and insulation bag, MAP2: 60% O<sub>2</sub> + 40% N<sub>2</sub> with SAP and insulation bag.

Table 27. Changes in sensory characteristics<sup>1)</sup> of buckwheat sprout treated with the selected MA packaging conditions and refrigerants in EPS boxes after transportation and delivery at ambient temperature for 21 h

| Treatment <sup>2)</sup> | Discoloration |      |       | Wilting | Decay | Overall quality |
|-------------------------|---------------|------|-------|---------|-------|-----------------|
|                         | head          | stem | root  |         |       |                 |
| Control                 | 6.0a          | 6.3a | 6.5a  | 6.0a    | 3.2a  | 3.5b            |
| MAP 1                   | 4.3b          | 3.8b | 5.3ab | 3.5b    | 2.3a  | 6.2a            |
| MAP 2                   | 4.7b          | 4.5b | 4.0b  | 3.7b    | 2.2a  | 6.0a            |

<sup>1)</sup> The values are means of eight replicates at least. Means followed by the same letter within cells are not significantly different ( $p < 0.05$ , Duncan's test). As the value increases from 1 to 9, the intensity of sensory characteristics increases.

<sup>2)</sup> Control : Perforated PP tray + ice pack + insulated bag, MAP 1 : 40% O<sub>2</sub> + 0% CO<sub>2</sub> + 60% N<sub>2</sub> + SAP + insulated bag, MAP 2 : 70% O<sub>2</sub> + 0% CO<sub>2</sub> + 30% N<sub>2</sub> + SAP + insulated bag



Fig. 127. Appearance of buckwheat sprout treated with the selected MA packaging conditions and refrigerants in EPS boxes after transportation and delivery at ambient temperature for 21 h. Control: perforated tray with an ice pack and insulation bag, MAP1: 40% O<sub>2</sub> + 60% N<sub>2</sub> with SAP and insulation bag, MAP2: 60% O<sub>2</sub> + 40% N<sub>2</sub> with SAP and insulation bag.

## 제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

| 구 분            | 연구목표 및 평가의 착안점                             | 연구개발목표의 달성도(%) | 관련분야 기술발전에의 기여도 |
|----------------|--|----------------|-----------------|
| 1차년도<br>(2007) | ○ 새싹채소의 특성 분석, 적정 전처리 및 포장방법에 따른 저장성 평가 여부 | 100            | 매우 큼            |
|                | ○ 기존 유통방식에서 새싹채소의 온도유지 효과 분석 여부            | 100            |                 |
|                | ○ 새싹채소의 적정 수확후 처리 현장적용 실증시험 수행 여부          | 100            |                 |
| 2차년도<br>(2008) | ○ 온도감응 기능성 포장재의 제조 및 적용성 평가 여부             | 100            | 매우 큼            |
|                | ○ 유통중 온도감응 기능성 포장의 온도유지 효과 분석 여부           | 100            |                 |
|                | ○ 온도감응 기능성 포장의 현장적용 실증시험 수행 여부             | 100            |                 |
| 3차년도<br>(2009) | ○ 능동형 MAP 및 온도감응 포장의 적용성 평가 여부             | 100            | 매우 큼            |
|                | ○ 품질영향인자의 유통중 변동 분석 및 예측 여부                | 100            |                 |
|                | ○ 능동형 MAP 처리의 현장적용 실증시험 수행 여부              | 100            |                 |
| 최종평가           | ○ 새싹채소의 특성 분석, 적정 전처리 및 포장방법에 따른 저장성 평가 여부 | 100            | 매우 큼            |
|                | ○ 온도감응 기능성 포장재의 제조 및 적용성 평가 여부             | 100            |                 |
|                | ○ 능동형 MAP 및 온도감응 기능성 포장의 적용성 평가 여부         | 100            |                 |

소포장 새싹채소의 유통 중 신선도 유지 차원에서 수확후 처리와 새로운 포장기법을 적용하여 실제 새싹채소 생산업체에서 활용할 수 있는 실용적인 유통기술을 확립하였다. 이러한 연구결과에 근거하여 최종 연구개발 목표를 충분히 달성하였다고 판단되며, 본 연구개발 결과는 농식품 유통 분야의 기술발전에 크게 기여할 수 있을 것으로 기대된다.

## 제 5 장 연구개발 성과 및 성과활용 계획

### ○ 실용화·산업화 계획(기술실시 등)

새싹채소의 수확후 처리와 선도유지 유통기술을 협동연구기관이자 참여기업인 참한씩(주)에 **유상으로 기술 이전하여 현재 기술실시 중**이며, 향후에도 본 연구 과제를 통해 개발된 새로운 기술을 체계적으로 생산현장에서 활용하고자 적극 노력한다.

### ○ 기술확산 계획(교육·지도·홍보 등)

수확후 관리 및 미생물 안전관리에 근거한 새싹채소의 생산, 유통 기술을 **심포지엄/세미나 강연(4회), 기술지도(3회)** 등의 방법으로 생산업체와 관련단체에 지원하였으며, 향후에도 이를 지속하여 개발기술의 실질적인 현장 활용도를 증진시키고자 노력한다. 아울러 연구결과의 핵심사항은 **대중매체 홍보(1건)** 등을 통해 공개함으로써 개발기술의 적극적인 확산 노력을 기울인다.

### ○ 지식재산권 확보계획(특허, 품종, 논문 등)

소포장 새싹채소의 신선도 유지 유통기술 개발과정에서 얻은 주요 연구결과를 **국내외 학술회의(7건) 및 저명 학술지(3건)**에 보고하여 관련 연구의 기초 자료로 공개하였으며, 새로운 보냉 포장재와 새싹 재배용 유통용기 등의 핵심기술에 대해서는 **특허(2건) 출원**하여 개발기술을 제도적으로 보호하였다. 향후 연구종료 이후에도 주요 연구결과는 지속적으로 저명 학술지에 보고하여 당초 목표 이상의 지식재산권을 확보하고자 한다.

### ○ 추가연구 및 타연구에 활용 계획

후속 연구지원이 이루어질 경우 새싹채소의 미생물 안전성과 상품성을 보다 향상시킬 수 있는 신선 새싹채소의 유통 중 재배기술을 확립하여, 향후 소비자의 접근성이 용이하고 안정성이 확보된 **고품질 새싹채소 DIY 상품의 CVS 유통**을 위한 자가 생산관리지침 및 교육자료 등을 개발할 수 있을 것으로 판단된다.

본 연구개발을 통해 새싹채소의 미생물 안전성 및 품질유지에 적합한 수확후 처리기술을 정립하고 소포장 새싹채소의 유통 중 신선도 유지를 위한 새로운 포장기법을 개발하였으므로, 새싹채소 이외의 신선편이 농식품에 대해 유통 중 미생물로부터 안전성을 확보하고 동시에 고품질을 유지할 수 있도록 개발된 여러 가지 전처리 및 포장기법에 근거한 선도유지 유통기술의 새로운 적용 연구에 활용 가능할 것으로 판단된다.

# 제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보

## - Food Safety Related Web Sites in US Government (http://www.foodsafety.gov/)

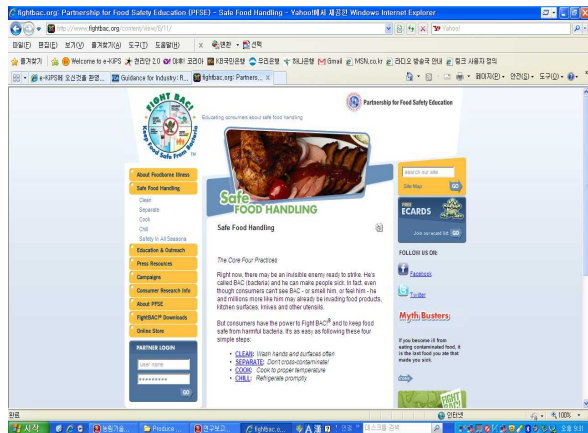
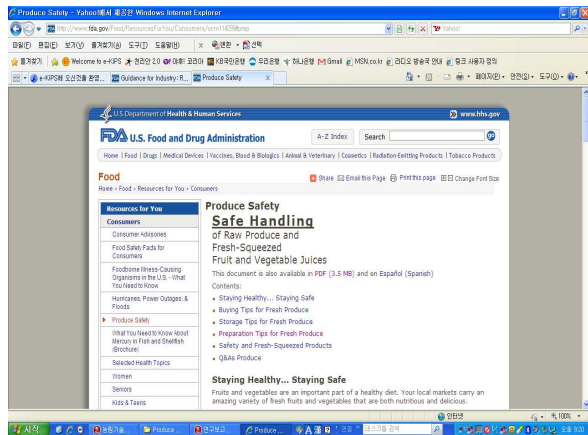
- FDA(Food and Drug Administration)
- CFSAN(Center for Food Safety and Applied Nutrition)
- CDC(Centers for Disease Control and Prevention)
- PFSE(Partnership for Food Safety Education)
- USDA(United States Department of Agriculture)

## - Guidance for Industry: Reducing Microbial Food Safety Hazards For Sprouted Seeds (FDA)

## - Guidance for Industry: Guide to Minimize Microbial Food Safety Hazards of Fresh-cut Fruits and Vegetables (FDA)

## - Microbiological Safety Evaluations and Recommendations on Sprouted Seed (FDA)

## - Produce Safety: Safe Handling of Raw Produce and Fresh-Squeezed Fruit and Vegetable Juices (FDA)



## - Guidance for Industry: Reducing Microbial Food Safety Hazards For Sprouted Seeds

October 27, 1999

### GUIDANCE<sup>(1)</sup>

All parties involved in the production of sprouts - seed producers, seed conditioners, and distributors, and sprout producers - should be aware that seeds and sprouted seeds have been recognized as an important cause of foodborne illness. The following recommendations identify the preventive controls that the Food and Drug Administration (FDA) believes should be taken immediately to reduce the risk of raw sprouts serving as a vehicle for foodborne illness and ensure sprouts are not adulterated under the food safety provisions of the Food, Drug, and Cosmetic Act (the act). Failure to adopt effective preventive controls can be considered insanitary conditions which may render food injurious to health. Food produced under such conditions is adulterated under the act (21 U.S.C. 342(a)(4)). FDA will consider enforcement actions against any party who does not have effective preventive controls in place, in particular, microbial testing.

These recommendations are based on the recommendations of the National Advisory Committee on Microbiological Criteria for Foods (NACMCF, 1999) and elaborate on Compliance Policy Guide 7120.28 (CPG 7120.28).

**Seed Production:** Seeds for sprout production should be grown under good agricultural practices (GAPs) in order to minimize the likelihood that they will contain pathogenic bacteria. For more information on GAPs, see FDA's 1998 "Guidance for Industry: Guide to Minimize Microbial Food Safety Hazards for Fresh Fruits and Vegetables<sup>1</sup>". Copies of this guidance are available on the internet (<http://www.foodsafety.gov/~dms/prodguid.html>) or by calling the number listed in the references and resources at the end of this guidance.

**Seed Conditioning, Storage, and Transportation:** Seeds that may be used for sprouting should be conditioned, stored, and transported in a manner that minimizes the likelihood that the seeds will be contaminated with pathogens. For example, seed should be stored in closed or covered containers in a clean dry area dedicated to seed storage. Containers should be positioned off the floor and away from walls to reduce the possibility of contamination by rodents or other pests and to facilitate regular monitoring for pest problems.

**Sprout Production:** Sprouters should implement appropriate practices to ensure that sprouts are not produced in violation of the act which prohibits the production of food under insanitary conditions which may render food injurious to health (21 U.S.C. 342(a)(4)). In addition to seed treatment and testing for pathogens (see below), sprouters should maintain facilities and equipment in a condition that will protect against contamination. Facilities with poor sanitation can significantly increase the risk of contaminating product. Sprouters should employ good sanitation practices as a standard operating procedure to maintain control throughout all stages of sprout production. Inadequate water quality and poor health and hygienic practices can all increase the risk of food becoming contaminated with pathogens. Sprouters may wish to review 21 CFR Part 110 which sets forth good manufacturing practices (GMPs) in manufacturing, packaging, or holding human food that cover these aspects of food production.

**Seed Treatment:** Seeds for sprouting should be treated with one or more treatments (such as 20,000 ppm calcium hypochlorite<sup>(2)</sup>) that have been approved for reduction of pathogens in seeds or sprouts. Some treatments can be applied at the sprouting facility while others will have to be applied earlier in the seed production process. However, at least one approved antimicrobial treatment should be applied immediately before sprouting<sup>(3)</sup>. Sprouters should carefully follow all label directions when mixing and using antimicrobial chemicals.

**Testing for Pathogens:** Because currently approved antimicrobials have not been shown to be capable of eliminating all pathogens from seed, sprout producers should conduct microbiological testing of spent irrigation water from each production lot to ensure that contaminated product is not distributed. Because testing for pathogens can be done with irrigation water as early as 48 hours into what is generally a 3 to 10 day growing period, producers who plan accordingly can obtain test results before shipping product without losing product shelf-life. Testing, whether done by the producer or contracted out, should be done by trained personnel, in a qualified laboratory, using validated methods. Additional information on sample collection and microbial testing, including how to sample and test sprouts when testing spent irrigation water is not practicable (as may be the case with soil-grown sprouts), can be found in a companion guidance document referenced below.

**Traceback:** Traceback cannot prevent a foodborne illness outbreak from occurring. However, being able to trace a food back to its source quickly can limit the public health and

economic impacts of an outbreak, if it occurs. Information gained in traceback investigations may also help prevent future outbreaks. Sprout producers, seed producers, conditioners and distributors should develop and implement systems to facilitate traceback and recalls in the event of a problem. All parties should test their systems in advance of a real problem.

### **References and resources**

1. FDA. 1982. Compliance Policy Guide Sec. 555.750 Seeds for Sprouting Prior to Food Use, i.e., Dried Mung Beans, Alfalfa Seeds, etc. (CPG 7120.28) can be viewed and printed from the web page at the following address [http://www.fda.gov/ora/compliance\\_ref/cpg/cpgfod/cpg555-750.html](http://www.fda.gov/ora/compliance_ref/cpg/cpgfod/cpg555-750.html) (Updated web reference: CPG Sec. 555.7502)
  2. FDA. 1998. Guidance for Industry - Guide to Minimize Microbial Food Safety Hazards for Fresh Fruits and Vegetables<sup>3</sup> can be viewed and printed from the web page at the following address <http://www.foodsafety.gov/~dms/prodguid.html> or may be obtained by calling 202-401-9725.
  3. FDA. 1999. Press Release - Consumers Advised of Risks Associated with Raw Sprouts. P99 - 13. <http://www.fda.gov/bbs/topics/NEWS/NEW00684.html>
  4. FDA. 1999. "Guidance for Industry: Sampling and Microbial Testing of Spent Irrigation Water During Sprout Production" can be viewed and printed from the web page at <http://www.cfsan.fda.gov/~dms/sprougd2.html>.
  5. National Advisory Committee on Microbiological Criteria for Foods. 1999a. Microbiological Safety Evaluations and Recommendations on Sprouted Seeds. <http://www.cfsan.fda.gov/~mow/sprouts2.html>.
  6. National Advisory Committee on Microbiological Criteria for Foods. 1999b. Microbiological Safety Evaluations and Recommendations on Fresh Produce. Food Control 10: 117 - 143.
  7. Copies of Federal regulations in the Code of Federal Regulations (CFR) may be purchased from the U.S. Government Printing Office or by telephone at (202) 512 - 1800. The CFR is also available at local branches of U.S. Government Printing Office Bookstores. Information on location of regional branches is available on the web page at the following address: <http://www.cfsan.fda.gov/~lrd/ob-reg.html>
  8. Sections of the CFR, such as 21 CFR Part 110 Current Good Manufacturing Practices in Manufacturing, Packing, or Holding Human Food, can be viewed and printed from the web page at the following address: <http://www.access.gpo.gov/nara/cfr/index.html>.
-



Footnotes:

- <sup>(1)</sup> This guidance has been prepared by the Office of Plant and Dairy Foods and Beverages in the Center for Food Safety and Applied Nutrition at the Food and Drug Administration. This guidance represents the agency's current thinking on reducing microbial food safety hazards for sprouted seeds. It does not create or confer any rights for or on any person and does not operate to bind FDA or the public. An alternative approach may be used if such approach satisfies the requirements of the applicable statute and regulations. Following the recommendations in this guidance will not shield any person or any food from appropriate enforcement under the Federal Food, Drug, and Cosmetic Act if adulterated food is distributed in interstate commerce.
- <sup>(2)</sup> In 1998, the Environmental Protection Agency issued a "section 18" for the temporary use of 20,000 ppm calcium hypochlorite to disinfect seed for sprouting. In the fall of 1999, the exemption was renewed for another year. However, in order to ensure continued availability of this treatment, registrants should be actively pursuing a full registration under section 3 in 2000.
- <sup>(3)</sup> Antimicrobials are either pesticides chemicals or food additives, depending on where they are used. As such their use on seeds for sprouting must be approved by EPA or FDA. To find out what antimicrobials have been approved by EPA or FDA for use on seeds for sprouting, you can call 202-418-3098.

---

Federal Register Notice of Availability, 64 FR 57893, Guidance for Industry: Reducing Microbial Food Safety Hazards for Sprouted Seeds and Guidance for Industry: Sampling and Microbial Testing of Spent Irrigation Water During Sprout Production October 27, 1999

Page Last Updated: 07/10/2009

Web page: <http://www.fda.gov/Food/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/GuidanceDocuments/ProduceandPlantProducts/ucm120244.htm>

## **- Guidance for Industry: Sampling and Microbial Testing of Spent Irrigation Water during Sprout Production**

October 27, 1999

### GUIDANCE<sup>(1)</sup>

#### **Introduction**

Raw sprouts have been associated with at least eleven foodborne illness outbreaks since 1995. FDA and other public health officials are working with industry to identify and implement production practices that will assure that seed and sprouted seed are produced under safe conditions. While these efforts have improved food safety awareness within the industry and have led to a significantly better understanding of the microbial ecology of sprout-associated foodborne illness, not all industry segments have been reached and outbreaks continue to occur. Consequently, FDA released a guidance document, entitled "Guidance for Industry: Reducing Microbial Food Safety Hazards for Sprouted Seed" (the "sprout guidance"). The sprout guidance identifies a number of areas, from the farm to the sprout facility, where FDA believes immediate steps should be taken to reduce the risk of sprouts serving as a vehicle for foodborne illness and to ensure that sprouts are not adulterated under the Food, Drug, and Cosmetic Act (the act). Specific recommendations in the sprout guidance include: development and implementation of good agricultural practices and good manufacturing practices in the production and handling of seeds and sprouts, seed disinfection treatments, and microbial testing before product enters the food supply.

The agency will closely monitor the safety of sprouts and the adoption of enhanced prevention practices as set out in the sprout guidance. FDA plans to send investigators to sprouting facilities to test water used to grow sprouts (i.e., spent irrigation water) and assess the adoption of preventive controls. Failure to adopt effective preventive controls can be considered insanitary conditions which may render food injurious to health. Food produced under such conditions is adulterated under the act (21 U.S.C. 342(a)(4)). FDA will consider enforcement actions against any party who does not have effective preventive controls in place, in particular, effective microbial testing.

This guidance document, "Sampling and Microbial Testing of Spent Irrigation Water During

Sprout Production," is intended to assist sprouters in implementing one of the principal recommendations in the broader sprout guidance, i.e., that producers test spent irrigation water for two pathogens (*Salmonella* spp. and *Escherichia coli* O157:H7) before product enters commerce. Instructions are also provided for the sampling and testing of sprouts for those instances when it is not possible to test spent irrigation water. However, for the reasons discussed below, sprouts should not be tested in lieu of irrigation water.

### **Why Test**

*Salmonella* and *E. coli* O157:H7 have been the major causes of sprout-associated illness outbreaks. Seeds are the likely source of contamination in most of these outbreaks. Routine use of approved seed disinfection treatments (such as 20,000 ppm of calcium hypochlorite in water) is likely to reduce the level of contamination if pathogens are present in or on seeds and, in turn, reduce the risk of foodborne illness from the consumption of sprouted seed. However, current approved treatments cannot guarantee total elimination of pathogens. The same conditions that encourage germination and growth of seeds (e.g., temperature, available moisture, and nutrients), also encourage the growth of bacterial pathogens. Even if only a few pathogens survive a seed disinfection treatment, they can grow to high levels during sprouting and contaminate the entire batch. Therefore, seed disinfection treatments should be combined with microbial testing to ensure that pathogens are not present before sprouts enter the food supply.

As additional food safety controls are identified and implemented, the current recommendation to test irrigation water from every batch of sprouts produced may be changed, e.g., to periodic microbial testing as a tool for validating the effectiveness of food safety systems.

### **Who Should Perform The Tests**

#### ***Sample collection***

Sample collection should be done by personnel that have been trained to collect representative samples aseptically. Obviously, sample collection should be done on site, either by employees or by contract personnel. Aseptic sampling procedures are described below.

#### ***Testing***

FDA recommends that all testing for pathogens be conducted in an external, qualified, independent laboratory that should meet several key criteria. First, the lab should be physically

separated from the food production facility to prevent cross-contamination from test materials. This is especially important where the materials used in the enrichment step required before testing and the positive controls (described below) can contain pathogens and if not properly handled may contaminate sprouts.

Second, the laboratory should be staffed by personnel with training and experience in analytical microbiology techniques to ensure that tests are performed correctly and that all appropriate safety precautions, including appropriate waste disposal, are followed. Third, the laboratory should have appropriate resources and a demonstrable quality management system.

If testing is done by the sprouter, then the laboratory facilities, personnel, and management system should also meet all these criteria to ensure that testing is reliable and does not create food safety hazards.

### **Why Sample Irrigation Water**

Procedures are provided for testing spent irrigation water and sprouts. Although each has advantages and disadvantages, FDA is recommending testing spent irrigation water.

Spent irrigation water that has flowed over and through sprouts is a good indicator of the types of microorganisms in the sprouts themselves and the microflora in spent irrigation water is fairly uniform. Thus sampling procedures for spent irrigation water are relatively simple. Furthermore, water can be used directly in the test procedures described here. The only potential disadvantage of testing spent irrigation water is that the level of microorganisms recovered in irrigation water is about 1 log less than the level in sprouts. If pathogens are present in sprouts at very low levels, it is possible that they might be missed in water but recovered in sprouts.

Testing the sprouts themselves has several significant disadvantages. First, multiple sprout samples must be taken from different locations in the drum or trays to ensure that the sample collected is representative of the batch. Furthermore, additional preparation (e.g., selecting representative subsamples for analyses, blending or stomaching, and allowing sprout particles to settle out) is required when testing sprouts. Each additional step in any procedure (sampling or testing) introduces a possibility for error.

Consequently, sprouts should not be tested in place of irrigation water unless production methods make it impossible to test spent irrigation water. For example, spent irrigation water may not be available when sprouts are grown in soil. [Note: The recommendation to test irrigation water does not preclude adding the testing of sprouts (either sprouts collected during production or finished product), to a food safety plan that includes testing irrigation water.] Sampling and testing steps specific to sprouts are given in italics and may be disregarded when testing spent irrigation water.

### **Sampling Plan**

Sprouters should have a sampling plan in place to ensure the consistent collection of samples in an appropriate manner. The following factors should be considered in determining when and how to sample.

#### ***When to Sample***

Pathogens are most likely to be present at detectable levels at or after 48 hours from the start of the sprouting process. Levels will not necessarily increase after 48 hours and may decline slightly. Thus, collecting samples for testing can be done as early as 48 hours after the start of sprouting. If seeds are presoaked (e.g., soaked in water for a short time and then transferred to growing units for sprouting), presoak time should be included in the 48 hour minimum.

If you are using rapid test kits, samples may be collected as late as 48 hours prior to shipping and still provide an opportunity for the sprouter to obtain test results before product enters the food supply. However, early results will allow a sprouter to take corrective actions sooner, minimizing the potential for a contaminated batch of sprouts to contaminate other production batches. Earlier testing (i.e., 48 hours after the start of sprouting) will also minimize the time and resources spent on a batch of sprouts if a presumptive positive is found. If a firm's action plan includes running confirmatory tests on a presumptive positive before discarding product, testing earlier rather than later allows more time to run additional tests.

#### ***How to Sample***

Aseptic procedures are critical to avoid contaminating the sample during sample collection, storing the sample(s), and transporting the sample(s) to the lab. Aseptic sampling procedures,

as described below, should be part of a firm's plan for sample collection.

Equipment used to collect samples should be clean and sterile. Sampling tools and sample containers may be purchased pre-sterilized. Alternatively, tools and containers may be sterilized at 121°C (250°F) for 30 minutes in an autoclave prior to use. Heat-resistant, dry materials may be sterilized in a dry-heat oven at 140°C (284°F) for 3 hours.

The type of sample containers used will depend on the type of samples collected but may include pre-sterilized plastic bags, tubes, cups, and flasks. Containers should be dry, leak-proof, wide mouthed, and of a size suitable for the samples. Sample containers should be properly labeled prior to starting sample collection.

Sample collectors should wear a clean lab coat, sterile gloves, and a hair net to insure they do not contaminate the samples. Hands should be washed immediately before sampling, and prior to putting on sterile gloves. Sterile gloves should be put on in a manner that does not contaminate the outside of the glove. Gloves should be properly disposed of after use.

Hands should be kept away from mouth, nose, eyes, and face while collecting samples.

Sampling instruments should be protected from contamination at all times before and during use. Sampling instruments and samples moving between the sampling site and the sample container should not be passed over the remaining pre-sterilized instruments.

The sterile sample container should be opened only sufficiently to admit the sample, place the sample directly in the container, then immediately closed and sealed. If collecting samples in a container with a lid, the lid and container should be held in one hand while collecting the sample. The lid should NOT be completely removed. (The lid should not be held separately or placed on a counter).

The sample container should be filled no more than 3/4 full to prevent overflow. The air from the container should not be expelled when sealing, particularly for plastic bags. Samples or sampling equipment should not be exposed to unfiltered air currents.

Samples should be delivered to the laboratory promptly. Perishable material should be kept at

an appropriate temperature, preferably at 0 to 4.4°C (32 to 40°F). Sealed coolant packs should be used to avoid contamination from melting ice.

### ***What to Sample and How Much to Collect***

FDA recommends that a sprouter test for pathogens by collecting a sample of spent irrigation water from each production lot or batch. For purposes of this guidance, a production lot or batch is defined as sprouts from a single lot of seed that were started at the same time in a single growing unit (i.e., a single drum or rack of trays). Pooling samples should be avoided as pooling from different production batches may decrease the sensitivity of the tests by diluting the level of pathogens in a contaminated sample with samples that are not contaminated. Pooling samples from different batches also complicates the interpretation of results. If a presumptive positive is found, the sprouter should discard all lots represented by the pooled sample or perform additional tests to determine which batch(s) are contaminated.

#### ***1. Sample Collection for Spent Irrigation Water***

The volumes given below for spent irrigation water (or sprouts) represent a sufficient sample size to test for both *Salmonella* and *E. coli* O157:H7.

If testing spent irrigation water, 1 L of water (about 2 pints or one quart) should be aseptically collected as the water leaves a drum or trays during the irrigation cycle.

If sprouts are grown in drums, a single 1 L sample may be collected.

If sprouts are grown in trays, and all trays in a production lot have a common trough for collecting spent irrigation water, a 1 L sample may be collected at that point. If there is no common collection point for water from trays, it may be necessary to collect water samples from individual trays and pool these samples. In this case, a sampling plan should be devised to ensure collection of a sample that is representative of the production lot. When 10 or fewer trays make up a production lot, approximately equal volumes of water should be collected from each of the 10 trays to make a total sample volume of 1 L. For example, collect about 100 mL of water from each of 10 trays to make a 1 L sample; about 125 mL from each of 8 trays; 167 mL from each of 6 trays, and so on. When more than 10 trays make up a production lot, ten samples should be aseptically collected, approximately 100 mL each from different trays. Again, samples should be collected throughout the entire production

lot (e.g., if there are 20 trays in a production lot, collect samples from every other tray in the rack moving from top to bottom, side to side, and front to back). Samples should be placed directly into a clean, sterile, pre-labeled container.

## *2. Sample Collection for Sprouts*

If testing sprouts, 32 sample units should be aseptically collected, approximately 50 g each, from different locations in the drum or growing trays. The total sprout sample will be approximately 1,600 g (about 56.48 ounces or 3.53 pounds per production lot or batch). Sample units should be collected throughout the entire production lot (e.g., from top to bottom, side to side, and front to back of the drum or trays). Each 50 g sample unit should be placed directly into individual clean, sterile, pre-labeled containers. (Keeping the thirty-two sample units separate will make it easier for the lab to select representative analytical units for microbial analysis compared to pulling analytical units from a single 1,600 g mass of sprouts.)

## **Microbial Testing**

### *Testing Procedures*

The testing procedures described in this guidance are screening tests. They were chosen to obtain results as simply and quickly as possible (i.e., to provide answers in 48 hours or less) on the presence or absence of two major pathogenic bacteria, i.e., *Salmonella* and *E. coli* O157:H7. Formal confirmation methods, which take longer than 48 hours, are described in the FDA Bacteriological Analytical Manual (published by AOAC International, Gaithersburg, MD).

The kits identified in this guidance are AOAC approved screening tests and/or FDA has experience with their use. These are also the tests that FDA plans to use as screening tests to monitor spent irrigation water at sprouting facilities. If screening methods, other than those described here are used, they should first be validated either by formal collaborative studies or by comparative studies with standard methods using the specific commodity in question, spent irrigation water or sprouts.

Procedures for determining the presence or absence of *E. coli* O157:H7 and *Salmonella* species using the test kits listed below are provided at the end of this guidance. These procedures should be performed separate from the food production facility by a qualified laboratory, preferably an independent, certified lab.



The rapid test procedures described in this guidance all involve an enrichment step to encourage the selective growth of pathogens, if they are present, in order to make their detection possible. These test kits will NOT detect pathogens in irrigation water or sprouts if the enrichment step is not performed.

In addition, seasonal or regional differences in water quality, type of seed being sprouted, individual sprout production factors, and variations in sampling and analytical conditions may all impact on the effectiveness of the screening tests. Therefore, the lab should periodically run positive controls (i.e., sprout or water samples to which a known quantity of pathogens have been added) to ensure the tests used are capable of detecting pathogens when they are present in the samples being tested.

#### ***Test Kits***

##### *E. coli* O157:H7

1. VIP EHEC, Biocontrol Systems, Inc., Bellevue, WA., (AOAC Official method # 996.09)  
or
2. Reveal *E. coli* O157:H7, Neogen Corp., Lansing, MI.

##### *Salmonella*

1. Assurance Gold *Salmonella* EIA, (AOAC Official method # 999.08)  
or
2. Visual Immunoprecipitate (VIP) Assay for *Salmonella*, (AOAC Official method 1B 999.09)  
(Both kits are manufactured by BioControl Systems, Inc., 12822 SE 32nd Street, Bellevue, WA 98005).

#### ***General Laboratory Instructions***

##### *Prepared Media Storage*

Unless noted otherwise most media can be made in advance and stored at 20-30°C (68-86°F) in the dark with a shelf life of at least one month. Media should be well wrapped or contained in order to reduce evaporation.

##### *Equipment Sterilization*

Safe and proper operation of sterilizing autoclaves requires specially trained personnel. The

sterilization time is typically 121°C (250°F) for 15 minutes.

#### *Media and Equipment Decontamination*

Used culture media and test kits should be decontaminated by autoclaving before disposal. Decontamination should be performed in an area that is totally separated from media preparation and sterilization. Trained personnel should be used to properly decontaminate used media.

#### *Dividing Samples into Subsamples for Analyses*

**Spent Irrigation Water** - A total of 1 L of spent irrigation should be collected for analysis. Two 100 mL subsamples should be analyzed for the presence of *E. coli* O157:H7. Two 375 mL subsamples should be analyzed for the presence of *Salmonella*. Any unused portion of the spent irrigation water should be stored under refrigeration pending completion of the analysis.

**Sprouts** - Thirty-two 50 g analytical units of sprouts should be collected for analysis. Two of the 50 g analytical units (25 g subsamples from each) should be analyzed for the presence of *E. coli* O157:H7 and thirty of the 50 g sample units (25 g subsamples from each) should be analyzed for the presence of *Salmonella*. Unused portions of the sprout analytical units should be stored under refrigeration pending completion of the analysis.

#### *Sample preparation (stomaching sprouts)*

The procedures in this guidance use a blender to prepare sprouts for testing. As an alternative to blending, sprouts may be homogenized in a Stomacher (Model 400). To use a Stomacher, place 25 g of sprouts in a sterile Stomacher bag, add 225 mL enrichment broth and process on medium speed for 2 minutes.

### **Interpretation of Results and Subsequent Actions**

#### ***Interpreting Results***

Analyses should be performed in duplicate (two tests for each of the two pathogens). When results are negative for all tests, results are assumed to be correct. When results are positive for one or both tests for either pathogen, the results are considered presumptive and the grower should either:

1. Consider the presumptive positive result(s) to be true and take immediate corrective actions,

as described below, OR

2. Ask the testing laboratory to run confirmatory tests and destroy the batch only if the confirmatory tests are also positive for the presence of a pathogen.

In considering the second option, remember that confirmatory testing takes extra time and will lessen the marketable shelf life of the sprouts. (All product should be held until test results are available.) Rapid test kits are for screening ONLY. Confirmatory testing should be done using standard methods in the FDA Bacteriological Analytical Manual (Edition 8, Revision A - 1998).

### ***Corrective Actions***

Each facility should have a corrective action plan in place before a positive is found so that, if one does occur, corrective actions can be taken quickly. The following should be included in a corrective action plan.

Seed is the likely source of contamination in sprout-associated foodborne illness outbreaks. Further, recent outbreak investigations have shown that a single contaminated seed lot can result in contamination of multiple production lots of sprouts. Therefore, when a batch of sprouts is considered to be contaminated with a pathogen, the batch of sprouts, the seed lot used to produce the sprouts, and any other sprout production lots that were made from the same seed lot and that are still under control of the sprouter, should be discarded.

In addition, anything in the sprouting facility that has come into contact with the contaminated production lot or its water (e.g., drums, trays, bins, buckets, tools and other sprouting equipment, testing equipment, and other possible surfaces, such as floors, drains, walls, and tables), should be thoroughly cleaned and then sanitized to avoid contamination of subsequent batches of sprouts. Care must be taken in handling contaminated sprouts or water, equipment, and test materials to avoid accidental exposure to the pathogen(s).

### **A) Procedure for the Rapid Analysis of *E. coli* O157:H7 in Spent Irrigation Water or Sprouts.**

I. Test Kits choose one:

- VIP EHEC<sup>(2)</sup>, Biocontrol Systems, Inc., Bellevue, WA., or:
- Reveal *E. coli* O157:H7(2), Neogen Corp., Lansing, MI.

## II. Equipment and Materials

1. Mechanical blender (capable of 10,000 to 12,000 rpm) or Stomacher Model 400 (with required stomacher bags)
2. Sterile blender jars, with cover, resistant to autoclaving for 60 min at 121°C
3. 1 Balance, with weights (2000 g capacity, sensitivity of 0.1 g)
4. 1 L Erlenmeyer flask
5. 2 Sterile graduated pipettes, 1.0 and 10.0 mL and pipette aids
6. Sterile instruments for use in taking and handling of samples (such as knives, tongs, scissors, spoons, etc.)
7. Sterile culture tubes, 16×150 mm or 20×150 mm
8. Incubator/shaker platform, 35±1°C
9. pH meter or test strips
10. Fisher or Bunsen burner
11. Magnetic stirrer and stir bars
12. Sterile syringes
13. Sterile 0.2 m filters
14. Distilled water

## III. Ingredients

1. Peptone
2. NaCl
3. Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>
4. KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>
5. Casamino acid
6. Yeast extract
7. Lactose
8. Acriflavin (antibiotic)
9. Cefsulodin (antibiotic)
10. Vancomycin (antibiotic)

### *Preparation of antibiotic stock solutions*

Prepare a stock solution of each antibiotic (acriflavin, cefsulodin, and vancomycin) by dissolving 1000 mg of each antibiotic in a separate tube containing 10.0 mL of distilled water. Filter-sterilize the solution using a 0.2 m filter and syringe. The stock solution may be stored for several months in foil wrapped tubes at 4°C (39.2°C).

Prepare the modified Buffered Peptone Water as described below, autoclave, cool, add antibiotic supplements. Instructions for sprouts are given in italics.

*Modified Buffered Peptone Water (mBPW)*

**Step 1.** To make 1000 mL of mBPW, mix the following constituents into distilled water, stirring to dissolve. For spent irrigation water, prepare double strength (2×) mBPW, as follows: (*If testing sprouts, use single strength (1×) enrichment broth base.*)

Modified Buffered Peptone Water(mBPW)

| Ingredient  | Double strength (2×)<br>(For use with spent irrigation water) | Single strength (1×)<br>(For use with sprouts) |
|---|---|--|
| Peptone   | 20.0 g  | 10.0 g   |
| NaCl  | 10.0 g  | 5.0 g  |
| Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>  | 7.2 g   | 3.6 g  |
| KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>   | 3.0 g   | 1.5 g  |
| Casamino acid   | 10.0 g  | 5.0 g  |
| Yeast extract   | 12.0 g  | 6.0 g  |
| Lactose   | 20.0 g  | 10.0 g   |
| Distilled water*  | 1000 mL   | 1000 mL  |
| *pH 7.2±0.2 (Test pH of distilled water BEFORE adding the ingredients above. If necessary, pH may be adjusted with 1N HCl or 1N NaOH. |   |  |

**Step 2.** Sterilize mBPW by autoclaving at 121°C (250°F) for 15 minutes. Remove from autoclave and allow to cool until cool to the touch.

**Step 3.** Once the medium is cooled and immediately prior to the addition of a subsample, add the following quantity of filter-sterilized antibiotics to 1000 mL of medium. For spent irrigation water, add the quantity of antibiotics listed in the column labeled double strength (2×) to the double strength mBPW. (*If testing sprouts, add the quantity of antibiotics listed in the column labeled single strength (1×) to the single strength mBPW.*)

Antibiotic supplements for mBPW

| Antibiotic Stock Solution | Double strength (2×)<br>(For use with spent irrigation water) | Single strength (1×)<br>(For use with sprouts) |
|---------------------------|---|--|
| Acriflavin (A)            | 0.2 mL  | 0.1 mL   |
| Cefsulodin (C)            | 0.2 mL  | 0.1 mL   |
| Vancomycin (V)            | 0.16 mL   | 0.08 mL  |

IV. Testing

The following instructions result in analysis being performed in duplicate: For microbial testing, duplicate sub-samples (analytical units) need to be removed from the sample and placed in enrichment broth. Enrichment broth containing sub-samples are allowed to incubate for a period of time, and a small quantity of the enrichment broth/sample is applied to the test kit device. Specific directions follow:

**Step 4.**

*Water:* Two 100 mL subsamples of spent irrigation will be analyzed. From the 1000 mL sample of spent sprout irrigation water, aseptically transfer 100 mL of sample into a sterile 1L flask containing 100 mL of 2×mBPW+ACV. Repeat with second subsample.

*Sprouts:* Two 50 g analytical units of sprouts will be analyzed. From two of the thirty-two 50 g analytical units collected, aseptically remove and weigh out a 25 g subsample of sprouts. Transfer each of the 25 g subsamples of sprouts into separate sterile blender jars or sterile stomacher bags. Add 225 mL of single strength enrichment broth with added antibiotic supplements (1×mBPW+ACV) and blend at 10,000 to 12,000 rpm until homogenized (at least 60 seconds) or stomach for 2 minutes on medium setting in a Stomacher Model 400. Transfer sprout homogenate to a 1L Erlenmeyer flask.

**Step 5.** Incubate the enrichment broth/sample mixtures overnight at 42°C(107.6°F) with shaking at 140 RPM.

**Step 6.** Test each enrichment broth sample for the presence of *E. coli* O157:H7, using either the VIP EHEC device or the Reveal *E. coli* O157:H7 device. Use 0.1 mL from the

inoculated and incubated mBPW+ACV to inoculate VIP or 0.12 mL for the Reveal. Follow the manufacturers instructions for the inoculation of test kits.

**Step 7.** Observe test results within 10 minutes to avoid possible fading of bands which could lead to false negative results. A band in both the test and control chambers is a positive test for contamination. A band in only the control chamber is a negative test. If a band does not appear in the control chamber, the test was not done correctly and must be repeated.

## **B) Procedure for the *Salmonella* Rapid Analysis of Spent Irrigation Water (or Sprouts)**

### I. Test kits choose one

- Assurance Gold Salmonella EIA, or
- Visual Immunoprecipitate (VIP) Assay for Salmonella

Both are manufactured by BioControl Systems, Inc., (12822 SE 32nd Street, Bellevue, WA 98005). For purposes of pre-enrichment and selective enrichment, these test kits provide different instructions for each of three types of foods: (a) processed foods, (b) dried powder processed foods, and (c) raw foods. For the analysis of sprouts and spent irrigation water, use the pre-enrichment/selective enrichment procedures described for (c) raw foods.

### II. Equipment and materials.

1. Blender and sterile blender jars OR Stomacher Model 400 with appropriate stomacher bags.
2. Sterile, 16 oz (500 mL) wide-mouth, screw-cap jars, sterile 500 mL Erlenmeyer flasks, sterile 250 mL beakers, sterile glass or paper funnels of appropriate size, and, optionally, containers of appropriate capacity to accommodate composited samples
3. Balance, with weights; (2000 g capacity, sensitivity of 0.1 g)
4. Balance, with weights; (120 g capacity, sensitivity of 5 mg)
5. Incubator, 35°C (95°F)
6. Refrigerated incubator or laboratory refrigerator, 4±1°C (39±1°F)
7. Water bath, 42±0.2°C (107.6±0.2°F)
8. Sterile spoons or other appropriate instruments for transferring food samples
9. Sterile culture dishes, size 15×100 mm, glass or plastic
10. Sterile pipettes, 1 mL, with 0.01 mL graduations; 5 mL with 0.1 mL graduations and 10 mL with 0.1 mL graduations and pipette aids
11. Inoculating needle and inoculating loop (about 3 mm id or 10 l), nichrome,

platinum-iridium, chromel wire, or sterile plastic

12. Sterile test or culture tubes, sizes 16×150 mm and 20×150 mm
13. Test or culture tube racks
14. Vortex mixer
15. Sterile shears, large scissors, scalpel, and forceps
16. Fisher or Bunsen burner
17. pH test paper (pH range 6 - 8) with maximum graduations of 0.4 pH units per color change
18. Sterile syringe
19. Sterile 0.2 m filters

### III. Media and reagents

For preparation of media and reagents, refer to sections 967.25 to 967.28 in Official Methods of Analysis (published by AOAC International, Gaithersburg, MD USA). Designations within parentheses refer to Appendix 3, Media and Reagents, of the Bacteriological Analytical Manual (BAM), Edition 8, Revision A (also published by AOAC International).

1. Buffered peptone water (commercially available: Oxoid, BBL, or Difco)
2. Buffered peptone water + novobiocin
3. Tetrathionate (TT) broth (M145)
4. Rappaport-Vassiliadis (RV) medium (M132)
5. Trypticase soy broth (commercially available)
6. Trypticase soy broth + novobiocin
7. Trypticase soy broth + 2, 4 dinitrophenol + novobiocin
8. 1 N Sodium hydroxide solution (NaOH) (R73)
9. 1 N Hydrochloric acid (HCl) (R36)
10. Novobiocin solution, 0.1%
11. Sterile distilled water

Buffered peptone water (No. 1), Buffered peptone water with novobiocin (No. 2), Trypticase soy broth with novobiocin (No. 6) and Trypticase soy broth with 2,4 dinitrophenol and novobiocin (No. 7), are not included in the BAM. Their preparation is described below.

#### **Buffered Peptone Water (BPW)**

(Media & Reagents #1)



Dissolve 20 g of commercially available buffered peptone water medium in 1 L distilled water. Mix thoroughly. Dispense 225 mL portions into 500 mL Erlenmeyer flasks. After autoclaving for 15 min at 121°C, and just before use, aseptically adjust volume to 225 mL with sterile distilled water. Adjust pH, if necessary, to 7.2±0.2 with sterile 1 N NaOH or 1 N HCl.

#### **Buffered Peptone Water + novobiocin (BPW+n)**

(Media & Reagents #2)

Immediately prior to the addition of a 25 g subsample, add 4 mL of 0.1% novobiocin solution to each 225 mL volume of buffered peptone water.

#### **Trypticase soy broth + novobiocin (TSB+n)**

(Media & Reagents #6)

Suspend 30 g of commercial available trypticase soy broth medium in 1 L of distilled water. Mix thoroughly. Warm gently on a temperature controlled hot plate until the medium is dissolved. Dispense in 10 mL aliquots in 20×150 mm tubes and autoclave 15 min. at 121°C.

Just prior to sample addition, add 0.1 mL of 0.1% novobiocin solution to each tube containing 10 mL of Trypticase soy broth.

#### **Trypticase soy broth + 2, 4 dinitrophenol + novobiocin (TSB+DNP+n)**

(Media & Reagents #7)

Suspend 30 g of commercial available trypticase soy broth medium and 0.1 g of 2, 4 dinitrophenol in 1 L of distilled water. Mix thoroughly. Warm gently on a temperature controlled hot plate until the medium is dissolved. Dispense in 10 mL aliquots in 20×150 mm tubes and autoclave 15 min. at 121°C (250°F).

Just prior to sample addition, add 0.1 mL of 0.1% novobiocin solution to each tube containing 10 mL of Trypticase soy broth + 2, 4 dinitrophenol.

#### **Novobiocin solution, 0.1%**

(Media & Reagents #9)

- Novobiocin, sodium salt 0.1 g
- Distilled water 100 ml

Dissolve novobiocin in distilled water. Do not autoclave. Sterilize by filtering through a 0.2  $\mu$ m filter. Store solution at 4°C (39.2°F), protected from light (e.g. wrap container in aluminum foil). Solution can be stored for one week.

#### IV. Testing

**A. Irrigation water**-From the 1 L spent irrigation water sample, two 375 mL subsamples will be analyzed for the presence of *Salmonella*.

**Step 1.** Aseptically transfer a 375 mL subsample directly to a 6 L Erlenmeyer flask containing 3,375 mL BPW+n. Swirl to mix thoroughly. Repeat procedure with second 375 mL subsample of spent irrigation water.

**Step 2.** Allow flasks to stand for 60 min at room temperature. Mix well and determine pH with test paper. Adjust pH, if necessary, to 6.8±0.2 with sterile 1 N NaOH or 1 N HCL.

**Step 3.** Incubate flasks without shaking for 18 - 26 hours at 35-37°C (95-98.6°F). Each flask is considered to contain pre-enrichment broth.

**Step 4a.** If using the Assurance Gold *Salmonella* Enzyme Immunoassay, transfer 0.1 mL pre-enrichment broth to 10 mL RV medium and transfer another 1.0 mL of pre-enrichment broth to 10 mL TT broth. Incubate in a water bath 5-8 hours at 42°C (107.6°F). Incubation of the RV medium and TT broth in the water bath is termed the selective enrichment process. Following selective enrichment, transfer and combine 1.0 mL TT broth and 0.5 mL RV medium into a single tube containing 10 mL of prewarmed [42°C (107.6°F)] TSB+n broth. Incubate in a water bath 16-20 hours at 42°C (107.6°F). Continue as described in this kit's instructions for (c) raw foods.

**Step 4b.** If using the VIP Assay for *Salmonella*, transfer 0.1 mL pre-enrichment broth to 10 mL RV medium and transfer another 1.0 mL of pre-enrichment broth to 10 mL TT broth. Incubate in a water bath 18-24 hours at 42°C. Incubation of the RV medium and TT broth in the water bath is termed the selective enrichment process. Following selective enrichment, transfer and combine 0.5 mL of TT broth and 0.5 mL RV medium into a single tube containing 10 mL prewarmed [42°C (107.6°F)] TSB+DNP+n broth. Incubate in a water bath 5-8 hours at 42°C (107.6°F). Continue as described in this kit's instructions for (c) raw foods.

**B. Sprouts-** Thirty 50 g analytical units of sprouts were collected for *Salmonella* analysis.

**Step 1.** Aseptically weigh out a 25 g subsample from each analytical unit and transfer each subsample to a sterile blending jar (or stomacher bag).

**Step 2.** Add 225 mL buffered peptone water plus novobiocin (BPW+n).

**Step 3.** Blend the 25 g sprout subsample with 225 mL BPW+n for 2 min.

**Step 4.** Repeat procedure for remaining twenty-nine analytical units.

**Step 5.** The thirty 25 g sprout subsamples may be analyzed by either of the following two options:

- Option A:

Each 25 g/225 mL blended sprout homogenate is poured into a 500 mL Erlenmeyer flask, or equivalent container, and analyzed individually.

- Option B:

Fifteen of the thirty 25 g/225 mL blended sprout homogenates are poured into a 6 L Erlenmeyer flask, and analyzed collectively. Repeat with the remaining 15 blended sprout homogenates. Thus, each sample consists of two 375-g composites.

**Step 6.** Allow flasks to stand for 60 min at room temperature. Mix well and determine pH with test paper. Adjust pH, if necessary, to  $6.8 \pm 0.2$  with sterile 1 N NaOH or 1 N HCL.

**Step 7.** Incubate flasks without shaking for 18-26 hours at 35-37°C (95-98.6°F). Each flask is considered to contain pre-enrichment broth.

**Step 8a.** If using the Assurance Gold *Salmonella* Enzyme Immunoassay, transfer 0.1 mL pre-enrichment broth to 10 mL RV medium and transfer another 1.0 mL of pre-enrichment broth to 10 mL TT broth. Incubate in a water bath 5-8 hours at 42°C (107.6°F). Incubation of the RV medium and TT broth in the water bath is termed the selective enrichment process. Following selective enrichment, transfer and combine 1.0 mL TT broth and 0.5 mL

RV medium into a single tube containing 10 mL of prewarmed [42°C (107.6°F)] TSB+n broth. Incubate in a water bath 16-20 hours at 42°C (107.6°F). Continue as described in this kit's instructions for (c) raw foods.

**Step 8b.** If using the VIP Assay for *Salmonella*, transfer 0.1 mL pre-enrichment broth to 10 mL RV medium and transfer another 1.0 mL of pre-enrichment broth to 10 mL TT broth. Incubate in a water bath 18-24 hours at 42°C. Incubation of the RV medium and TT broth in the water bath is termed the selective enrichment process. Following selective enrichment, transfer and combine 0.5 mL of TT broth and 0.5 mL RV medium into a single tube containing 10 mL prewarmed [42°C (107.6°F)] TSB+DNP+n broth. Incubate in a water bath 5-8 hours at 42°C (107.6°F). Continue as described in this kit's instructions for (c) raw foods.

-----

Footnotes:

- <sup>(1)</sup> This guidance has been prepared by the Office of Plant and Dairy Foods and Beverages in the Center for Food Safety and Applied Nutrition at the Food and Drug Administration. This guidance represents the agency's current thinking on reducing microbial food safety hazards for sprouted seeds. It does not create or confer any rights for or on any person and does not operate to bind FDA or the public. An alternative approach may be used if such approach satisfies the requirements of the applicable statute and regulations. Following the recommendations in this guidance will not shield any person or any food from appropriate enforcement under the Federal Food, Drug, and Cosmetic Act if adulterated food is distributed in interstate commerce.
- <sup>(2)</sup> The enrichment procedure described in this guidance for the tests for *E. coli* O157:H7 have been modified by FDA to enhance the ability of the kits to detect *E. coli* O157:H7 in spent irrigation water and sprouts.

Page Last Updated: 07/10/2009

Web page: <http://www.fda.gov/Food/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/GuidanceDocuments/ProduceandPlantProducts/ucm120246.htm>

## 제 7 장 참고문헌

- 권기현, 정진웅, 김종훈, 최창현. (2006) 저 에너지형 축냉식 저온유통 시스템 개발. 바이오시스템공학 31(3): 161-167.
- 김연중, 박현태, 한혜성. (2006) 새싹·쌈채소 생산·유통실태 및 육성방안. 한국농촌경제연구원, 연구보고서 C2006-26.
- 김창길, 정학균, 문동현. (2009) 최근 국내외 친환경농산물의 생산실태 및 시장전망. 한국농촌경제연구원, 농정연구속보 58권.
- 농림수산식품부. (2009) 농림수산물 주요통계: 농림업 생산액. 농림수산물부 홈페이지, <http://www.mifaff.go.kr>. accessed 10 May 2010.
- 박철호, 강위수, 홍순관, 이주경, 박병재, 장광진. (2006) 농업신소재로서의 약용메밀 신품종 육성 및 재배이용기술 개발. 강원대학교, 농림기술개발사업 연구보고서.
- 이용선, 김성훈, 김동훈. (2009) 신선편이농산물 시장의 실태와 활성화 방안. 한국농촌경제연구원, 연구보고서 R602.
- 이현희, 홍석인, 김동만. (2009) 메밀 새싹채소의 주요 내재미생물 분석 및 염소처리에 따른 품질변화. 한국식품과학회지 41(4): 452-457.
- 장수경, 이현희, 홍석인, 한영숙. (2010) 유기산 전처리에 따른 메밀 새싹의 저장중 품질변화. 한국식품과학회지 42(2): 190-197.
- 홍석인, 김동만, 최정희, 이현희, 손석민, 권오연, 김세광. (2006) 냉장유통 fresh-cut 채소의 고품질화를 위한 유해미생물 검지 및 제어기술 연구. 한국식품연구원, 농림기술개발사업 연구보고서.
- 홍석인, 김동만. (1999) 신선 과채류 편의식품의 새로운 품질보존 기술. 식품기술 12(2): 10-25.
- 홍석인, 손석민, 정명수, 김동만. (2003) 포장방법에 따른 신선 편의가공 양파의 저장품질변화. 한국식품과학회지 35(6): 1110-1116.
- 홍석인, 이현희, 손석민, 김동만. (2004) 열수처리가 신선 편의가공 양파의 저장품질에 미치는 효과. 한국식품과학회지 36(2): 239-245.
- 홍석인, 조미나, 김동만. (2000) 절단 대파의 품질특성에 미치는 세척 및 포장재의 효과. 한국식품과학회지 32(3): 659-667.
- Abelson P, Forbes MP, Hall G. (2006) The annual cost of food-borne illness in Australia. Australian Government Department of Health and Ageing.
- Abelson P. (2007) Establishing a Monetary Value for Lives Saved: Issues and Controversies: WP 2008-02, Department of Finance and Deregulation, <http://www.finance.gov.au/obpr/docs/Working-paper-2-Peter-Abelson.pdf>. accessed 10 June 2009.

- Agnelli ME, Mascheroni RH. (2001) Cryomechanical freezing: A model for the heat transfer process. *J. Food Eng.* 47(4): 263-270.
- Ahvenainen R. (1996) New approaches in improving the shelf life of minimally processed fruit and vegetables. *Trends Food Sci. Technol.* 7(6): 179-187.
- Alasalvar C, Nesvadba P. (1995) Time/temperature profiles of smoked salmon packaged with cooling gel and shipped at ambient temperature. *J. Food Sci.* 60(3): 619-621.
- APHA. (1995) Standard methods for the examination of water and wastewater. 19th ed. Method 4-54. American Public Health Association, Washington DC, USA.
- Bari ML, Nazuka E, Sabina Y, Todoriki S, Isshiki K. (2003) Chemical and irradiation treatments for killing *Escherichia coli* O157:H7 on alfalfa, radish, and mung bean seeds. *J. Food Prot.* 66(5): 767-7.
- Barret E, Chaos C. (1996) An outbreak of salmonellosis associated with eating alfalfa sprouts, Lexington, Virginia. Sproutnet. [http://www.sproutnet.com/Research/an\\_outbreak\\_of\\_salmonellosis.htm](http://www.sproutnet.com/Research/an_outbreak_of_salmonellosis.htm). Accessed on 24 February 2009.
- Beuchat LR, Ward TE, Pettigrew CA. (2001) Comparison of chlorine and a prototype produce wash product for effectiveness in killing *Salmonella* and *Escherichia coli* O157:H7 on alfalfa seeds. *J. Food Prot.* 64(2): 152-158.
- Beuchat LR. (1996) Pathogenic microorganisms associated with fresh produce. *J. Food Prot.* 59(2): 204-216.
- Bolton DJ, Byrne CM, Sheridan JJ, McDowell DA, Blair IS. (1999) The survival characteristics of a non-toxigenic strain of *Escherichia coli* O157:H7. *J. Appl. Microbiol.* 86(3): 407-411.
- Brackett RE. (1994) Microbiological spoilage and pathogens in minimally processed refrigerated fruits and vegetables. In: *Minimally Processed Refrigerated Fruits and Vegetables*. Wiley RC. (ed.), pp. 269-312, Chapman and Hall, New York, USA.
- Brackett RE. (1996) Food safety: microbiological concerns. In: *Fresh-Cut Products: Maintaining Quality and Safety*. Postharvest Horticulture Series 10, Mar. UC Davis, CA, USA.
- Breuer T, Benkel DH, Shapiro RL, Hall WN, Winnett MM, Linn MJ, Neimann J, Barrett TJ, Dietrich S, Downes FP, Toney DM, Pearson JL, Rolka H, Slutsker L, Griffin PM. (2001) A multistate outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infections linked to alfalfa sprouts grown from contaminated seeds. *Emerg. Infect. Dis.* 7(6): 977-982.
- Brooks JT, Rowe SY, Shillam P, Heltzel DM, Hunter SB, Slutsker L, Hoekstra RM, Luby SP. (2001) *Salmonella typhimurium* infections transmitted by chlorine-pretreated clover sprout

- seeds. *Am. J. Epidemiol.* 154(11): 1020-1028.
- Casada ME, Ram MS, Flinn PW. (2008) Thermal design of shipping containers for beneficial insects. *Appl. Eng. Agric.* 24(1): 63-70.
- CDC (1990) Food-borne disease out break line listing. Centers for Disease Control. [http://www.cdc.gov/food-borneoutbreaks/us\\_outb/fbo1990/fbofinal1990.pdf](http://www.cdc.gov/food-borneoutbreaks/us_outb/fbo1990/fbofinal1990.pdf). Accessed on 24 February 2010.
- CDC (1996) Listing of Food-borne Disease Outbreaks, United States, 1996. Centers for Disease Control. [http://www.cdc.gov/food-borneoutbreaks/us\\_outb/fbo1996/fbofinal1996.pdf](http://www.cdc.gov/food-borneoutbreaks/us_outb/fbo1996/fbofinal1996.pdf). Accessed on 24 February 2010.
- CDC (1998) Listing of Food-borne Disease Outbreaks, United States, 1998. Centers for Disease Control. [http://www.cdc.gov/food-borneoutbreaks/us\\_outb/fbo1998/fbofinal1998.pdf](http://www.cdc.gov/food-borneoutbreaks/us_outb/fbo1998/fbofinal1998.pdf). Accessed on 24 February 2010.
- CDC (2000) Listing of Food-borne Disease Outbreaks, United States, 2000. Centers for Disease Control. [http://www.cdc.gov/food-borneoutbreaks/us\\_outb/fbo2000/fbofinal2000.pdf](http://www.cdc.gov/food-borneoutbreaks/us_outb/fbo2000/fbofinal2000.pdf). Accessed on 24 February 2010.
- CDC (2002) Update on *Salmonella* serotype Enteritidis infections, outbreaks, and the importance for traceback. Centers for Disease Control. <http://www.cdc.gov/ncidod/dbmd/diseaseinfo/files/2001SECSTE.pdf>. Accessed on 24 February 2010.
- CDC (2003) Listing of Food-borne Disease Outbreaks, United States, 2003. Centers for Disease Control. 24 February 2010.
- CDC (2004) Listing of Food-borne Disease Outbreaks, United States, 2004. Centers for Disease Control. [http://www.cdc.gov/food-borneoutbreaks/us\\_outb/fbo2004/Outbreak\\_LineList\\_Final\\_2004.pdf](http://www.cdc.gov/food-borneoutbreaks/us_outb/fbo2004/Outbreak_LineList_Final_2004.pdf). Accessed on 24 February 2010.
- CDC (2006) Listing of Food-borne Disease Outbreaks, United States, 2006. Centers for Disease Control. [http://www.cdc.gov/food-borneoutbreaks/documents/2006\\_line\\_list/2006\\_line\\_list.pdf](http://www.cdc.gov/food-borneoutbreaks/documents/2006_line_list/2006_line_list.pdf). Accessed on 24 February 2010.
- Charkowski AO, Barak JD, Sarreal CZ, Mandrell RE. (2002) Differences in growth of *Salmonella enterica* and *Escherichia coli* O157:H7 on alfalfa sprouts. *Appl. Environ. Microbiol.* 68(6): 3114-3120.
- Charkowski AO, Sarreal CZ, Mandrell RE. (2001) Wrinkled alfalfa seeds harbor more aerobic bacteria and are more difficult to sanitize than smooth seeds. *J. Food Prot.* 64(9): 1292-1298.
- Como-Sabetti K, Reagan S, Ritter K, Parrott CM, Simonds S, Hraboxy S, Ritter B. Outbreaks of *E. coli* O157:H7 associated with eating alfalfa sprouts-Michigan and Virginia, June-July.

- Morbidity and Mortality Weekly Report 46(32): 741-744 (1997)
- Cooley MB, Miller WG, Mandrell RE. (2003) Colonization of *Arabidopsis thaliana* with *Salmonella enterica* and enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 and competition by *Enterobacter asburiae*. *Appl. Environ. Microbiol.* 69(8): 4915-4926.
- Costerton JW, Lewandowski Z, Caldwell DE, Korber DR, Lappin-Scott HM. (1995) Microbial biofilms. *Annu. Rev. Microbiol.* 49: 711-745.
- Cover TL, Aber RC. (1989) *Yersinia enterocolitica*. *New Engl. J. Med.* 321(1): 16-24.
- Delaquis PJ, Sholberg PL, Stanich K. (1999) Disinfection of mung bean seed with gaseous acetic acid. *J. Food Prot.* 62(8): 953-957.
- Department of Health WA. (2002) Microbiological safety and quality of sprouts in Western Australia. *Food Surveillance Newsletter Summer*: 1-4.
- Dolye MP. (1990) Fruit and vegetable safety-microbiological. *HortScience* 25(12): 1478-1481
- Dong YM, Iniguez AL, Ahmer BMM, Triplett EW. (2003) Kinetics and strain specificity of rhizosphere and endophytic colonization by enteric bacteria on seedlings of *Medicago sativa* and *Medicago truncatula*. *Appl. Environ. Microbiol.* 69(3): 1783-1790.
- East AR, Smale NJ. (2008) Combining a hybrid genetic algorithm and a heat transfer model to optimize an insulated box for use in the transport of perishables. *Vaccine* 26(10): 1322-1334.
- Enomoto K, Takizawa T, Ishikawa N, Suzuki T. (2002) Hot-water treatments for disinfecting alfalfa seeds inoculated with *Escherichia coli* ATCC 25922. *Food Sci. Technol. Res.* 8(3): 247-251.
- Erdogdu F. (2008) A review on simultaneous determination of thermal diffusivity and heat transfer coefficient. *J. Food Eng.* 86(3): 453-459.
- FDA. (1999) Reducing microbial food safety hazards for sprouted seeds: Guidance for industry. US Food and Drug Administration, Center for Food Safety and Applied Nutrition.
- FDA. (2002) Consumers advised of risks associated with eating raw and lightly cooked sprouts. US Food and Drug Administration, Center for Food Safety and Applied Nutrition, Talk paper T02-37.
- FDA. (2008) Bad Bug Book. US Food and Drug Administration. <http://vm.cfsan.fda.gov/~mow/intro.html>. Accessed on 25 February 2008.
- Ferguson DD, Scheftel J, Cronquist A, Smith K, Woo-Ming A, Anderson E, Knutsen J, De AK, Gershman K. (2005) Temporally distinct *Escherichia coli* O157 outbreaks associated with alfalfa sprouts linked to a common seed source - Colorado and Minnesota, 2003. *Epidemiol. Infect.* 133(3): 439-447.



- Fett WF, Cook, PH. (2003a) Reduction of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* on laboratory-inoculated alfalfa seed with commercial citrus-related products. *J. Food Prot.* 66(7): 1158-1165.
- Fett WF, Cook, PH. (2003b) Scanning electron microscopy of native biofilms on mung bean sprouts. *Can. J. Microbiol.* 49(1): 45-50.
- Fett WF. (2000) Naturally occurring biofilms on alfalfa and other types of sprouts. *J. Food Prot.* 63(5): 625-632.
- Fett WF. (2002a) Factors affecting the efficacy of chlorine against *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* on alfalfa seed. *Food Microbiol.* 19(2-3): 135-149.
- Fett WF. (2002b) Reduction of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* spp. on laboratory-inoculated mung bean seed by chlorine treatment. *J. Food Prot.* 65(5): 848-852.
- Fett WF. (2002c) Reduction of the native microflora on alfalfa sprouts during propagation by addition of antimicrobial compounds to the irrigation water. *Int. J. Food Microbiol.* 72(1-2): 13-18.
- Fett WF. (2006a) Inhibition of *Salmonella enterica* by plant-associated *Pseudomonas in vitro* and on sprouting alfalfa seed. *J. Food Prot.* 69(4): 719-728.
- Fett WF. (2006b) Interventions to ensure the microbial safety of sprouts. In: Saper GM, Gorny JR, Yousef AE. (eds). *Microbiology of Fruit and Vegetables*. Chapter 8. CRC Press, Boca Raton, FL, USA, pp.187-210.
- Francis GA, Thomas C, O'Berine DO. (1999) The microbiological safety of minimally processed vegetables. *Int. J. Food Sci. Technol.* 34(1): 1-22.
- FSANZ. (2009) Primary Production & Processing Standard for Seed Sprouts. [11-09] Proposal P1004, Food Standards Australia New Zealand, 15 July 2009.
- Fu TJ, Reineke KF, Chirtel S, Vanpelt OM. (2008) Factors influencing the growth of *Salmonella* during sprouting of naturally contaminated alfalfa seeds. *J. Food Prot.* 71(5): 888-896.
- Gandhi M, Golding S, Yaron S, Matthews KR. (2001) Use of green fluorescent protein expressing *Salmonella* Stanley to investigate survival, spatial location, and control on alfalfa sprouts. *J. Food Prot.* 64(12): 1891-1898.
- Gill CJ, Keene WE, Mohle-Boetani JC, Farrar JA, Waller PL, Hahn CG, Cieslak PR. (2003) Alfalfa seed decontamination in a *Salmonella* outbreak. *Emerg. Infect. Dis.* 9(4): 474-479.
- Gould GW. (1995) *New methods of food preservation*. Blackie Academic & Professional, Glasgow, UK.
- Hall G, Kirk MD, Becker N, Gregory JE, Unicomb L, Millard G, Stafford R, Lalor K, the

- OzFoodNet Working Group (2005) Estimating food-borne gastroenteritis, Australia. *Emerg. Infect. Dis.* 11(8): 1257-1264.
- Harman GE. (1983) mechanisms of seed infection and pathogenesis. *Phytopathol.* 73(2): 326-329.
- Harris LJ, Farber JN, Beuchat LR, Parish ME, Suslow TV, Garrett EH, Busta FF. (2003) Outbreaks associated with fresh produce: Incidence, growth, and survival of pathogens in fresh and fresh-cut produce. *Compr. Rev. Food Sci. F.* 2(s1): 78-141.
- Himathongkham S, Nuanualsuwan S, Riemann H, Cliver DO. (2001) Reduction of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* Typhimurium in artificially contaminated alfalfa seeds and mung beans by fumigation with ammonia. *J. Food Prot.* 64(11): 1817-1819.
- Holliday SL, Scouten AJ, Beuchat LR. (2001) Efficacy of chemical treatments in eliminating *Salmonella* and *Escherichia coli* O157:H7 on scarified and polished alfalfa seeds. *J. Food Prot.* 64(10): 1489-1495.
- Hong SI, Kim DM. (2001) Influence of oxygen concentration and temperature on respiratory characteristics of fresh-cut green onion. *Int. J. Food Sci. Technol.* 36(3): 283-290.
- Honish L, Nguyen Q. (2001) Outbreak of *Salmonella enteritidis* phage type 913 gastroenteritis associated with mung bean sprouts-Edmonton, 2001. *Can. Commun. Dis. Reprt.* 27(18): 151-156.
- Howard MB, Hutcheson SW. (2003) Growth dynamics of *Salmonella enterica* strains on alfalfa sprouts and in waste seed irrigation water. *Appl. Environ. Microbiol.* 69(1): 548-553.
- Hurst WC. (1995) Sanitation of lightly processed fruits and vegetables. *HortScience* 30(1): 22-24.
- Inami GB, Moler SE. (1999) Detection and isolation of *Salmonella* from naturally contaminated alfalfa seeds following an outbreak investigation. *J. Food Prot.* 62(6): 662-664.
- Itoh Y, Sugita-Konishi Y, Kasuga F, Iwaki M, Hara-Kudo Y, Saito N, Noguchi Y, Konuma H, Kumagai S. (1998) Enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 present in radish sprouts. *Appl. Environ. Microbiol.* 64(4): 1532-1535.
- Jain D, Pathare P. (2007) Modelling of the internal cooling of fish during ice storage. *Int. J. Food Eng.* 3(4): Article 4.
- Jaquette CB, Beuchat LR, Mahon BE. (1996) 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(7): 2212-2215.
- Joce R, O'Sullivan DG, Strong C, Rowe B, Hall MLM, Threlfall EJ. (1990) A national outbreak of *Salmonella* Gold-Coast. *Commun. Dis. Reprt Rev.* 4: 3-4.

- Johnston LM, Elhanafi D, Drake M, Jaykus LA. (2005) A simple method for the direct detection of *Salmonella* and *Escherichia coli* O157:H7 from raw alfalfa sprouts and spent irrigation water using PCR. *J. Food Prot.* 68(11): 2256-2263.
- Kader A. (1996) *Fresh-Cut Products: Maintaining Quality and Safety*. Postharvest Horticulture Series 10, Mar. UC Davis, CA, USA.
- Kader AA, Lipton WJ, Morris LL. (1973) Systems for scoring quality of harvested lettuce. *HortScience* 8(5): 408-409.
- Kemmeren JM, Mangen M-JJ, Duynhoven YTHP, van Havelaar AH. (2006) RIVM: Priority setting of food-borne pathogens - Disease burden and costs of selected enteric pathogens: <http://www.rivm.nl/bibliotheek/rapporten/330080001.html>. accessed on 10 June 2009.
- KFIA, Korea Foods Industry Association. (1998) *Food Code*. Moonyongsa Co., Seoul, Korea. p.637-643.
- Khalifa AN. (2001) Natural convective heat transfer coefficient - a review I. Isolated vertical and horizontal surfaces. *Ener. Conver. Mang.* 42(4): 491-504.
- Kim C, Hung YC, Brackett RE, Lin CS. (2003) Efficacy of electrolyzed oxidizing water in inactivating *Salmonella* on alfalfa seeds and sprouts. *J. Food Prot.* 66(2): 208-214.
- Kim HJ, Lee DS, Paik HD. (2004) Characterization of *Bacillus cereus* isolates from raw soybean sprouts. *J. Food Prot.* 67(5): 1031-1035.
- Kocharunchitt C, Ross T, McNeil DL. (2009) Use of bacteriophages as biocontrol agents to control *Salmonella* associated with seed sprouts. *Int. J. Food Microbiol.* 128(3): 453-459.
- Lang MM, Ingham BH, Ingham SC. (2000) Efficacy of novel organic acid and hypochlorite treatments for eliminating *Escherichia coli* O157:H7 from alfalfa seeds prior to sprouting. *Int. J. Food Microbiol.* 58: 73-82.
- Lee HH, Hong SI, Kim DM, Han YS. (2003) Effect of hot water treatment on biochemical changes in minimally processed onion. *Food Sci. Biotechnol.* 12(4): 445-450.
- Liao CH. (2008) Growth of *Salmonella* on sprouting alfalfa seeds as affected by the inoculum size, native microbial load and *Pseudomonas fluorescens* 2-79. *Lett. Appl. Microbiol.* 46(2): 232-236.
- Lin CM, Moon SS, Dolye MP, Mcwatters KH. (2002) Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella enteritidis*, and *Listeria monocytogenes* on lettuce by hydrogen peroxide and lactic acid and by hydrogen peroxide with mild heat. *J. Food Prot.* 65(8): 1215-1220.
- Liu B, Schaffner DW. (2007) Quantitative analysis of the growth of *Salmonella* Stanley during alfalfa sprouting and evaluation of *Enterobacter aerogenes* as its surrogate. *J. Food*

- Prot. 70(2): 136-322.
- Looney ML. (1995) Active Food Packaging. Blackie Academic & Professional, London, UK.
- Mahon BE, Ponka A, Hall WN, Komatsu K, Dietrich SE, Siitonen A, Cage G, Hayes PS, Lambert-Fair MA, Bean NH, Griffin PM, Slutsker L. (1997) An international outbreak of *Salmonella* infections caused by alfalfa sprouts grown from contaminated seeds. J. Infect. Dis. 175(4): 876-882.
- Manvell PM, Ackland MR. (1986) Rapid detection of microbial growth in vegetable salads at chill and abuse temperatures. Food Microbiol. 3(1): 59-65.
- Marchetti R, Casadei MA, Guerzoni ME. (1992) Microbial population dynamics in ready-to-use vegetable salads. Italian J. Food Sci. 44(1): 97-108.
- Matsunaga K, Burgess G, Lockhart H. (2007) Two methods for calculating the amount of refrigerant required for cyclic temperature testing of insulated packages. Packag. Technol. Sci. 20(2): 113-123.
- Mattila L, Leirisalo-Repo M, Koskimies S, Granfors K, Siitonen A. (1994) Reactive arthritis following an outbreak of *Salmonella* infection in Finland. Br. J. Rheumatol. 33(12): 1136-1141.
- Mazzoni AM, Sharma RR, Demirci A, Ziegler GR. (2001) Supercritical carbon dioxide treatment to inactivate aerobic microorganisms on alfalfa seeds. J. Food Safety 21(4): 215-223.
- Michino H, Araki K, Minami S, Takaya S, Sakai N, Miyazaki M, Ono A, Yanagawa H. (1999) Massive outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infection in schoolchildren in Sakai City, Japan, associated with consumption of white radish sprouts. Am. J. Epidemiol. 150(8): 787-796.
- Millard G, Rockliff S. (2001) Microbiological quality of seed sprouts. ACT Health Protection Service.
- Ministry of Agriculture and Forestry (2003) Trends and sources of zoonotic agents in animals, feedingstuffs, food and man in Finland in 2002. Department of Food and Health, Finland. <http://wwwb.mmm.fi/el/julk/kuvat/zoona/02/table12.0.pdf#search=%22s.%20abony%20and%20finland%20and%20mung%20bean%20sprouts%22>. Accessed on 24 February 2009.
- Mohle-Boetani J, Werner B, Polumbo M, Farrer J, Vugia D, Komatsu K, Tagg K, Peterson N, Painter J, Van Dunn S, Winthrop K, Beatty M. (2002) Outbreak of *Salmonella* serotype Kottbus infections associated with eating alfalfa sprouts-Arizona, California, Colorado, and New Mexico, February-April 2001. MMWR Morb. Mortal Wkly. Rep. 51(1):7-9.
- Mohle-Boetani JC, Farrar JA, Werner SB, Minassian D, Bryant R, Abbott S, Slutsker L,

- Vugia DJ. (2001) *Escherichia coli* O157 and *Salmonella* infections associated with sprouts in California, 1996-1998. *Ann. Intern. Med.* 135(4): 239-247.
- Montville R, Schaffner DW. (2004) Analysis of published sprout seed sanitization studies shows treatments are highly variable. *J. Food Prot.* 67(4): 758-765.
- Montville R, Schaffner DW. (2005) Monte Carlo simulation of pathogen behavior during the sprout production process. *Appl. Environ. Microbiol.* 71(2): 746-753.
- Moureh J, Derens E. (2000) Numerical modelling of the temperature increase in frozen food packaged in the distribution chain. *Int. J. Refrig.* 23(7): 540-552.
- Moureh J, Laguerre O, Flick D, Commere B. (2002) Analysis of use of insulating pallet covers for shipping heat-sensitive foodstuffs in ambient condition. *Comput. Electron. Agric.* 34(1-3): 89-109.
- Mundt JO, Hinkle NF. (1976) Bacteria within ovules and seeds. *Appl. Environ. Microbiol.* 32(5): 694-698.
- NACMCF. (1999a) Microbiological safety evaluations and recommendations on sprouted seeds. *Int. J. Food Microbiol.* 52(3): 123-153.
- NACMCF. (1999b) Microbiological safety evaluations and recommendations on sprouted seeds. <http://www.cfsan.fda.gov/~mow/sprouts2.html>. Accessed on 19 January 2010.
- Nelson SO, Lu CY, Beuchat LR, Harrison MA. (2002) Radio-frequency heating of alfalfa seed for reducing human pathogens. *Trans. ASAE.* 45(6): 1937-1942.
- Nguyen-the C, Carlin F. (1994) The microbiology of minimally processed fresh fruits and vegetables. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 34(4): 371-401.
- O'Mahony M, Cowden J, Smyth B, Lynch D, Hall M, Rowe B, Teare EL, Tettmar RE, Rampling AM, Coles M. (1990) An outbreak of *Salmonella* Saint-Paul infection associated with bean sprouts. *Epidemiol. Infect.* 104(2): 229-235.
- O'Mahony M, Cowden J, Smyth B, Lynch D, Hall M, Rowe B, Teare EL. (1990) An outbreak of *Salmonella saintpaul* infection associated with bean sprouts. *Epidemiol. Infect.* 104(2): 229-235
- Ohlsson T. (1994) Minimal processing-preservation methods of the future: an overview. *Trend Food Sci. Technol.* 5(11): 341-344.
- OzFoodNet. (2006) Burden and causes of food-borne disease in Australia: Annual report of the OzFoodNet network, 2005. *Commun. Dis. Intell.* 30(3): 278-300.
- OzFoodNet. (2007) Monitoring the incidence and causes of diseases potentially transmitted by food in Australia: annual report of the Ozfoodnet Network, 2006. *Commun. Dis. Intell.* 31(4): 345-365.

- Palmai M, Buchanan RL. (2002) Growth of *Listeria monocytogenes* during germination of alfalfa sprouts. *Food Microbiol.* 19(2-3): 195-200.
- Pandurangi S, Elweeell MW, Anantheswaran RC, LaBorde LF. (2003) Efficacy of sulfuric acid scarification and disinfectant treatments in eliminating *Escherichia coli* O157:H7 from alfalfa seeds prior to sprouting. *J. Food Sci.* 68(2): 613-618.
- Pao S, Khalid MF, Kalantari A. (2005) Microbial profiles of on-line-procured sprouting seeds and potential hazards associated with enterotoxigenic *Bacillus* spp. in homegrown sprouts. *J. Food Prot.* 68(8): 1648-1653.
- Park CM, Taormina PJ, Beuchat LR. (2000) Efficacy of allyl isothiocyanate in killing enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 on alfalfa seeds. *Int. J. Food Microbiol.* 56(1): 13-20.
- Parry RT. (1993) Principles and Applications of Modified Atmosphere Packaging of Foods. Blackie Academic & Professional, Glasgow, UK.
- Ponka A, Andersson Y, Siitonen A, de JB, Jahkola M, Haikala O, Kuhmonen A, Pakkala P. (1995) *Salmonella* in alfalfa sprouts. *Lancet* 345(8947): 462-463.
- Portnoy BL, Goepfert JM, Harmon SM. (1976) An outbreak of *Bacillus cereus* food poisoning resulting from contaminated vegetable sprouts. *Am. J. Epidemiol.* 103(6): 589-594.
- Proctor ME, Hamacher M, Tortorello ML, Archer JR, Davis JP. (2001) Multistate outbreak of *Salmonella* serovar Muenchen infections associated with alfalfa sprouts grown from seeds pretreated with calcium hypochlorite. *J. Clin. Microbiol.* 39(10): 3461-3465.
- Prokopowich D, Blank G. (1991) Microbiological evaluation of vegetable sprouts and seeds. *J. Food Prot.* 54(7): 560-562.
- Puohiniemi R, Heiskanen T, Siitonen A. (1997) Molecular epidemiology of two international sprout-borne *Salmonella* outbreaks. *J. Clin. Microbiol.* 35(10): 2487-2491.
- Rajkowski KT, Boyd G, Thayer DW. (2003) Irradiation D-values for *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* sp. on inoculated broccoli seeds and effects of irradiation on broccoli sprout keeping quality and seed viability. *J. Food Prot.* 66(5): 760-766.
- Rajkowski KT, Thayer DW. (2000) Reduction of *Salmonella* spp. and strains of *Escherichia coli* O157:H7 by gamma radiation of inoculated sprouts. *J. Food Prot.* 63(7): 871-875.
- RIRDC (2008) Economic Analysis of the Australian Lucerne Seed Industry. Rural Industries R&D Corporation. <http://www.rirdc.gov.au/reports/PSE/08-103.pdf>. Accessed on 7 January 2009.
- Robertson LJ, Johannessen GS, Gjerde BK, Loncarevic S. (2002) Microbiological analysis of seed sprouts in Norway. *Int. J. Food Microbiol.* 75(1-2): 119-126.

- Saltveit ME. (2004) Respiratory metabolism. In *The Commercial Storage of Fruits, Vegetables, and Florist and Nursery Stocks*. Agriculture Handbook Number 66, BARS, USDA. <http://www.ba.ars.usda.gov/hb66/019respiration.pdf>. accessed 10 May 2010.
- Samadpour M, Barbour MW, Nguyen T, Cao TM, Buck F, Depavia GA, Mazengia E, Yang P, Alfi D, Lopes M, Stopforth JD. (2006) Incidence of enterohemorrhagic *Escherichia coli*, *Escherichia coli* O157, *Salmonella*, and *Listeria monocytogenes* in retail fresh ground beef, sprouts, and mushrooms. *J. Food Prot.* 69(2): 441-443.
- Sastry SK, Kilara A. (1983) Temperature response of frozen peas to di-thermal storage regimes. *J. Food Sci.* 48(1): 77-83.
- Schelch WF, Lvigne PM, Boltolussi RA, Allen AC, Haldane EV, Wort AJ, Hightower AW. (1983) Epidemic listeriosis-evidence for transmission by food. *New Eng. J. Med.* 308(4): 203-206.
- Sewell AM, Farber JM. (2001) Food-borne outbreaks in Canada linked to produce. *J. Food Prot.* 64(11): 1863-1877.
- Sharma RR, Demirci A, Beuchat LR, Fett WF. (2002) Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 on inoculated alfalfa seeds with ozonated water and heat treatment. *J. Food Prot.* 65(3): 447-451.
- Sharma RR, Demirci A. (2003a) Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 on inoculated alfalfa seeds with pulsed ultraviolet light and response surface modeling. *J. Food Sci.* 68(4): 1448-1453.
- Sharma RR, Demirci A. (2003b) Treatment of *Escherichia coli* O157:H7 inoculated alfalfa seeds and sprouts with electrolyzed oxidizing water. *Int. J. Food Microbiol.* 86(3): 231-237.
- Singh SP, Burgess G, Singh J. (2008) Performance comparison of thermal insulated packaging boxes, bags and refrigerants for single-parcel shipments. *Packag. Technol. Sci.* 21(1): 25-35.
- Sinton LW, Braithwaite RR, Hall CH, Mackenzie ML. (2007) Survival of indicator and pathogenic bacteria in bovine feces on pasture. *Appl. Environ. Microbiol.* 73(24): 7917-7925.
- Stan SD, Daeschel MA. (2003) Reduction of *Salmonella enterica* on alfalfa seeds with acidic electrolyzed oxidizing water and enhanced uptake of acidic electrolyzed oxidizing water into seeds by gas exchange. *J. Food Prot.* 66(11): 2017-2022.
- Stewart D, Reineke K, Ulaszek J, Fu T, Tortorello M. (2001a) Growth of *Escherichia coli* O157:H7 during sprouting of alfalfa seeds. *Lett. Appl. Microbiol.* 33(2): 95-99.
- Stewart DS, Reineke KF, Ulaszek JM, Tortorello ML. (2001b) Growth of *Salmonella* during sprouting of alfalfa seeds associated with salmonellosis outbreaks. *J. Food Prot.* 64(5): 618-622.

- Stratton J, Stefaniw L, Grimsrud K, Werker DH, Ellis A, Ashton E, Chui L, Blewett E, Ahmed R, Clark C, Rodgers F, Trottier L, Jensen B. (2001) Outbreak of *Salmonella paratyphi* B var java due to contaminated alfalfa sprouts in Alberta, British Columbia and Saskatchewan. Can. Commun. Dis. Rep. 27(16): 133-137.
- Stubbs DM, Pulko SH, Wilkinson AJ. (2004) Wrapping strategies for temperature control of chilled foodstuffs during transport. Trans. Inst. Meas. Contr. 26(1): 69-80.
- Sugiyama H, Yang KH. (1975) Growth potential of *Cl. botulinum* in fresh mushroom packaged in semipermeable plastic film. Appl. Microbiol. 30(6): 964-969.
- Taormina PJ, Beuchat LR, Slutsker L. (1999) Infections associated with eating seed sprouts: an international concern. Emerg. Infect. Dis. 5(5): 626-634.
- Taormina PJ, Beuchat LR. (1999) Comparison of chemical treatments to eliminate enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 on alfalfa seeds. J. Food Prot. 62(4): 318-324.
- Thayer DW, Rajkowski KT, Boyd G, Cooke PH, Soroka DS. (2003) Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* by gamma irradiation of alfalfa seed intended for production of food sprouts. J. Food Prot. 66(2): 175-181.
- van Beneden CA, Keene WE, Strang RA, Werker DH, King AS, Mahon B, Hedberg K, Bell A, Kelly MT, Balan VK, MacKenzie WR, Fleming D. (1999) Multinational outbreak of *Salmonella enterica* serotype Newport infections due to contaminated alfalfa sprouts. J. Am. Med. Assoc. 281(2): 158-162.
- van Duynhoven YTHP, Widdowson MA, de Jager CM, Fernandes T, Neppelenbroek S, van den Brandhof W, Wannet WJB, van Kooij JA, Rietveld HJM, van Pelt W. (2002) *Salmonella enterica* serotype Enteritidis phage type 4b outbreak associated with bean sprouts. Emerg. Infect. Dis. 8(4): 440-443.
- Velani S, Roberts D. (1991) *Listeria monocytogenes* and other *Listeria* spp. in prepacked mixed salads and individual salads ingredients. PHLS Microbiol. Digest 8(1): 21-22.
- Venczel LV, Arrowood M, Hurd M, Sobsey MD. (1997) Inactivation of *Cryptosporidium parvum* oocysts and *Clostridium perfringens* spores by a mixed-oxidant disinfectant and by free chlorine. Appl. Environ. Microbiol. 63(4): 1598-1601.
- Wade WN, Scouten AJ, McWatters KH, Wick RL, Demirci A, Fett WF, Beuchat LR. (2003) Efficacy of ozone in killing *Listeria monocytogenes* on alfalfa seeds and sprouts and effects on sensory quality of sprouts. J. Food Prot. 66(1): 44-51.
- Waje C, Kwon JH. (2007) Improving the food safety of seed sprout through irradiation treatment. Food Sci. Biotechnol. 16(2): 171-176.
- Warriner K, Spaniolas S, Dickinson M, Wright C, Waites WM. (2003) Internalization of



- bioluminescent *Escherichia coli* and *Salmonella* Montevideo in growing bean sprouts. J. Appl. Microbiol. 95(4): 719-727.
- Watanabe Y, Ozasa K, Mermin JH, Griffin PM, Masuda K, Imashuku S, Sawada T. (1999) Factory outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infection in Japan. Emerg. Infect. Dis. 5(3): 424-428.
- Weiss A, Hammes WP. (2003) Thermal seed treatment to improve the food safety status of sprouts. J. Appl. Bot.-Angew. Bot. 77(5-6): 152-155.
- Weissinger WR, Beuchat LR. (2000) Comparison of aqueous chemical treatments to eliminate *Salmonella* on alfalfa seeds. J. Food Prot. 63(11): 1475-1482.
- Weissinger WR, Chantarapanont W, Beuchat LR. (2000) Survival and growth of *Salmonella bairdii* in shredded lettuce and diced tomatoes, and effectiveness of chlorinated water as a sanitizer. Int. J. Food Microbiol. 62(1-2): 123-131.
- Weissinger WR, McWatters KH, Beuchat LR. (2001) Evaluation of volatile chemical treatments for lethality to *Salmonella* on alfalfa seeds and sprouts. J. Food Prot. 64(4): 442-450.
- Wiley RC. (1994) Minimally processed refrigerated fruits and vegetables. Chapman & Hall, New York, USA.
- Winthrop KL, Palumbo MS, Farrar JA, Mohle-Boetani JC, Abbott S, Beatty ME, Inami G, Werner SB. (2003) Alfalfa sprouts and *Salmonella* Kottbus infection: A multi-state outbreak following inadequate seed disinfection with heat and chlorine. J. Food Prot. 66(1): 13-17.
- Wu FM, Beuchat LR, Wells JG, Slutsker L, Doyle MP, Swaminathan B. (2001) Factors influencing the detection and enumeration of *Escherichia coli* O157:H7 on alfalfa seeds. Int. J. Food Microbiol. 71(1): 93-99.
- Wuytack EY, Diels AMJ, Meersseman K, Michiels CW. (2003) Decontamination of seeds for seed sprout production by high hydrostatic pressure. J. Food Prot. 66(6): 918-923.
- Zuritz CA, Sastry SK. (1986) Effect of packaging materials on temperature fluctuations in frozen foods: Mathematical model and experimental studies. J. Food Sci. 51(4): 1050-1056.
- Zuritz CA, Singh RP. (1985) Modelling temperature fluctuations in stored frozen foods. Int. J. Refrig. 8(5): 289-293.

부록: 호주 새싹채소의 주요 생산 및 가공 규격(안)



15 July 2009  
[11-09]

## **PROPOSAL P1004 PRIMARY PRODUCTION & PROCESSING STANDARD FOR SEED SPROUTS (FIRST ASSESSMENT REPORT)**

---

### **Executive Summary**

#### **Purpose**

FSANZ has prepared this FIRST Assessment Report for public consultation. This Report is prepared in accordance with the principles of best practice regulation recommended by the Council of Australian Governments: identifying the problem that has prompted government action; the objectives of such action; and possible options for achieving the objectives. An overview of the industry sector, the proposed scope of the work, the food safety hazards and existing food safety measures (regulatory and non-regulatory) applying to the industry are provided.

To assist FSANZ undertake a comprehensive and informed impact analysis of the proposed options, affected parties are encouraged to provide comment and information on the issues raised in the report.

This Proposal is being assessed under the Major Procedure.

#### **Introduction**

A primary production and processing standard is an Australia-only standard and a set of obligations on primary producers and processors of food commodities. These standards are incorporated into Chapter 4 of the *Australia New Zealand Food Standards Code* (the Code) and along with other standards in the Code, they provide an approach to managing food safety and suitability in Australia that extends from production on the farm through to sale to the consumer.

To date, FSANZ has developed primary production and processing standards for the seafood and dairy sectors and is currently developing standards for poultry meat, eggs and red meat. The development of a primary production and processing standard for seed sprouts is now being considered following two outbreaks of food-borne illness in Australia attributed to the consumption of seed sprouts in 2005-2006.

Seed sprouts are a ready-to-eat sprouted form of seeds produced from a wide range of seeds including alfalfa, onion, radish, broccoli, sunflower, cress, snow peas, lentils, peas and mung beans.

Proposal P1004 will examine possible food safety measures that can be applied to primary production and processing of seed sprouts, covering the areas of seed production (pre-harvest and post-harvest activities) and sprout production.

A Standard Development Committee (SDC) consisting of representatives from the industry, retail, government regulators and consumers has been established by FSANZ to advise on this standard development Proposal.

### The Problem

Seed sprouts contaminated by pathogenic micro-organisms present an unacceptable health risk to consumers. In recent years, outbreaks of food-borne illness have been associated with the consumption of seed sprouts both in Australia and overseas. In 2005 and 2006, two outbreaks of *Salmonella Oranienburg* in Australia were attributed to the consumption of alfalfa sprouts. The outbreaks affected the health of more than 130 people. Factors contributing to these adverse health events include:

- the inherent nature of the product (e.g. a ready-to-eat product in which the production process supports the growth of microbial pathogens if present)
- scientific uncertainty around the most effective pathogen mitigation steps
- a lack of through-chain risk mitigation measures (either regulatory or non-regulatory).

### Objectives

The goal of government action is to minimise adverse health effects associated with the consumption of seed sprouts. The objectives of Proposal P1004 are to assess the need for and identify any appropriate through-chain control measures (regulatory and non-regulatory) that can be implemented nationally by industry to maximise the safety of seed sprouts.

### Options

In order to decide the most effective and efficient approach for achieving the objectives, FSANZ must consider various risk management options. These options include the *Status Quo* (the situation if no action is taken) as a comparative measure against appropriate regulatory (government) and non-regulatory (industry) approaches. The options identified for Proposal P1004 are:

- Option 1 – Self regulation. This approach requires food or primary production businesses to implement and enforce industry guidelines or codes of practice aimed at improving the safety of seed sprouts.
- Option 2 – *Status Quo*. Currently there is a mixture of regulatory (State based and export requirements) and self-regulatory approaches developed for different pockets of the production chain for seed sprouts. A nationally consistent set of food safety measures across the production chain for seed sprouts is lacking.
- Option 3 – Food Regulatory measures. This involves the development of food regulatory measures in the Code for sectors involved in the production of seed sprouts together with a regulatory impact analysis that demonstrates such measures are commensurate with risk and are cost effective.

## Impact Analysis

The preferred option decided through the assessment of Proposal P1004 will be based on an analysis that considers:

- who is affected by the problem and the proposed solution
- scientific evaluation of the risks
- efficacy and practicality of risk mitigation measures (control measures) identified
- costs and benefits to affected parties of the interventions associated with each option.

In deciding the preferred option, an assessment of the costs and benefits of each of the identified options will be undertaken. This will include:

- looking at the scientific evidence that identifies the main hazards associated with seed sprouts and the factors along the supply chain that impact on the presence or level of that hazard
- assessing the factors that impact on the presence or level of these hazards in order to identify what control measures are needed and the extent to which potential hazards can or cannot be managed at steps in the chain to minimise public health risks.

FSANZ, with advice from the SDC and taking into consideration submissions made on this report, will undertake a detailed impact analysis of the costs and benefits to each affected party posed by each option. This assessment, together with the preferred option, will be detailed in the SECOND Assessment Report.

## Conclusion

The comments and information provided during this consultation will be considered during the second assessment stage of this Proposal when a preferred option for implementing national through-chain food safety control measures for the seed sprout industry will be proposed.

## Invitation for Submissions

FSANZ invites public comment on this Report based on the principles of best practice regulation for the purpose of preparing an amendment to the Code for approval by the FSANZ Board.

Written submissions are invited from interested individuals and organisations to assist FSANZ in further considering this Proposal. Submissions should, where possible, address the objectives of FSANZ as set out in section 18 of the *FSANZ Act*. Information providing details of potential costs and benefits of the proposed change to the Code from stakeholders is highly desirable. Claims made in submissions should be supported wherever possible by referencing or including relevant studies, research findings, trials, surveys etc. Technical information should be in sufficient detail to allow independent scientific assessment.

The processes of FSANZ are open to public scrutiny, and any submissions received will ordinarily be placed on the public register of FSANZ and made available for inspection. If you wish any information contained in a submission to remain confidential to FSANZ, you should clearly identify the sensitive information, separate it from your submission and provide justification for treating it as confidential commercial material. Section 114 of the *FSANZ Act* requires FSANZ to treat in-confidence, trade secrets relating to food and any other information relating to food, the commercial value of which would be, or could reasonably be expected to be, destroyed or diminished by disclosure.

Submissions must be made in writing and should clearly be marked with the word 'Submission' and quote the correct project number and name. While FSANZ accepts submissions in hard copy to our offices, it is more convenient and quicker to receive submissions electronically through the FSANZ website using the Standards Development tab and then through Documents for Public Comment. Alternatively, you may email your submission directly to the Standards Management Officer at [submissions@foodstandards.gov.au](mailto:submissions@foodstandards.gov.au). There is no need to send a hard copy of your submission if you have submitted it by email or the FSANZ website. FSANZ endeavours to formally acknowledge receipt of submissions within 3 business days.

---

**DEADLINE FOR PUBLIC SUBMISSIONS: 6pm (Canberra time) 26 August 2009**

---

**SUBMISSIONS RECEIVED AFTER THIS DEADLINE WILL NOT BE CONSIDERED**

---

Submissions received after this date will only be considered if agreement for an extension has been given prior to this closing date. Agreement to an extension of time will only be given if extraordinary circumstances warrant an extension to the submission period. Any agreed extension will be notified on the FSANZ website and will apply to all submitters.

Questions relating to making submissions can be directed to the Standards Management Officer at [standards.management@foodstandards.gov.au](mailto:standards.management@foodstandards.gov.au).

If you are unable to submit your submission electronically, hard copy submissions may be sent to one of the following addresses:

**Food Standards Australia New Zealand  
PO Box 7186  
Canberra BC ACT 2610  
AUSTRALIA  
Tel (02) 6271 2222**

**Food Standards Australia New Zealand  
PO Box 10559  
The Terrace WELLINGTON 6036  
NEW ZEALAND  
Tel (04) 473 9942**

# CONTENTS

|  |    |
|--|----|
| INTRODUCTION.....  | 3  |
| 1. PRIMARY PRODUCTION AND PROCESSING STANDARDS .....                               | 3  |
| 2. SEED SPROUTS .....  | 4  |
| 2.1 Scope .....  | 4  |
| 2.2 The production chain.....  | 4  |
| 2.2.1 Seed production.....   | 4  |
| 2.2.2 Sprout production .....  | 5  |
| THE PROBLEM .....  | 5  |
| 3. PUBLIC HEALTH RISK.....   | 6  |
| 3.1 Outbreaks of food-borne illness associated with seed sprouts.....              | 6  |
| 3.2 Factors contributing to risk.....  | 6  |
| 3.3 What controls are effective?.....  | 7  |
| 4. EXISTING REQUIREMENTS.....  | 7  |
| 4.1 Regulatory .....   | 7  |
| 4.1.1 Australia New Zealand Food Standards Code .....                              | 7  |
| 4.1.1.1 Chapter 3 – Food Safety Standards.....                                     | 7  |
| 4.1.1.2 Chapter 1 – General Food Standards .....                                   | 8  |
| 4.1.2 State-based requirements.....  | 8  |
| 4.1.3 Export requirements.....   | 8  |
| 4.2 Industry measures.....   | 9  |
| 4.2.1 Seed producers.....  | 9  |
| 4.2.2 Sprout producers.....  | 9  |
| 4.2.3 Retailers.....   | 10 |
| OBJECTIVES.....  | 10 |
| 5. OBJECTIVE OF THE PROPOSAL .....   | 10 |
| 5.1 Process for achieving the objective.....                                       | 10 |
| 5.2 Constraints .....  | 11 |
| 5.2.1 FSANZ Act.....   | 11 |
| 5.2.2 Policy guidelines.....   | 11 |
| OPTIONS .....  | 12 |
| 6. RISK MANAGEMENT OPTIONS.....  | 12 |
| 6.1 Option 1 – Self-regulation.....  | 12 |
| 6.2 Option 2 – Status Quo.....   | 12 |
| 6.3 Option 3 – Food regulatory measures.....                                       | 12 |
| IMPACT ANALYSIS.....   | 13 |
| 7. CONSULTATION AND COMMUNICATION .....  | 13 |
| 7.1 Consultation.....  | 13 |
| 7.2 Communication.....   | 13 |
| 8. AFFECTED PARTIES .....  | 14 |
| 8.1 Industry.....  | 14 |
| 8.1.1 Seed production.....   | 14 |
| 8.1.2 Sprout production .....  | 14 |
| 8.1.3 Wholesalers and Retail .....   | 14 |
| 8.2 Consumers.....   | 14 |
| 8.3 Government.....  | 15 |
| 8.4 World Trade Organization notification.....                                     | 15 |
| 9. SCIENTIFIC EVALUATION OF THE RISK.....  | 15 |
| 9.1 Scientific/Risk Assessment .....   | 16 |
| 9.1.1 Microbiological hazards .....  | 16 |
| 9.1.2 Factors that impact on the presence or level of microbiological hazards..... | 16 |
| 9.1.3 Chemical hazards .....   | 17 |
| 9.1.4 Factors that impact on the presence or level of chemical hazards.....        | 17 |
| 10. RISK MITIGATION (CONTROL) MEASURES.....  | 17 |

|      |   |    |
|------|---|----|
| 11.  | ASSESSMENT OF OPTIONS .....   | 19 |
| 11.1 | <i>Option 1 – Self-regulation</i> .....   | 19 |
| 11.2 | <i>Option 2 – Status Quo</i> .....  | 19 |
| 11.3 | <i>Option 3 – Food Safety Regulations</i> .....                                     | 19 |
|      | CONCLUSION .....  | 20 |
| 12.  | CONCLUSION .....  | 20 |
|      | ATTACHMENT 1 - THE SEED SPROUT INDUSTRY .....                                       | 21 |
|      | ATTACHMENT 2 - MICROBIOLOGICAL HAZARD EVALUATION OF SEED SPROUTS.....               | 28 |
|      | ATTACHMENT 3 - CHEMICAL HAZARD EVALUATION OF SEED SPROUTS.....                      | 40 |
|      | ATTACHMENT 4 - COST ESTIMATE OF THE 2005-06 AUSTRALIAN SEED SPROUT OUTBREAKS.....   | 43 |
|      | ATTACHMENT 5 - REGULATORY MEASURES APPLYING TO SPROUT PRODUCTION IN AUSTRALIA ..... | 46 |
|      | ATTACHMENT 6 - SUMMARY OF INTERNATIONAL GUIDELINES/CODES OF PRACTICE.....           | 50 |
|      | ATTACHMENT 7 - SDC MEMBERSHIP.....  | 53 |
|      | REFERENCES .....  | 55 |

## **Introduction**

### **1. Primary Production and Processing Standards**

Since June 2002, Food Standards Australia New Zealand (FSANZ) has had responsibility for developing national food safety requirements that cover all parts of the food supply chain – an integrated paddock-to plate approach. To this effect, FSANZ has been developing primary production and processing standards for identified industry sectors for inclusion in the *Australia New Zealand Food Standards Code* (the Code).

A primary production and processing standard is a set of obligations on primary producers and processors of food commodities. These obligations include measures to control food safety hazards that could occur during the production and processing of agricultural produce. Such measures may include requirements for:

- control of inputs
- premises and equipment
- health and hygiene
- skills and knowledge
- storage and transportation
- traceability

Primary production and processing standards are incorporated into Chapter 4 of the Code and apply in Australia only. Along with other standards in the Code they provide an approach to managing food safety and suitability<sup>1</sup> in Australia that extends from production on the farm through to sale to the consumer. The process for developing such standards takes into account existing food safety requirements implemented by the sector, including any existing regulations (e.g. State legislation), industry codes of practice or guidelines and accredited food safety systems.

To date, FSANZ has developed primary production and processing standards for the seafood and dairy sectors and is currently assessing and developing standards for the poultry meat, and egg sectors. Work has also begun on meat and meat products. Concurrently, there have been preliminary scoping activities looking at the area of plants and plant products (e.g. fruit, vegetables, nuts, seed sprouts, fresh cuts) to consider how best to progress work on such a wide range of plant commodities. During this process the production of seed sprouts<sup>2</sup> has been identified as an area of public health concern (two outbreaks of food-borne illness in Australia were attributed to the consumption of seed sprouts in 2005-2006). Consequently FSANZ is now considering the development of a primary production and processing standard for seed sprouts.

A Standard Development Committee (SDC) consisting of representatives from the industry, retail, government regulators and consumers has been established by FSANZ to advise on this standard development Proposal.

---

<sup>1</sup> The term 'unsafe and unsuitable' covers hazards that could affect the health of consumers as well as levels of contaminants and residues which, while not unsafe, are in excess of the limits in the Code.

<sup>2</sup> Seed sprouts are sprouted seeds or beans (such as mung beans, alfalfa, mustard seed, onion, radish, soya bean etc) generally used and consumed as a salad vegetable.



## **2. Seed sprouts**

### **2.1 Scope**

Seed sprouts are a germinated form of seeds<sup>3</sup> that are commonly consumed raw. There is a wide range of seeds that can be used for sprout production including (but not limited to) alfalfa, onion, radish, broccoli, sunflower, cress, snow peas, lentils, peas and mung beans. In Australia, bean sprouts, alfalfa sprouts (germinated lucerne seed) and snow pea sprouts are the main sprouts produced.

This Proposal will examine possible food safety measures that can be applied to primary production and processing of green sprouts (e.g. alfalfa sprouts, onion sprouts, radish sprouts etc.), bean sprouts (which are primarily produced from mung beans) and snow pea shoots.

### **2.2 The production chain**

There are two aspects to the seed sprout industry – the production of seeds and the production of sprouts. In determining appropriate interventions across the supply chain, Proposal P1004 will look at both the seed production sector and the sprout production sector. The production stages to be considered in this process are outlined below. Further information on the industry and production processes is provided in Attachment 1.

#### *2.2.1 Seed production*

Seed production involves pre-harvest and post-harvest activities. These are presented in this report as on farm seed production and seed processing/grading.

In general, on farm seed production involves the following steps:

- field preparation/planting
- growth (including flowering and seed setting)
- seed harvest
- storage
- transport

At each of these steps, there are handling activities, equipment and inputs (e.g. irrigation water, fertilisers, agricultural chemicals) that need to be considered in determining possible food safety control measures.

Once seeds are transported to seed processing facilities there are a number of other steps involved:

- seed receipt/storage
- seed cleaning
- bagging
- storage
- transport

---

<sup>3</sup> This Proposal is concerned with seeds from legumes, pulses, brassicas, bulb and root vegetables, and oilseeds such as sunflower seeds which, when sprouted, are used and consumed as salad vegetables. Sprouted forms of cereal grains (wheat, barley, oats etc.) which are used in the brewing industry or in juice manufacture (e.g. wheat grass) are excluded from the scope of this Proposal.

The handling activities undertaken, equipment used and premises/facilities for storage and processing also need to be considered in determining possible food safety control measures for seed production.

### 2.2.2 *Sprout production*

While there is a range of sprouted seed products, the steps generally involved in sprout production include:

- seed receipt/storage
- seed disinfection
- seed soaking
- germination/growth
- harvest
- washing/drying (depending on the variety and how it is grown)
- packaging
- chilling/storage
- transport

Given the range of seeds that can be sprouted, sprouting may occur in bins, tubs, punnets or beds, or involve a growth medium. Temperature and humidity conditions used during sprouting may also vary depending on the product. Possible food safety control measures that impact on the safety of sprouts need to have regard to all steps involved, from receipt of raw materials through to transportation of the final product to retail/wholesale.

## **The Problem**

Seed sprouts contaminated by pathogenic micro-organisms present an unacceptable health risk to consumers. In recent years, outbreaks of food-borne illness have been associated with the consumption of seed sprouts both in Australia and overseas. Factors contributing to these adverse health events include:

- the inherent nature of the product (e.g. a ready-to-eat product in which the production process supports the growth of microbial pathogens if present)
- scientific uncertainty around the most effective pathogen mitigation steps
- a lack of through-chain risk mitigation measures (either regulatory or non-regulatory).

Since the most recent food-borne illness outbreaks in Australia in 2005-2006, seed sprouters have formed an industry association and developed industry guidelines to support the safer production of their products. However, the seed sprout industry consists of many small<sup>4</sup> businesses and to date it has been difficult to achieve adequate coverage of the industry and comprehensive uptake of the guidelines. The industry association has sought government intervention and the development of regulatory measures (as appropriate) for the industry.

In regard to chemical hazards from seed sprouts, the limited data available do not indicate that these is a major concern for seed sprouts and, at this time, FSANZ does not consider there is a need for this issue to be further assessed (a Chemical Evaluation of Seed Sprouts is provided at Attachment 3).

---

<sup>4</sup> The Australia Bureau of Statistics (ABS) defines a small business to be any business with less than 20 employees.

### 3. Public Health Risk<sup>5</sup>

#### 3.1 Outbreaks of food-borne illness associated with seed sprouts

In the period 1988 to 2008, there have been over 40 reported outbreaks of food-borne illness worldwide attributed to consumption of contaminated seed sprouts. The most commonly reported aetiological agents in these outbreaks have been various serovars of *Salmonella* spp. and enterohaemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC). Alfalfa and mung bean sprouts have been the most commonly reported seed sprouts implicated in these outbreaks of food-borne illness.

Most recently there have been two outbreaks of *S. Oranienburg* in Australia attributed to the consumption of alfalfa sprouts. From November 2005 to January 2006, there was an outbreak in Western Australia with 125 cases of salmonellosis reported, resulting in 11 hospitalisations. In May 2006, another outbreak of *S. Oranienburg* was reported in Victoria, with a total of 15 cases and two hospitalisations.

Outbreaks of food-borne illnesses are sporadic and unpredictable. An estimation of the cost of food-borne illness resulting from consumption of contaminated seed sprouts cannot be generated as an annual figure because of the sporadic and infrequent nature of such outbreaks. In this Proposal, the potential cost of adverse health consequences due to consumption of contaminated seed sprouts is estimated using the 2005-2006 outbreak data.

It has been estimated that for every one reported case of food-borne illness in the community there are 9 unreported cases<sup>6</sup>. Taking this underreporting into account, up to 1320 cases of salmonellosis may have been associated with the consumption of contaminated sprouts in Western Australia and Victoria during 2005-2006. When the productivity, welfare and medical costs are taken into consideration, this translates to an estimated social cost of \$AUD11.60 million<sup>7</sup>.

#### 3.2 Factors contributing to risk

Epidemiological investigations suggest contaminated seed is the likely source of most, if not all, sprout-associated outbreaks.

Seeds and beans used for sprouting are raw agricultural products. During production in the field or during storage and conditioning, they may be exposed to pathogenic bacteria from a variety of sources such as contaminated soil, water, animal manure (grazing animals or applied as fertiliser), farming and processing equipment, rodents, insects, wild birds, and agricultural waste. There is, however, little specific data on how seeds used for sprouting become contaminated with pathogens during production or the relative contribution of potential sources of contamination.

If pathogenic bacteria are present on the seed or in the sprouting environment, the environmental conditions applied during the sprouting of seeds (moist conditions at temperatures of 20-30 °C) become ideal for their exponential growth. Therefore, even with very low initial numbers of pathogenic bacteria, there is the potential for pathogens to grow rapidly to high numbers during the sprouting process.

---

<sup>5</sup> The information provided in this section is sourced from a Microbiological Evaluation of Seed Sprouts provided at Attachment 2.

<sup>6</sup> Hall G. et al. (2005) Estimating food-borne gastroenteritis, Australia. *Emerging Infectious Diseases* 11(8): 1257-1264.

<sup>7</sup> Refer to Attachment 4 for cost estimation.

As sprouts are a raw ready-to-eat product, there are no terminal processing steps (such as heat treatment) that can then be applied to eliminate any pathogenic micro-organisms that may be present. This means that the control of potential hazards must start with the seed itself and consider what measures can be implemented to reduce the likelihood of pathogens being present on seeds and during sprout production – a through-chain approach from seed production to seed sprouting.

### 3.3 What controls are effective?

Seed sprout safety has been assessed internationally by a number of countries and through forums such as the Codex Alimentarius Commission (Codex)<sup>8</sup>. Codex has developed a *Code of Hygienic Practice for Fresh Fruits and Vegetables* (CAC/RCP, 2003) which includes an annex specific to sprout production (ANNEX II Annex for Sprout Production). In general, these documents highlight the importance of implementing relevant Good Agricultural Practices for seed production and Good Manufacturing Practices for sprout production to minimise the presence of hazards. In addition there are three specific measures which have been identified for minimising risk:

- testing of seed lots for microbial pathogens
- microbiological decontamination of seed (seed sanitation) prior to use (by, for example, chemical treatment)
- pathogen testing of spent irrigation water.

While a number of scientific investigations (particularly in relation to seed sanitation) have been undertaken around these control measures, and are described in Attachment 2, there is uncertainty and variability in terms of what is or should be achieved by them. Further examination of these measures will take place during the second assessment of the Proposal and in light of any additional information received during the public consultation.

## 4 Existing Requirements

### 4.1 Regulatory<sup>9</sup>

#### 4.1.1 *Australia New Zealand Food Standards Code*

##### 4.1.1.1 Chapter 3 – Food Safety Standards

Standards 3.2.2 - Food Safety Practices and General Requirements and 3.2.3 - Food Premises and Equipment set out specific requirements for food businesses, food handlers and the food premises and equipment with which they operate to ensure the safe production of food. The Chapter 3 Food Safety Standards apply in Australia only and apply to all food businesses involved in the handling of food intended for sale but specifically do not apply to primary food production<sup>10</sup>. Where food safety requirements are required for primary production activities they are developed as primary production and processing standards in Chapter 4.

---

<sup>8</sup> The Codex Alimentarius Commission is the international body that develops food standards, guidelines and related texts such as codes of practice under the Joint FAO/WHO Food Standards Programme.

<sup>9</sup> A more detailed summary of existing regulatory measures is provided at Attachment 5.

<sup>10</sup> Primary food production means the growing, cultivation, picking, harvesting, collection or catching of food and includes transportation or delivery, and the packing, treating (such as washing) or storing of food on the premises on which it was grown, cultivated, picked etc.

Seed producers are primary producers under the definition in the Code. In regard to sprout producers, while their growing and processing operations may involve a number of the food handling activities generally undertaken by food businesses (storing, cooling, and packaging), they also meet the definition of primary food production and Chapter 3 requirements have not been applied to them.

#### 4.1.1.2 Chapter 1 – General Food Standards

The food standards in Chapter 1 apply to all food sold or traded at retail and wholesale level in Australia and New Zealand (except Standards 1.6.2 and 1.4.2 that apply to Australia only). These standards include labelling requirements; the maximum permitted levels for additives, processing aids, contaminants and natural toxicants; Maximum Residue Limits for agricultural and veterinary chemical residues; requirements for articles and materials in contact with food; and microbiological limits for food.

A microbiological limit has been set specifically for seed sprouts (described as cultured seeds and grains) in Standard 1.6.1 where *Salmonella* should not be detected in 25 g.

#### *4.1.2 State-based requirements*

As both seed and sprout producers are considered primary food producers under State and Territory Food legislation, any regulatory measures applying to them would need to have been developed under State or Territory primary production legislation (in lieu of any standards in Chapter 4 of the Code). To date, NSW<sup>11</sup> is the only jurisdiction to have developed requirements for sprout producers under the NSW Food Safety Scheme legislation. This essentially requires seed sprout businesses in NSW to:

- develop and implement an audited Food Safety Program (HACCP plan)
- verify their Food Safety Program through pathogen testing (spent irrigation water)
- have support programs, which may include a maintenance program, approved supplier program, cleaning and sanitation program, pest control program etc.

These requirements for sprout producers in NSW were introduced in 2005 and only apply to the production of sprouts, not the growing of seeds.

#### *4.1.3 Export requirements*

Seed producers<sup>12</sup> who export seeds are regulated by the *Export Control Act 1982*, certain provisions of the *Export Control (Prescribed Goods- General) Orders 2005*, and the *Export Control (Plants and Plant Products) Orders 2005*.

Exporters must meet both the requirements of relevant export legislation and any importing country requirements<sup>13</sup> for the Australian Quarantine and Inspection Service (AQIS) to provide the necessary documentation to enable products to be exported.

---

<sup>11</sup> NSW Food Authority

<sup>12</sup> The term 'seed producers' is also covering businesses that purchase seed from producers and process it (clean it, export it etc- but does not cover sprout producers)

<sup>13</sup> PHYTO is AQIS's plant and plant product export conditions database which contains information about the conditions to export plants and plant products, including fruit, vegetables, seeds, grains, cut flowers and timber from Australia.

Mung beans are prescribed goods for the purposes of the export legislation regardless of the intended end use of the beans. Mung beans for export must be prepared for export and presented for inspection at a registered establishment (that complies with the General Orders and meets the specific requirements for example, structural, operational and hygiene requirements of the Plants and Plant Products Export Control Orders). Exporters must notify the intention to export and the mung beans and transport arrangement must be inspected. The beans must be free of pests, live animals, animal carcasses and animal droppings and must meet any other phytosanitary requirements of the importing country. Export certification will be provided if requirements are met but this not intended to provide assurance of the suitability of the mung beans for consumption.

AQIS of the Department of Agriculture, Fisheries and Forestry is responsible for enforcing the export legislation.

## 4.2 Industry measures

### 4.2.1 Seed producers

Mung bean producers have formed an industry association (Australian Mungbean Association) that comprises all sectors of the mung bean industry. An industry Code of Hygienic Practice for Whole Mung Beans<sup>14</sup> has been developed and is promoted by the Australian Mungbean Association as a minimum standard with which the industry should comply. The mung bean Code of Hygienic Practice covers:

- hygiene requirements on the farm and during transport to the mung bean grading establishment
- design and facilities of the mung bean processing establishment
- hygienic requirements for the mung bean processing establishment
- hygienic processing requirements in the mung bean processing establishment
- storage and transport of the end-product
- reference sampling of finished product.

Lucerne producers have also formed an industry association (Lucerne Australia) to represent all sectors of the lucerne industry. Lucerne seed is primarily grown as a non-food crop for pasture. However, as lucerne seeds have been used to produce alfalfa sprouts, and problems with contaminated lucerne seeds have been raised, microbiological testing (coliforms, *E. coli*, *Salmonella*, *Listeria monocytogenes*) of seed lots has been implemented by some lucerne seed producers and/or processors. Additionally, growers have been investigating on-farm measures they can implement to minimise contamination of lucerne seeds by microbial pathogens on-farm.

### 4.2.2 Sprout producers

The production of seed sprouts in Australia is a relatively small industry undertaken by small, often family owned businesses (there are approximately 30 sprout producers located throughout Australia). Historically, they have had no industry association or representation.

---

<sup>14</sup> Code of Practice is available on the Australian Mungbean Association website at: <http://www.mungbean.org.au/foodsafetyandhygiene.html>

Following the *Salmonella* outbreak in Australia in 2005-2006 attributed to seed sprouts, sprout producers have formed an industry association<sup>15</sup> and in consultation with State jurisdictions, have developed a set of industry guidelines to support the safer production of seed sprouts. Currently, this Association represents just over half of the industry.

The Guidelines prepared by the Australian New Zealand Sprout Producers Association categorise sprouts into four risk categories:

- Category A – alfalfa
- Category B – all others including sunflower
- Category C – snow pea shoots/sprouts
- Category D – sprouts/shoots grown using a growing medium

The guidelines essentially specify seed sanitisation, sampling and microbiological testing protocols for each category, with an overarching requirement for the business to implement a HACCP based food safety program. Uptake of these guidelines is voluntary. There are currently no certification mechanisms for demonstrating compliance.

#### 4.2.3 Retailers

One large retailer has developed produce specifications for seed sprout products supplied to it. While these specifications cover a number of quality attributes, they also cover safety and generally specify microbiological limits (generally for *E. coli*, *Listeria monocytogenes* and *Salmonella*) and criteria for Use By Dates (e.g. not to exceed a certain number of days from date of packaging). Where sprout businesses supply product under the retailer's own label, they must be accredited and audited against food safety and quality management schemes such as Woolworths Quality Assurance (WQA), Safe Quality Food (SQF) 2000 and BRC (British Retail Consortium). Currently only one supermarket chain supplies seed sprout products (not alfalfa sprouts) under its own label.

## **Objectives**

### **5 Objective of the Proposal**

The overall objective of government action is to minimise adverse health effects associated with the consumption of seed sprouts.

#### **5.1 Process for achieving the objective**

This Proposal will assess the need for and identify any appropriate through-chain control measures (regulatory and non-regulatory) that can be implemented nationally by industry to maximise the safety of seed sprouts. Possible regulatory and or non-regulatory options are identified in Section 6.

FSANZ uses an internationally agreed risk analysis approach to inform its regulatory decision-making processes. The risk analysis approach<sup>16</sup> includes an assessment of the main hazards associated with this product and the factors along the supply chain that impact on the presence or level of that hazard. This will inform what control measures are needed and the extent to which potential hazards can or cannot be managed at steps in the chain to minimise public health risks.

---

<sup>15</sup> Australian New Zealand Sprouters Association

<sup>16</sup> Information on the risk analysis framework in which FSANZ operates is available on the FSANZ website at: [www.foodstandards.gov.au/aboutfsanz/scientificcapabilities/riskanalysis.cfm](http://www.foodstandards.gov.au/aboutfsanz/scientificcapabilities/riskanalysis.cfm)

Risk management considers how the hazards identified by the scientific assessment are currently being managed (outlined in Section 4), whether there are any gaps that need to be addressed and what interventions are needed to address them. This has involved undertaking an audit of existing control measures that have been developed for seed and sprout producers (domestic and international). FSANZ will now assess how best these control measures can be met, be integrated into a set of nationally consistent approaches, and implemented through the options identified below.

## 5.2 Constraints

### 5.2.1 *FSANZ Act*

Where regulatory interventions are required (e.g. by developing or varying a food standard), FSANZ is required by its legislation to meet three primary objectives which are set out in section 18 of the FSANZ Act. These are:

- the protection of public health and safety; and
- the provision of adequate information relating to food to enable consumers to make informed choices; and
- the prevention of misleading or deceptive conduct.

In developing and varying food regulatory measures, FSANZ must also have regard to:

- the need for standards to be based on risk analysis using the best available scientific evidence;
- the promotion of consistency between domestic and international food standards;
- the desirability of an efficient and internationally competitive food industry;
- the promotion of fair trading in food; and
- any written policy guidelines formulated by the Ministerial Council.

### 5.2.2 *Policy guidelines*

The Australia and New Zealand Food Regulation Ministerial Council (Ministerial Council) developed an *Overarching Policy Guideline on Primary Production and Processing Standards*. This policy guideline specifies a number of high order principles for primary production and processing standards outlining that they will:

- be outcomes-based
- have a consistent regulatory approach across the Standards
- be consistent with the approach outlined in Chapter 3 of the Code
- be consistent with Codex standards
- address food safety across the entire food chain where appropriate



- facilitate trade and comply with Australia's obligations under World Trade Organization (WTO) Agreements
- promote consumer confidence
- ensure the cost of the overall system should be commensurate with the assessed level of risk
- provide a regulatory framework that only applies to the extent justified by market failure.

Any regulatory measures developed should be commensurate with risk and not impose any unnecessary additional economic burden on the sprout industry.

## **Options**

### **6. Risk management options**

In order to decide the most effective and efficient approach for achieving the objectives stated in Section 5, FSANZ must consider various risk management options. These options include the *Status Quo* (the situation if no action is taken) as a comparative measure against appropriate regulatory (government) and non-regulatory (industry) approaches. The options identified for Proposal P1004 (covering both seed and sprout production) are outlined below.

#### **6.1 Option 1 – Self-regulation**

A self-regulatory approach requires food or primary production businesses to be able to implement and enforce (e.g. through certification schemes) industry guidelines or codes of practice aimed at improving the safety of seed sprouts.

The success of such an approach needs strong industry wide commitment and evidence that voluntary participation can work through, for example, the ability to apply sanctions or incentives (such as using a product logo which demonstrates compliance with a food safety scheme) to achieve maximum participation. Under this option industry would be responsible for enforcement and there would be no government applied food regulatory measures.

#### **6.2 Option 2 – *Status Quo***

Option 2, the *Status Quo*, is largely characterised by the current requirements outlined in Section 4 which reflect a mixture of regulatory and self-regulatory approaches developed for different pockets of the production chain of seed sprouts. Under the *Status Quo* there is no nationally consistent set of food safety control measures for sprout production.

#### **6.3 Option 3 – Food regulatory measures**

Option 3 involves the development of food safety regulatory measures in the Code (which may be supported by self-regulatory measures). These measures would apply to sectors in the production chain (on-farm seed production, seed processing, and sprout production) where cost benefit analysis can demonstrate such measures are commensurate with risk and are cost effective. Such requirements would be subject to the impact analysis which will evaluate the costs and benefits accruing to all stakeholders.

Option 3 may result in a combination of regulatory and non-regulatory measures. For example, regulatory measures could be introduced to control specific activities that pose the greatest risk with voluntary or self-regulatory measures helping to support these controls.

Any regulatory measures developed would be included in a primary production and processing standard in Chapter 4. If warranted, additional measures could be included such as specific labelling requirements or microbiological limits in other Chapters of the Code.

The role of consumer education to maximise seed sprout safety will be explored within this option.

## **Impact analysis**

The Assessment reports on this Proposal will provide information to comply with the Council of Australian Governments (COAG) requirements for regulatory impact analysis. FSANZ will continue to consult with the Australian Government's Office of Best Practice Regulation on meeting these requirements.

The preferred option decided through the assessment of Proposal P1004 will be based on an analysis that considers:

- who is affected by the problem and the proposed solution
- scientific evaluation of the risks
- efficacy and practicality of risk mitigation measures (control measures) identified
- costs and benefits to affected parties of the interventions associated with each option.

## **7. Consultation and communication**

### **7.1 Consultation**

The FSANZ process for the development of a standard involves a consultative and transparent process that reaches the industry concerned, State and Territory Government enforcement agencies, as well as consumers. A SDC is established for each primary production and processing standard with representatives from the industry sector, the relevant State and Territory government agencies and consumer organisations to provide ongoing advice to FSANZ throughout the standard development process. The SDC contributes a broad spectrum of knowledge and expertise covering industry, government, research and consumers (a list of SDC members for this standard development Proposal is provided at Attachment 7). In addition, targeted consultations have been undertaken with seed producers/processors and seed sprout producers through on-site visits to glean first hand perspectives and information from these parties. Additional targeted consultations will be undertaken throughout the standard development process as required.

This Report has been developed in consultation with the SDC and provides the first opportunity, in accordance with FSANZ statutory consultation processes, for stakeholders to comment on and supply information to FSANZ in regard to Proposal P1004.

### **7.2 Communication**

As the assessment of Proposal P1004 proceeds, FSANZ will report its progress on its website at

<http://www.foodstandards.gov.au/standardsdevelopment/proposals/proposalp1004primary4361.cfm>.

Organisations or individuals with an interest in this Proposal can seek to have their names listed as an interested party by emailing the Standards Management Officer at [standards.management@foodstandards.gov.au](mailto:standards.management@foodstandards.gov.au) their full contact details.

## **8. Affected parties**

Parties that have been identified as being affected by this Proposal include: industry (including those involved in seed production, sprout production and retail of seed sprouts), consumers of seed sprouts, State and Territory Governments, and member nations of the World Trade Organization (WTO).

### **8.1 Industry**

#### *8.1.1 Seed production*

Seed production includes the growing and cleaning/grading of seed. Therefore, both growers and seed processing establishments may potentially be affected by this Proposal. In considering impacts on these parties, FSANZ has consulted and will continue to consult (through the SDC and targeted consultation as required) with:

- associations representing grower and processor interests such as Lucerne Australia and the Australian Mungbean Association
- seed processors such as Booborowie Seed Pty Ltd and Keith seeds.

#### *8.1.2 Sprout production*

The seed sprout industry consists of mainly small businesses (around 30 businesses known to FSANZ located throughout Australia). An industry association has been established (Australian New Zealand Sprouters Association) and FSANZ has consulted and will continue to consult (through the SDC and targeted consultation as required) with the members and other sprout producers in assessing impacts on this sector.

#### *8.1.3 Wholesalers and Retail*

While seed sprouts may be distributed directly to retail outlets from seed sprout businesses, a large proportion is distributed via fresh food wholesale markets.

Some supermarkets have implemented requirements for seed sprouts, particularly for their own brand products. While this is an issue of market access and the impacts on the retail sector may not be assessed directly, any implications on the existing arrangements and requirements will be considered in the cost benefit analysis.

### **8.2 Consumers**

People generally consume seed sprouts because of health and culinary factors (e.g. the use of bean sprouts in Asian dishes). There is also 'indirect' consumption of seed sprouts where they are incorporated in dishes as a garnish.

There is very limited Australian or international information on the extent of sprout consumption. Data from the 1995 National Nutrition Survey (Australia) indicates that, at that time, approximately 4% of respondents consumed seed sprouts.

Alfalfa sprouts were consumed most frequently whereas bean sprouts were consumed in the largest quantities. Since that time the range of seed sprout products has grown as has their availability at retail outlets and use by the food service sector.

To minimise adverse health effects associated with seed sprout consumption, this Proposal will include assessing the impacts on consumers of seed sprouts who may be considered at higher risk from food-borne illness, such as the very young, the elderly and the immunocompromised as well as the general population.

### **8.3 Government**

Currently only NSW (NSW Food Authority) has developed and implemented specific regulatory requirements for seed sprout businesses. Any change from the *status quo* will mean State and Territory jurisdictions may need to consider implementation and enforcement costs associated with the specific application of possible food regulatory measures for the seed sprout sector developed as a result of this Proposal.

### **8.4 World Trade Organization notification**

As members of the WTO, Australia and New Zealand are obligated to notify WTO member nations where proposed mandatory regulatory measures are inconsistent with any existing or imminent international standards and the proposed measure may have a significant effect on trade.

This issue will be fully considered during the further assessment of the Proposal and, if necessary, notification will be recommended to the agencies responsible in accordance with Australia's obligations under the WTO Technical Barriers to Trade (TBT) or Sanitary and Phytosanitary Measures (SPS) Agreements. This will enable other WTO member countries to comment on proposed changes to standards where they may have a significant impact upon them.

---

FSANZ invites comment and information in relation to the parties that may be affected by this Proposal.

---

## **9. Scientific evaluation of the risk**

In deciding the preferred option to achieve the Objectives identified for this Proposal, an assessment of the possible measures to mitigate public health risks posed by consumption of seed sprouts will be undertaken. This will include:

- examining the scientific evidence that identifies the main hazards associated with seed sprouts and the factors along the supply chain that impact on the presence or level of that hazard
- assessing the factors that impact on the presence or level of these hazards in order to identify what control measures are needed and the extent to which potential hazards can or cannot be managed at steps in the chain to minimise public health risks.

## 9.1 Scientific/Risk Assessment

### 9.1.1 Microbiological hazards

A review of the scientific literature has been undertaken to identify and elaborate the public health risks associated with seed sprouts (Attachment 2) covering:

- outbreaks of food-borne illness associated with seed sprouts
- prevalence and levels of pathogens in seed sprouts
- the potential for pathogen contamination and/or proliferation during seed production and seed sprouting.

From reports of outbreaks of food-borne illness associated with seed sprouts, the main hazards identified have been *Salmonella* spp. and enterohaemorrhagic *E. coli* (EHEC). Surveys of sprouts have also demonstrated contamination by *L. monocytogenes*, coagulase-positive staphylococci, and *Bacillus cereus*.

Between 1988 and 2008, there have been over 40 reported outbreaks worldwide attributed to consumption of seed sprouts contaminated by pathogenic micro-organisms. The most commonly reported aetiological agents in these outbreaks have been various serovars of *Salmonella* spp. and EHEC. Alfalfa and mung bean sprouts have been the most commonly reported seed sprouts implicated in outbreaks of food-borne illness.

An outbreak due to *S. Oranienburg* occurred in Western Australia during November 2005 – January 2006 that was epidemiologically linked to consumption of alfalfa sprouts. This was later confirmed microbiologically, with *S. Oranienburg* being isolated from the implicated alfalfa sprouts. A total of 125 cases of salmonellosis were reported, resulting in 11 hospitalisations. In May 2006, another outbreak of *S. Oranienburg* was reported in Victoria, with a total of 15 cases attributed to consumption of alfalfa sprouts. In the latter outbreak, *S. Oranienburg* was isolated from the implicated alfalfa sprouts as well as from seed obtained from the sprouting facility. Molecular typing of the *S. Oranienburg* isolates from both the Victorian and Western Australian outbreaks showed indistinguishable patterns by pulsed field gel electrophoresis (Pers. Comm. Martyn Kirk, OzFoodNet, 23 April 2009). Trace back of seeds associated with these outbreaks found that seed originated from the same Australian state but from different seed suppliers.

Surveys conducted by various Australian State and Territory Governments between 2000 and 2008 have found occasional contamination of seed sprouts with pathogenic microorganisms. Potential microbiological pathogens detected include *Salmonella* spp., EHEC, *L. monocytogenes*, coagulase-positive staphylococci, and *B. cereus* (Attachment 2).

### 9.1.2 Factors that impact on the presence or level of microbiological hazards

Seeds grown for sprouting are raw agricultural products, and as such, may be exposed to microbiological pathogens from a variety of sources. These sources include soil, water, animal manure (grazing animals or manure applied as fertiliser), farming equipment, rodents, insects, wild birds and agricultural wastes (Attachment 2). Studies have found that, once attached to seeds, pathogens such as *Salmonella* and EHEC can survive for long periods of time under normal seed storage conditions. Contamination of seed with pathogens is considered to be sporadic and at low-levels, with concentrations of 1-100 MPN per kg of contaminated seed being reported in the literature.

Conditions during the sprouting of seeds (temperatures of 20-30°C, presence of water and availability of nutrients) permit the rapid growth of microorganisms if they are present.

To minimise and/or eliminate the potential for pathogen growth during sprouting, seeds are often sanitised prior to germination. There have been extensive investigations into the efficacy of sanitisation in reducing levels of pathogenic micro-organisms in contaminated seeds. Consensus amongst the scientific literature is that sanitising reduces, but does not necessarily eliminate pathogens from contaminated seed. Most seed sprouts are consumed raw and will therefore not receive any form of heat treatment prior to consumption.

### 9.1.3 Chemical hazards

Chemical hazards such as residues of agricultural and veterinary chemicals on seeds and beans, contaminants, processing aids, food additives and packaging material which are likely to be associated with seed sprouts, have been reviewed. The details of this review can be found in Attachment 3 to this report.

There are limited data currently available but these data do not indicate that chemical hazards are a major concern for seed sprouts.

### 9.1.4 Factors that impact on the presence or level of chemical hazards

Based on the available information, the current regulatory measures, including those in the Code, are considered adequate with respect to managing chemical hazards in seed sprouts. At this time and subject to any further data becoming available, FSANZ does not consider that there is a need for this issue to be further assessed under this Proposal.

---

FSANZ invites comment and information in relation to the scientific evaluation of the risks associated with seed sprouts.

---

## 10. Risk mitigation (control) measures

A number of guidelines and codes of practice have been developed internationally for seed sprout production including<sup>17</sup>:

- Codex Code of Hygienic Practice for Fresh Fruits and Vegetables – Annex II Annex for Sprout Production
- Canadian Code of Practice for the Hygienic Production of Sprouted Seeds
- Reducing Microbial Food Safety Hazards for Sprouted Seeds – Guidance for Industry (US FDA)
- Code of Practice for Food Safety in the Fresh Produce Supply Chain in Ireland (Chapter 4: Microbiological Safety of Sprouted Seed Production).

In Australia, specific food safety measures have been applied in NSW to seed sprout businesses under the NSW Food Safety Scheme legislation, and voluntary guidelines have been developed for the industry in South Australia by Primary Industries and Resources SA.

---

<sup>17</sup> A summary of international guidelines/ codes of practice is provided at Attachment 6

A review of the control measures specified by these documents has been undertaken to identify what is considered best practice for sprout production.

The main control measures identified in these guidelines/codes of practice to prevent or eliminate microbial pathogen contamination in sprouted seeds are outlined in Table 1.

These control measures are generally supported by the scientific evidence and three specific control measures for sprout production have been identified:

- the testing of seed lots for microbial pathogens
- microbiological decontamination of seed (seed sanitisation) prior to use (by, for example, chemical treatment)
- pathogen testing of spent irrigation water.

The next stage of this standard development Proposal will look at any issues around the effectiveness, practicality and feasibility associated with these controls to determine how best they can be met and implemented.

FSANZ invites comment and information in relation to the efficacy and practicality of risk mitigation measures (control measures) identified.

**Table 1: Summary of the main control measures identified within existing guidelines/codes of practice for sprout production.**

| Step:                    | Main Controls:   |
|--------------------------|--|
| Seed production          | <p><u>Good Agricultural Practices</u> in particular:</p> <p>Management of grazing animals on farm</p> <p>Management of fertilizers and other inputs</p> <p>Minimising damage to seed (damaged seed should not be used for sprouting)</p> <p>Segregation of seed for sprouting from seed for animal feed production</p> <p>Protection of seed during storage, packaging and transport from pests and environmental contamination.</p>   |
| Sprout production        | <p><u>Good Hygienic Practices</u> in particular</p> <p>Minimise contamination from equipment and premises, sprout contact surfaces, sprout handlers etc.</p> <p>Use of potable water</p> <p>Have cleaning and sanitising and pest control programs etc.</p> <p>Approved seed supplier (evidence that the seed has been sourced under appropriated production practices and is not contaminated by pathogens)</p> <p>Microbiological testing of seeds to verify absence of pathogens</p> <p>Seed disinfection - using approved sanitiser at correct concentration and contact time</p> <p>Rinsing of final product (Use of chilled water/ use of sanitiser [2-4 ppm free available chlorine])</p> <p>Testing for pathogens recommended by sampling of irrigation water (also called spent water) collected within 48 hours from start of sprouting.</p> |
| Storage and distribution | Temperature control ( $\leq 5^{\circ}\text{C}$ )   |

## 11. Assessment of options

FSANZ, with advice from the SDC taking into consideration submissions made on this report, will undertake a detailed impact analysis of the costs and benefits to each affected party posed by each option. This assessment, together with the preferred option, will be detailed in the SECOND Assessment Report.

A preliminary assessment of the options is provided below.

### 11.1 Option 1 – Self-regulation

Self-regulation as a sole option across all sectors of the seed sprout industry is not considered viable. This is reflected by the fact that significant efforts invested by the Australian government through the Implementation Sub-Committee in the past three years have made very little progress in getting sprout producers to self-regulate. As described in the problem section, the Australian New Zealand Sprouters Association has met with difficulties in having its guidelines for safe production of sprouts taken up by the producers and has subsequently sought government intervention and the development of regulatory measures (as appropriate) for their industry.

Despite this, self-regulatory measures developed by the industry may be utilised to supplement the regulatory approach outlined under Option 3 and an analysis of the feasibility of such an approach will be undertaken during the preparation of the Second Assessment Report for this Proposal.

### 11.2 Option 2 – *Status Quo*

*Status Quo* refers to the situation if no action is taken.

Other than the government effort to facilitate industry self-regulation and the development of draft guidelines for safe production of seed sprouts by the Australian New Zealand Sprouters Association, little change in improving the safety of seed sprouts has occurred nationwide since 2006 (except in NSW where there is a food safety scheme for seed sprouts). This indicates that *status quo* is unlikely to be a viable option.

FSANZ assessed the economic impact of possible adverse health consequences of supplying unsafe seed sprouts to Australian consumers. The FSANZ evaluation estimated that community costs due to food-borne illness arising from consumption of pathogen contaminated seed sprouts could be in the range of \$AUD11.60 million based on the 2005-2006 outbreak data (see Attachment 4). This cost estimate did not taken into consideration of possible costs to industry and government such as loss of reputation, closure of business, loss of employment, fines and food recall costs.

### 11.3 Option 3 – Food Safety Regulations

In relation to Option 3, FSANZ is seeking input from stakeholders to provide cost and benefit information in light of any potential activities that may be required under a regulatory regime to achieve the desired food safety objectives.

As an example of information that may inform this assessment, the NSW Food Authority has recently undertaken a microbiological survey of seed sprouts produced in NSW (*Report on the Microbiological Quality of Sprouts*) as part of its evaluation of the NSW Plant Products Food Safety Scheme for seed sprouts.



In general, the results indicate that the microbiological quality of sprouts has improved<sup>18</sup> since requirements were implemented by seed sprout businesses in that State (a baseline survey was undertaken in 2005), noting that the surveys cannot be compared statistically given the relatively small number of samples taken. Information on enforcement and compliance costs will also be useful.

In relation to seed production and processing, it is noted that current measures are largely industry driven (apart from export requirements) with improvements in production practices linked to market access and pricing incentives. As an example, lucerne seed producers have been looking at possible actions they could take that may reduce the likelihood of hazards being present. A control measure of not having livestock on lucerne paddocks for a full 12 months is estimated to add an additional cost of about \$AUD1.00-1.50 to a kilogram of seeds. However, there would be no guarantee that the seed would reach sprouting quality and that the additional cost incurred would be recouped (or that contamination further down the chain would be prevented).

---

FSANZ invites comment and information on the costs and benefits of the proposed risk management options from affected parties.

---

## **Conclusion**

### **12. Conclusion**

This First Assessment Report provides an opportunity for stakeholders to comment on and supply information to FSANZ in regard to Proposal P1004.

To assist FSANZ undertake a comprehensive and informed impact analysis of the proposed options, affected parties are encouraged to provide comment and information on the issues raised in the report. The comments and information provided during this consultation will be considered during the second assessment stage of the Proposal when a preferred option for implementing national through-chain control measures for the seed sprout industry will be proposed.

## **Attachments**

1. The Seed Sprout Industry
2. Microbiological Hazard Evaluation of Seed Sprouts
3. Chemical Hazard Evaluation of Seed Sprouts
4. Estimated Costs of Australian Outbreaks
5. Regulatory Measures Applying to Seed Sprout Production in Australia
6. Summary of International Guidelines/Codes of Practice
7. SDC members

---

<sup>18</sup> This determination is based on testing of hygiene indicators (*E. coli*).

## The seed sprout industry

### 1. Seed Production

Seed production involves pre-harvest and post-harvest activities – from the growing of seed through to seed processing/grading and transport. This section discusses these activities under two main areas: on-farm production activities and seed processing.

#### 1.1 On-farm seed production

There is a wide range of seeds that can be used for sprouting and thus a diverse range of agricultural practices may be associated with seed production. Crops involved may have annual or perennial production cycles and may not exclusively be grown for seed production. For example, beans, such as mung beans and soybeans, are annual crops and the seeds are harvested once per annum in autumn. Lucerne (alfalfa) on the other hand, is a perennial crop and is subject to grazing or repeated harvests for hay, with lucerne seeds harvested once per year.

The steps generally involved in seed growing are presented in a flow diagram below. As alfalfa sprouts and mung bean sprouts are two of the main seed sprouts produced in Australia, this section outlines the production systems used for lucerne seed (perennial crop) and mung bean (annual crop) production.

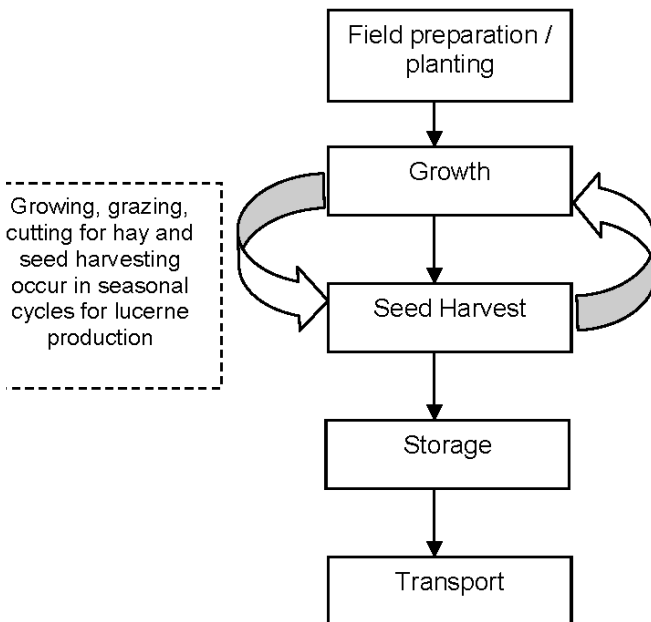


Figure 1: The steps involved in on-farm seed production, from planting to transport

### 1.1.1 Lucerne Production<sup>19</sup>

Lucerne is a perennial plant which has a life-span of 6-15 years depending on variety and crop management. It is grown predominantly as a fodder crop, either grazed directly, or made into silage or hay first. Lucerne pastures are drought-resistant perennials that produce green feed in all seasons.

More than 80% of lucerne seed production in Australia takes place in South Australia with the remaining occurring in NSW and Victoria (Hassall & Associates Pty Ltd, 2001; De Barro, 2005). Lucerne seed production within South Australia is centred in the region of Keith, Bordertown and Jamestown. In NSW, lucerne production takes place from Howlong through to Corowa.

The volume of lucerne seed produced in Australia varies from 4,000 to 7,000 tonnes per year. While most of this seed is exported as pasture seed, a proportion of lucerne seed is used to produce alfalfa sprouts for human consumption. Industry data indicates that an estimated 300 tonnes of lucerne seeds have been used for sprout production in Australia in 2006 and approximately 600 tonnes of exported lucerne seeds (~10% of all exported seeds) are used for sprout production in international market. With an estimated market price of \$AUD5.0 to \$AUD5.50 per kilogram of lucerne seeds, the value of lucerne seeds used for sprout production in Australia is approximately \$AUD1.5 million.

#### 1.1.1.1 Paddock management

There are a number of management strategies that may be used by growers in the 12 months prior to harvest involving grazing and hay cutting. It is common practice to allow the grazing of animals (sheep and cattle) on a rotational basis in the period leading up to seed harvesting. For example, paddocks may be grazed up to October-December, which removes most of the vegetation from the paddock and encourages flowering of the plant. Alternatively, animals may be excluded from paddocks in July-August, and the crop cut for hay in October to early December. Therefore the amount of time that paddocks are kept free of grazing animals prior to seed harvesting could be approximately 120-150 days or 190-220 days, depending on crop management strategy.

For irrigated lucerne production, crops may be flood irrigated between one to six times per season, or three to ten times for spray irrigation, depending on local conditions. In Australia lucerne seed is harvested once a year only, in February, March and April.

#### 1.1.1.2 Harvest

The lucerne plant flowers in January–February, at which time pollination occurs and the seed is set. Once set, the lucerne seeds develop within an enclosed seed pod, with each pod containing up to 12 or more seeds.

Harvesting of lucerne seeds can be undertaken by two methods:

- cutting and windrow curing followed by threshing with a combine harvester; or
- chemical desiccation followed by direct harvesting of the standing crop.

Windrowing involves cutting the crop just above the crown of the plant and laying the foliage in rows (windrows) on the ground. The plant material is allowed to dry for a number of days, until the moisture content of the foliage falls to approximately 12-18%.

---

<sup>19</sup> Information on production practices supplied by Lucerne Australia

Once the plant material is suitably dry, it is picked up using a harvester which works close to the ground. Inevitably, the harvester will also pick up extraneous material from the ground including soil and other potential contaminants. The plant material is then threshed inside the harvester to separate the seed from the other material (e.g. stalks).

For direct harvesting, crops are sprayed with a chemical desiccant/defoliant, allowed to dry, then collected using a header and harvested.

Harvested seed is generally collected in mobile field bins, which are either stored on-site or transported to a seed processor for cleaning and packing.

### *1.1.2 Mungbean production*

Mungbean is a specialised food crop which is cooked as whole beans, sprouted or processed into flour. It is predominantly produced in Australia for the export market.

The bulk of mung bean production in Australia is in central and southern Queensland and northern NSW. Production volumes vary from 30,000-50,000 tonnes annually depending on seasonal factors, varieties cultivated and farm management practices. The crop produced is graded as sprouting grade beans (which return the highest price per tonne), cooking grade beans or processing grade beans.

In 2006-07 it was estimated that the Australian mung bean industry produced 38 974 tonnes of mung beans of which 1,325 tonnes were used for sprouts. Most of Australian production falls into processing grade (medium quality) seed.

#### 1.1.2.1 Crop management

Mungbean is a warm season annual pulse grown mostly in rotation with other crops such as cereals. Plants have a short growth duration (75-90 days) which means that it can fit easily into crop rotations. Sowing times vary depending on the location and variety grown.

Mungbean crops are managed with the aim of producing premium grade seed. Factors that need to be considered to maximise the yield include:

- choice of paddock (e.g. no soil variation, adequate soil moisture profile)
- seed variety
- time of planting
- planting rates
- pests and diseases
- seasonal variability

Mungbeans may be grown under dry land or irrigated crop production systems.

#### 1.1.2.2 Harvest

Mungbeans have an indeterminate flowering habit. This means that they do not have a defined flowering period and consequently, can have flowers, green pods and black pods present on the plant at the same time. Harvest occurs when more than 90% of pods are mature and dry.

To minimise damage to seeds, they are harvested at seed moisture contents of 14-16%. A desiccant is often used before harvest to kill any green leaf and the few remaining green pods.

Mung bean plants grow erect with few branches carrying clusters of pods (containing 8-15 seeds) near the top of plants. Pods are mechanically harvested by combine harvesters.

Following harvest beans are trucked to a grading shed where they are cleaned, graded and bagged as soon as possible (seed processing).

## 1.2 Seed processing

Seed harvested from the field may contain extraneous material such as soil, weed seeds and other debris. This is removed during seed processing, whereby the seed received from the field is passed through a series of sieves (4-5 screens of different pore sizes) and then further cleaned via use of a gravity table, where seeds are separated by their weight. Once cleaned, seed is packed into 40 kg bags, or larger containers for the bulk seed market, and stored on-site prior to shipping. Seed purchased by sprouters is generally required in 25 kg bags.

The main steps that are generally involved are presented in Figure 2.

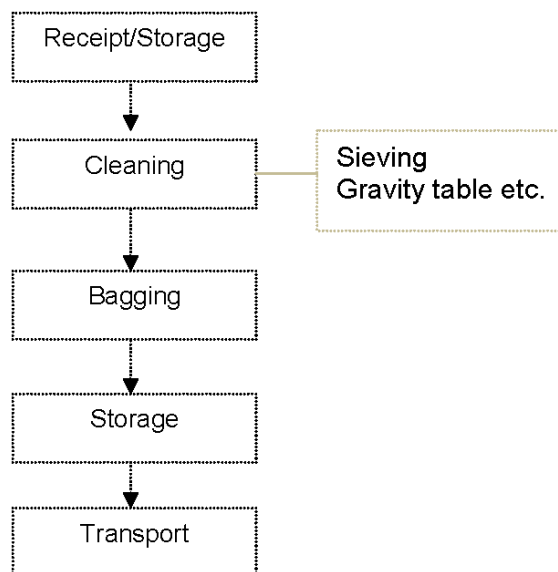


Figure 2: The steps involved in seed processing

### 1.2.1 Seed Quality - Alfalfa

The accepted market quality of sowing lucerne seed is<sup>20</sup>:

- minimum rate of germination: 85%
- minimum normal seedling: 60%.

For sprouting purposes, sprout producers specify that seed should have a 4-day minimum germination rate of approximately 90% and a maximum hard/abnormal/dead seed count of approximately 10%. Germination rates are variable and seed suitable for sprouting cannot be assured until a seed germination test is performed.

---

<sup>20</sup> De Barro, J. (2006) Presentation from Lucerne Australia, Presented at the workshop of "Food Safety and Sprouts", held at the Tiffins on the Park, Adelaide, 20 July 2006.

Where there is a high hard seed count, the germination rate can be increased by scarifying the seeds during processing or by leaving seed in storage. Scarification is a process whereby the seed coat is broken or scratched. This makes it permeable to water and gases and thus aids germination. During seed processing this can be achieved by a mechanical process using spinning abrasive discs against which seed is dropped then collected.

Seeds used for production of seed sprouts are largely grown and processed in Australia.

## **2. Sprout production**

Seed sprouts can generally be subdivided into three groups:

- green sprouts (e.g. alfalfa sprouts, onion sprouts, radish sprouts)
- bean sprouts/bean shoots (produced primarily from mung beans)
- shoots and grasses (e.g. snow pea shoots, wheat grass).

The scope of this proposal is green sprouts, bean sprouts and snow pea shoots.

### **2.1 Sprout producers**

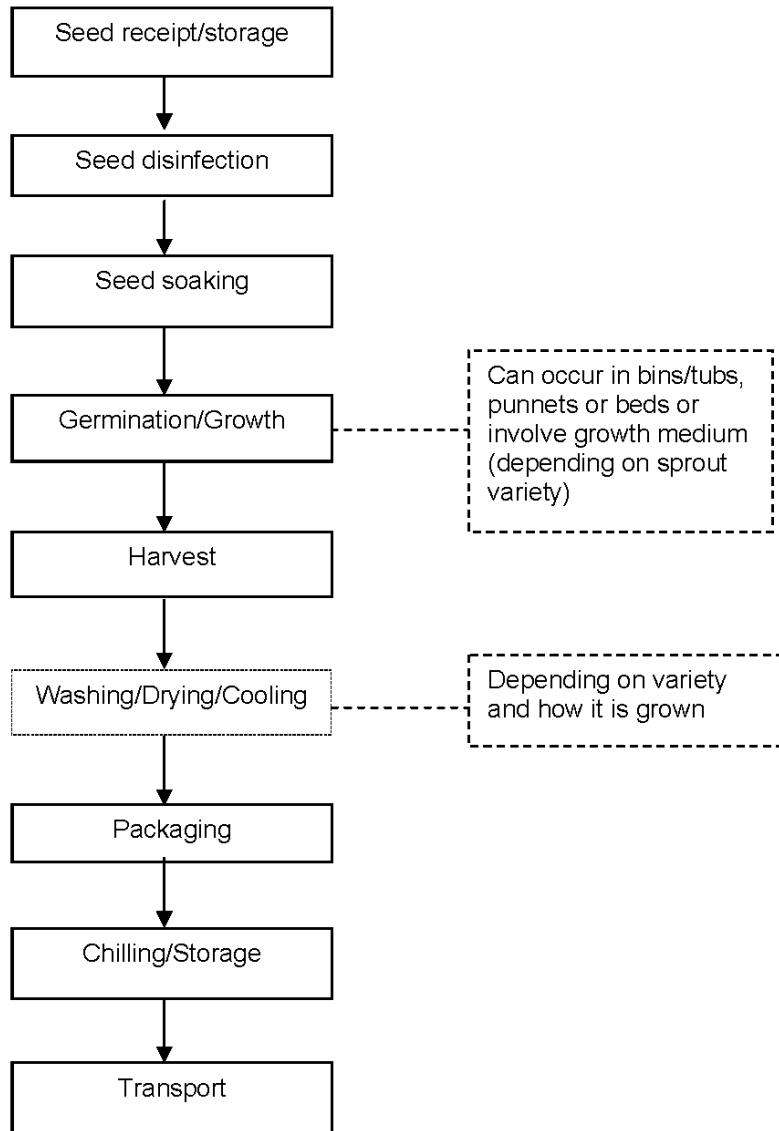
The seed sprout industry consists of approximately 30 small businesses located throughout Australia. Around two thirds of these businesses have been in operation for 16 years or longer with many being family owned and operated. While the majority of sprout businesses produce a range of products, a number of operations are single product producers (e.g. producing just bean sprouts or snow pea sprouts).

The sprouting industry has an annual turnover of approximately \$AUD30 million, employing approximately 300 people and producing more than twelve product lines. One of the largest sprout production businesses has a turnover of approximately \$AUD5.5 million per annum.

Mungbean sprouts are the predominant product (by volume) produced followed by snow pea sprouts and then alfalfa sprouts.

### **2.2 Sprout growing**

Methods used for the germination and growth of seed sprouts, including water cycles used, vary depending on the type of sprout being produced and the size/sophistication of the sprouting operation. The basic process involves applying water to seeds and placing them in a warm humid environment for a period of 1-14 days. Sprouting may take place in temperature-controlled environments, which maintain air temperatures at 20-30°C, or at ambient temperatures. Once the sprout has reached the size required it is harvested, chilled and packaged ready for storage and distribution. The typical production steps undertaken are outlined in Figure 3 and discussed further below.



*Figure 3: Typical production steps during production of seed sprouts*

### *2.2.1 Seed disinfection*

Prior to sprouting, seed should be washed to remove any dirt or debris. It is then recommended that seeds are treated with an antimicrobial agent, such as chlorine, prior to the sprouting process. Recommended seed disinfection regimes vary, however a treatment of 20,000 ppm calcium hypochlorite has been commonly suggested for alfalfa seed.

Following seed disinfection the seed is again rinsed to remove the antimicrobial agent used.

### *2.2.2 Pre-germination soak*

Soaking is undertaken to improve germination. Seed is commonly soaked in potable water for 3 to 10 hours (depending on seed variety) at ambient temperature. Sufficient quantities of water need to be used during the soaking process as seed swells and may double its volume during this time.

### 2.2.3 *Germination/Growth*

The sprout growing process varies depending on the variety of seed being germinated and the sophistication of the sprouting operation. Examples of typical protocols for alfalfa sprouts, bean sprouts and snow pea shoots are outlined below.

#### 2.2.3.1 Alfalfa sprouts

Alfalfa sprouts (including mixes) may be grown in large rotating drums/ tumblers (for larger operations) or in trays or punnets over a 3-6-day period. The sprouts are continually watered during this time and runoff water (spent irrigation water) removed. For businesses that have temperature controlled rooms, the temperature for growth is kept at 18-21°C and the irrigation water at 20-22 °C.

#### 2.2.3.2 Bean sprouts and shoots

Bean shoots are generally grown in bins, buckets or on beds over a 5 to 6 day period to allow for shoot development. In large scale operations, bean sprouts are grown in temperature controlled rooms at 20-28 °C. Water is generally applied every 1-2 hours.

Shorter 'crunchy' style bean sprouts are grown under similar conditions to bean shoots but for only a 24-48 hour period.

#### 2.2.3.4 Snow pea shoots

Snow pea shoots are generally grown in containers, using soil/compost mix or other medium. They are usually grown in green houses, particularly once the seed has germinated, to provide sufficient light and water requirements for growth. Snow peas are grown over an 8-12 day period, depending on the shoot and leaf development required.

### 2.2.4 *Harvest, packaging and storage*

Seed sprouts are generally harvested by hand once they have reached the desired size (some mechanical harvesting of bean shoots may occur in large scale operations). For green sprouts and bean sprouts/shoots, the whole product is collected. For snow pea shoots the product is cut away from the seed and root development. Some products may be grown in punnets and not require harvesting per se.

Green and bean sprouts are generally washed before packaging, often using cooled water to start chilling the product before storage. Water is drained away (spinning or shaking may be used to help dry off product) before product is hand packaged into plastic punnets/tubs or bags.

Packaged product is placed into cool rooms (<5°C) and stored and transported at refrigeration temperatures.



## Microbiological hazard Evaluation of seed sprouts

### 1. Outbreaks of food-borne illness associated with seed sprouts

Between 1988 and 2008 there have been over 40 reported outbreaks worldwide attributed to consumption of contaminated seed sprouts (Appendix 1). The most commonly reported aetiological agents in these outbreaks have been various serovars of *Salmonella* spp. and enterohaemorrhagic *E. coli* (EHEC). *B. cereus* and *Yersinia enterocolitica* have also been responsible for outbreaks of food-borne illness associated with seed sprouts (Portnoy *et al.*, 1976; Cover and Aber, 1989). Alfalfa and mung bean sprouts have been the most commonly reported seed sprouts implicated in outbreaks of food-borne illness.

The majority of sprout-associated outbreaks have been reported in the United States, however, outbreaks have also occurred in Canada, Sweden, Finland, Denmark, United Kingdom, Japan and Australia. The largest reported outbreak occurred in Japan in 1996, with over 10,000 notified case and was attributed to consumption of radish sprouts contaminated with *E. coli* O157:H7 (Michino *et al.*, 1999; Watanabe *et al.*, 1999).

An outbreak due to *S. Oranienburg* occurred in Western Australia during November 2005-January 2006 that was epidemiologically linked to consumption of alfalfa sprouts. This was later confirmed microbiologically, with *S. Oranienburg* being isolated from the implicated alfalfa sprouts. A total of 125 cases of salmonellosis were reported, resulting in 11 hospitalisations.

In May 2006, another outbreak of *S. Oranienburg* was reported in Victoria, with a total of 15 cases attributed to consumption of alfalfa sprouts. In the outbreak, *S. Oranienburg* was isolated from the implicated alfalfa sprouts as well as from seed obtained from the sprouting facility. Molecular typing of the *S. Oranienburg* isolates from both the Victorian and Western Australian outbreaks showed indistinguishable patterns by pulsed field gel electrophoresis (Pers Comm. Martyn Kirk, OzFoodNet 23 April 2009). Trace back of seeds associated with these outbreaks found that the seed originated from the same Australian state but from different seed suppliers.

A number of contributing factors have been identified in reported sprout-associated outbreaks. In the US, a multi-state outbreak of *S. Mbandaka* associated with alfalfa sprouts occurred in Oregon, Washington, Idaho and California in 1999 with 89 confirmed cases (Gill *et al.*, 2003). The cases of salmonellosis were linked to two geographically separate sprout growers. A single lot of contaminated seed was identified which was used by five sprout growers during the outbreak period. Onsite investigations of the sprouting facilities associated with cases of salmonellosis identified that no form of seed sanitising was being employed prior to sprouting. No cases of illness were linked to the other three sprout growers that used the same lot of seed, all of whom employed seed sanitisation (20,000 ppm  $\text{Ca}(\text{OCl})_2$  or 500 ppm  $\text{NaOCl}$ ).

There have, however, been reports of sprout-associated outbreaks where seed sanitising has been undertaken (Brooks *et al.*, 2001; Proctor *et al.*, 2001; Gill *et al.*, 2003). A multi-state outbreak of *E. coli* O157:NM associated with alfalfa sprouts occurred in Minnesota and Colorado in 2003 (Ferguson *et al.*, 2005). Trace-back investigations identified a common seed distributor who supplied seed (originally sourced from Australia) from the same lot to both implicated sprout growers.

During the on-site inspection of the Minnesota sprouting facility, a number of issues were identified that may have contributed to the outbreak including: use of lower hypochlorite concentration for seed disinfection than that recommended by FDA (15,000 ppm rather than the recommended 20,000 ppm for 15 min), inadequate agitation of disinfection solution, and weekly testing of spent irrigation water rather than by production lots as recommended. No deficiencies were identified at the sprouting facility implicated in the Colorado outbreak. *E. coli* O157 was not detected from samples taken at the sprouting facility, although a sample of the seed implicated in the outbreak was not available for testing.

Another multi-state alfalfa sprout-associated outbreak occurred in the US in 1999, in which there were 157 reported cases of *S. Munchen* (Proctor *et al.*, 2001). Outbreaks were epidemiologically, and microbiologically, linked to sprouting facilities that sanitised seed in 20,000 ppm calcium hypochlorite ( $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ ) for 15 min prior to sprouting. These outbreaks illustrate that employing seed sanitising in isolation may not reliably prevent cases of food-borne illness from occurring.

## 2. Reported prevalence and levels of pathogens/microorganisms in seed sprouts

Microbiological surveys of seed sprouts, both domestically and internationally, have identified the presence of a variety of food-borne pathogens including *Salmonella* spp., EHEC, *B. cereus*, *Cryptosporidium* spp. and *Giardia* spp (Prokopowich and Blank, 1991; Beuchat, 1996; Robertson *et al.*, 2002; Kim *et al.*, 2004; Samadpour *et al.*, 2006).

In Australia, the Health Department of Western Australia undertook a microbiological survey of seed sprouts between January to March 2000 (Department of Health WA, 2002). In total, 261 sprouts (pre-packed and bulk) were sampled and included alfalfa, mung bean, bean sprouts, sunflower sprouts, snow pea shoots, onion sprouts [and "other sprouts"]. Samples were assessed as being acceptable/unacceptable based on whether they exceeded set criteria for total plate count (TPC), coliforms, *L. monocytogenes*, *Salmonella* spp., *E. coli*, *B. cereus* and coagulase-positive staphylococci. Of the pathogens tested, *L. monocytogenes* was detected in eight samples (at levels <5 cfu/g), and *Salmonella* spp. was detected in one sample (Table). *E. coli* was detected at >100 cfu/g in seven samples, however, none of these isolates were found to be toxigenic. Coagulase-positive staphylococci was detected at levels >100 cfu/g in two samples of sprouts.

Table 1: Summary of results from WA survey of sprouts at retail (Department of Health WA, 2002)

| Sprout type   | n          | <i>E. coli</i><br>≥100 cfu/g<br>(%) | Coagulase +ve<br>Staph. ≥100<br>cfu/g (%) | <i>B. cereus</i><br>≥100 cfu/g<br>(%) | <i>Salmonella</i><br>(%) | <i>L. monocytogenes</i><br>(%) |
|---------------|------------|-------------------------------------|---|---------------------------------------|--------------------------|--------------------------------|
| Alfalfa       | 110        | 3 (2.7)                             | -   | -                                     | -                        | 6 (5.5)                        |
| Bean sprout   | 42         | -                                   | -   | 1 (2.4)                               | -                        | -                              |
| Mung bean     | 20         | -                                   | -   | -                                     | -                        | 1 (5.0)                        |
| Onion sprout  | 7          | -                                   | -   | 1 (14.3)                              | -                        | 1 (14.3)                       |
| Snow pea      | 57         | 2 (3.5)                             | 1 (1.8)                                   | 2 (3.5)                               | -                        | -                              |
| Sunflower     | 9          | -                                   | -   | -                                     | -                        | -                              |
| Other sprouts | 13         | 2 (12.5)                            | 1 (6.3)                                   | 3 (6.3)                               | 1 (6.3)                  | -                              |
| <b>Total</b>  | <b>261</b> | <b>7 (2.7)</b>                      | <b>2 (0.8)</b>                            | <b>7 (0.4)</b>                        | <b>1 (0.4)</b>           | <b>8 (3.1)</b>                 |

A similar survey was conducted in the ACT during April to June 2001, where 62 samples of various seed sprouts were analysed for *E. coli*, coagulase-positive staphylococci, *B. cereus*, *Salmonella* spp. and *L. monocytogenes* (Millard and Rockliff, 2001). Again, samples were classified as satisfactory, marginal, unsatisfactory or potentially hazardous based on the level of organisms detected.

*Salmonella* spp. and *L. monocytogenes* was not detected in any of the samples. *E. coli* was detected in 11 samples (11.1%), with only one of these samples (mung bean sprouts) having over 100 cfu/g. Testing for pathogenic strains of *E. coli* was not undertaken. Coagulase-positive staphylococci was detected in one sample of snow pea shoots at levels deemed 'potentially hazardous', with  $>10^4$  cfu/g, however, on further testing of a sample from the same manufacturer and retail outlet (although different lots), levels were considered satisfactory i.e.  $<100$  cfu/g. For *B. cereus*, two samples were positive with ranges of 50-150 cfu/g reported.

Results from microbiological surveys of sprouts undertaken by the NSW Food Authority prior to, and following, the implementation of the NSW Plant Products Food Safety Scheme also demonstrate that sprouts are occasionally contaminated with pathogenic micro-organisms (NSWFA, 2008). In a limited sample of 30 seed sprout products in 2005, no *L. monocytogenes* or *Salmonella* spp. were detected, while *E. coli* was detected at levels  $<100$  cfu/g in two samples. In 2006 (n=36), five samples of seed sprouts tested positive for *E. coli*, with two of these samples containing  $>100$  cfu/g sample. Of most concern, a sample of broccoli sprouts tested positive for verotoxin-producing *E. coli* (VTEC) and was therefore rated as potentially hazardous. The survey was expanded in 2008 to a total of 122 samples of seed sprouts and included testing for *B. cereus*. Overall, no *L. monocytogenes*, *Salmonella* spp. or *E. coli* was detected. *B. cereus* was detected at levels of 100 – 1000 cfu/g in four samples and at 5500 cfu/g in one sample.

The National Enteric Pathogen Surveillance Scheme (NEPSS) collects data on isolates of *Salmonella* spp. and other pathogens submitted by primary diagnostic laboratories throughout Australia. Between 2000 and 2005 there were 13 *Salmonella* spp. isolates from seed sprouts submitted to laboratories (Table). While this data does not provide information on the prevalence of *Salmonella*-contaminated seed sprouts in Australia (only reports positive samples) it does give information on the range of *Salmonella* serovars associated with these products.

**Table 2: *Salmonella* isolates from seed sprouts, NEPSS data 2000 – 2005**

| Year | Sample        | Number of isolates | Serovar   |
|------|---------------|--------------------|---|
| 2000 | Sprouts       | 1                  | S. Zanzibar   |
| 2001 | Lucerne seeds | 1                  | S. Saintpaul  |
| 2002 | -             | -                  | -   |
| 2003 | Sprouts       | 8                  | S. Agona; S. Chester; S. Choleraesuis bv Kunzendorf Australia; S. Havana (2); S. Oranienburg; S. Orion; S. subsp I ser 16:1,v:- |
|      | Mustard seed  | 1                  | S. subsp IIIa ser 38:z53:-  |
| 2004 | Sprouts       | 1                  | S. Oranienburg  |
| 2005 | Bean sprouts  | 1                  | S. Infantis   |

As summarised by Harris *et al.* (2003), numerous international surveys have also detected pathogens in seed sprouts. It is difficult, however, to directly compare results between surveys due to differences in the number and type of samples analysed, the stage of production where samples were taken, and the methodologies used to isolate and/or enumerate the organisms.

In a microbiological survey of seed sprouts in Norway, Robertson *et al.* (2002) detected *Cryptosporidium* and *Giardia* from 9% and 2% samples respectively of mung bean sprouts (n=149), with reported level levels of 2-6 oocysts/100 g sprouts. *Cryptosporidium* and *Giardia* are highly infectious, with ingestion of one oocyst being considered sufficient to cause illness in humans (US FDA, 2008).

Protozoan parasites were also detected in six out of eight 100 g samples of unsprouted mung bean seeds – all of the positive samples contained *Cryptosporidium* (range 1-5 oocysts/100 g), with three samples also being positive for *Giardia* (1 cyst/100 g). *Cryptosporidium* was also detected in one sample of radish sprouts (n=6). No *Cryptosporidium* or *Giardia* was isolated from alfalfa sprouts, however the sample size was very low (n=6).

### 3. Potential pathogen contamination during seed production

While there is little specific data in the scientific literature on how seeds used for sprouting become contaminated with microbiological pathogens during on-farm production, and the relative contribution of potential sources of contamination, epidemiological investigations suggest contaminated seed is the likely source of most, if not all, sprout-associated outbreaks.

Grazing animals such as cattle and sheep are known reservoirs of *Salmonella* spp. and EHEC and infected animals may shed large numbers of these organisms in their faeces. A number of studies have shown that these pathogens can persist in animal faeces for significant periods of time. For example in Ireland, Bolton *et al.* (1999) found that when bovine faeces inoculated with *E. coli* O157:H7 (initial concentration of approximately  $10^8$  CFU/g) was applied to grassland, numbers of organisms reduced by 4-5  $\log_{10}$  within 50 days, however *E. coli* O157:H7 could still be recovered from surrounding soil for up to 99 days (the duration of the study period). In a similar study undertaken in New Zealand, Sinton *et al.* (2007) observed that the time required for a 1- $\log_{10}$  (90%) decrease in numbers of *Salmonella* spp in bovine faeces during summer was 58 days. Survival of pathogens in the environment is extremely complex and is affected by many factors such as temperature, intensity of sunlight (UV), and moisture, hence inactivation of pathogens in animal faeces would vary significantly between geographic regions depending on environmental conditions.

#### *Attachment of pathogens to seeds*

Few studies have investigated the mechanisms by which seeds become associated with human pathogens such as *Salmonella* spp. and EHEC. Theoretically, seeds can become contaminated at any stage of production – from while they are being formed through to immediately prior to sprouting.

Pathogens may be able to enter seeds by a variety of routes such as the vascular system, pollen germ tube and the dorsal suture of the silique (seed pod) or hilum of the mature seed, (Mundt and Hinkle, 1976; Harman, 1983; Delaquis *et al.*, 1999; Thayer *et al.*, 2003). Cracks or openings in the seed coat increases the opportunity for bacterial attachment, and may enhance the potential for penetration into the seed (Charkowski *et al.*, 2001; Wade *et al.*, 2003; Fett, 2006b). The prevalence of seeds with cracks or other imperfections is highly variable, with rates of 3-85% being reported in alfalfa seeds (Wade *et al.*, 2003). Cooley *et al.* (2003) also demonstrated that pathogens can become associated with seed via direct contact with contaminated material such as chaff.

Cooley *et al.* (2003) found that following inoculation of the roots and shoots of thale cress (*Arabidopsis thaliana*) with *S. Newport* and *E. coli* O157:H7, pathogens were able to be recovered from the flowers and seeds of the mature plants. Both pathogens were found to persist longer on plants grown gnotobiotically (sterile agar) compared to those grown in sterile and non-sterile soil respectively. This suggests the role of competing microflora in reducing the colonisation and persistence of the pathogens tested. Pathogens were detected deep within the primary root system, but not in the vasculature (bacteria were not detected systemically throughout the plant).

The authors concluded that movement of pathogens to flowers and seed was therefore most likely via the plant exterior i.e. epiphytically. Results from other studies, however, have shown that *Salmonella* spp. and *E. coli* have the ability to enter plant tissue and move through the vascular system (Itoh *et al.*, 1998; Dong *et al.*, 2003).

### Prevalence and levels of pathogens in seed

Very little data is available on the prevalence and levels of *Salmonella* and EHEC in seed destined for sprouting. This is, in some part, due to limitations in methodologies to isolate bacterial pathogens from contaminated seeds, where contamination is usually sporadic, at low levels and non-uniformly distributed within a sample (Inami and Moler, 1999; Wu *et al.*, 2001; Stewart *et al.*, 2001b). Reported levels of pathogens from naturally contaminated seeds range from 0.7 MPN/kg to 100 MPN/kg (NACMCF, 1999b; Fu *et al.*, 2008). The level of contamination in two lots of alfalfa seed associated with an outbreak of *S. Munchen* in the US in 1999 was reported to be  $16.2 \pm 1.9$  MPN/kg (n=5) and  $13.2 \pm 3.5$  MPN/kg (n=3) (Fu *et al.*, 2008).

### Seed cleaning/processing

There are many opportunities for cross contamination to occur during seed processing. This may be via contact with contaminated material such as chaff (stalks etc) or with equipment that has residual contamination from previous contaminated lots (NACMCF, 1999a). Rodents, birds and other pests can harbour *Salmonella* and EHEC, and may therefore be a source of contamination if allowed access to the seed.

Seeds are sometimes scarified during processing to assist germination. Scarification involves intentionally damaging the seed coat. It has been suggested that this may provide additional sites for pathogens to attach to, and enter the seed, and potentially be protected from exposure to sanitising agents (Fett, 2006b). Results from studies investigating the efficacy of chemical treatments on reducing levels of pathogens from scarified and non-scarified seeds have been inconclusive. Holliday *et al.* (2001) found that there was a reduction in the efficacy of sanitising using scarified alfalfa seeds from one supplier compared to control (non-scarified) seeds, although this effect was not observed using seeds from a second supplier.

### Survival of *Salmonella* and EHEC on contaminated seeds

Studies have demonstrated that once seeds are contaminated, *Salmonella* and EHEC can survive for long periods of time under normal seed storage conditions (Jaquette *et al.*, 1996; Taormina and Beuchat, 1999). In a study by Jaquette *et al.* (1996) using artificially contaminated alfalfa seeds, populations of *S. Stanley* were found to decrease by approximately 0.7- $\log_{10}$  during storage at 8°C for 9 weeks. Storage of seed at 8°C for one week and then 21°C for 8 weeks resulted in reduction in of *S. Stanley* from initial levels of 339 cfu/g to 8 cfu/g (1.6-  $\log_{10}$  reduction). Taormina *et al.* (1999) investigated the survival of *E. coli* O157:H7 on artificially contaminated alfalfa seeds (initial concentration of approximately  $10^3$  cfu/g), whereby the pathogen could be recovered by enrichment from 25 g samples of seed after storage for 38 weeks at either 25 or 37°C. When seed was stored at 5°C, populations of *E. coli* O157:H7 remained relatively stable during the study period of 54 weeks.

## Seed sanitising

There have been extensive investigations into the efficacy of various chemical sanitising agents and other disinfection treatments in reducing levels of pathogenic micro-organisms in contaminated seeds. Consensus amongst the scientific literature is that sanitising reduces, but does not necessarily eliminate pathogens from contamination seed. Statistical analyses of published seed sanitisation studies to reduce levels of *Salmonella* and EHEC have revealed a high degree of variability in the results (Montville and Schaffner, 2004).

A summary of published studies into the efficacy of physical and chemical treatments for reducing levels of microbial pathogens from seeds is provided in Appendix 2. There are very few disinfection treatments that consistently achieve a substantial (i.e. > 5-log<sub>10</sub>) reduction in pathogen numbers. Some disinfection treatments can have a negative effect on seed germination, which needs to be considered when determining the most appropriate method of treatment. In a review of published studies on reductions of *Salmonella* and *E. coli* O157:H7 levels in seeds treated with 20,000 ppm calcium hypochlorite (Ca(OCl)<sub>2</sub>), Montville and Schaffner (2004) found that the most likely level of inactivation (mode) was 2.5 log<sub>10</sub>, with a range of 1.0 – 6.5 log<sub>10</sub>. Chemical sanitisers, such as chlorine, have reduced efficacy against naturally resistant pathogens such as oocysts of *Cryptosporidium* and *Giardia*, and bacterial spores (Venczel *et al.*, 1997).

The variability in reported efficacy of seed sanitisation may be due to a range of factors such as differences in: the initial pathogen load on contaminated seeds (either naturally or artificially contaminated), physiological status of the test microorganism (fresh laboratory cultures versus environmentally stressed micro-organisms), type and condition of the seed, treatment time and concentration of active compound, use of buffers, agitation of seeds during treatment and methods used to detect pathogens (e.g. direct plating on selective media versus enrichment in broth). While the same disinfection treatment may have been used in published studies, protocols for the application of the treatment and conditions for the growing of the sprouts often vary, which may affect the results observed.

As previously discussed, pathogens may be protected from chemical sanitising agents due to their location in cracks or other openings in the seed coat, or incorporation into biofilms (Fett, 2006b). Results from a study by Chrkowski *et al.* (2001) found that the efficacy of alfalfa seed sanitisation with Ca(OCl)<sub>2</sub> varied significantly between different seed lots. When separated based on seed characteristics, it was observed that wrinkled alfalfa seeds had higher levels of total aerobic bacteria and were more difficult to sanitise compared with smooth seeds. When seeds were artificially inoculated with *S. Newport* and then treated with Ca(OCl)<sub>2</sub>, no *Salmonella* was recovered from smooth seeds however > 10<sup>3</sup> CFU/seed was recovered from wrinkled seeds. However, when sanitised seeds were sprouted, *Salmonella* was recovered from batches grown from both smooth and wrinkled seed. This highlights the limitations of sanitising treatments in eliminating pathogens such as *Salmonella* from contaminated seed.

## 4. Potential pathogen contamination during sprout production

### Germination/growth of sprouts

As previously discussed, seed has been identified as the likely source of contamination in many reported outbreaks of Food-borne illness associated with seed sprouts. Other possible sources of contamination during the sprouting process include water, pests, growing medium (e.g. soil).

Regardless of sprouting method, studies have demonstrated the growth of *Salmonella* and *E. coli* O157:H7 during the germinating process, with increases of 2–5 log<sub>10</sub> within 48 hours being reported in the literature (Gandhi *et al.*, 2001; Stewart *et al.*, 2001a; Stewart *et al.*, 2001b; Charkowski *et al.*, 2002; Palmai and Buchanan, 2002; Howard and Hutcheson, 2003; Montville and Schaffner, 2005; Pao *et al.*, 2005; Liu and Schaffner, 2007; Fu *et al.*, 2008; Liao, 2008).

Methodologies used to investigate the growth of pathogens during the sprouting process vary widely, which may affect observed rates of growth. For example, studies have used naturally or artificially contaminated seed. For seeds that have been artificially contaminated prior to sprouting, there are differences in the methods used to inoculate the seed e.g. growth phase of the bacterial culture used, length of time and conditions in which inoculated seeds are dried before sprouting, and differences in the inoculum size. If the initial inoculum level in seeds is high (>10<sup>4</sup> cfu/g), a reduced potential for growth may be observed as levels may quickly reach the maximum population density (Montville and Schaffner, 2005). The probability of naturally contaminated seeds having levels of contamination as high as this is also extremely low. Stewart *et al.* (2001a) found that the maximum level of *E. coli* O157:H7 reached in alfalfa sprouts grown from seeds with low (1.9 log<sub>10</sub> cfu/g) or high (3.9 log<sub>10</sub> cfu/g) inoculums was 5–6 log<sub>10</sub> cfu/g.

Methods used to sprout seeds in the laboratory often differ from that used commercially. For example in the laboratory small volumes of seeds may be sprouted in glass jars or “mini-drums”, with different methods and/or frequencies of irrigation utilised. Fu *et al.* (2008) demonstrated that irrigation frequency significantly affected the level of growth of *Salmonella* in alfalfa sprouts grown using a small-scale rotating drum. Decreasing the irrigation frequency from 20 minutes every 2 h to 20 min every 4 h resulted in a 2-log<sub>10</sub> increase in levels of *Salmonella*. Increasing the temperature during sprouting from 20°C–30°C also resulted in a 2-log<sub>10</sub> increase in *Salmonella* levels.

Pao *et al.* (2005) undertook a study to investigate the growth of *B. cereus* during the production of different sprout types. Results for sprouts grown in glass jars using naturally contaminated seed showed that levels of *B. cereus* increased by > 5 log<sub>10</sub> for radish and broccoli sprouts, however no significant growth was observed for alfalfa, lentil or mung bean sprouts. When seeds were sprouted using a “home-sprouting” drum with automatic watering, levels of *B. cereus* increased by 3 log<sub>10</sub> in radish, broccoli and mung bean sprouts, with no growth observed in alfalfa or lentil sprouts.

A number of studies have shown that *Salmonella* spp. and *E. coli* O157:H7 can become internalised in the tissue of seed sprouts during germination (Itoh *et al.*, 1998; Warriner *et al.*, 2003). In a study by Itoh *et al.* (1998) *E. coli* O157:H7 was found to be attached the inner tissue and stomata of cotyledons as well as the outer surface of radish sprouts. *E. coli* O157:H7 was isolated from sprouts after being surface-sterilised with mercuric chloride (HgCl<sub>2</sub>), further suggesting internalisation. Warriner *et al.* (2003) also demonstrated the ability of *E. coli* and *Salmonella* spp. to become internalised in mung bean sprouts during germination. Treating the sprouts with 20,000 ppm sodium hypochlorite removed the majority of bacteria from the surface of hypocotyls, although viable organisms were recovered from the sprout tissue.

Microorganisms can also become incorporated into biofilms on the sprout surface (Fett, 2000; Warriner *et al.*, 2003; Fett and Cooke, 2003b). Biofilms are a complex structure of microorganisms adhered to a surface (usually inert) and encapsulated in self-produced extracellular material such as exopolysaccharides, lipids and proteins. This structure provides protection to microorganisms from antimicrobial agents such as chemical sanitisers (Costerton *et al.*, 1995).

When viewing alfalfa, broccoli, clover and sunflower sprouts by scanning electron microscopy, biofilms have been found to be most abundant on the cotyledon surface compared with hypocotyls and roots (Fett, 2000).

Several studies have shown that levels of bacterial pathogens in spent irrigation water during the germinating process is strongly correlated to levels found in the contaminated seed sprouts (Costerton *et al.*, 1995; Stewart *et al.*, 2001b; Howard and Hutcheson, 2003; Johnston *et al.*, 2005; Liu and Schaffner, 2007). In an analysis of published data, Montville and Schaffner (2005) found that the average concentration of pathogens was slightly higher in sprouts than in spent irrigation water (mean 0.5 log<sub>10</sub>, range -0.75-2.25 log<sub>10</sub>). Liu and Schaffner (2007) demonstrated that *S. Stanley* could be detected in irrigation water within 12 hours of germination of alfalfa sprouts.

Various treatments have been studied to reduce the levels of pathogens either during the sprouting process or post harvest. These treatments include the use of chemical agents, competitive exclusion (e.g. plant-associated pseudomonads), bacteriophages and irradiation (Rajkowski and Thayer, 2000; Fett, 2002c; Fett, 2006a; Kocharunchitt *et al.*, 2009). To date, however, most of these treatments have not been shown to result in consistent levels of pathogen reduction. This may be due to a number of factors such as protection of microbial pathogens in biofilms, or internalisation into the sprout tissue. One method that has been found to reduce levels of pathogens in sprouts is treatment by irradiation, with a minimum gamma radiation dose of 0.5 kGy shown to be effective in eliminating *Salmonella* from naturally contaminated alfalfa sprouts (Rajkowski and Thayer, 2000).

### **Sprout harvesting**

Contamination of seed sprouts can also occur during harvesting. Possible sources of contamination include equipment, rinse waters and workers themselves. Gandhi *et al.* (2001) found that the transfer of *Salmonella* to non-contaminated sprouts via hands directly after harvesting contaminated sprouts (7.9 log<sub>10</sub> cfu/g) was approximately 5 log<sub>10</sub> cfu/g. While the level of *Salmonella* in the contaminated sprouts used in this study is considered higher than that observed under commercial conditions, it demonstrates the potential for pathogens to be transferred between batches of seed sprouts during harvesting.

Depending on the type of seed sprout being produced, they are often rinsed prior to packaging. While studies have demonstrated that there is limited/no reduction in pathogens from rinsing sprouts in water containing sanitisers, there is an opportunity for significant cross contamination if wash/rinse water becomes contaminated.

### **Retail/consumer**

Once packaged, sprouts are generally stored under temperature control (<4°C) to limit the growth of microorganisms. Gandhi *et al.* (2001) found that levels of *S. Stanley* in contaminated alfalfa sprouts reduced slightly (0.09 log<sub>10</sub>) when stored at 4°C. In the survey of seed sprouts at retail undertaken by WA Department of Health in 2001, 78% (203/261) of samples were stored under refrigeration. Of the refrigerated samples, 75% (154 samples) were recorded to have temperatures above 10°C. Most seed sprouts are consumed raw and therefore will not receive any form of heat treatment prior to consumption (which would inactivate pathogens if present).



Reported sprout-associated outbreaks (adapted from Taormina *et al.*, 1999)

| Year      | Pathogen  | No. of culture-confirmed cases | Location                         | Type of sprout  | Likely source of contamination | Reference  |
|-----------|---|--------------------------------|----------------------------------|-----------------|--------------------------------|--|
| 1988      | <i>S. Saintpaul</i>   | 143                            | United Kingdom                   | Mung bean       | Seed                           | (O'Mahony <i>et al.</i> , 1990)  |
| 1988      | <i>S. Saintpaul</i> , <i>S. Havana</i> , <i>S. Muenchen</i> | 148                            | Sweden                           | Mung bean       |                                |  |
| 1988      | <i>S. Virchow</i>   | 7                              | United Kingdom                   | Mung bean       |                                | (O'Mahony <i>et al.</i> , 1990)  |
| 1989      | <i>S. Gold-Coast</i>  | 31                             | United Kingdom                   | Cress           | Seed and/or sprouter           | (Joce <i>et al.</i> , 1990)  |
| 1990      | <i>S. Anatum</i>  | 15                             | US (Washington)                  | Alfalfa         |                                | (CDC, 1990)  |
| 1992      | <i>S. enterica</i> 4,5,12:b:-                               | 272                            | Finland                          | Mung            | ND                             | (Mattila <i>et al.</i> , 1994)   |
| 1994      | <i>S. Bovismorbificans</i>                                  | 492                            | Finland, Sweden                  | Alfalfa         | Seed                           | (Ponka <i>et al.</i> , 1995; Puohiniemi <i>et al.</i> , 1997)                      |
| 1995      | <i>S. Stanley</i>   | 242                            | Finland<br>6 US States           | Alfalfa         | Seed                           | (Mahon <i>et al.</i> , 1997)   |
| 1995-1996 | <i>S. Newport</i>   | >133                           | 7 US States<br>Canada<br>Denmark | Alfalfa         | Seed                           | (van Beneden <i>et al.</i> , 1999)   |
| 1996      | <i>S. Stanley</i>   | 30                             | US (Virginia)                    | Alfalfa         | Seed                           | (CDC, 1996; Barret and Chaos, 1996)  |
| 1996      | <i>E. coli</i> O157:H7                                      | >10,000                        | Japan                            | Radish          | Seed                           | (Watanabe <i>et al.</i> , 1999)  |
| 1996      | <i>S. Montevideo</i> and <i>S. Maleagris</i>                | ~500                           | California, Nevada (USA)         | Alfalfa         | Seed and/or sprouter           | (Taormina <i>et al.</i> , 1999; NACMCF, 1999a; Mohle-Boetani <i>et al.</i> , 2001) |
| 1997      | <i>S. Anatum</i> and <i>S. Infantis</i>                     | 109                            | Kansas, Missouri (USA)           | Alfalfa         | Seed                           | (Taormina <i>et al.</i> , 1999)  |
| 1997      | <i>E. coli</i> O157:H7                                      | 79                             | 4 US States                      | Alfalfa         | Seed                           | (Breuer <i>et al.</i> , 2001)  |
| 1997      | <i>S. Meleagridis</i>                                       | 78                             | Canada                           | Alfalfa         | Seed                           | (Sewell and Farber, 2001)  |
| 1997-1998 | <i>S. Senftenberg</i>                                       | 60                             | US (California, Nevada)          | Alfalfa         | Seed and/or sprouting drum     | (Mohle-Boetani <i>et al.</i> , 2001)   |
| 1998      | <i>S. Havana/S. Cubana</i>                                  | 40                             | US (California)                  | Alfalfa         | Seed                           | (CDC, 1998; NACMCF, 1999a)   |
| 1998      | <i>E. coli</i> O157:NM                                      | 8                              | California, Nevada               | Alfalfa, Clover | Seed and/or sprouter           | (CDC 1998; Mohle-Boetani <i>et al.</i> , 2001)                                     |
| 1999      | <i>S. Mbandaka</i>  | 83                             | 8 US states                      | Alfalfa         | Seed                           | (CDC 1998; NACMCF, 1999a)  |
| 1999      | <i>S. Muenchen</i>  | 157                            | 10 US states                     | Alfalfa         | Seed                           | (Proctor <i>et al.</i> , 2001)   |
| 1999      | <i>S. paratyphi</i> var Java                                | 51                             | Canada                           | Alfalfa         | Seed                           | (Stratton <i>et al.</i> , 2001)  |
| 1999      | <i>S. Saintpaul</i>   | 36                             | US (California)                  | Clover          | ND                             | (CDC 1998)   |
| 1999      | <i>Salmonella</i> spp.                                      | 34                             | US (Michigan)                    | Alfalfa         | ND                             | (CDC 1998)   |
| 1999      | <i>S. Typhimurium</i>                                       | 120                            | Colorado (USA)                   | Alfalfa         | Seed                           | (Winthrop <i>et al.</i> , 2003)  |

| Year      | Pathogen                            | No. of culture-confirmed cases | Location                    | Type of sprout | Likely source of contamination | Reference                                    |
|-----------|-------------------------------------|--------------------------------|-----------------------------|----------------|--------------------------------|--|
| 2000      | <i>S. Enteritidis</i> phage type 4b | 27                             | The Netherlands             | Mung beans     | Seed                           | (van Duynhoven <i>et al.</i> , 2002)         |
| 2000      | <i>S. Enteritidis</i>               | 75                             | US                          | Mung beans     | ND                             | (CDC, 2000)                                  |
| 2000      | <i>S. Enteritidis</i>               | 8                              | Canada                      | Alfalfa        | ND                             | (Harris <i>et al.</i> , 2003)                |
| 2001      | <i>S. Enteritidis</i> PT 913        | 84                             | Canada                      | Mung bean      | Seed                           | (Honish and Nguyen, 2001)                    |
| 2001      | <i>S. Kottbus</i>                   | 31                             | California                  | Alfalfa        | Seed                           | (Mohle-Boetani <i>et al.</i> , 2002)         |
| 2001      | <i>S. Enteritidis</i> PT1           | 26                             | US (Hawaii)                 | Mung bean      | Seed and/or sprouter           | (CDC, 2002)                                  |
| 2002      | <i>S. Abony</i>                     | 13                             | Finland                     | Mung bean      | ND                             | (Ministry of Agriculture and Forestry, 2003) |
| 2003      | <i>S. Saintpaul</i>                 | 16                             | US                          | Alfalfa        | ND                             | (CDC, 2003)                                  |
| 2003      | <i>E. coli</i> O157:H7              | 7                              | US                          | Alfalfa        | ND                             | (CDC 2003)                                   |
| 2003      | <i>E. coli</i> O157:NM (H-)         | 13                             | US                          | Alfalfa        | ND                             | (CDC 2003)                                   |
| 2003      | <i>S. Chester</i>                   | 26                             | US                          | Alfalfa        | ND                             | (CDC 2003)                                   |
| 2004      | <i>E. coli</i> O157:NM              | 2                              | US                          | Alfalfa        | ND                             | (CDC 2003)                                   |
| 2004      | <i>S. Bovismorbificans</i>          | 35                             | US                          | Alfalfa        | ND                             | (CDC, 2004)                                  |
| 2005-2006 | <i>S. Oranienburg</i>               | 126                            | Australia (WA)              | Alfalfa        | Seed                           | (OzFoodNet, 2006)                            |
| 2006      | <i>S. Oranienburg</i>               | 15                             | Australia (Vic)             | Alfalfa        | Seed                           | (OzFoodNet, 2007)                            |
| 2006      | <i>S. Braenderup</i>                | 4                              | US                          | Mung bean      | ND                             | (CDC, 2006)                                  |
| 2007      | <i>S. Weltevreden</i>               | 45                             | Norway<br>Denmark<br>Sweden | Alfalfa        | Seed                           | (Emberland <i>et al.</i> , 2007)             |

## Physical and chemical treatments for the inactivation of pathogens on inoculated sprouting seeds (Fett, 2006b)

| Treatment                                   | Conditions                | Time   | Seed Type | Bacterium               | Logarithmic Reduction - (CFU/G) | Seed Germination      | Ref   |
|---|---------------------------|--------|-----------|-------------------------|---------------------------------|-----------------------|---|
| Acetic acid, vapour                         | 242 µl/L air, 45°C        | 12 h   | Mung bean | <i>Salmonella</i>       | > 5, no survivors               | No effect             | (Delaquis <i>et al.</i> , 1999)                                   |
| Acetic acid, vapour                         | 242 µl/L air, 45°C        | 12 h   | Mung bean | <i>E. coli</i> O157:H7  | > 6, no survivors               | No effect             | (Delaquis <i>et al.</i> , 1999)                                   |
| Acetic acid, vapour                         | 242 µl/L air, 45°C        | 12 h   | Mung bean | <i>L. monocytogenes</i> | 4.0                             | No effect             | (Delaquis <i>et al.</i> , 1999)                                   |
| Acetic acid, vapour                         | 300 mg/L air, 50°C        | 24 h   | Alfalfa   | <i>Salmonella</i>       | 0.8                             | No effect             | (Weissinger <i>et al.</i> , 2001)                                 |
| Acidic EO water                             | 1,081 mV, 84 ppm chlorine | 10 min | Alfalfa   | <i>Salmonella</i>       | 1.5                             | No effect             | (Kim <i>et al.</i> , 2003)  |
| Acidic EO water                             | 1150 mV, 50 ppm chlorine  | 64 min | Alfalfa   | <i>E. coli</i> O157:H7  | 1.6                             | Significant reduction | (Sharma and Demirci, 2003b)                                       |
| Acidic EO water                             | 1,079 mV, 70 ppm chlorine | 15 min | Alfalfa   | <i>Salmonella</i>       | 2.0                             | No effect             | (Stan and Daeschel, 2003)   |
| Allyl isothiocyanate                        | 50 µl/950-cc jar, 47°C    | 24 h   | Alfalfa   | <i>E. coli</i> O157:H7  | >2.0, survivors present         | Slight reduction      | (Park <i>et al.</i> , 2000)                                       |
| Ammonia, gas                                | 300 mg/L                  | 22 h   | Alfalfa   | <i>Salmonella</i>       | 2.0                             | No effect             | (Himathongkham <i>et al.</i> , 2001)                              |
| Ammonia, gas                                | 300 mg/L                  | 22 h   | Mung bean | <i>Salmonella</i>       | 5.0                             | No effect             | (Himathongkham <i>et al.</i> , 2001)                              |
| Ammonia, gas                                | 300 mg/L                  | 22 h   | Alfalfa   | <i>E. coli</i> O157:H7  | 3.0                             | No effect             | (Himathongkham <i>et al.</i> , 2001)                              |
| Ammonia, gas                                | 300 mg/L                  | 22 h   | Mung bean | <i>E. coli</i> O157:H7  | 6.0                             | No effect             | (Himathongkham <i>et al.</i> , 2001)                              |
| Ca(OH) <sub>2</sub> (Calcium Hydroxide)     | 1%                        | 10 min | Alfalfa   | <i>E. coli</i> O157:H7  | 3.2                             |                       | (Holiday <i>et al.</i> , 2001)                                    |
| Ca(OH) <sub>2</sub>                         | 1%                        | 10 min | Alfalfa   | <i>Salmonella</i>       | 2.8 - 3.8                       | No effect             | (Weissinger and Beuchat, 2000; Holiday <i>et al.</i> , 2001)61,62 |
| Ca(OCl) <sub>2</sub> (Calcium Hypochlorite) | 20,000 ppm                | 3 min  | Alfalfa   | <i>E. coli</i> O157:H7  | > 2.3, survivors present        | Reduced rate          | (Taormina and Beuchat, 1999)                                      |
| Ca(OCl) <sub>2</sub>                        | 20,000 ppm                | 10 min | Alfalfa   | <i>Salmonella</i>       | 2.0                             | Slight reduction      | (Weissinger and Beuchat, 2000)                                    |
| Ca(OCl) <sub>2</sub>                        | 18,000 ppm                | 10 min | Alfalfa   | <i>Salmonella</i>       | 3.9                             | No effect             | (Fett, 2002a)   |
| Ca(OCl) <sub>2</sub>                        | 18,000 ppm                | 10 min | Alfalfa   | <i>E. coli</i> O157:H7  | 4.5                             | No effect             | (Fett, 2002a)   |
| Ca(OCl) <sub>2</sub>                        | 16,000 ppm                | 10 min | Mung bean | <i>Salmonella</i>       | 5.0                             | No effect             | (Fett, 2002b)   |
| Ca(OCl) <sub>2</sub>                        | 16,000 ppm                | 10 min | Mung bean | <i>E. coli</i> O157:H7  | 3.9                             | No effect             | (Fett, 2002b)   |
| Chlorine dioxide, acidified                 | 500 ppm                   | 10 min | Alfalfa   | <i>E. coli</i> O157:H7  | >2.4, survivors present         | Significant reduction | (Taormina and Beuchat, 1999)                                      |
| Citrex™                                     | 20,000 ppm                | 10 min | Alfalfa   | <i>Salmonella</i>       | 3.6                             | No effect             | (Fett and Cooke, 2003a)   |
| Citrex™                                     | 20,000 ppm                | 10 min | Alfalfa   | <i>E. coli</i> O157:H7  | 3.4                             | No effect             | (Fett and Cooke, 2003a)   |
| Dry heat                                    | 50°C                      | 60 min | Alfalfa   | <i>E. coli</i> O157:H7  | 1.7                             | No effect             | (Bari <i>et al.</i> , 2003)                                       |
| Dry heat                                    | 70°C                      | 3h     | Alfalfa   | <i>Salmonella</i>       | 3.0                             | Slight reduction      | (Weissinger <i>et al.</i> , 2000)                                 |
| Fit™  | According to label        | 15 min | Alfalfa   | <i>Salmonella</i>       | 2                               | No effect             | (Beuchat <i>et al.</i> , 2001)                                    |
| Fit™  | According to label        | 15 min | Alfalfa   | <i>E. coli</i> O157:H7  | >5.4                            | No effect             | (Beuchat <i>et al.</i> , 2001)                                    |
| H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>               | 8%                        | 3 min  | Alfalfa   | <i>E. coli</i> O157:H7  | >2.9, survivors present         | No effect             | (Taormina and Beuchat, 1999)                                      |

| Treatment                           | Conditions                         | Time                 | Seed Type    | Bacterium                | Logarithmic Reduction - (CFU/G) | Seed Germination      | Ref                               |
|-------------------------------------|------------------------------------|----------------------|--------------|--------------------------|---------------------------------|-----------------------|-----------------------------------|
| H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>       | 8%                                 | 10 min               | Alfalfa      | <i>Salmonella</i>        | 3.2                             | No effect             | (Weissinger and Beuchat, 2000)    |
| Hydrostatic pressure                | 300 mPa                            | 15 min               | Garden cress | <i>Salmonella</i>        | 5.8                             | Reduced rate          | (Wuytack <i>et al.</i> , 2003)    |
| Hydrostatic pressure                | 300 mPa                            | 15 min               | Garden cress | <i>Shigella flexneri</i> | 4.5                             | Reduced rate          | (Wuytack <i>et al.</i> , 2003)    |
| Lactic acid                         | 5%, 42°C                           | 10 min               | Alfalfa      | <i>E. coli</i> O157:H7   | 3.0                             | No effect             | (Lang <i>et al.</i> , 2000)       |
| Radiation, gamma                    | Various                            |                      | Alfalfa      | <i>Salmonella</i>        | D-value of 0.97 kGy             | Dosage dependent      | (Thayer <i>et al.</i> , 2003)     |
| Radiation, gamma                    | Various                            |                      | Alfalfa      | <i>E. coli</i> O157:H7   | D-value of 0.60 kGy             | Dosage dependent      | (Thayer <i>et al.</i> , 2003)     |
| Radiation, gamma                    | Various                            |                      | Broccoli     | <i>Salmonella</i>        | D- value of 1.10 kGy            | Dosage dependent      | (Rajkowski <i>et al.</i> , 2003)  |
| Radiation, gamma                    | Various                            |                      | Broccoli     | <i>E. coli</i> O157:H7   | D- value of 1.11 kGy            | Dosage dependent      | (Rajkowski <i>et al.</i> , 2003)  |
| Sodium chlorite, acidified          | 1,200 ppm, 55°C                    | 3 min                | Alfalfa      | <i>E. coli</i> O157:H7   | >1.9, survivors present         | Slight reduction      | (Taormina and Beuchat, 1999)      |
| Sulphuric acid                      | 2N                                 | 20 min               | Alfalfa      | <i>E. coli</i> O157:H7   | 5.0                             | No effect             | (Pandurangi <i>et al.</i> , 2003) |
| Ozone, aqueous                      | 21 ppm, w/sparging                 | 64 min               | Alfalfa      | <i>E. coli</i> O157:H7   | 2.2                             | No effect             | (Sharma <i>et al.</i> , 2002)     |
| Ozone, aqueous                      | 21.3 ppm, w/sparging               | 20 min               | Alfalfa      | <i>L. monocytogenes</i>  | 1.5                             | No effect             | (Wade <i>et al.</i> , 2003)       |
| Pulsed UV light                     | 5.6 J/cm <sup>2</sup> , 270 pulses | 90 sec               | Alfalfa      | <i>E. coli</i> O157:H7   | 4.9                             | Significant reduction | (Sharma and Demirci, 2003a)       |
| Dielectric heating, radio frequency | 39 MHz, 1.6 kV/cm                  | 26 sec               | Alfalfa      | <i>Salmonella</i>        | 1.7                             | No effect             | (Nelson <i>et al.</i> , 2002)     |
| Supercritical CO <sub>2</sub>       | 4000 psi, 50 C                     | 60 min               | Alfalfa      | <i>E. coli</i> , generic | 1.0                             | No effect             | (Mazzoni <i>et al.</i> , 2001)    |
| Water, hot                          | 3-stage: 25 to 50 to 85°C          | 30 min, 9 sec, 9 sec | Alfalfa      | <i>E. coli</i> , generic | >4, no survivors                | No effect             | (Enomoto <i>et al.</i> , 2002)    |
| Water, hot                          | 54°C                               | 5 min                | Alfalfa      | <i>Salmonella</i>        | 2.5                             | No effect             | (Jaquette <i>et al.</i> , 1996)   |
| Water, hot                          | 80°C                               | 2 min                | Mung bean    | <i>Salmonella</i>        | >6                              | No effect             | (Weiss and Hammes, 2003)          |

## Chemical hazard Evaluation of seed sprouts

### Summary

There are legislative requirements<sup>21</sup> that regulate the use and presence of chemical substances in food. These requirements ensure that public health and safety is protected and that chemical hazards in food are adequately managed.

These requirements include the provisions in the Code. There are certain Standards in the Code that are of relevance in relation to chemical hazards in seed sprouts and these are:

Standard 1.3.1 – Food Additives

Standard 1.3.3 – Processing Aids

Standard 1.4.1 – Contaminants and Natural Toxicants

Standard 1.4.2 – Maximum Residue Limits

Standard 1.4.3 – Articles and Materials in Contact with Food.

The limited data available (see below) do not indicate that chemical hazards are a major concern for seed sprouts. On this basis, the current regulatory measures including those in the Code are considered adequate with respect to managing chemical hazards in seed sprouts. Notwithstanding this, there are general hazard mitigation measures that could be considered to ensure that chemical hazards associated with seed sprout production are specifically managed.

### *Residues of agricultural and veterinary chemicals*

Residues of agricultural and veterinary chemicals in food are managed by ensuring that only approved chemical products are used in food production, and that these products are used in accordance with approved conditions of use by food handlers and producers.

Chemical products may be used in the production of seed and then in the subsequent production of seed sprouts, including as sanitising agents. The use of products in these situations may result in residues of agricultural chemicals in seed sprouts. It would not be expected that veterinary chemical residues would be present in seed sprouts.

Standard 1.4.2 lists the maximum permissible limits for agricultural and veterinary chemical residues present in food. These limits apply to seeds and seed sprouts for human consumption.

The Maximum Residue Limits (MRLs) in Standard 1.4.2 are based on MRLs notified to FSANZ by the Australian Pesticides and Veterinary Medicines Authority (APVMA). The APVMA is a Commonwealth of Australia Government authority responsible for the assessment and registration of pesticides and veterinary medicines and for their regulation up to and including the point of retail sale. The APVMA administers the National Registration Scheme for Agricultural and Veterinary Chemicals (NRS) in partnership with the States and Territories and with the active involvement of other Australian government agencies. The MRLs in Standard 1.4.2 are based on the highest residues that may occur in food that has been legitimately treated with approved chemical products, including appropriate withholding periods.

---

<sup>21</sup> These requirements are in State, Territory and Commonwealth of Australia legislation.

In addition to the MRLs in Standard 1.4.2, certain chemical product label restraints and precautions apply to the use of chemical products as seed treatments. These restraints and precautions require chemical products to be used appropriately on seeds and where relevant, that such seeds are not provided as food for human consumption.

There are very little data available on the presence of residues of agricultural and veterinary chemicals in seed sprouts (see below). Survey results available to FSANZ have not identified non-complying residues of agricultural and veterinary chemicals in seed sprouts.

While not a compliance survey, data from the Australian Total Diet Survey (ATDS) indicate that few residues of agricultural and veterinary chemicals have been detected in alfalfa sprouts<sup>22</sup>. This result may be considered representative for sprouts generally in that chemical products are likely to be used similarly to control similar pests and diseases.

FSANZ understands that nutrients are not used during the production of seed sprouts (e.g. fertiliser, growth nutrients).

Overall, the limited data currently available would suggest that residues of agricultural and veterinary chemicals in seed sprouts are not of concern. Notwithstanding this, it would be appropriate to ensure that food handlers and seed sprout producers only use approved chemical products in the production of seed sprouts and that these products are used in accordance with approved conditions of use.

### ***Processing Aids in Food Production***

Chemical products may be used as processing aids in the production of seed sprouts and the use of these products may result in residues of these processing aids in seed sprouts (e.g. chlorine). Chemical products used in the production of seed sprouts should be approved for the relevant purpose and used in accordance with approved conditions of use.

In addition, Standard 1.3.3 includes substances which may be used as processing aids and includes limits for these substances in seed sprouts or the inputs that may be used in seed sprout production (washing agents). Seed sprouts treated legitimately with processing aids should comply with this Standard.

It would be appropriate to ensure that food handlers and seed sprout producers only use approved processing aids in the production of seed sprouts and that these products are used in accordance with approved conditions of use.

### ***Contaminants***

There are very little data available on the presence of chemical contaminants in seed sprouts. These contaminants may include metals (cadmium, copper, zinc), non-metal contaminants (e.g. packaging monomers) and mycotoxins.

While not a compliance survey, data from the ATDS indicate that some metals have been detected in alfalfa sprouts<sup>23</sup>. It would not be appropriate to extrapolate this to all seed sprouts because of the different types of seed sprouts.

The limited data currently available would not suggest that there are concerns with contaminants that may be present in seed sprouts.

---

<sup>22</sup> 19<sup>th</sup> Australian Total Diet Survey - <http://www.foodstandards.gov.au/srcfiles/tables%2023-26.pdf>

<sup>23</sup> 19<sup>th</sup> Australian Total Diet Survey - <http://www.foodstandards.gov.au/srcfiles/tables%209-22.pdf>

Notwithstanding this, it would be appropriate to ensure that food handlers and seed sprout producers handle seed sprouts to minimise or prevent contamination.

### ***Substances Added to Seed Sprouts***

Food additives may only be used in seed sprouts in accordance with Standard 1.3.1. In addition, Standard 1.3.4 – Identity and Purity includes specifications for substances added to food. These Standards specify food additives that may be used by food type and include limits for specific food additives in foods. Depending on the degree of processing, seed sprouts may contain certain additives. FSANZ understands that food additives would be unlikely to be added to seed sprouts.

It would be appropriate to ensure that food handlers and seed sprout producers only use approved food additives in the production of seed sprouts.

### ***Packaging***

There are general provisions in food legislation<sup>24</sup> that require articles and materials in contact with food to be safe and suitable for that purpose. These requirements apply to seed sprouts.

The Code also includes requirements in Standard 1.4.3. The purpose of this Standard is to provide for articles and materials to be in contact with food, including packaging.

The Standard does not specify individual packaging materials for food contact or how they are produced or used but includes general requirements to ensure that such articles and materials do not cause harm.

While there is little information available on the articles and materials that may be used for seed sprouts, the general requirements are considered to be adequate at this stage. These requirements relate to ensuring:

- that equipment and inputs used in producing seed sprouts are suitable for their intended purpose to prevent contamination of seed sprouts
- that seed sprout handlers are aware of the need to prevent contamination of seed sprouts and how to prevent any contamination
- seed sprouts are protected from contamination including during storage and transport
- packaging used for seed sprouts is fit for its intended purpose and is therefore not likely to cause contamination.

Overall, seed sprout producers should ensure that procedures are instituted, including with seed sprout handlers, to prevent contamination of seed sprouts as far as is reasonably possible.

---

<sup>24</sup> State and Territory food legislation.

## Cost Estimate of the 2005-06 Australian Seed Sprout outbreaks

Outbreaks of food-borne illnesses are sporadic and unpredictable. An estimation of the cost of food-borne illness resulting from consumption of contaminated seed sprouts cannot be generated as an annual figure because of the sporadic and infrequent nature of such outbreaks. The potential cost of adverse health consequences due to consumption of contaminated seed sprouts is estimated using the 2005-2006 outbreak data.

OzFoodNet<sup>25</sup> reports that in Australia about 132 cases of food-borne salmonellosis have been identified to be associated with consumption of raw sprouts in Western Australia and Victoria during 2005-2006. According to an Australian study (Hall, et. al. 2005)<sup>26</sup>, for every one reported case of food-borne illness in the community there are 9 unreported cases. Taking into account of underreporting there could be up to 1320 community cases of salmonellosis associated with consumption of contaminated sprouts in Western Australia and Victoria during 2005-2006.

Based on a US model to compute social cost of illness, and a Dutch study (Kemmeran et. al., 2006<sup>27</sup>) that estimates disease burden of enteric pathogens, the cost of a general food-borne salmonellosis case has been estimated at approximately \$8,786 in 2009 prices. Cost per case in Table 1 is in the context of Australian estimates for Quality Adjusted Life Year (QALY) and Value of Statistical Life (VSL)<sup>28</sup>. This estimate takes into account productivity, welfare and medical costs for a range of effects ranging from a mild gastro illness to extreme consequences like death. See Table 1 followed by Explanatory Notes for the breakdowns of this estimate.

**Table 1: Social cost of a typical food-borne *Salmonella* illness case (\$AUD)**

| Outcomes                            | Incidence | Total QALDs Lost per Illness | Health Loss per Case | Medical Costs per Case | Weighted Dollar Loss per Case |
|-------------------------------------|-----------|------------------------------|----------------------|------------------------|-------------------------------|
| <b>Gastroenteritis</b>              |           |                              |                      |                        |                               |
| Mild                                | .857      | 5.58                         | \$2,466              | \$0                    | \$2,110                       |
| Moderate                            | .154      | 10.65                        | \$4,707              | \$73                   | \$7,480                       |
| Severe                              | .018      | 16.15                        | \$7,138              | \$1,526                | \$11,702                      |
| <b>Reactive Arthritis</b>           |           |                              |                      |                        |                               |
| Mild                                | .011      | 222                          | \$98,124             | \$0                    | \$10,794                      |
| Moderate                            | .002      | 222                          | \$98,124             | \$110                  | \$10,904                      |
| Severe                              | .0002     | 222                          | \$98,124             | \$4,063                | \$10,794                      |
| <b>Irritable Bowel Syndrome</b>     |           |                              |                      |                        |                               |
|                                     | .0002     | Life Long                    | \$3,738,000          | \$1,526                | \$7,264                       |
| <b>Death</b>                        |           |                              |                      |                        |                               |
|                                     | .001      | 8454                         | \$3,738,000          |                        | \$3,738,000                   |
| <b>Total Expected Loss per Case</b> |           |                              |                      |                        | <b>\$8,786</b>                |

<sup>25</sup> Kirk M., 2006. Outbreaks Associated with Raw Sprouts. Ozfoodnet presentation.

<sup>26</sup> Hall G. et al. (2005) Estimating food-borne gastroenteritis, Australia. Emerging Infectious Diseases 11(8): 1257-1264.

<sup>27</sup> Kemmeren, J.M. et al. (2006) RIVM: Priority setting of food-borne pathogens. Disease burden and costs of selected enteric pathogens: Report 330080001:55-58.

<sup>28</sup> Refer to Abelson, P. (2007) Office of Best Practice Regulation. Establishing a Monetary Value for Lives Saved: Issues and Controversies: WP 2008-02:21.

The product of the number of potential cases in the community and the cost per case provides an indicative social cost of approximately \$11.60 million of 2005/2006 outbreaks in current prices.

This cost estimation refers to the two outbreaks occurred in 2005-2006 that was a once off event. The cost estimation should not be treated as an annual cost of seed sprouts caused food-borne illnesses.

## Explanatory Notes

**Outcomes:** A range of adverse health outcomes have been reported to be associated with human illness resulting from a food-borne salmonellosis. An occurrence could vary from a mild gastroenteritis illness (GE) to extreme consequences like death. Long term adverse health complications include Reactive Arthritis and Irritable Bowel Syndrome. These outcomes have been derived from the Dutch study (Kemmeren, et al. 2006).

**Incidence:** A Mild case of Gastroenteritis illness is classified as one that involves no visit to a general practitioner (GP), a moderate case involves a GP visit and a severe case would be one that requires hospitalisation. The breakdown of cases into Mild, Moderate and Severe cases of illness is based on Kemmeren et al. (2006) estimate of 35,000 community cases of *Salmonella*- associated gastroenteritis and sequelae illness. For example out of the 35,000 most likely community wide cases, 30,000 or approximately .857 or (approximately 86%) could experience mild symptoms.

**Quality Adjusted Life Day (QALD):** QALD refers to a day of life adjusted for its quality or its value. A day in perfect health is considered equal to 1.0 QALD. The estimated number of QALDs lost due to illness has also been derived from the Dutch study where a mild illness may only impact about 5 days whereas a severe illness could affect up to 16 days of an individual's life (Kemmerer, et al. 2006).

**Health loss:** Health loss is measuring what the community is willing to pay to avoid an adverse health outcome or consequence. It is obtained as a product of number of QALDs and value of QALD. The recommended Value of a Life Year (VLY) which may also be expressed as Quality Adjusted Life Year (QALY) in Australia is \$AUD151,000 (Abelson, 2007). Therefore the value of a Quality Adjusted Life Day (QALD) would be \$AUD151,000 divided by 365 or \$AUD414 in 2007 prices. Based on the Australian Taxation Office's (ATO's) Consumer Price Index (CPI) up till 2009 inflation adjusted value of QALD is \$AUD442 (increase of 6.8%). E.g. the health loss for a mild gastroenteritis illness affecting 5.58 days at the rate of \$AUD442 per day is \$AUD2,466. In case of Reactive Arthritis cases it is 222 days at the rate of \$AUD442 or \$AUD98,124.

Similarly for death, the health loss is estimated to equal to the Value of Statistical Life (VSL) at \$AUD3.5 million in 2007 prices (Abelson, 2007). In simple words it is assumed that the society is willing to pay approximately \$AUD3.74 Million in 2009 prices to avoid death for a healthy individual (after CPI inflation adjustment of 6.8%) Health loss is limited to loss of leisure, welfare and quality of life.

**Medical costs:** Medical costs include the health care and medical costs associated with the range of adverse health outcomes resulting from a food-borne salmonellosis illness. While a mild illness may not warrant any medical examination a moderate case could only involve a GP visit i.e. \$AUD60 in 2002 prices (Abelson, et al. 2006)<sup>29</sup>. For a severe hospitalisation case of a gastroenteritis illness or Irritable Bowel Syndrome (IBD) the cost is estimated to be approximately \$AUD1,254 assuming average of hospital stay is 2 days. In the event of Reactive Arthritis, it is assumed one specialist visit at \$AUD90 for moderate case and \$AUD3,339 for a severe case. Costs used are 2002 prices and derived from the annual cost of food-borne illness in Australia (Abelson, et al. 2006). As the above prices are of 2002 CPI inflation adjusted estimates for 2009 are \$AUD73 for a GP visit and/or \$AUD110 for a specialist visit, \$AUD1,526 for a hospitalisation or IBD case and \$AUD4,063 for a severe hospitalisation case (after ATO's CPI inflation adjustment of approximately 21.7% over 2002-09).

---

<sup>29</sup> Abelson, P. et al. (2006) Australian Government Department of Health and Ageing. The annual cost of food-borne illness in Australia.

**Weighted dollar loss:** is the sum of Health Loss and Medical costs proportioned to the incidence or case breakdown, e.g. in a moderate gastroenteritis illness outcome, the health loss was \$ 4,707. In addition there could be medical costs of a GP visit of \$AUD73. The sum of \$AUD4,780 apportioned to the incidence or likelihood of that event, i.e. 154 or 15.4% translates to \$AUD736 which has been placed in the weighted dollar loss column for a moderate gastroenteritis illness. In case of Death the VSL of \$AUD3,738,000 is then pro-rated to the incidence or likelihood of death at .1% (.001) to generate the weighted dollar loss for Death as \$AUD3,738.



## Regulatory measures applying to sprout production in Australia

### 1. Australia New Zealand Food Standards Code

#### Chapter 3 – Food Safety Standards

Standards 3.2.2 – Food Safety Practices and General Requirements and 3.2.3 – Food Premises and Equipment set out specific requirements for food business, food handlers and the food premises and equipment with which they operate to ensure the safe production of food. Standard 3.2.2 specifies process control requirements to be satisfied at each step of the food handling process:

- receipt
- storage
- processing
- display
- packaging
- transportation
- disposal
- recall

In addition there are requirements for skills and knowledge, health and hygiene of food handlers and the cleaning, sanitising and maintenance of premises and equipment.

Standard 3.2.3 sets out requirements to ensure that food premises, fixtures, fittings, equipment and transport vehicles are designed and constructed to minimise opportunities for food contamination and are cleaned and sanitised where necessary.

The food safety standards apply to all food businesses in Australia. A food business is defined in the Code as follows:

***food business*** means a business, enterprise or activity (other than primary food production) that involves:

- (a) the handling of food intended for sale; or
- (b) the sale of food;

*regardless of whether the business, enterprise or activity concerned is of a commercial, charitable or community nature or whether it involves the handling or sale of food on one occasion only.*

***primary food production*** means the growing, cultivation, picking, harvesting, collection or catching of food, and includes the following:

- (a) the transportation or delivery of food on, from or between the premises on which it was grown, cultivated, picked, harvested, collected or caught;
- (b) the packing, treating (for example, washing) or storing of food on the premises on which it was grown, cultivated, picked, harvested, collected or caught; and
- (c) any other production activity that is regulated by or under an Act prescribed by the regulations for the purposes of this definition.

While the operation of a seed sprout business may involve a number of the food handling activities generally undertaken by food businesses, State and Territory jurisdictions (excepting NSW) have not been able to apply Chapter 3 requirements to them because, in accordance with these definitions, seed sprout businesses have been regarded as a primary food producer (a grower of sprouts).

### Chapter 1 – General Food Standards

The food standards in Chapter 1 generally apply to all food sold or traded at retail and wholesale level in Australia and cover labelling requirements; the use of additives and processing aids; contaminants and natural toxicants; MRLs, articles and materials in contact with food, and microbiological limits for food. The only provision in Chapter 1 that is specific for seed sprouts is a microbiological limit in Standard 1.6.1.

Standard 1.6.1 – Microbiological Limits for Food specifies a microbiological limit for Salmonella in ‘cultured seeds and grains’ (alfalfa sprouts, bean sprouts etc.):

| Food  | Micro-organism          | n | c | m | M |
|---|-------------------------|---|---|---|---|
| Cultured seeds and grains (bean sprouts, alfalfa etc) | <i>Salmonella</i> /25 g | 5 | 0 | 0 |   |

Where:

n means the minimum number of sample units which must be examined from a lot of food

c means the maximum allowable number of sample units that can exceed m

m means the acceptable microbiological level in a sample unit

M means the level, when exceeded in one or more samples, would cause the lot to be rejected.

Information on Chapter 1 requirements for covering the use of additives and processing aids; contaminants and natural toxicants; Maximum Residue Limits and articles and materials in contact with food, is discussed in Attachment 2.

## 2. State and Territory requirements

### New South Wales food safety scheme- seed sprouts

The NSW Food Regulation 2004 was amended in September 2005 to include the Plant Products Food Safety Scheme, applying to specified high risk plant product industries including sprouting and processing of seed sprouts.

Businesses that produce, store or transport seed sprouts for supply to the retail and food service sectors must hold a licence with the New South Wales Food Authority stating the activities that they are authorised to undertake and specific controls relevant to the industry. Businesses producing or handling unsprouted seed, unsprouted beans or wheatgrass do not require a licence.

Businesses that receive seeds for sprouting and produce seed sprouts must comply with the NSW Food Act 2003, NSW Food Regulation 2004, the Australia New Zealand Food Standards Code and the NSW Plant Products Safety Manual<sup>30</sup>. The manual outlines and explains the requirements of the Plant Products Food Safety Scheme.

<sup>30</sup> Plant Products Safety Manual NSW/FA/FI012/0711 version 1 issued 12/11/07 available on the website of the NSW Food Authority at [www.foodauthority.nsw.gov.au/industry/industry-sector-requirements/plant-products/](http://www.foodauthority.nsw.gov.au/industry/industry-sector-requirements/plant-products/)

Sprout producers must demonstrate compliance through implementing a food safety program, based on Codex HACCP or Standard 3.2.1, which is certified by the Authority and audited. Businesses that only transport, distribute or store seed sprouts do not require a food safety program and are inspected for compliance with the legislation and the manual.

As part of their food safety program, sprout producers must address the following:

- raw material receipt and storage
- seed pre-screening for *Salmonella* (this may be certified by the seed supplier)
- raw material quality either by obtaining Authority approval to source seed from a supplier that can provide evidence that seed is produced under an audited HACCP-based food safety program or sanitising seed as specified in the manual;
- washing and sprouting
- testing of spent irrigation water for *Salmonella*
- post harvest washing
- sprout storage
- cleaning and sanitising of equipment and processing surfaces
- finished product testing for *E. coli*.

Sprout producers must also ensure they have documented procedures for notifying the Authority of tests that fail to meet the microbiological testing requirements in the manual and the microbiological and chemical standards in the Code. Laboratories testing these products are also required to notify failures to the Authority.

Specific requirements, detailed explanations and guidance for these activities are provided in the manual.

### 3. Export requirements

Schedule 3A of the *Export Control (Plant and Plant Products) Orders 2005* prescribes structural requirements and operational and hygiene requirements for establishments preparing mung beans aimed, primarily focussed on pest control, effective cleaning and personal hygiene. Clause 6 of this schedule specifies the following:

- A registered establishment in which mung beans are prepared or inspected for export:
  - must be equipped and operated in a manner which permits effective pest control and hygienic conditions to be maintained at the establishment
  - must have a defined program of hygiene and pest control.
- All machinery, equipment and surrounding floor area must be thoroughly cleaned of all waste material and debris at intervals not exceeding one week, or at such other times as an approved inspector considers necessary.
- Mung bean debris and waste must be removed from areas where mung beans are prepared each day and removed from the establishment each week.

- Any material likely to contaminate, infest or provide a source of infestation of mung beans must not be stored or handled in a building or area used for their preparation or storage or in any area likely to create a source of contamination.
- Toxic substances and other substances which may contaminate mung beans must not be stored in an area or a building where mung beans are handled or stored.
- Animals (including birds and rodents) must not be present in the establishment where preparation of mung beans takes place.
- A person who:
  - is suffering from a communicable disease; or
  - is a carrier of a communicable disease; or
  - may transmit pathogenic organisms to mung beans;
- must not enter any registered establishment used for the preparation of mung beans.
- All persons handling mung beans must maintain a high degree of personal cleanliness.
- Handwashing facilities and toilet facilities must be kept in a clean and sanitary condition at all times.

Additionally there are specific packaging requirements for mung beans (packaging materials must adequately protect the mung beans from contamination) as well inspection procedures for pests and contaminants (Schedule 6A).

## Summary of international Guidelines/Codes of Practice

### Codex Alimentarius

Codex has developed a Code of Hygienic Practice for Fresh Fruits and Vegetables which includes an Annex for Sprout Production. The Annex recommends control measures to occur in two areas: during seed production and during sprout production. During seed production, conditioning and storage, the application of Good Agricultural Practices (GAPs) and good Hygienic Practices (GHPs) are aimed at preventing microbial pathogen contamination of seeds. During sprout production, good hygienic practices are aimed at preventing the introduction of microbial pathogens and minimising their potential growth with a microbiological seed decontamination step included to reduce potential contaminants. A summary of the measures included in the annex is provided below.

| <b>Codex Code of Hygienic Practice for Fresh Fruits and Vegetables – ANNEX II Annex for Sprout Production</b> |   |
|---|---|
| <b>Step in production chain</b>   | <b>Control measures included (additional to those specified in the Code of Hygienic Practice for Fresh Fruits and Vegetables)</b>   |
| <b>Primary production of seeds:</b>   |   |
| <ul style="list-style-type: none"> <li>• Hygienic production of seeds</li> </ul>                              | <ul style="list-style-type: none"> <li>○ Manure and biosolids: Wild or domestic animals should not be allowed to graze in the fields, Manure, biosolids and other natural fertilizers should only be used when they have undergone a pathogen reduction treatment.</li> <li>○ Agricultural chemicals: Only chemicals (e.g. pesticides, desiccants) which are acceptable for seeds intended for the production of sprouts for human consumption should be used.</li> </ul>   |
| <ul style="list-style-type: none"> <li>• Handling, storage and transport</li> </ul>                           | <ul style="list-style-type: none"> <li>○ Segregation of seed intended for sprout production from seed intended for forage crops and clear labelling.</li> <li>○ Maintain sanitation in drying yards.</li> </ul>   |
| <ul style="list-style-type: none"> <li>• Analyses</li> </ul>  | <ul style="list-style-type: none"> <li>○ Lots of seeds should be tested for microbial pathogens (seed producers, distributors and sprout producers). If contamination found, seeds to be diverted or destroyed.</li> </ul>  |
| <ul style="list-style-type: none"> <li>• Recall Procedures</li> </ul>   | <ul style="list-style-type: none"> <li>○ Recall procedures in place to enable complete and rapid recall of implicated seed.               <ul style="list-style-type: none"> <li>○ Practices should minimise the quantity of seed identified as a single lot and avoid mixing of multiple lots. Records kept for each lot. Lot number, producer and country of origin should be indicated on each container.</li> <li>○ System in place to effectively identify lots, trace production sites and inputs.</li> </ul> </li> </ul> |
| <b>Establishment for Sprout Production:</b>   |   |
| <ul style="list-style-type: none"> <li>• Design and layout of establishment</li> </ul>                        | <ul style="list-style-type: none"> <li>○ Storage, seed rinsing, microbiological decontamination, germination and packaging area should be physically separated.</li> </ul>  |
| <b>Control of Operation</b>   |   |
| <ul style="list-style-type: none"> <li>• Water use</li> </ul>   | <ul style="list-style-type: none"> <li>○ Quality of water used dependent on stage of operation (clean water for initial washing staged, potable water in later production processes).</li> </ul>  |
| <ul style="list-style-type: none"> <li>• Initial rinse</li> </ul>   | <ul style="list-style-type: none"> <li>○ Seeds rinsed and thoroughly agitated in large volumes of clean water (maximise surface contact). Process should be repeated until rinse water remains clear.</li> </ul>  |
| <ul style="list-style-type: none"> <li>• Microbiological</li> </ul>   | <ul style="list-style-type: none"> <li>○ Recommended that seeds are treated prior to use. Seeds should be</li> </ul>  |

|  |  |
|--|--|
| decontamination                            | agitated in large volumes of antimicrobial agent to maximise surface contact. Duration of treatment/concentration of agent should be accurately recorded.  |
| • Rinse after seed treatment               | ○ As appropriate to eliminate any antimicrobial agent  |
| • Pre-germination soak                     | ○ Seeds should be soaked in cleaned water for the shortest possible time (to minimise microbial growth). After soaking seeds should be rinsed with potable water.  |
| • Germination                              | ○ Only potable water should be used<br>○ Soils and other matrices should be treated to achieve a high degree of microbial reduction  |
| • Harvest                                  | ○ Harvesting should be done with dedicated, cleaned and disinfected tools.   |
| • Final Rinse and cooling                  | ○ As appropriate, rinse with cool potable water<br>○ Water should be changed to prevent cross-contamination<br>○ Drain sprouts using appropriate equipment<br>○ Steps to facilitate rapid cooling should be taken (if additional cooling time necessary)   |
| • Storage                                  | ○ Sprouts should be kept under cold temperature ( 5°C to minimise microbial growth for the intended shelf life of the product (as appropriate)   |
| • Microbiological and other specifications | ○ Recommended that seed and sprouts or spent irrigation water be tested for the presence of pathogens.<br>○ Each new lot of seeds received at the sprouting facility should be tested before entering production<br>○ Producers should have in place sampling/testing plan to regularly monitor for pathogens at one or more stages after the start of germination (e.g. spent irrigation water, finished product). Recommended that every production lot is tested. |
| • Microbiological cross-contamination      | ○ Traffic patterns should prevent cross-contamination of sprouts   |
| <b>Incoming Material Requirements</b>      |  |
| • Seed specifications                      | ○ Sprout producers should require evidence from seed producers that product was grown in accordance with measures outlined under primary production of seeds (assurance that chemical residues are within limits and certificates of analysis for microbial pathogens)   |
| • Control of incoming seeds                | ○ Seed containers should be examined for physical damage and signs of contamination (particularly from pests).<br>○ Seed lots analysed for the presence of microbial pathogens should not be used until results available.   |
| • Seed storage                             | ○ Seeds should be stored to prevent mould and bacterial growth and facilitate pest control<br>○ Open containers should be stored such that they are protected from pests and other sources of contamination  |
| <b>Documentation and Records</b>           |  |
| • Documentation and Records                | ○ Records should be maintained of the seed supplier, the lot number and country of origin to facilitate recall procedures.<br>○ Records must include seed sources and lot numbers; water analysis results, production volumes, storage temperature monitoring, product distribution and consumer complaints.   |
| <b>Awareness and responsibilities</b>      |  |
| • Awareness and responsibilities           | ○ Producer should have a written training program that is routinely reviewed and updated. Systems should be in place to ensure food handlers remain aware of all procedures necessary to maintain safety of product.   |

Weblinks for other international documents:

Canadian Code of Practice for the Hygienic Production of Sprouted Seeds

<http://www.inspection.gc.ca/english/fssa/frefra/safsal/sprointe.shtml>

Reducing Microbial Food safety Hazards for Sprouted Seeds – guidance for Industry (US FDA)

<http://www.cfsan.fda.gov/~dms/sprougd1.html>

<http://www.cfsan.fda.gov/~dms/sprougd2.html>

Code of Practice for food Safety in the Fresh Produce Supply Chain in Ireland (Chapter 4: Microbiological Safety of Sprouted seed Production)

<http://www.fsai.ie/assets/0/86/204/7332e0dd-fc90-45a0-a633-79c8066863ec.pdf>

## Attachment 7

### SDC Membership

| Name  | Sector represented  | Role  |
|---|---|---|
|   | <b>Government</b>   |   |
| Ms Catherine Bass                                 | New South Wales   | Manager - Program Evaluation, New South Wales Food Authority  |
| Mr Bill Calder<br>Mr Stan Goodchild – Proxy       | Western Australia   | Senior Project officer, Department of Health Western Australia  |
| Mr Paul Dowsett                                   | South Australia   | Manager – Food Safety, Department of Primary Industries South Australia                                       |
| Ms Katie Fullerton                                | Dept of Health and Ageing   | Coordinating Epidemiologist, OzFoodNet  |
| Ms Kira Goodall                                   | Victoria  | Policy Analyst - Agriculture and Forestry, Department Primary Industry, Victoria                              |
| Dr Olivia McQuestin                               | Tasmania  | Senior Advisor, Environmental Health Unit, Tasmania Department of Health                                      |
| Mr Phil Pond<br>Mr Brian Witherspoon - Proxy      | Queensland  | General Manager - Strategy, Policy Development, Safe Food Production Queensland                               |
| Ms Usha Sriram-Prasad<br>Ms Narelle Marro – Proxy | Dept of Agriculture, Fisheries and Forestry   | Manager – Food Regulation and Safety, Department of Agriculture, Fisheries and Forestry                       |
| Ms Marion Castle                                  | New Zealand   | Programme Manager – Production and Processing, New Zealand Food Safety Authority                              |
|   | <b>Industry</b>   |   |
| Mr Richard Bennett                                | Horticulture Australia Limited  | Product Integrity Manager, Horticulture Australia Limited   |
| Mr Andrew Boundy                                  | Mungbean growers and processors   | Executive Officer - Australian Mungbean Association   |
| Mr Alan Davey                                     | Rural Industry Research & Development Corporation   | Senior Research Manager - New plant products, Asian Foods (Rural Industry Research & Development Corporation) |
| Ms Michele van der Sander                         | Sprout producers  | Technical and Quality Assurance Manager - Parilla Fresh   |
| Ms Patricia Donald                                | Sprout producers  | Quality Manager – Healthy Sprout Company  |
| Mr Stephen Donnelly                               | Rural Industry Development - seeds and pulses sales (nominated by the Grain Research & Development Corporation) | Director of Regal Seed and Grain, Managing Director of Blue Ribbon Seed and Pulse Exporters.                  |
| Ms Alison Gallagher                               | Woolworth Limited   | Quality Manager - Fresh Foods   |
| Mr Will Golsby<br>Mr Tim Teague – Proxy           | Sowing Seed industry  | CEO of Australian Seed Federation   |
| Dr Andreas Klieber                                | Coles Supermarkets  | Technical Manager - Fresh Produce   |



| <b>Name</b>  | <b>Sector represented</b>                   | <b>Role</b>                                  |
|--|---|--|
| Mr Andrew Phin<br>Mrs Michele Phin – Proxy             | Seed growers and processors                 | Managing Director of Booborowie Seed Pty Ltd |
| Mr James Rattray                                       | Sprout producers                            | Director, Flowerdale Sprout Farm – Victoria  |
| Mr Rob Sanders   | Seed growers and processors                 | Director of Lucerne Australia                |
|  | <b>Consumer</b>                             |  |
| Mr George Seymour-Dearness                             | Consumer                                    | Legal professional                           |
|  | <b>FSANZ</b>                                |  |
| Mr Steve McCutcheon<br>Ms Melanie Fisher - Alternative | Chair of the Standard Development Committee | Chief Executive Officer of FSANZ             |

## 주 의

1. 이 보고서는 농림수산식품부에서 시행한 농림기술개발사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표할 때에는 반드시 농림수산식품부에서 시행한 농림기술개발사업의 연구결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니됩니다.