

# 人工模拟肠炎沙门氏菌在绿豆芽中的内化定殖能力及其消毒处理研究

许思笑<sup>1</sup>, 马文娟<sup>2</sup>

(1. 华中师范大学第一附属中学, 湖北武汉 430223) (2. 华中农业大学食品科技学院, 湖北武汉 430070)

**摘要:** 本研究以绿豆为作用载体, 研究了肠炎沙门氏菌(ATCC13076)在绿豆芽的不同发芽阶段中的内化定殖能力及消除绿豆芽中定殖的肠炎沙门氏菌的有效方法。结果表明: 在绿豆发芽前期的4个不同时段(0~48 h内): 吸胀期(G<sub>1</sub>, 0 h)、萌动期(G<sub>2</sub>, 12 h)、发芽初期(G<sub>3</sub>, 24 h)、发芽期(G<sub>4</sub>, 48 h), 分别接种10<sup>2</sup>、10<sup>4</sup>、10<sup>6</sup>和10<sup>8</sup> CFU/mL的肠炎沙门氏菌时, 其在绿豆芽中的内化定殖能力不同。接种浓度为10<sup>2</sup> CFU/mL左右时, 肠炎沙门氏菌在发芽初期(G<sub>3</sub>)和发芽期(G<sub>4</sub>)的内化能力较强, 另外两个阶段比较微弱。接种浓度不低于10<sup>4</sup> CFU/mL时, 肠炎沙门氏菌在吸胀期(G<sub>1</sub>)的内化能力最强。在吸胀期(G<sub>1</sub>)接种10<sup>8</sup> CFU/mL的菌液时, 最高内化量可达2.6×10<sup>8</sup> CFU/g。紫外照射消毒处理对内化定殖的肠炎沙门氏菌有明显的去除效果, 而次氯酸钠溶液和硝酸银溶液浸泡处理对内化的肠炎沙门氏菌的去除效果并不明显。

**关键词:** 绿豆芽; 肠炎沙门氏菌; 内化; 消毒处理

文章编号: 1673-9078(2016)12-93-98

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2016.12.015

## Internalization Capacity of *Salmonella* Enteritidis in Mung Bean Sprouts using Artificial Simulation and its Disinfection

XU Si-xiao<sup>1</sup>, MA Wen-juan<sup>2</sup>

(1.No.1 Middle School Affiliated to Central China Normal University, Wuhan 430223, China)

(2.College of Food Science and Technology, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China)

**Abstract:** The artificial contamination method was used to study internalization and colonization capacities of *Salmonella* Enteritidis (ATCC13076) in mung bean sprouts during different stages of germination. Disinfection treatments for internalized *Salmonella* Enteritidis were also developed. During the four stages (0~48 h) in the pre-germination stage of mung beans (the expansion period [G<sub>1</sub>, 0 h], the budding period [G<sub>2</sub>, 12 h], early germination [G<sub>3</sub>, 24 h], and germination [G<sub>4</sub>, 48 h]), *Salmonella* Enteritidis was found to possess different internalization and colonization capacities when inoculated at different concentrations (10<sup>2</sup>, 10<sup>4</sup>, 10<sup>6</sup>, and 10<sup>8</sup> CFU/mL). When inoculated at a concentration of 10<sup>2</sup> CFU/mL, *Salmonella* Enteritidis showed the strongest internalization capability in the germination stage and the seedling stage and at the other two stages, the internalization was relatively weak. With inoculation at a concentration of 10<sup>4</sup> CFU/mL, *Salmonella* Enteritidis showed the strongest internalization capacity in the imbibition stage, and with inoculation at a concentration of 10<sup>8</sup> CFU/mL, the maximum amount of internalized *Salmonella* Enteritidis in the imbibition stage increased to 2.6×10<sup>8</sup> CFU/g. Disinfection by ultraviolet radiation can effectively eliminate internalized *Salmonella* Enteritidis, whereas dip-treatment in sodium hypochlorite solution and silver nitrate solution had no obvious effect.

**Key words:** mung bean sprout; *Salmonella* Enteritidis; internalization; disinfection treatment

食源性病原微生物污染造成的食源性疾病是当今世界上最严峻的食品安全问题之一。沙门氏菌作为常见食源性致病菌, 引起的细菌性食物中毒事件占全国此类事件的40%~60%, 是食品安全检测中的重点监测对象<sup>[1-4]</sup>。蔬菜是人类的基本食物来源之一, 可提供人

收稿日期: 2016-07-07

作者简介: 许思笑(1999-), 女, 学生; 马文娟(1991-), 女, 硕士研究生, 主要从事食品微生物与食品安全研究

体健康所必需的维生素、膳食纤维和矿物质等, 在人们的膳食结构中具有特殊重要的地位。由于生鲜蔬菜能最大限度地保留营养元素, 又能提供新鲜口感, 有些生鲜蔬菜还可以减少一些癌症和心血管疾病等慢性疾病的发生, 因此, 生鲜蔬菜不论作为配菜或凉菜还是制作沙拉越来越受到广大群众青睐, 如豆芽、生菜、香菜、黄瓜和番茄等<sup>[5,6]</sup>。然而, 近年来一些研究表明, 食源性病原微生物可以通过不同的途径进入到生鲜蔬

菜中,并能在其中定居和不断生长、繁殖后代,这种现象通常称为病原菌定殖,此类菌即称为“内化菌”<sup>[7,8]</sup>。一般的清洗和消毒等方法如次氯酸钠消毒剂仅仅可以杀灭蔬菜表面的病原菌,而对于进入到蔬菜内部的病原菌是无法清除的<sup>[9-11]</sup>。又因为生鲜蔬菜仅经过很少的处理和加工,而且常常直接生吃或凉拌后食用,食源性病原菌污染带来的风险非常大<sup>[12]</sup>。绿豆芽是绿豆种子萌发后长出数厘米长的幼芽,可作为蔬菜食用,称之为豆芽菜,人类自古就有食用豆芽菜的习惯,现代人喜之更甚,但是随着对绿豆芽消费的不断增长,以沙门氏菌为首导致的食物源性疾病的爆发频率也不断增加<sup>[13]</sup>。例如2011年5月由德国蔓延并不断扩散至瑞典、丹麦、荷兰与英国等国的“毒豆芽”事件,让欧洲一时陷入恐慌,再一次给食源性疾病的防治敲响警钟。2011年6月13日止,世界卫生组织(WHO)公布数据显示德国34人死亡,瑞典、丹麦、英国和荷兰在内的多个国家均已报告感染病例,全球共有3255例感染或者疑似感染病例<sup>[14]</sup>。

本研究以绿豆为作用载体,在绿豆发芽前期的4个不同时段(0~48 h内),采用人工污染方式,接种不同浓度的肠炎沙门氏菌(ATCC13076),并在绿豆发芽的整个周期(绿豆的发芽周期约6 d)间隔取样分析,采用平板计数法,研究肠炎沙门氏菌(ATCC13076)在绿豆芽中的内化定殖能力。在此基础上,采用紫外照射和化学消毒剂处理两种方法对定殖在绿豆芽中的肠炎沙门氏菌进行消毒处理,探索消除定殖在绿豆芽中的肠炎沙门氏菌的有效方法,为有效控制生鲜蔬菜中的内化病原菌提供科学依据和指导。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

肠炎沙门氏菌 ATCC13076: 实验室冷藏保存; 绿豆: 购于武汉市洪山区梧桐路中百超市; 白沙: 购于武汉市洪山区南湖大道花木城市场。

### 1.2 仪器与药品

生化培养箱 SPX-250B 型, 上海博讯实业有限公司医疗设备厂; 离心机 Eppendorf centrifuge 5417R, 艾本德中国有限公司; 紫外灯 TUV15W G15T8, Philips。

TSB 胰蛋白胨大豆肉汤培养基、TSA 大豆酪蛋白琼脂培养基和 LB 培养基, 青岛高科园海博生物技术有限公司; 硝酸银、无水乙醇和次氯酸钠等, 国药集团化学试剂有限公司。

### 1.3 方法

#### 1.3.1 肠炎沙门氏菌 ATCC13076 的活化及悬菌液的制备

取肠炎沙门氏菌(ATCC13076)平板(4℃下保存),无菌条件下挑取少许菌落于10 mL LB中,37℃、120 r/min 培养10 h。将培养液转移至50 mL离心管中,6000 r/min 离心10 min后,用PBS重复洗涤菌体三次,获得菌悬液。用平板计数法计数菌悬液的细菌浓度,然后将其稀释至浓度为 $10^2$ 、 $10^4$ 、 $10^6$ 和 $10^8$  CFU/mL 备用。

#### 1.3.2 无菌绿豆芽的准备

##### 1.3.2.1 绿豆种子表面消毒处理

挑选表面完整无褶,颗粒饱满大小相当的绿豆种子20颗,置于洁净干燥的烧杯中,加入80%酒精浸泡10 s,倾出酒精后加入1%硝酸银溶液浸泡5 min<sup>[15]</sup>,最后用1:1体积无菌水清洗三次,于室温下干燥1 h 备用。

##### 1.3.2.2 绿豆发芽前期4个不同时段(0~48 h内)样品的准备

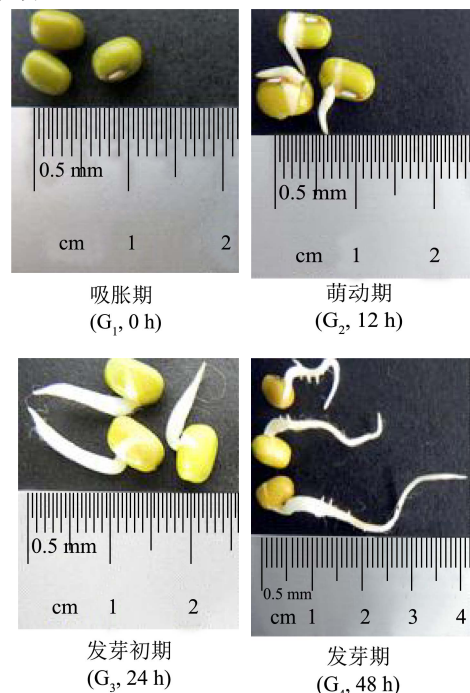


图1 绿豆发芽前期的4个不同时段(0~48 h内)

Fig.1 4 Different stages in the early growth of mung bean sprouts (0~48 h)

用无菌镊子将经消毒处理的绿豆转移至已灭菌装有50 g白沙的三角锥形瓶中,添加15 mL无菌水使刚好没过白沙及绿豆,加塞封口,置于28℃的恒温箱中避光培养。在绿豆的发芽过程中,为了便于研究肠炎沙门氏菌在绿豆芽中的定殖情况,我们将绿豆发

芽的前期分为4个不同的时段(0~48 h内):吸胀期( $G_1$ , 0 h)、萌动期( $G_2$ , 12 h)、发芽初期( $G_3$ , 24 h)、发芽期( $G_4$ , 48 h),具体如图1所示。在经历上述发芽前期的4个不同时段后,绿豆继续在28℃的恒温箱中避光培养进行发芽,绿豆从种子发芽到可以食用阶段的整个生长周期约为6 d。

### 1.3.3 肠炎沙门氏菌在绿豆芽中内化定殖能力的研究

#### 1.3.3.1 肠炎沙门氏菌人工污染绿豆芽样品的准备

按1.3.2.2方法准备好绿豆发芽前期4个不同时段(0~48 h内)的样品,将2.1活化的肠炎沙门氏菌(ATCC3076)菌悬液接种到样品中。接种完毕后,置于28℃恒温箱中继续避光培养,并在绿豆从种子发芽到可以食用的整个生长周期(约为6 d)的不同时间段,取出一定量的样品,备用,每个样品做三个平行,即每24 h进行取样和平板菌落计数,用来研究不同接种浓度的肠炎沙门氏菌(ATCC13076)在绿豆的不同发芽时期在绿豆芽中的内化定殖能力。以接种量 $10^2$  CFU/mL为例,肠炎沙门氏菌(ATCC13076)在绿豆发芽前期的接种时间和绿豆芽样品的取样时间见表1。

表1 肠炎沙门氏菌(ATCC13076)(接种量 $10^2$  CFU/mL)在绿豆发芽前期的接种时间和绿豆芽样品的取样时间

Table 1 Inoculation times for *Salmonella enteritidis* (ATCC13076) ( $10^2$  CFU/mL) in mung bean sprouts during the early germination and sampling time

接种时期	绿豆芽样品的取样时间/d					
	1	2	3	4	5	6
吸胀期( $G_1$ , 0 h)	+	+	+	+	+	+
萌动期( $G_2$ , 12 h)	-	+	+	+	+	+
发芽初期( $G_3$ , 24 h)	-	+	+	+	+	+
发芽期( $G_4$ , 48 h)	-	-	+	+	+	+

注:“+”表示取样,“-”表示不取样。

#### 1.3.3.2 绿豆芽样品的表面消毒处理

将装有不同发芽阶段肠炎沙门氏菌人工污染的绿豆芽样品(1.3.2.1方法制备)的三角瓶从28℃恒温箱中取出,用无菌镊子从中取出两根绿豆芽,分别置于10 mL无菌EP管中,用80%酒精溶液浸泡处理10 s,1%  $AgNO_3$ 处理5 min,最后用等体积无菌水清洗三次,备用<sup>[15]</sup>。该方法可有效去除粘附在绿豆芽表面的沙门氏菌,而无法清除已经内化定殖在绿豆芽内部的沙门氏菌。

#### 1.3.3.3 绿豆芽中内化定殖肠炎沙门氏菌的计数

将1.3.2.1制备得到的表面消毒处理的绿豆芽中加入500  $\mu$ L的PBS缓冲液,无菌匀浆棒匀浆,并进行10

倍次梯度稀释。吸取100  $\mu$ L三个不同稀释倍数的稀释液于TSA平板上,并用无菌涂布棒涂布均匀。将平板倒置于37℃恒温培养箱中培养18 h后进行菌落计数,以观察肠炎沙门氏菌在绿豆芽中的内化定殖能力。实验中,每份绿豆芽样品平行取样,并重复3次,菌落平板计数严格遵循计数规则。

### 1.3.4 绿豆芽中内化定殖肠炎沙门氏菌(ATCC13076)的消毒处理

#### 1.3.4.1 绿豆芽中内化定殖肠炎沙门氏菌(ATCC13076)样品的准备

分别按1.3.1方法准备肠炎沙门氏菌(ATCC13076)的菌悬液和1.3.2.1方法准备表面消毒处理的绿豆种子。用无菌镊子将经消毒处理的绿豆转移至已灭菌装有50 g白沙的三角锥形瓶中,添加15 mL无菌水使刚好没过白沙及绿豆,接种 $10^6$  CFU/mL肠炎沙门氏菌后加塞封口,置于28℃的恒温箱中避光培养6 d。6 d后,取出一定量的绿豆芽样品,按1.3.2.1的方法首先进行绿豆芽样品的表面消毒处理,然后再按下面1.3.2.2中的3种消毒方法分别处理。

#### 1.3.4.2 绿豆芽中内化定殖肠炎沙门氏菌(ATCC13076)样品的3种消毒处理

将1.3.2.1得到的已表面消毒处理的绿豆芽样品,按下列3种方法分别进行处理,观察这3种消毒方法对绿豆芽中内化定殖肠炎沙门氏菌的处理效果。消毒方法如下:

**紫外线照射处理:**将紫外处理箱提前开灯照射10 min。然后将绿豆芽样品放入无菌空培养皿中,开盖置于紫外处理箱中灯下垂直照射的同一位置以获取同等的照射强度,分别照射处理10、20与30 min。

**次氯酸钠溶液消毒处理:**分别用不同浓度(0.005、0.01与0.02%)( $m/V$ )的次氯酸钠溶液对绿豆芽样品进行浸泡处理10 min。

**硝酸银溶液消毒处理:**分别用不同浓度(0.500、1.00与2.00%)( $m/V$ )的硝酸银溶液对绿豆芽样品进行浸泡处理10 min。

#### 1.3.4.3 3种消毒方法处理后的绿豆芽样品中残留内化定殖肠炎沙门氏菌的计数

将1.3.2.2中3种消毒方法处理后的绿豆芽用无菌水清洗三次,按1.3.3.1方法进行内化定殖肠炎沙门氏菌的计数,同时以未进行消毒处理的绿豆芽样品做空白对照。

### 1.3.5 统计学方法

实验数据均以平均数 $\pm$ 标准偏差( $means\pm SD$ )表示,数据用Excel和Graphad Prism 5.0软件整理和分析,具有统计学意义。

## 2 结果与分析

### 2.1 同一浓度肠炎沙门氏菌 (ATCC13076) 在绿豆发芽前期4个不同时段 (0~48 h内) 接种时在绿豆芽中的内化定殖能力分析

以绿豆为作用载体, 采用人工污染的方式, 在绿豆发芽前期4个不同时段 (0~48 h内) 接种同一浓度的肠炎沙门氏菌 (ATCC13076), 比较相同浓度的肠炎沙门氏菌在绿豆发芽不同时期中的内化定殖能力, 以掌握肠炎沙门氏菌内化定殖于绿豆芽组织中的关键时期, 结果如图2所示。

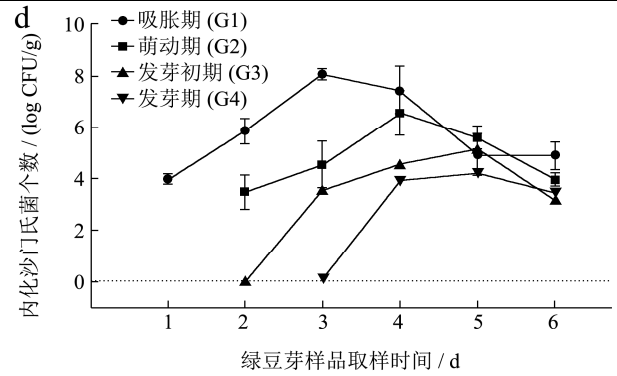
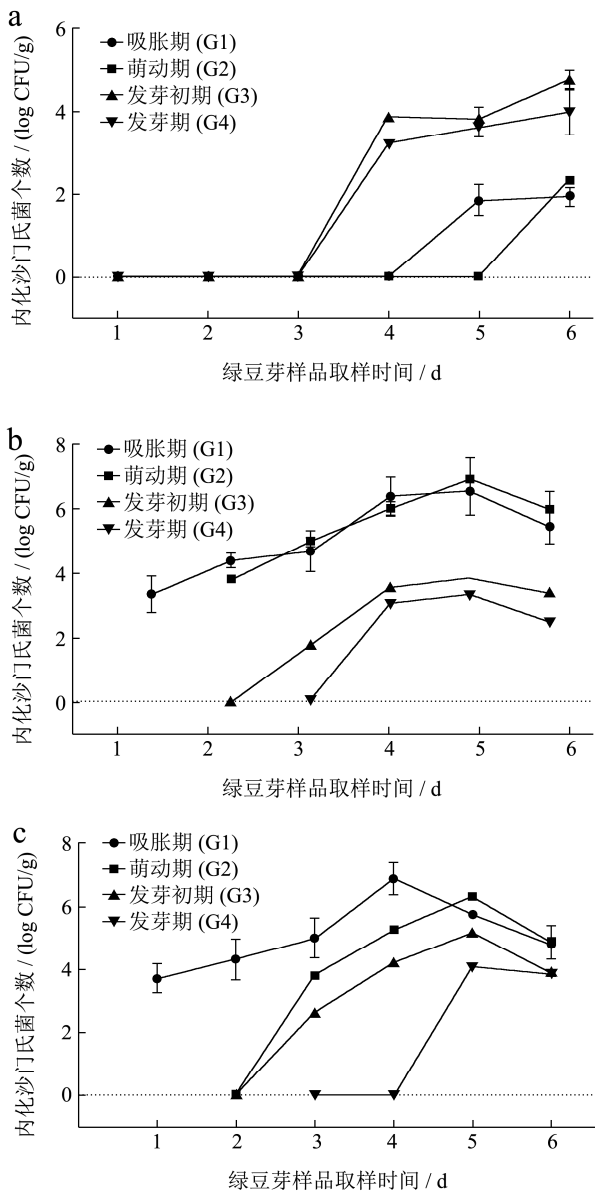


图2 ATCC13076 在绿豆芽中的内化定殖能力与接种时期的关系

Fig.2 Relationship between internalization capacity and inoculation period of ATCC13076

图2中 a、b、c 和 d 分别表示肠炎沙门氏菌 (ATCC13076) 的接种浓度为 10<sup>2</sup>、10<sup>4</sup>、10<sup>6</sup> 和 10<sup>8</sup> CFU/mL。由图 2a 可知, 当肠炎沙门氏菌浓度为 10<sup>2</sup> CFU/mL 时, 在绿豆发芽前期的发芽初期 (G<sub>3</sub>) 和发芽期 (G<sub>4</sub>) 接种, 肠炎沙门氏菌的内化能力最强, 对于吸胀阶段 (G<sub>1</sub>) 和萌动阶段 (G<sub>2</sub>), 均没有肠炎沙门氏菌内化到其中, 而当豆芽生长至接近发芽期 (G<sub>4</sub>) 时, 才有了一定的内化量; 当肠炎沙门氏菌浓度为 10<sup>4</sup> CFU/mL 时, 吸胀期 (G<sub>4</sub>) 的内化能力最强, 且其内化能力远高于其它时期的, 而在豆芽生长接近第 6 d 时, 四个阶段的内化量基本相同 (图 2b); 当肠炎沙门氏菌浓度为 10<sup>6</sup> CFU/mL 时, 吸胀期 (G<sub>1</sub>) 的内化量最高, 最高可达 10<sup>7</sup> CFU/g 左右, 萌动期 (G<sub>2</sub>) 次之, 而发芽初期 (G<sub>3</sub>) 的内化量最少, 而在豆芽生长的第 6 d, 四个阶段的内化量逐渐接近 (图 2c); 当肠炎沙门氏菌浓度为 10<sup>8</sup> CFU/mL 时, 肠炎沙门氏菌的内化量依次是 G<sub>1</sub>>G<sub>2</sub>>G<sub>3</sub>>G<sub>4</sub> (图 2d), 在该接种浓度下, 四个阶段的内化量差别比较明显。

### 2.2 不同浓度肠炎沙门氏菌 (ATCC3076) 在绿豆发芽前期 (0~48 h内) 同一接种时段时在绿豆芽中的内化定殖能力分析

以绿豆为作用载体, 采用人工污染的方式, 在绿豆发芽前期 (0~48 h内) 的同一接种时段接种不同浓度的肠炎沙门氏菌 (ATCC13076), 比较不同浓度肠炎沙门氏菌 (ATCC13076) 在绿豆发芽过程中在绿豆芽中的内化定殖能力, 结果如图3所示。

图3中 a、b、c 和 d 分别表示肠炎沙门氏菌 (ATCC13076) 在绿豆发芽前期 (0~48 h内) 的吸胀

期 ( $G_1$ )、萌动期 ( $G_2$ )、发芽初期 ( $G_3$ ) 和发芽期 ( $G_4$ ) 的同一时段接种时的内化能力结果。由图 3a 可知, 肠炎沙门氏菌在绿豆芽中的内化能力与其接种浓度基本呈正相关, 当接种浓度为  $10^8$  CFU/mL 时, 第 3 d 达到最高定植量, 约为  $10^8$  CFU/g。由图 3b 可知, 当肠炎沙门氏菌浓度为  $10^2$  CFU/mL, 在豆芽生长前 5 d 肠炎沙门氏菌基本未内化到豆芽中; 以  $10^4$  CFU/mL 接种量的内化能力最强, 略高于接种浓度为  $10^8$  CFU/mL 的内化量,  $10^6$  CFU/mL 所对应的内化量居于中间, 内化能力和接种浓度无线性相关关系; 图 3c 表明, 接种浓度为  $10^8$  CFU/mL 的内化量, 要明显高于接种浓度为  $10^2$ 、 $10^4$  和  $10^6$  CFU/mL 的定植量, 内化能力最强。但接种浓度为  $10^2$  CFU/mL, 第 6 d 肠炎沙门氏菌的内化量可高达  $10^4$  CFU/g; 图 3d 表明, 接种浓度为  $10^8$  CFU/mL 的定植能力均高于其他三个接种浓度的, 但内化量约为  $10^5$  CFU/mL; 接种浓度为  $10^6$  CFU/mL 的内化量次之; 接种浓度为  $10^2$  和  $10^4$  CFU/mL 的内化量最少。

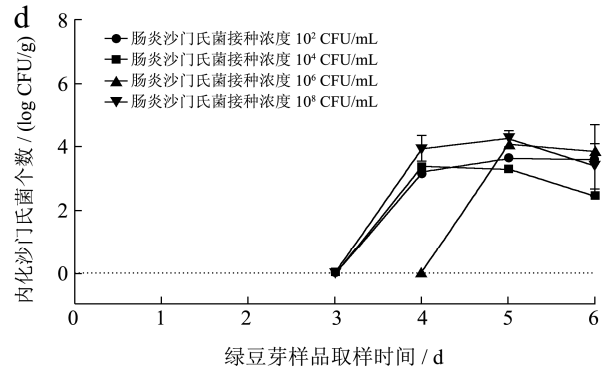
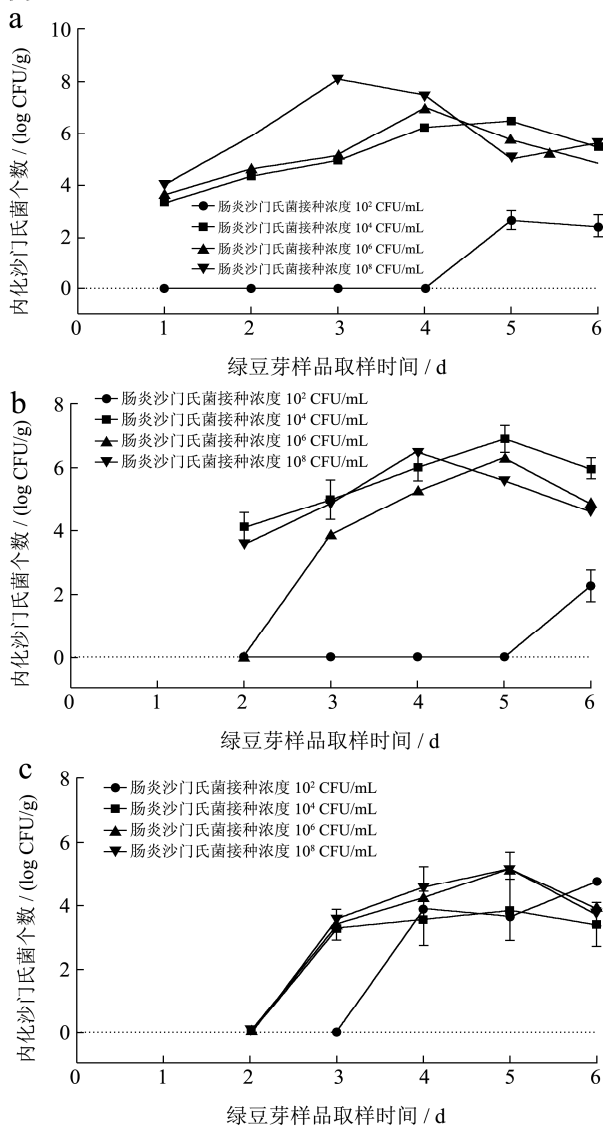


图 3 ATCC13076 的内化能力与接种浓度的关系

Fig.3 Relationship between internalization capacity and inoculum concentration of ATCC13076

### 2.3 绿豆芽中内化定殖肠炎沙门氏菌 (ATCC13076) 的消毒处理

在销售和食用前对已收获的新鲜农产品进行消毒处理是必不可少的。本研究中, 在绿豆芽的发芽过程中人工污染肠炎沙门氏菌 ( $10^6$  CFU/mL), 以模拟绿豆芽发芽过程中受到病原菌污染的状态, 采收后通过 3 种消毒方法对比处理已经内化了沙门氏菌的绿豆芽, 探索消除内化定殖在绿豆芽中的肠炎沙门氏菌的有效方法, 实验结果如图 4 所示。

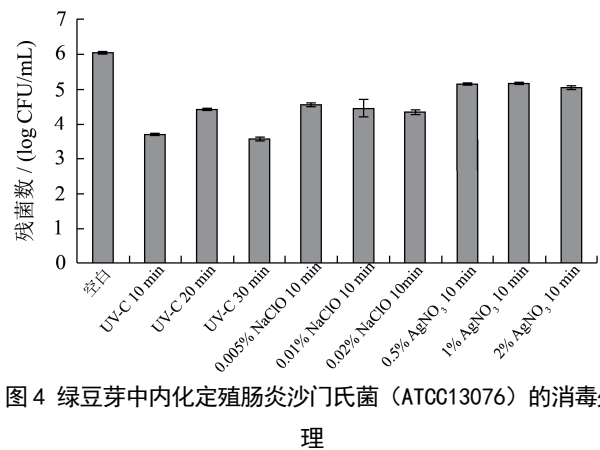


图 4 绿豆芽中内化定殖肠炎沙门氏菌 (ATCC13076) 的消毒处理

Fig.4 Disinfection of *Salmonella* in mung bean sprouts after internalization and colonization

紫外线照射是一种传统的非热杀菌方法, 公众接受度高。由图 4 可知, 采用紫外照射消毒处理, 对收获后绿豆芽中内化定殖的肠炎沙门氏菌有明显的去除效果。绿豆芽中内化的肠炎沙门氏菌从紫外线照射的 10 min 之后开始显著降低, 当紫外线照射处理 30 min 内化肠炎沙门氏菌可减少约 4 log CFU/g。低浓度的次氯酸钠溶液和硝酸银溶液浸泡处理是常见的表面化学消毒处理方法, 能够有效杀灭果蔬表面的微生物, 但图 4 的实验结果表明, 采用次氯酸钠溶液和硝酸银溶液浸

泡处理,对收获后绿豆芽中内化的肠炎沙门氏菌的去除效果并不明显,其原因有待于进一步研究。

### 3 结论

本实验采用人工模拟污染实验,研究了肠炎沙门氏菌在绿豆芽中的内化定殖能力及影响因素。结果表明:当肠炎沙门氏菌(ATCC13076)接种浓度为 $10^2$  CFU/mL时,在绿豆发芽前期(0~48 h内)中发芽初期( $G_3$ , 24 h)和发芽期( $G_4$ , 48 h)的内化能力最强。当接种浓度大于 $10^4$  CFU/mL时,在绿豆发芽前期的吸胀期( $G_1$ , 0 h)内化能力最强。在吸胀期( $G_1$ )接种 $10^8$  CFU/mL的菌液时,最高内化量可达 $2.6 \times 10^8$  CFU/g。对绿豆芽中内化定殖的肠炎沙门氏菌的消毒处理结果表明,紫外照射消毒处理对内化定殖的肠炎沙门氏菌有明显的去除效果,但不能完全清除,而次氯酸钠溶液和硝酸银溶液浸泡处理对内化的肠炎沙门氏菌的去除效果并不明显。此结果表明,食源性病原菌一旦污染新鲜农产品很难完全消除,传统的消毒方法虽然可以减少表面微生物数量,但不能消除已内化定殖在农产品内部的病原微生物,食用该类新鲜农产品具有一定的安全风险。

### 参考文献

- [1] LIU Bin, SCHAFFER Donald W. Quantitative analysis of the growth of salmonella stanley during alfalfa sprouting and evaluation of enterobacter aerogenes as its surrogate [J]. J. Food Prot., 2006, 70: 316-22
- [2] Mahapatra Ajit K, Muthukumarappan K, Juison James L. Applications of ozone, bacteriocins and irradiation in food processing: a review [J]. Food Sci. Nutr., 2005, 45: 447-461
- [3] Mohle-Boetani J C, Farrar J A, Bradley P, et al. Salmonella infections associated with mung beansprouts: epidemiological and environmental investigations [J]. Epidemiol Infect, 2009, 137: 357-366
- [4] Powell D. Sprouts associated outbreaks in north America commentary from the food safety network. Available at: <http://www.Food safety network.ca>. Accessed on 19 February, 2013
- [5] Jung W Y, Choi Y M, Rhee M S. Potential use of supercritical carbon dioxide to decontaminate *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes*, and *Salmonella Typhimurium* in alfalfa sprouted seeds [J]. Int. J. Food Microbiol., 2009, 136: 66-70
- [6] KYLEN Anne M, MCCREADY Rolland M. Nutrients in seeds and sprouts of alfalfa, lentils, mung beans, and soybeans [J]. J. Food Sci., 1975, 40: 1008-1009
- [7] Kroupitski Yulia, Colberg Dana, Belausov Eduard, et al. Internalization of *Salmonella enterica* in leaves is induced by light and involves chemotaxis and penetration through open stomata [J]. Appl. Environ. Microbiol., 2009, 75: 2076-6086
- [8] NATVIG Erin E, INGHAM Steven C, INGHAM Barbara H, et al. *Salmonella enterica* Serovar *Typhimurium* and *Escherichia coli* contamination of root and leaf vegetables grown in soils with incorporated bovine manure [J]. Appl. Environ. Microbiol., 2002, 68: 2737-2744
- [9] Beuchat Larry R, Harris Linda J, Ward Thomas E, et al. Development of a proposed standard method for assessing the efficacy of fresh produce sanitizers [J]. J. Food Prot., 2001, 64: 1103-1109
- [10] Beuchat L R, Nail B B, Clavero M S R. Efficacy of spray application of chlorinated water in killing pathogenic bacteria on raw apples, tomatoes, and lettuce [J]. J. Food Prot., 1998, 61: 1305-1311
- [11] Sapers G M. Efficacy of washing and sanitizing methods for disinfection of fresh fruit and vegetable [J]. Food Technol. Biotechnol., 2001, 39: 305-311
- [12] Taormina P J, Beuchat L R, Slitsker L. Infections associated with eating seed sprouts: an international concern [J]. Emerg. Infect. Dis., 1999, 5: 626-634
- [13] Kim S A, Kim O M, Rhee M S. Changes in microbial contamination levels and prevalence of foodborne pathogens in alfalfa (*Medicago sativa*) and rapeseed (*Brassica napus*) during sprout production in manufacturing plants [J]. Lett. Appl. Microbiol., 2013, 56: 30-36
- [14] Deering Amanda J, Pruitt Robert E, Mauer Lise J, et al. Examination of the internalization of *Salmonella serovar Typhimurium* in peanut, *Arachis hypogaea*, using immunocytochemical techniques [J]. Food Research International., 2012, 45(2): 1037-1043
- [15] Ge Chongtao, Rymut Susan, Lee Cheoghoon, et al. Salmonella internalization in mung bean sprouts and pre- and postharvest intervention methods in a hydroponic system [J]. Journal of Food Protection., 2014, 6: 752-757