韓家衛誌(1993) 第16卷 第1號
Korean J. Vet. Serv.(1993), 16(1) : 20~33

*Listeria monocytogenes*의 生存性에 關한 食肉保存料의 效果

李佑源, 金秉志, 林基材, 愼宗伯

釜山直轄市 家畜衛生試驗所

Effects of Preservatives on Inhibition and Survival of *Listeria Monocytogenes*

Woo-Weon Lee, Byong-Jee Kim, Ki-Jae Lim, Jong-Back Shin

Busan City Veterinary Service Laboratory

Abstract

The studies were conducted to determine the effects of preservatives such as sodium chloride, sodium nitrite, sodium benzoate and sorbic acid on the survival of *L. monocytogenes* with regard to interaction of temperature, heat and pH of the medium.

Inactivation of *L. monocytogenes* Scott A was more predominent by combination of sodium chloride and the other preservatives than sodium chloride alone, and inactivation was more exhilarated at 4℃ than at 35℃.

The organism was not inactivated when sodium chloride, sodium nitrite, sodium benzoate and sorbic acid were added to 3%, 100ppm, 0.1, or lower, respectively, but was inactivated in the concentration increased twice.

In TSB(tryptic soy broth) at pH 5.0 or lower, the organism did not grow regadless of the kinds of preservatives, and inactivation effect particularly was prominent in the presence of sodium nitrite and sorbic acid. On the other hand, at pH 6.0 or higher, *L. monocytogenes* gradually increased in numbers and the effects of inhibition was higher in the presence of sorbic acid than in the other preservatives.

When the preservatives were added to the concentration commonly used, incubation in TSB at 4℃ gradually resulted in growth of the bacterium and the organism rapidly dicreased in numbers at 20℃ or 35℃ after incubation for 1 week.

When *L. monocytogenes* was inoculated in TSB containing various preservatives and heated at 55℃ for 30minutes, the organism decreased in numbers at all preservatives. Particularly, viability rate of the organism was the lowest as 0.07% in the presence of sorbic acid.

Key Words : Listeria monocytogenes, Preservatives.

서 론

*Listeria monocytogenes*는 근래 식품 매개성 질병의 원인체로서 그 인식이 증가되고 있다.[1-11] 이 병원체는 신생아의 뇌척수막염, 임산부의 유산 및 성인에서 면역결핍증 등을 일으키며 동물에서 뇌척수막염, 패혈증, 유산 및 유방염의 원인이 된다.[3-5, 12, 13, 14] *L. monocytogenes*는 감염 동물로부터 사람에게 전파가 가능하며 또한 이 균에 오염된 동물성 식품을 섭취함으로서 사람에게 전파된다.[15]

최근 리스테리아병의 발생은 여러 식품, 특히 유제품에 기인될 때가 많은 것으로 알려져 있다.[3, 16, 17, 18] 이 병원체는 환경을 비롯하여 가축, 애완동물, 설치류, 양서류, 어류 및 곤충 등 자연계에 널리 분포하고 있으며[19, 20] 특히 소에서는 흔히 무증상 감염을 일으키므로 식육 및 우유 등에 오염될 가능성이 높다.[4, 22, 23, 24]

이 균의 생태학적인 특성을 보면 2.5−44℃의 온도역에서 발육이 가능하고[13] 반복된 동결과 해동에 저항한다.[25] 또한 pH 5.0−9.0 범위에서 증식하며 식품에 오염된 *L. monocytogenes*는 다른 오염 미생물과 경쟁적으로 생존하거나 증식이 가능하다.[26] 따라서 이균이 오염된 우유, 식육 및 그 가공품 등을 냉장보존할 때 냉장하기 전의 이들 식품에서 분리되는 균수보다 더 높은 수준으로 증가하므로서 본 냉장 식품은 질병의 원인이 될 가능성이 높다.[11, 27, 28] 지금까지 식품 매개성 질병과 식품 변질의 원인이 되는 균에 대한 식품보존료의 증식 억제효과에 대하여는 여러 조건하에서 우유, 식육 및 그 가공품에서 뿐만 아니라 상이한 배지를 이용하여 연구되어 왔다.

*L. monocytogenes*의 생존성에 미치는 보존료의 영향에 대한 연구로서 Shahamat 등[29]은 sodium chloride 및 sodium nitrite와 같은 보존료를 단독으로 사용할 때는 균의 증식 억제효과를 얻지 못하였고, 5℃에서 100ppm의 sodium nitrate와 3% 이상의 sodium chloride를첨가하고 pH를 5.5 이하로 할 때 균의 증식이 억제되었다고 하였다.[29, 30] *L. monocytogenes*는 시료의 보존온도가 낮을 수록 NaCl에 의한 영향을 적게 받았으며, 또한 pH를 6.0으로 할 때 10% NaCl에서 증식이 인정되었으며, 16% NaCl에서 1년간 생존하였음을 지적하였다.[29] Conner 등[26]은 양배추에서의 연구에서 *L. monocytogenes*는 2% NaCl에서 발육하지만 5% NaCl에서는 증식이 억제되었다고 하였다.

근년 El-Shenawy와 Marth[31, 32]는 tryptic soy broth에서 sodium benzoate와 sorbic acid의 세균발육 억제효과에 대하여, Junttila와 Hirn[33]은 소세지에서 nitrite와 nitrate, Buchanan과 Stahl[30]은 sodium chloride와 nitrite, El-Shenawy와 Marty[34]는 유기산을 첨가한 sodium benzoate의 세균발육 억제효과를 보고한 바 있다.

식품 첨가물들 가운데 현재 보존료로 사용되고 있는 sorbic acid는 항균력은 강하지 않으나 넓은 항균범위를 갖는 것이 특징이며, 식품 가공품의 경우 보통 0.1% 농도로 첨가하고 있다. Sodium benzoate는 일반적으로 0.1% 농도로 첨가되며 세균이나 효모에 대하여 항균력이 크지만 pH에 따라 효과가 좌우된다. 또한 sodium nitrite는 발색제로 지정되어 있으나 보존료로도 사용되고 있으며 항균작용은 산성역에서 현저하고 보통 100ppm 농도로 적용되고 있다.[35]

본 실험에서는 일반적으로 식품 보존료로서 사용되고 있는 sodium chloride, sodium nitrite, sodium benzoate 및 sorbic acid의 *L. monocytogenes*에 대한 발육 억제효과를 검토할 목적으로 보존료의 첨가 방법, 첨가 농도, pH, 보존온도 및 열처리에 의한 생존성을 조사하였기에 그 결과를 보고하는 바이다.

재료 및 방법

사용균주

균주는 *L. monocytogenes* Scott A(Canada, Ottawa, Dr. Park으로 부터 분양)를 사용하였다. 균주는 0.6% yeast extract가 함유된 tryptic soy broty (TSBYE, Difco) 5㎖에 접종하여 35℃에서 24시간 2회 계대배양하였다.[30] 이를 다시 0.6% yeast extract가 함유된 tryptic soy agar(TSAYE, Difco) 평판배지에 접종하여 35℃에서 24시간 배양하였다. 다음 0.1M potassium phosphate buffer(pH7.2)를 가하여 집락을 집적하였고, 이것을 4,000rpm에서 10분간 3회 원침 세척한 후 균수를 10^5 cfu/㎖로 조정하여 사용하였다.[31]

배 지

보존용 배지는 tryptic soy broth(TSB, Difco)를 사용하였고, 균수 측정용 배지는 TSAYE 평판배지를 사용하였다.[8, 34]

공시 보존료

Sodium chloride, sodium nitrite, sodium benzoate 및 sorbic acid를 10%(wt/vol)의 원액을 만들어 여과멸균하여 사용하였다.[31]

실험방법

보존료의 첨가 방법에 따른 균의 증식 억제 효과

보존료의 처리는 표1에서와 같이 sodium chloride 단독 처리구(Ⅰ), sodium chloride와 sodium nitrite처리구(Ⅱ), sodium chloride, sodium nitrite 및 sodium benzoate처리구(Ⅲ), sodium chloride, sodium nitrite 및 sorbic acid 처리구(Ⅳ) 그리고 대조구로 하였다.

Table 1. Kind of preservatives

Groups	Preservatives(% wt/vol)*
Ⅰ	Sodium chloride 3.0%
Ⅱ	Sodium chloride 3.0%+sodium nitrite 0.01%
Ⅲ	Sodium chloride 3.0%+sodium nitrite 0.01%+sodium benzoate 0.1%
Ⅳ	Sodium chloride 3.0%+sodium nitrite 0.1+sorbic acid 0.1%
Control	Not added

* Preservatives are added in trytic soy broth.

보존료는 각기 원액을 300㎖의 TSB에 첨가하여 해당 시험 농도가 되도록 하여 사용하였고, 접종균수는 10^5 cfu/㎖로 조정한 균부유액을 각 구 마다 공히 3㎖씩 접종하였다. 이것을 screw cap 시험관에 10㎖씩 분주하여 4, 20 및 35℃에서 3주간 보존하면서 1주 간격으로 균수를 측정하였다.[31, 34]

보존료의 첨가 농도에 따른 균의 증식 억제효과

보존료의 첨가 농도는 표2에서와 같이 각기 300㎖의 TSB에 해당 농도의 보존료를 첨가하여 용해하고 앞 실험에서와 같은 농도의 균부유액을 첨가한 다음 10㎖씩 분주하여 4℃에서 7주간 보존하면서 균 증식상태를 관찰하였다.[31]

시료의 pH에 따른 균의 증식 억제효과

Table 2. Concentration of preservatives used

Preservatives	Concentration(% wt/vol)*				
	Control	Ⅰ	Ⅱ	Ⅲ	Ⅳ
Sodium chloride	0	1.0	2.0	3.0	5.0
Sodium nitrite	0	25.0	50.0	100.0	200.0
Sodium benzoate	0	0.05	0.1	0.2	0.4
Sorbic acid	0	0.05	0.1	0.2	0.4

* Concentration of sodium nitrite is expressed as ppm.

식품가공에 일반적으로 적용되는 농도로서 sodium chloride는 3.0%, sodium nitrite는 100ppm, sodium benzoate와 sorbic acid는 각각 0.1%가 첨가된 TSB에 0.1N HCl를 점적하여 pH를 4.0, 4.5, 5.0, 5.5, 6.0 및 6.5로 맞추고 균부유액을 접종한 다음 4℃에서 7주간 보존하면서 균 증식상태를 관찰하였다.[31]

시료의 보존 온도에 따른 균의 증식 억제효과

실험 3에서와 같은 농도의 보존료를 첨가한 TSB에 균부유액을 접종한 다음 4, 20 및 35℃에서 7주간 보존하면서 균 증식상태를 관찰하였다.

가열 처리에 의한 균의 증식 억제효과

Sodium chloride, sodium nitrite, sodium benzoate 및 sorbic acid를 각각 3.0, 0.01, 0.1 및 0.1%의 농도가 되도록 TSB에 첨가하여 용해한 다음 각각 9㎖씩 screw cap 시험관에 분주하여 항온수조에 넣고 55℃가 되도록 가열하였다.

여기에 10^9 cfu/㎖로 조정한 균부유액 1㎖를 각 시험구 별로 혼합하여 30분간 가열 처리한 다음 생존 균수를 측정하였다. 이때 대조구는 실온에 방치하였고 가열 처리구는 즉시 냉각 처리하여 실온 상태로 온도를 내린 다음 균배양에 사용하였다.[36]

균수측정

균수 측정은경시적으로 각각의 시료를 채취하여 펩톤수로 10배수 계단희석한 후 그 0.1㎖를 TSAYE 평판배지에 도말하여 35℃ 호기 조건에서 48시간 배양한 다음 균수를 측정하여 얻은 평균치를 log로 나타내었다.[31, 36]

결 과

보존료의 처리방법이 균의 생존성에 미치는 영향

4℃ 보존시 Ⅰ, Ⅱ, Ⅲ 처리구에서는 접종 당시 균수가 3.56 $\log_{10}$ cfu/㎖이었던 것이 3일후부터 증가하기 시작하여 21일후에는 6.14−7.86 $\log_{10}$ cfu/㎖으로 현저한 증가를 보였고, Ⅳ처리구에서는 4.66 $\log_{10}$ cfu/㎖로 균의 증식이 다소 둔화되었다.

20℃ 보존에서는 전 처리구에서 급격한 균수의 증가를 보여 3일 후 8.5−10.0 $\log_{10}$ cfu/㎖에 달했으나 그 이후부터 점차 감소하기 시작하여 21일 후 대조구 및 Ⅰ 처리구에서는 소폭의 증식 저하를 보였고, Ⅱ, Ⅲ 및 Ⅳ 처리구에서는 6.0 $\log_{10}$ cfu/㎖이하로 증식이 둔화되었다.

35℃ 보존에서도 전 처리구에서 급격한 균수의 증가를 보여 3일후 20℃ 보존에서와 비슷한 균수를 나타내었으나 그 이후부터 급격한 감소를 나타내어 Ⅰ처리구에서는 7일경, Ⅱ 및 Ⅳ 처리구는 14일경에, 그리고 대조구와 Ⅲ처리구는 21일 경에 거의 사멸되었다.(그림 1)

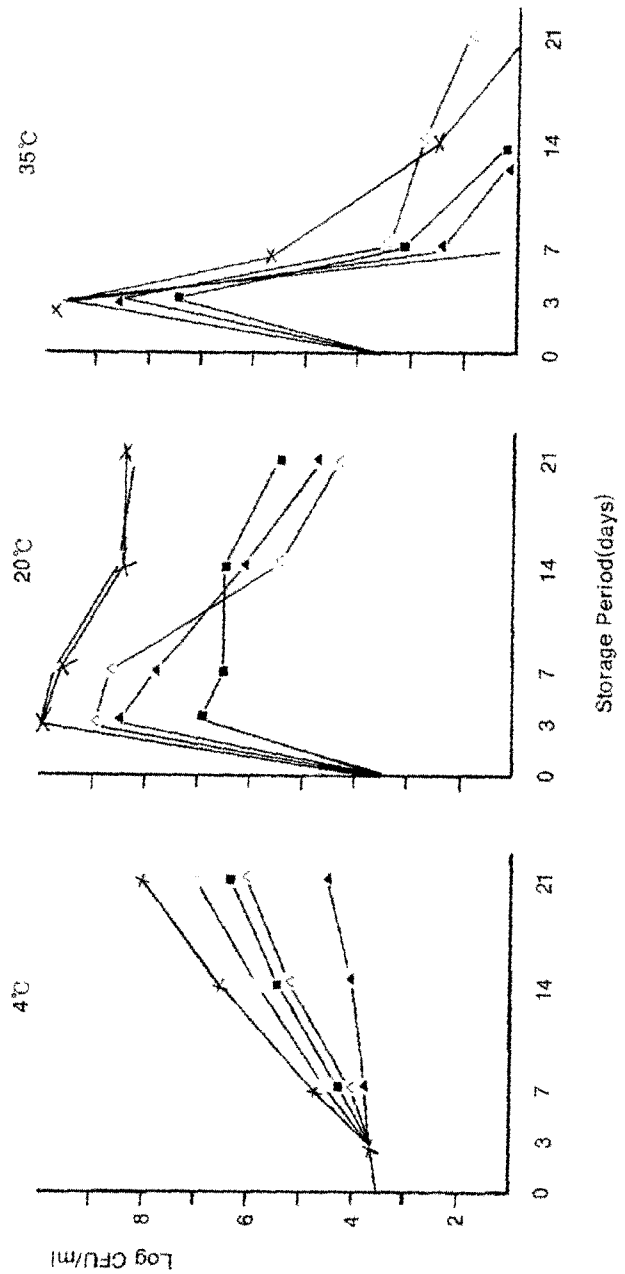


Fig 1. Behavior of *L. monocytogenes* in samples treated with various preservatives ; sodium chloride 3.0%(□), sodium chloride 3.0%+sodium nitrite 100ppm(■), sodium chloride 3.0%+sodium nitrite 100ppm+sodium benzoate 0.1%(△), sodium chloride 3.0%+sodium nitrite 100ppm+sorbic acid 0.1%(▲), and control(×)

보존료의 첨가 농도가 균의 생존성에 미치는 영향

4℃에서 보존할 때 sodium chloride 3.0%, sodium nitrite 100ppm, sodium benzoate 0.1% 및 sorbic acid 0.1% 이하의 농도에서는 균수가 증가하기 시작하여 7주 후 9.0 $\log_{10}$ cfu/㎖ 이상에 달하였다. 그러나 sodium chloride 5.0%, sodium nitrite 200ppm, sodium benzoate 0.2% 및 sorbic acid 0.2%에서는 다소 완만한 균의 증식을 나타내었고, sorbic acid 0.4%에서는 처음부터 균수가 서서히 감소하였다.(그림 2)

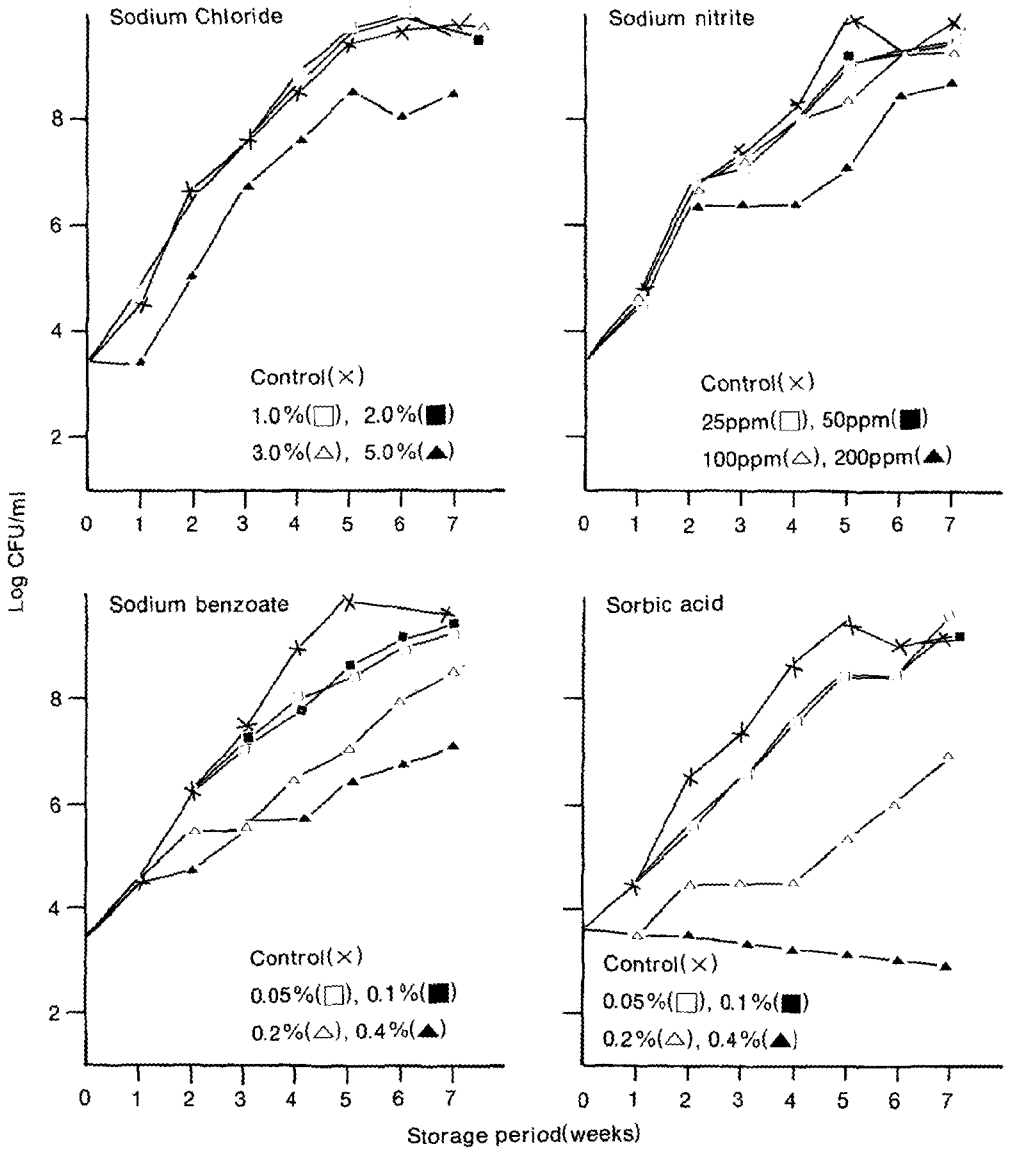


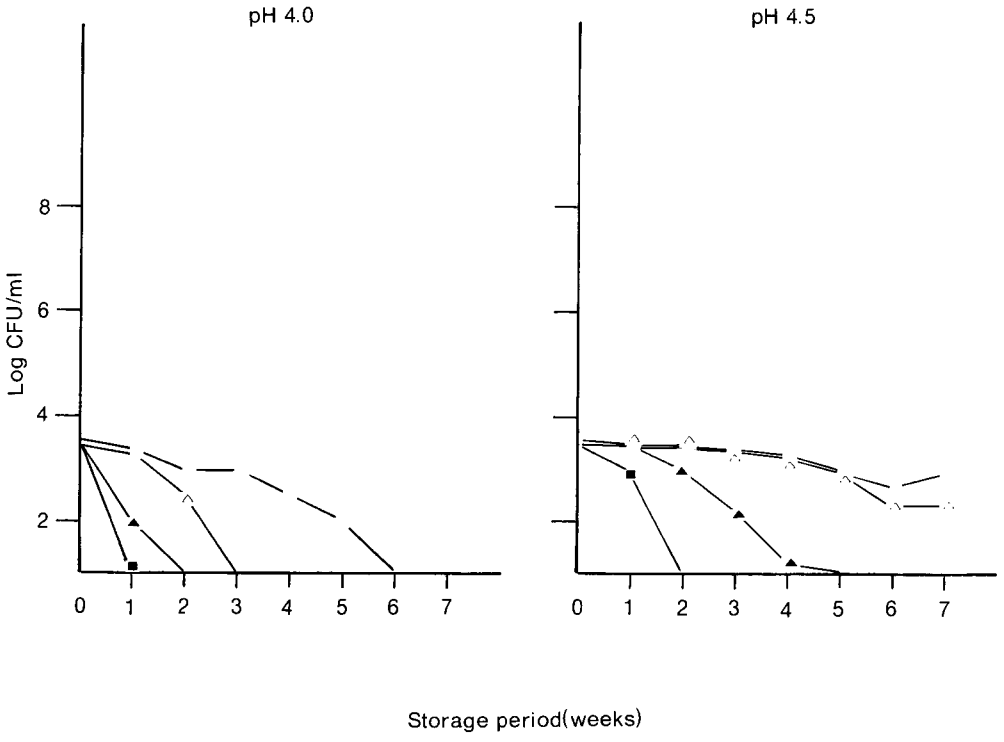
Fig. 2. Behavior of *L monocytogenes* in the samples with different concentrations of various preservatives during incubation at 4℃.

시료의 pH가 균의 생존성에 미치는 영향

보존료의 첨가 농도를 각각 sodium chloride는 3.0%, sodium nitrite는 100ppm, sodium benzoate와 sorbic acid는 0.1%로 하고, pH를 4.0－6.5까지 6단계로 조정한 시료에 균을 접종하여 4℃에서 7주간 보존한 결과 pH 5.0이하에서는 전 시험구 공히 균의 증식이 억제되었으나 pH 6.0에서는 0.1% sorbic acid 첨가구를 제외한 보존료는 균의 증식 억제에 거의 영향을 미치지 못하였다.

특히 sodium nitrite 100ppm 첨가구는 pH 5.0 이하일 때 균의 증식이 현저하게 억제되었고, pH 6.0 이상에서는 항균효과가 감소되었다. 그리고 sodium benzoate는 pH 5.5이하에서, sorbic acid는 pH 6.0이하에서 균의 증식을 억제하였고 그 이상에서는 영향을 미치지 못하였시다.

pH 4.0의 경우 100ppm sodium nitrite 첨가구는 1주후에, 0.1% sorbic acid 첨가구는 2주후에, 0.1% sodium benzoate 첨가구는 3주후에, 그리고 3.0% sodium chloride 첨가구는 6주후에 균의 증식을 완전히 억제하였다. pH 4.5의 경우 100ppm sodium nitrite에서는 2주후에, 0.1% sorbic acid에서는 5주후에 균의 증식이 완전히 억제되었으나, 3.0% sodium chloride와 0.1% sodium benzoate에서는 7주후에도 완전히 억제되지 않았다.(그림3).



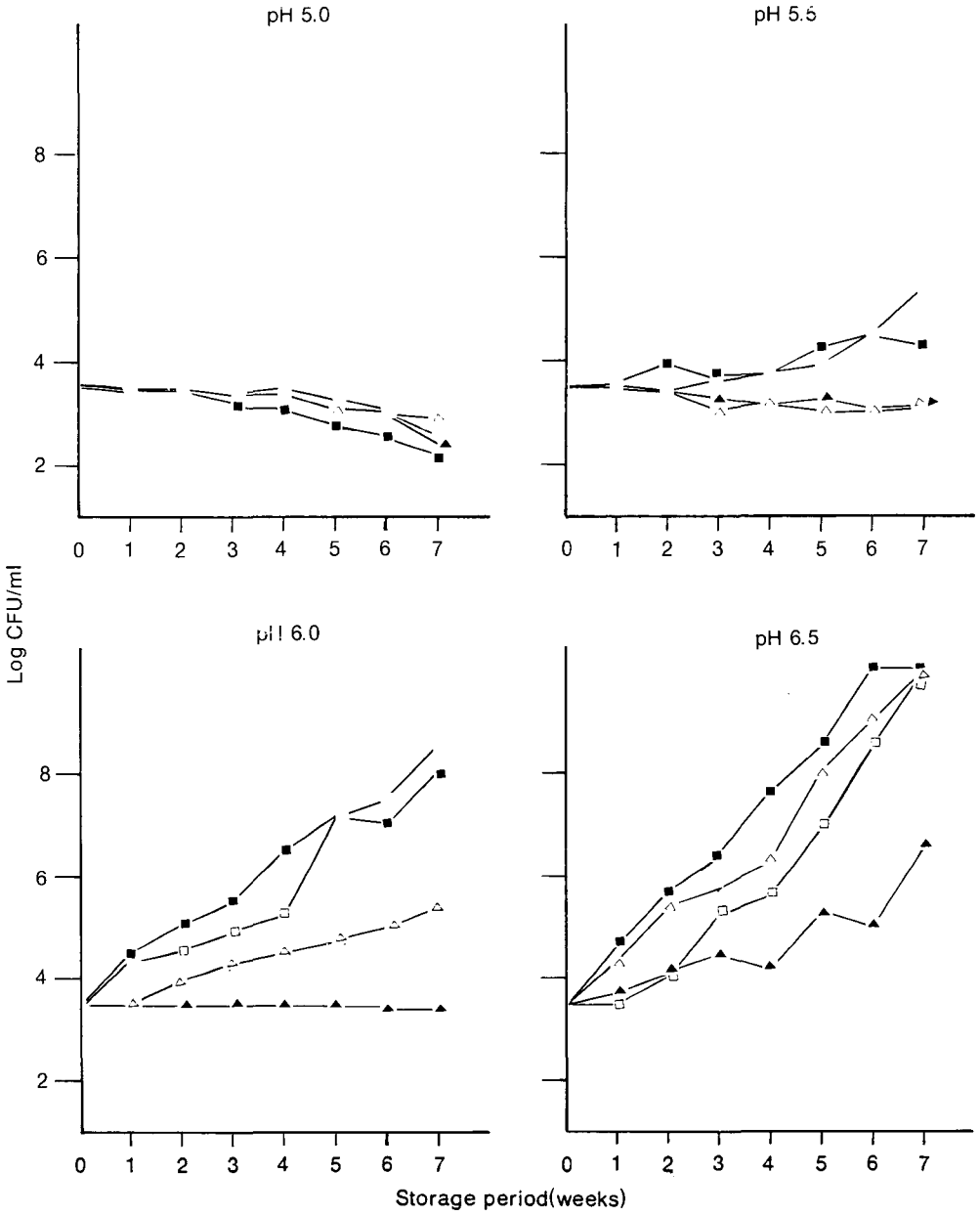


Fig 3. Effect of pH on behavior of *L. monocytogenes* in samples stored at 4℃ ; sodium chloride 3.0%(□), sodium nitrite 100ppm(■), sodium benzoate 0.1%(△) and sorbic acid 0.1%(▲).

시료의 보존 온도가 균의 생존성에 미치는 영향

보존료를 실험 3에서와 같은 농도로 각각 첨가한 시료에 균을 접종하여 4, 20 및 35℃에서 7주간 보존 실험한 바 4℃ 보존에서는 보존료의 종류에 관계없이 균이 서서히 증식하여 7주후에는 9.0 $\log_{10}$ cfu/㎖이상으로 증가하였다. 20℃ 보존에서는 1주 후에 sodium nitrite 첨가구를 제외한 시료에서 균수가 9.0 $\log_{10}$ cfu/㎖ 수준에 달하였으나 그 이후부터 점차적으로 감소하였는데, 특히 sorbic acid와 sodium benzoate 첨가구가 더 현저하였고, sodium nitrite 첨가구에서는 7.0 $\log_{10}$ cfu/㎖ 수준을 계속 유지하였다. 35℃ 보존에서는 처음부터 균의 증식이 억제되어 sodium chloride 첨가구는 1주, sodium nitrite와 sorbic acid 첨가구에서는 2주, 그리고 sodium benzoate 첨가구에서는 6주후에 균의 증식이 완전히 억제되었다.(그림4)

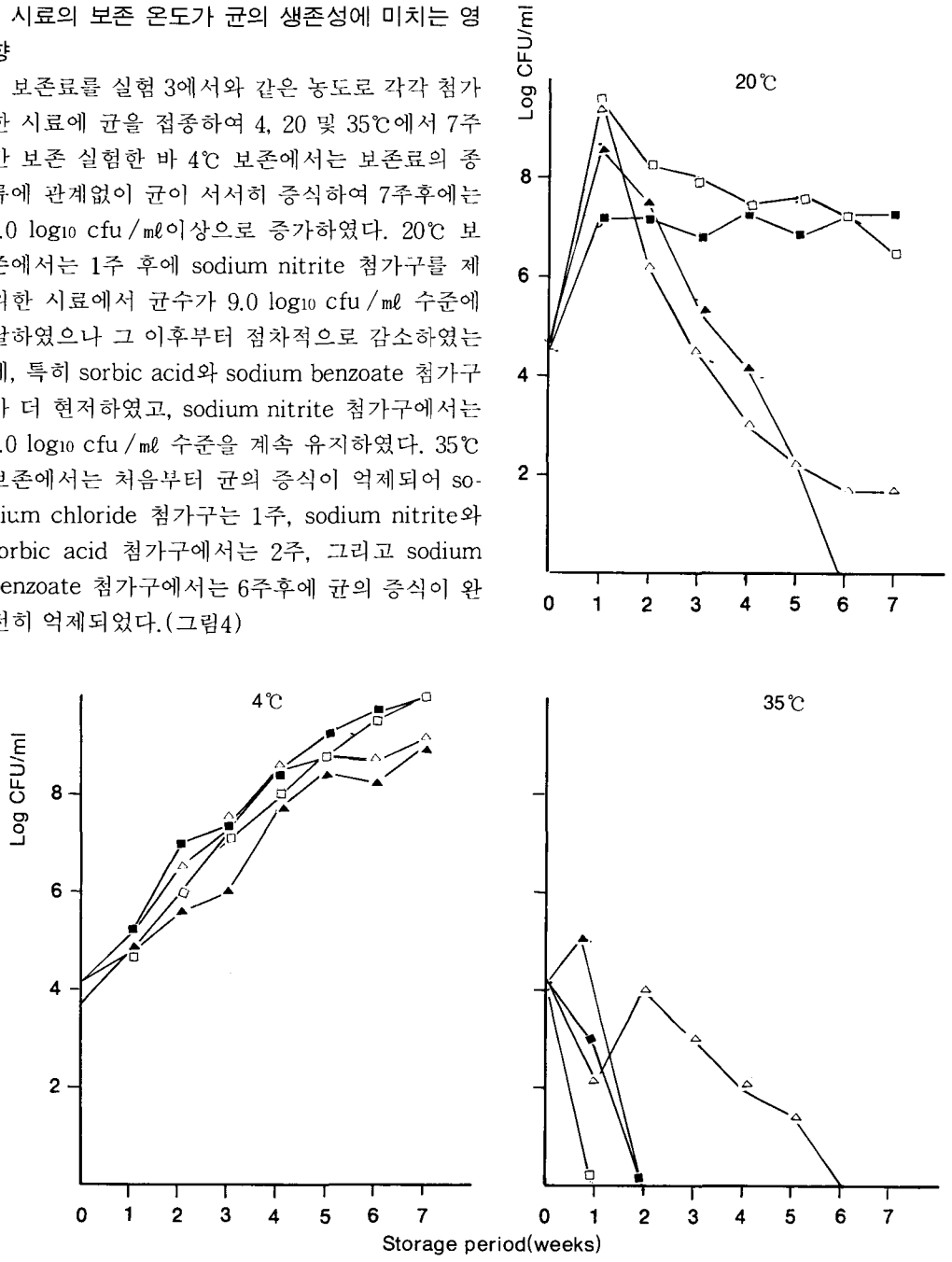


Fig 4. Effect of temperature on behavior of *L. monocytogenes* in samples containing various preserv-atives ; sodium chloride 3.0%(□), sodium nitrite 100ppm(■), sodium benzoate 1%(△) and sorbic acid 0.1%(▲).

보존료의 첨가가 균의 가열손상에 미치는 영향

일반적으로 식품 가공에 적용하고 있는 농도의 보존료를 첨가한 시료에 균수를 9.0 $\log_{10}$ cfu/㎖ 수준으로 접종하여 55℃에서 30분간 가열 처리한 바 0.07−3.06% 범위의 생존률을 나타내었다. 이들 가운데 sorbic acid 첨가구가 0.07%로서 가열손상이 가장 큰 것에 반해서 sodium chloride 첨가구는 3.06으로서 대조구의 20보다 가열 손상이 적은 것으로 나타났다.

Table 3. Comparative heat inactivation of *L. monocytogenes* in various preservatives at 55℃ for 30 minutes

Experimental groups	*L. monocytogene* ($\log_{10}$ CFU/㎖)		% Survival
	None treatment (Room temperature)	Heat inactivated	
Control	9.66	7.73	1.20
Sodium chloride 3.0%	9.59	8.08	3.06
Sodium nitrite 100ppm	9.58	7.65	1.17
Sodium benzoate 0.1%	9.57	7.64	1.17
Sorbic acid 0.1%	9.47	6.30	0.07

고 찰

보존료의 처리방법에 의한 영향 : 식품 첨가물 가운데 현재 보존료로 사용하고 있는 sorbic acid는 항균력은 강하지 않으나 넓은 항균범위를 갖는 것이 특징이며, 식육가공시 보통 0.1% 농도로 첨가하며 세균이나 효모에 대한 항균력은 크나 pH에 따라 좌우된다. 또한 sodium nitrite는 발색제로서 0.1%를 첨가하고 있으나 보존료로도 사용되며 항균작용은 산성역에서 현저하다.[37]

본 연구에서는 일반적으로 식품에 첨가하고 있는 농도의 보존료를 단독 또는 2 내지 3종류로 혼합 첨가하여 균의 증식 억제효과를 검토하였던 바, 4℃ 보존의 경우 sodium chloride, sodium nitrite, 및 sorbic acid를 혼합하여 첨가한 시험구에서 균의 증식 억제효과가 가장 뛰어났으며, 그 효과는 보존 온도가 높아질수록 더욱 현저하였다.

이와같은 결과는 보존후 3일경의 균 증식곡선을 통해서 볼 때 Buchanan과 Stahl 등[30]이 sodium nitrite 100ppm과 sodium chloride 4.5%를 혼합 첨가하고 pH를 6.0으로 조정하여 5℃ 보존시 균수는 4.8 log cfu/㎖ 수준이었다고 하는 성적과 비슷한 경향을 보였다. Sodium chloride+Sodium nitrite+sorbic acid 혼합 첨가구에서 균의 증식억제 효과가 있었던 것은 Shahamat 등[29] 이 sodium chloride 및 sodium nitrite와 같은 보존료를 사용농도로 단독 첨가할 때 균의 증식 억제에 영향을 미치지 못하였다고 하는 성적과 상통하는 부분이다.

한편 보존 온도 면에서 볼 때 4℃에서 보다 20℃에서, 20℃ 보다 35℃에서 급격한 균수의 감소를 보인 것은 Sorells 등[38] 이 균의 증식에 미치는 pH, 보존 온도 및 기간의 영향에 대한 실험에서 첨가한 유기산의 종류에 관계없이 10℃와 25℃에서 보다 35℃에서 균의 산에 대한 감수성이 높았다고 하는 것과 일치되었다.

보존료의 첨가 농도에 의한 영향 : 보존료의 농도를 식품 가공시 상용하고 있는 농도로 첨가하여 4℃에 보존할 때 보존 7주후 전 시험구에서

균수가 9.0 $\log_{10}$ cfu/㎖ 수준으로 증가하였으나 첨가 농도를 배가하였을 때 균수의 증가에 다소 영향을 미쳤고, 특히 sorbic acid 0.4% 첨가구에서는 전 보존 기간을 통하여 서서히 감소하는 경향이었다.

이와같은 결과는 Shahamat 등[29]이 sodium chloride나 sodium nitrite를 단독으로 농도를 증가할 때 저항성이 강하였다고 한 보고와 Buchanan과 Stahl 등[30]이 sodium chloride 0.5%, sodium nitrite 100 및 200ppm 첨가로 균의 증식 억제에 영향을 미치지 못하였다는 보고와도 일치된다. 그러나 첨가 농도를 배가하였을 때 균의 증식이 다소 감소되었으나 7주후 7.0 $\log_{10}$ cfu/㎖ 혹은 그 이상으로 증가한 것은 Junttila와 Hirn 등[33] 이 소세지를 재료로 한 시험에서 sodium chloride 3.0%, sodium nitrite 200ppm 및 potassium nitrate 300ppm 첨가로 균의 성장이 억제되었다고 하는 성적과는 차이를 나타내었다. 이는 보존료의 첨가 농도에 의한 pH 저하에 따라 균수의 증가 폭이 적었던 점으로 미루어 볼 때 시료의 pH가 크게 영향을 미친 것으로 볼 수 있으며, 또 기질로 한 시료의 종류와 균의 활성도 등이 관계한 것으로 생각된다.

pH에 의한 영향 : 보존료를 식품 가공에 적용되고 있는 농도로 첨가하고 pH를 달리한 시료에서 균의 증식 억제효과를 본 바 pH 5.0이하에서는 보존료의 종류에 관계없이 균의 증식이 억제되었으며, pH 6.0에서는 sorbic acid 첨가구를 제외한 보존료는 균의 증식 억제에 거의 영향을 미치지 못하였다. 이와같은 결과는 Ahmed 등[39]이 TSB에 0.1% acetic acid를 첨가하여 7℃에서 보존한 경우 최초의 pH가 5.0-5.1일 때 균의 증식이 억제되었다는 성적과 Conner 등[40]이 유기산으로 pH를 조정한 TSB에서 pH 5.0이하에서 균의 생존이 억제되었다고 하는 보고와 일치된다. 특히 sodium nitrite 100ppm 첨가구에서는 pH5.0이하에서 균의 증식 억제효과가 크게 나타났고, pH 6.0이상에서 항균력이 약화된 것은 Buchanan과 Stahl 등[30]의 성적과 일치되며, sodium nitrite의 정균 작용은 pH에 따라 좌우되는 것으로 인정할 수 있었다. 그리고 sodium benzoate는 pH 5.5이하에서, sorbic acid는 pH 6.0이하에서 균의 증식 억제효과를 보였으나 pH 6.0 이상으로 상승할 때는 영향을 미치지 못하였다.

El-Shenawy와 Marth[31,32]의 보고에서 4℃ 보존시 pH 5.0과 5.6에서 sodium benzoate의 0-0.3% 농도에서, sorbic acid의 0-0.4% 농도에서 균의 증식이 억제되었다는 것은 본 실험결과와 일치되는 것으로 볼 수 있으나 sorbic acid 0.1% 첨가구의 경우 최초의 균수가 2.5 $\log_{10}$ cfu/㎖ 수준에서 3.0 $\log_{10}$ cfu/㎖ 미약한 증가를 보이다가 다시 감소하였다는 성적과는 다소 차이를 보이고 있다.

이상과 같은 결과로 미루어 볼 때 pH 5.0이하에서는 보존료의 종류나 첨가농도에 관계없이 균의 증식이 억제되며, 특히 sodium nitrite는 pH 5.0이하에서 균의 증식 억제효과가 큰 것으로 인정되었다. 이와같이 pH 5.0이하에서 균의 생존성에 크게 영향을 미친 것은 수소이온이 세균 세포막의 삼투압과 서로 작용하여 세포를 산성화 시켜 균의 증식을 억제시키거나 사멸시키는 것으로 알려져 있다.[36]

보존 온도에 의한 영향 : 보존료의 첨가 농도를 식품 가공시 상용되는 농도로 첨가한 시료를 4, 20 및 35℃에 보존한 바 4℃에서는 보존료의 종류에 관계없이 7주후 균수가 9.0 $\log_{10}$ cfu/㎖ 수준으로 증가하였고, 20℃에서는 보존 1주후에 7.0-9.0 $\log_{10}$ cfu/㎖ 증가하였다가 그 이후 급격한 감소를 보였으며 특히 sorbic acid 첨가구가 더 현저하였다. 그리고 35℃에서는 보존 즉시 균수가 급격히 감소하여 1-6주에 균의 증식이 완전 억제되었다.

*L. monocytogenes*의 보존 온도에 따른 생존성에 대하여 Sorells 등[38]은 첨가한 산의 종류에 관계없이 10℃와 25℃에서 보다 35℃에서 산에 대한 감수성이 높다고 하였고, Buchanan과 Stahl 등[30]에 의하면 pH 7.5로 조정한 sodium chlor-

ide 4.5% 첨가구는 5℃에서 균수가 9.0log10 cfu/㎖로, sodium nitrite 100ppm 첨가구는 9.7log10 cfu/㎖로 증가하였으며, Parageorgiou와 Marth[21]는 sodium chloride 6.0%로 첨가한 탈지유의 경우 4℃와 22℃에서 8.0 log10 cfu/㎖ 수준으로 증가되었다고 하였다.

열처리에 의한 영향 : 보존료를 일반적으로 사용되는 농도로 첨가하여 55℃ 항온 수조에서 30분간 가열 처리하여 균의 생존 억제효과를 조사한 바, 0.07-3.06%의 생존율을 나타내었다. 특히 sorbic acid 첨가구는 0.07%로서 가열 처리에 의한 균의 생존 억제에 더 크게 영향을 미친 것으로 인정되었다.

이는 Dallmier와 Martin[36]이 55℃에서 30분간 열처리한 후 TSA 평판배지와 sodium chlorde 5.0%가 함유된 TSA 평판배지에 배양한 결과 생존율이 각각 11% 및 0.0002%라고 보고한 성적과 비슷한 경향을 보였다.

Bradshaw 등[41]은 원유에서 *L. monocytogenes*의 온도에 대한 D-value가 71.7℃에서 0.9초였다고 하였고, Doyle 등[42]은 소의 다형핵 백혈구내에 탐식되어 있는 *L. monocytogenes*는 72.2℃에서 16.4초간 열처리할 경우 생존이 가능하다고 보고하였다. 이와같이 *L. monocytogenes*는 열에 대한 저항성이 비교적 강하여 FDA에서는 우유의 최소 열처리 조건으로서 고온단시법(HTST : 71.7℃에서 15초)을 채택할 것으로 규정[16,43]하고 있으나 실제면에서 식품가공 현장에서 적용되는 가열 온도와 시간으로 미루어 볼 때 본 균이 재료에 오염되었더라도 가공 처리시 완전 사멸이 가능하므로 재오염되지 않는 한 문제시되지 않을 것으로 사료된다.

결 론

본 연구는 식품 보존료가 *Listeria monocytogenes*의 생존성에 미치는 영향을 검토할 목적으로 sodium chloride, sodium nitrite, sodium benzoate 및 sorbic acid를 사용하여 보존료의 처리 방법, 첨가 농도, pH, 보존 온도 및 열처리에 의한 균의 생존성을 관찰하였던 바 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 보존료는 단독 첨가구에 비하여 sodium chloride, sodium nitrite, sodium benzoate 및 sorbic acid를 혼합 첨가하였을 때, 그리고 4℃에서 보다 35℃ 보존에서 균의 생존 억제효과가 더욱 현저하였다.

2. 각종 보존료의 첨가 농도를 달리하여 4℃에서 7주간 보존한 바 보존료의 종류에 관계없이 일반적으로 사용되는 농도에서는 균의 생존에 영향을 미치지 못하였으며, sodium chloride는 5.0%, sodium nitrite는 200ppm, sodium benzoate는 0.2%, sorbic acid는 0.2%로 첨가 농도를 증가시킬 때 균의 생존에 다소 영향을 미치는 것으로 인정되었다.

3. 보존료를 일반적으로 사용되는 농도로 첨가하고 pH를 달리하여 7주간 보존한 결과 pH 5.0 이하에서는 보존료의 종류에 관계없이 균의 생존이 억제되었고, 특히 sodium nitrite와 sorbic acid 첨가구가 더 현저하였다.

4. 보존료를 일반적으로 사용되는 농도로 첨가하여 4, 20 및 35℃에서 7주간 보존한 결과 4℃ 보존에서는 보존료의 종류에 관계없이 균의 생존에 영향을 미치지 못하였으나, 20℃에서는 보존 1주후 부터 균수가 급격하게 감소되었고, 35℃에서는 억제 효과가 더 현저하였다.

5. 각 보존료가 일반적으로 사용되는 농도는 첨가된 균액을 55℃ 항온수조에서 30분간 가열처리한 바 0.06-3.06%의 생존율을 나타내었고, 특히 sorbic acid 첨가구는 0.07%로서 가열 처리시 균의 생존 억제효과가 큰 것으로 인정되었다.

참고문헌

1. Barza M. 1985. Listeriosis and milk. New Engl. J. Med. 312 : 438-440.
2. Fenlon DR. 1985. Wild birds and silage as reservoirs of *Listeria* in the agricultural en-

vironment. J. Appl. Bacteriol. 59 : 537.
3. Fleming DW, et al. 1985. Pasteurized milk as a vehicle of infection in an outbreak of listeriosis. New Engl. J. Med. 312 : 404－407.
4. Gitter M, et al. 1980. *Listeria mo- nocytogenes* infection in bovine mastitis, Vet. Rec. 107 : 309－393.
5. Gray ML, Killinger AH. 1966. *Listeria monocytogenes* and *Listeria* infection. Bacteriol. Rev. 30 : 309－382.
6. Hayes PS, et al. 1986. Isolation of *Listeria monocytogenes* from raw milk. Appl. Environ. Microbiol. 51 : 438－440.
7. Ho JL, et. al. 1986. An outbreak of type 4b *Listeria monocytogenes* infection involving patients from eight Boston hospitals Arch. Intern. Med. 146 : 520.
8. Linnan MJ, et al. 1988. Epidemic listeriosis associated with Mexican-style cheese. N. Engl. J. Med. 319 : 823－828.
9. Mikolajcik EM, 1986. Listeriosis－A food hazard about which we know little. Cult. Dairy Prod. J. 21(4) : 28.
10. Pucci MJ, et. al. 1988. Inhibition of *Listeria monocytogenes* by using bacteria PA－1 produced by *Pediococcus acidilactice* PAC 1. O. J. Food Prot. 50 : 188.
11. Rosenow EM, Marth EH. 1987. Growth of *Listeria monocytogenes* in skin, whole and chicolate and in whipping cream during incubation at 4, 8, 13, 21, and 35℃. J. Food Prot. 50 : 452－459.
12. Marth EH. 1988. Disease characteristic of *Listeria monocytogenes* Food Technol., Overview : 165－168.
13. Seeliger HPR, 1961. "Listeriosis". Hofner pub. Co., New York.
14. Smith RE, et al. 1955. *Listeria monocytogenes* and abortion in a cow. J. Am. Vet. Med. Assoc. 122 : 106－110.
15. Armstrong D. 1985. *Listeria monocytogenes. In* "Principles and practices of infections disease". 2nd ed., G. L. Mandell et al. p. 1177. John Wiley and Sons, New York.
16. Anonymous. 1985. FDA finds in three brands of general foods soft cheeses Food Chem. News. 27(25) : 33.
17. James SM, et al. 1985. Listeriosis outbreak associated with Mexican-style cheese-California Morbid. Mortal. Weekly Report. 34 : 357－359.
18. Kwants W, Isaac H. 1971. Listeriosis. Brit. Med. J. 4 : 296.
19. Colburn KG, et al. 1990. *Listeria* species in a California coast estuarine environment. Appl. Environ. Microbiol. 56 : 2007.
20. Curtt MP, Catherine WD. 1990. Incidence of *Listeria monocytogenes* in silage and its subsequent control by specific and nonspecific antagonism. J. Food Prot. 53 : 642.
21. Papageorgiou DK, Marth EH. 1989. Behavior of *Listeria monocytogenes* at 4 and 22℃ in whey and skim milk containing 6 or 12% sodium chloride. J. Food Prot. 52 : 625－630.
22. Hyslog NG, Osborne AD. 1959. Listeriosis. A potential danger to public health. Vet. Rec. 71 : 1082－1091.
23. Lovett JL, et. al. 1987. *Listeria monocytogenes* in raw milk : Detection, incidence, and pathogenicity. J. Food Prot. 50 : 188.
24. Vizcaino LL, Garcia NA. 1975. A note on *Listeria* milk excretion in sero-positive apparently health cows. pp. 74. In M. Woodbine(ed.) Problems of listeriosis. Leicester Univ. Press. England.
25. Bryan FL. 1969. Foodborne infections and intoxications. *In* H. Riemann(ed.) pp272－273. Academic press. New York.

26. Conner DE, Brackett RE. and Beuchat LR. 1986. Effect of temperature, sodium chloride and pH on growth of *Listeria monocytogenes* in cabbage juice. Appl. Environ. Microbiol 52 : 59－63.
27. Donnelly CW, Briggs EH, Donnelly LS. 1987. Comparison of heat resistance of *Listeria monocytogenes* in milk as determined by two methods. J. Food Prot. 50 : 14－17.
28. Hof H, et al. 1986. The role of *Listeria monocytogenes* and other *Listeria* spp. in foodborne infections. pp. 220－223. In Proc., 2nd world congress, Foodborne infection and intoxication. Berlin, W. Germany.
29. Shahama M, A. Seaman A, Woodbine M. 1980. Influence of sodium chloride, pH, and temperature on the inhibitory activity of sodium nitrite on *Listeria monocytogenes*. pp. 227－237. In : Gould, G. W. and J. E. L. Corry(eds), "Microbial growth and survival in extremes of environment" Academic Press, Inc., New York.
30. Buchanan RL, Stahl HG, Whiting RC. 1988. Effects and interactions of temperature, pH, atmosphere, sodium chloride and sodium nitrite on the growth of *Listeria monocytogenes*. J. Food Prot. 52 : 844－851.
31. El-Shenawy MA, Marth EH. 1988. Sodium benzoate inhibits growth of or inactivates *Listeria monocytogenes*. J. Food Prot. 51 : 525－530.
32. El-Shenawy MA, Marth EH. 1988. Inhibition or inactivation of *Listeria monocytogenes* by sorbic acid. J. Food Prot. 51 : 842－847.
33. Junttila, Hirn J, Hill P, et al. 1988. Effect of different levels of nitrite and nitrate on the survival of *Listeria monocytogenes* during the manufacture of fermented sausage, J. Food Prot. 52 : 158－161.
34. El-Shenawy, MA, Marth EH. 1989. Inhibition or inactivationof *L. monocytogenes* by sodium benzoate together with some organic acid. J. Food Prot. 52 : 771－776.
35. 한국수의공중보건학회. 1986. 수의공중보건학 182. 문운당.
36. Dallmier AW, Martin SE. 1988. Catalase and superoxide dismutase activities after heat injury of *Listeria monocytogenes*. Appl. Environ. Microbiol. 54 : 581－582.
37. Schlech, WH, Lavigre PM, Bortulussi RA, et al. 1983. Epidemic listeriosis evidence for transmission by food. N. Engl. J. Med. 308 : 203－206.
38. Sorrells KM, et al. 1989. Effect of pH, acidulant, tiem, and temperature on the growth and survival of *Listeria monocytogenes*. J. Food Prot. 52 : 571.
39. Ahmed EY, John BL, Alan JD, et al. 1991. Behavior of *Listeria monocytogenes* in wiener exudates in the presence of *Pediococcus acidilactice* H of Pediocin ACH during storage at 4 or 25℃. Appl. Environ. Microbiol., 57 : 1461－1467.
40. Conner DE, Scott VN, Bernard DT. 1990. Growth, inhibition and survival of *Listeria monocytogenes* as affected by acidic conditions. J. Food Prot. 53 : 652－655.
41. Bradshaw JG, et al. 1985. Thermal resistance of *Listeria monocytogenes* in milk. J. Food Prot. 48 : 746.
42. Doyle MP, et. al. 1987. Survival of *Listeria monocytogenes* in milk during high-temperature, short-time pasteur ization : Appl. Environ. Microbiol. 53 : 1433.
43. Anonymous. 1986. French cheeses realled because of *Listeria*. Food Chem. News. 28(24) : 12－13.