

해산물에서 분리된 식중독세균의 손상 및 회복  
- 생선 homogenate에서 *Staphylococcus aureus*와 *Listeria monocytogenes*의  
저온저장중 세균수 변화 -

박 찬 성  
경산대학교 식품과학과

Injury and Recovery of Pathogenic Bacteria Isolated from Seafoods  
- Changes in the Viability of *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes*  
in Some Fish Homogenates during Cold Storage -

Chan-Sung Park  
Dept. of Food Science, Kyungsan University

Abstract

The survival and growth of *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes* in fish homogenates (flounder, shrimp and oyster homogenate) and tryptic soy broth (TSB) were tested during storage at simulated ambient (35°C), refrigerated (5°C) and frozen (-20°C) temperature. A similar growth pattern of *S. aureus* at 35°C was observed in fish homogenates and TSB. Survival of *S. aureus* decreased at refrigerated or frozen temperature and that was greater at -20°C (0.3-1.2 log reduction/6 weeks) than at 5°C (1-1.6 log reduction/3 weeks). Viable cells of *L. monocytogenes* increased rapidly at 35°C in flounder homogenate, shrimp homogenate and TSB but after a prolonged lag period in oyster homogenate. During 3 weeks of storage at 5°C, the levels of *L. monocytogenes* increased 3.8-5.0 log cycles in flounder homogenate, shrimp homogenate and TSB whereas levels increased 2.2 log cycles in oyster homogenate. Viable cells of *L. monocytogenes* during 6 weeks of frozen storage decreased 1.5-1.8 log cycles in flounder homogenate, shrimp homogenate and TSB while decreased 2.8 log cycles in oyster homogenate.

I. 서 론

해산물은 건강식품으로 선호되고 있으나 환경오염과 더불어 세균의 오염도 증가되어 해산물에 의한 식중독 사고의 위험성이 높아지고 있는 실정이며<sup>1,2)</sup> 미국에서는 1977년부터 1984년 사이에 발생한 식중독 사고에서 해산물, 특히 shellfish와 생선이 차지한 비율이 가장 높았던 것으로 보고되고 있다<sup>3)</sup>. Martinez-Manzanares 등<sup>4)</sup>은 오염된 환경에서 자란 shellfish에서 *Staphylococcus aureus*와 *Vibrio parahaemolyticus* 등의 식중독세균 검출율이 높다고 보고하였으며 Weagant 등<sup>5)</sup>은 우리나라의 해산물에서도 *Listeria*속 세균이 다수 검출된 것으로 보고하였다.

*Staphylococcus aureus*는 내염성이 강하며<sup>6)</sup> 염장식품을 비롯하여 육류, 유가공품, 양송이 통조림 등 거의 모든 식품에서 식중독을 일으킨 것으로 보고되고 있다<sup>7,8)</sup>. *Listeria monocytogenes* 역시 내염성이 강하며<sup>9)</sup>

1980년대에 구미지역에서 Coleslaw를 비롯한 육류, 유류, 어제품 등, 다양한 종류의 식품에서 식중독을 발생하였으며<sup>10-12)</sup> 특히 임신부와 태아에게 유산, 사산, 미숙아 출산 등의 영향을 미치는 것으로 알려져 있다<sup>13)</sup>. 이러한 식중독 세균들의 증식을 억제시킬 수 있는 수단으로 bacteriocin의 개발<sup>14,15)</sup>, 향신료의 이용<sup>16-18)</sup>, 식품중에 존재하는 천연 항균물질에 관한 연구<sup>19,20)</sup>가 활발히 이루어지고 있으나 일반 가정이나 유통과정에서 식품의 저온저장이 널리 이용되고 있다. 적절한 저장온도의 선택은 세균증식을 억제시켜 식중독사고를 예방할 수 있는 방법이 될 수 있으나 *Listeria monocytogenes*는 냉장온도에서도 증식이 가능하며<sup>21,22)</sup> 가정용 냉장고의 온도관리가 잘 지켜지지 않은 보고<sup>23)</sup>도 있어 *Listeria monocytogenes*와 같은 psychrotroph의 경우, 식중독 발생의 가능성이 매우 높을 것으로 예상된다.

본 연구에서는 해산물 중 finfish에 속하는 광어,

shellfish에 속하는 굴과 새우의 homogenate 및 액체배지(tryptic soy broth, TSB)에 *Staphylococcus aureus*와 *Listeria monocytogenes*를 접종하여 35°C, 5°C(냉장) 및 -20°C(동결)에 저장하였을 때 각 온도에서 이들 식중독세균의 거동을 생선 homogenate의 종류와 액체배지의 경우와 비교하여 생선의 종류별 식중독세균의 오염 가능성과 오염된 식품의 적절한 저온저장 온도를 검토하였다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 시험균주

본 실험에 사용한 균주는 본 대학 식품미생물학 교실에 보관중인 *Staphylococcus aureus* 196E와 *Listeria monocytogenes* ATCC 7644를 실험에 사용하기전에 tryptic soy agar(TSA, Difco) slant에 35°C에서 24시간씩 3회 계대배양하였다.

### 2. 광어, 새우, 굴 homogenate 조제

어육 중량의 3배에 해당하는 50% 인공해수(ASW)<sup>29)</sup>를 가하여 100°C에서 30분간 가열한 후 homogenizer로 10,000 rpm에서 3분간 분쇄하여 121°C에서 15분간 멸균하였다.

### 3. 세균의 접종과 배양

증식과 생존실험을 위하여 계대배양한 균주 1 백균이를 tryptic soy broth(TSB, Difco) 10 ml에 접종한 후 35°C에서 16-18시간 배양하여 활성화시킨 균액을 적당한 농도로 희석하여 실험초기의 세균수가 약 10<sup>4</sup> cells/ml 되게 광어, 새우, 굴 homogenate와 TSB 10 ml에 접종한 후 35°C의 incubator와 가정용 냉장고(Hitachi R 925CV)의 냉장실(5±1.5°C)에 저장하였으며 동결저장의 경우에는 실험초기의 세균수가 약 10<sup>6</sup> cells/ml 되게 조정하여 위의 가정용 냉장고 냉동실(-20±2°C)에 저장하였다.

### 4. 세균수 측정

각 온도에 저장중인 광어, 새우, 굴 homogenate와 TSB를 일정 시간 간격으로 철수하여 동결저장의 경우에는 흐르는 수도물로 해동시킨 후 세균수를 측정하였다. 각각의 세균액을 50% ASW로 10배 단계 희석시켜 그 희석액 0.1 ml를 50% ASW로 조제한 TSA 평판배지에 도말한 후 35°C의 incubator에서 2일간 배양하여 colony수를 측정하고 ml당의 colony forming unit(CFU/ml)로 나타 내었다.

## III. 결과 및 고찰

### 1. 35°C에서 세균의 증식

#### (1) *S. aureus*의 증식

생선 homogenate와 TSB에 접종한 *S. aureus*의 35°C에서 증식은 Fig. 1과 같다. 저장직전의 세균수는 6.5×10<sup>3</sup> cells/ml였으며 배양 6시간 후 ml당의 세균수는 TSB와 새우 homogenate에서 각각 3.8×10<sup>6</sup>, 2.7×10<sup>6</sup>으로 비슷한 증식속도를 나타내었다. 광어 homogenate에서는 1.5×10<sup>7</sup>으로 증식속도가 가장 빨랐으며 굴 homogenate에서는 7.2×10<sup>5</sup>으로서 증식이 가장 느려서 광어 homogenate와는 1.3 log cycle 정도의 차이를 나타내었다. 배양 12시간 이후부터는 생선 homogenate와 액체배지의 세균수 차이는 0.5 log cycle 이내로 감소되었다.

#### (2) *L. monocytogenes*의 증식

Fig. 2는 생선 homogenate와 TSB에 접종한 *L. monocytogenes*의 35°C에서의 증식곡선이다. 저장직전의 세균수는 1.4×10<sup>4</sup> cells/ml였으며 배양 12시간 동안의 세균수는 TSB, 새우 homogenate와 광어 homogenate간에 큰 차이를 나타내지 않았다. 그러나 굴 homogenate에서는 유도기가 연장되어 배양 24시간 동안의 증식이 아주 느렸으며 배양 24시간 후의 세균수는 다른 homogenate에 비하여 2.5 log cycle, TSB에 비하여 3.5 log cycle 정도 낮은 세균수를 나타내었다. 배양 24시간 이후에는 TSB, 새우 homogenate와 광어

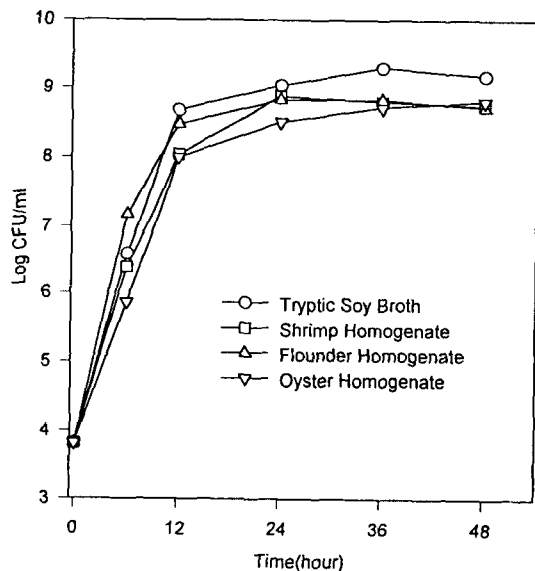


Fig. 1. Growth of *Staphylococcus aureus* in tryptic soy broth and fish homogenates at 35°C.

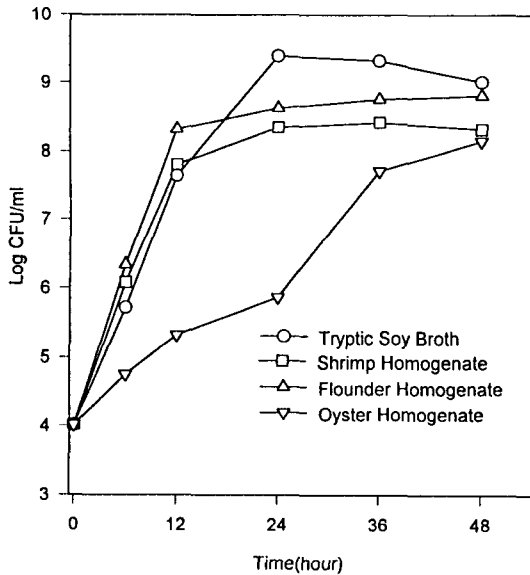


Fig. 2. Growth of *Listeria monocytogenes* in tryptic soy broth and fish homogenates at 35°C.

homogenate에서 증식이 거의 없었으나 굴 homogenate에서는 빠른 속도로 증식이 진행되어 배양 48시간 후에는 다른 생선 homogenate의 세균수와 거의 비슷한 수준에 도달하였다.

2. 5°C에서 세균의 거동

(1) *S. aureus*의 생존

Fig. 3은 *S. aureus*를 생선 homogenate와 TSB에 접종하여 5°C에 저장하였을 때의 세균수 변화이다. 저장 직전의 세균수는  $3.4 \times 10^4$  cells/ml였으며 저장 초기의 6일간 TSB와 생선 homogenate들 사이에는 세균수에 큰 차이를 나타내지 않고 완만히 감소하였다. 저장 9일 이후부터 세균수에 차이를 나타내기 시작하여 저장 15일 이후부터 저장 말기까지 굴 homogenate에서의 세균수가 TSB와 다른 생선 homogenate에 비하여 약 0.5 log cycle 높은 값을 나타내었다. 21일간의 저장 기간을 통하여 TSB, 새우 homogenate와 광어 homogenate에서는 약 1.6 log cycle 감소하였으나 굴 homogenate에서는 같은 기간동안 약 1 log cycle이 감소되었다.

(2) *L. monocytogenes*의 증식

Fig. 4는 *L. monocytogenes*를 생선 homogenate와 TSB에 접종하여 5°C에 저장하였을 때의 증식곡선이다. 저장 직전의 세균수는  $1.6 \times 10^4$  cells/ml였으며 저장 3일 동안 세균수는 약간 감소하였는데 특히 굴 homogenate에서 세균수의 감소가 가장 커서 저장초기에 비

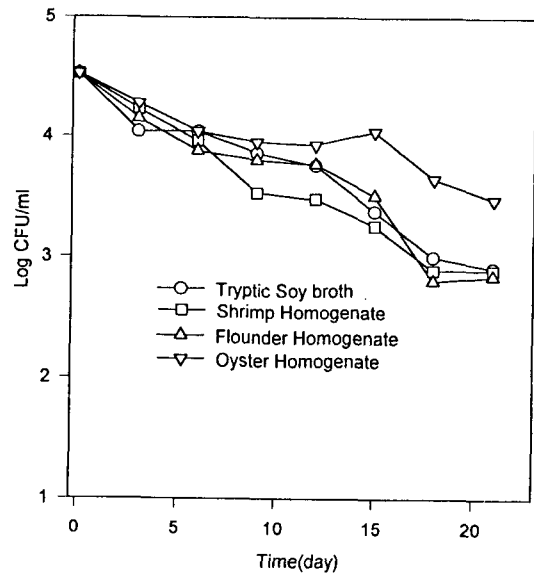


Fig. 3. Survival of *Staphylococcus aureus* in tryptic soy broth and fish homogenates at 5°C.

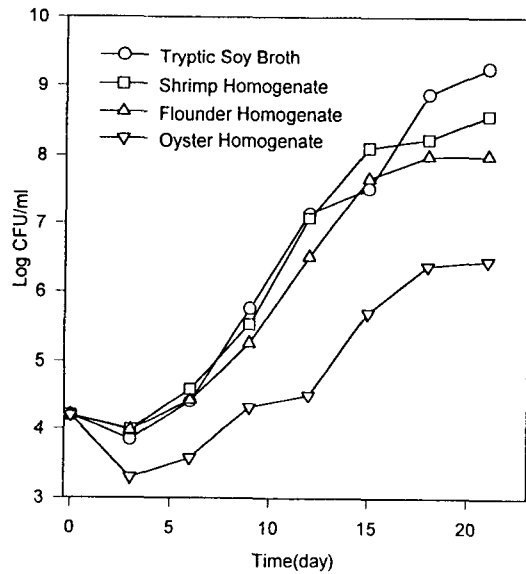


Fig. 4. Growth of *Listeria monocytogenes* in tryptic soy broth and fish homogenates at 5°C.

해 0.9 log cycle 낮은 값을 나타내었다. 저장 3일 이후부터는 세균의 증식이 시작되어 저장 15일째의 세균수는 TSB, 새우 homogenate와 광어 homogenate간에 큰 차이를 나타내지 않고 저장직전의 세균수 보다 3.3-3.9 log cycle 증가하여 5°C에서 *S. aureus*를 저장한 결과와는 상반된 결과를 나타내었다. 굴 homogenate에서는 증식이 아주 느려서 저장 15일째의 세균수의 대수적

증가가 저장직전에 비하여 1.5 log cycle에 불과하여 TSB, 새우 homogenate와 광어 homogenate의 절반에도 미치지 못하였다. 저장 15일 이후부터 생선 homogenate에서 세균의 증식은 완만해졌으나 TSB에서는 저장 15일과 21일 사이에도 1.7 log cycle이 증가하여 저장말기에 가장 높은 세균수를 나타내었다.

Brackett 등<sup>25)</sup>은 crab meat에 *L. monocytogenes*를 접종하여 냉장하였을 때 5°C와 10°C에서도 잘 자란다고 보고하여 본 실험의 결과와 일치하고 있으며 이 때 세균의 병원성에도 아무런 변화가 없다고 보고한 점을 감안하면 *L. monocytogenes*에 오염된 식품을 냉장하는 것은 식중독의 위험성이 높은 것으로 생각된다. 한편, 굴 homogenate에서 *L. monocytogenes*의 증식이 새우 homogenate와 광어 homogenate에 비하여 느린 것은 여러 연구자들<sup>5,12,26)</sup>도 같은 *Listeria*속 세균의 근원이 아니며 새우에서는 약 11%가 *L. monocytogenes*를 함유하였다<sup>26)</sup>고 보고한 결과와 거의 일치하는 것으로 생각된다.

### 3. -20°C에서 세균의 생존

#### (1) *S. aureus*의 생존

Fig. 5는 *S. aureus*를 생선 homogenate와 TSB에 접종하여 -20°C에 동결저장 하였을 때의 세균수 변화이다. 저장직전의 세균수는  $2.3 \times 10^6$  cells/ml였으며 저장 초기부터 6주간 세균수는 완만히 감소하였다. 전 저장 기간동안 새우 homogenate와 광어 homogenate에서는

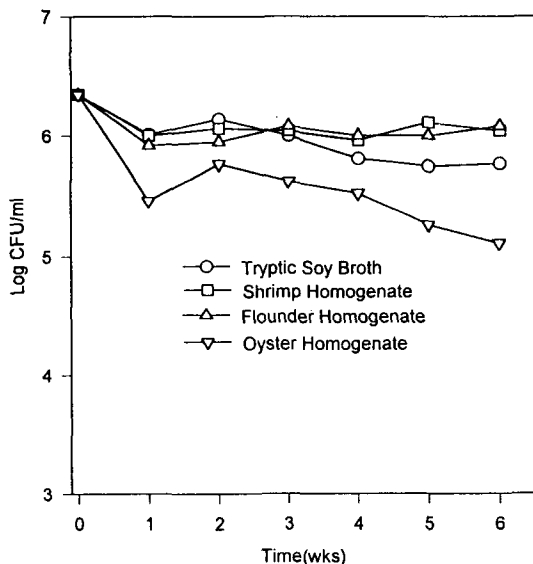


Fig. 5. Survival of *Staphylococcus aureus* in tryptic soy broth and fish homogenates at -20°C.

약 0.3 log cycle 감소하였으나 TSB와 굴 homogenate에서는 각각 0.6, 1.2 log cycle이 감소되어 세균수의 변화가 적은 편이었다. 동결저장한 *S. aureus*의 세균수의 대수적 감소정도는 냉장한 경우(Fig. 3)에 비하여 같은 기간동안 거의 절반에도 미치지 못하여 이 세균이 냉장보다는 동결저장 온도에서 더욱 강한 저온내성을 가진 세균임을 알 수 있었다. 奥積 등<sup>27)</sup>이 생선에서 주로 분리되는 여러 종류의 세균을 20일간 동결저장하였을 때 구균류는 세균수 감소가 거의 없었다고 보고한 점은 본 실험에서 나타난 *S. aureus*와 비슷한 결과로서 이 세균에 오염된 식품을 냉동저장 하였을 때 식중독사고의 위험성을 내포하고 있어 주의를 요하고 있다.

#### (2) *L. monocytogenes*의 생존

Fig. 6은 생선 homogenate와 TSB에 접종한 *L. monocytogenes*를 -20°C에 동결저장한 경우의 세균수 변화이다. 저장직전의 세균수는  $2.1 \times 10^6$  cells/ml였으며 전 저장기간을 통하여 저장초기의 1주일간 세균수의 감소가 가장 컸을 뿐만 아니라 저장직전과 비교하여 새우 homogenate에서는 0.6, 광어 homogenate에서는 0.8, TSB에서는 1.1, 굴 homogenate에서는 1.5 log cycle이 감소되어 TSB와 각각의 생선 homogenate 사이에도 세균수의 차이가 뚜렷하였다. 이 결과는 생선 homogenate와 TSB에 *L. monocytogenes*를 접종하여 냉장한 경우(Fig. 4)에 저장 3일 이후부터는 정상적인 세균의 증식이 이루어진 결과와는 대조적인 것으로서

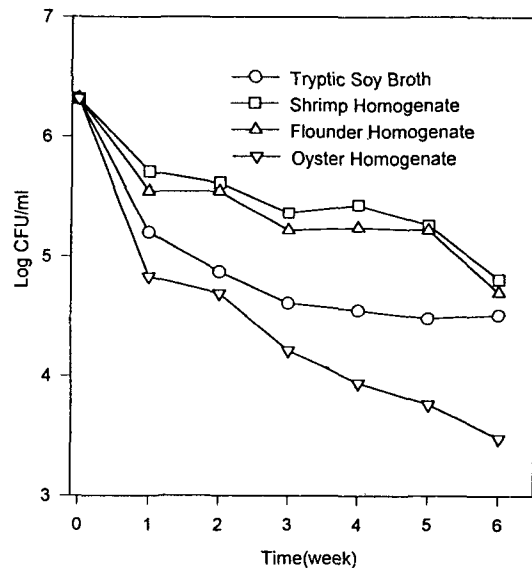


Fig. 6. Survival of *Listeria monocytogenes* in tryptic soy broth and fish homogenates at -20°C.

*L. monocytogenes*에 오염된 생선은 동결저장이 바람직한 것으로 생각된다. 그러나 Wong 등<sup>28)</sup>은 Taiwan의 냉동 오징어와 생선에서, Weagant 등<sup>5)</sup>은 새우, 게살, lobster tail, finfish 등의 냉동 해산물로부터 *L. monocytogenes*를 분리하였다고 보고하여 오염된 생선의 종류에 따라 *L. monocytogenes*의 세균수에 상당한 차이가 있음을 나타내고 있어 본 실험에서 새우와 광어 homogenate에서 *L. monocytogenes*의 생존율이 높았던 것과 상당한 관련이 있을 것으로 추정된다. TSB에서는 1주일 이후부터 세균수의 감소가 완만하였으나 저장초기 1주일간의 세균수 감소가 컸기 때문에 저장중기의 세균수는 새우 homogenate와 광어 homogenate에 비하여 약 0.7 log cycle 낮은 세균수를 유지하였다. 굴 homogenate에서는 저장중기 이후에도 다소 큰 비율로 세균수가 감소하여 저장말기의 세균수는 TSB나 다른 생선 homogenate 보다 1 log cycle 이상의 세균수 차이를 나타내었다. 이와 같이 동결저장에서도 굴 homogenate에서 *L. monocytogenes*의 생존이 크게 억제 되는 것은 앞의 냉장온도에서 *L. monocytogenes*의 증식에서 나타난 결과(Fig. 4)와 일치하는 것으로서 굴은 *Listeria*속 세균의 근원이 아니라는 보고<sup>5,12,26)</sup>를 다시 한번 입증하는 결과로 생각된다.

#### IV. 요약

3 종류의 생선(광어, 새우, 굴) homogenate와 tryptic soy broth(TSB)에 *Staphylococcus aureus*와 *Listeria monocytogenes*를 접종하여 35°C에서의 증식과 냉장(5°C) 및 동결저장(-20°C) 하였을 때 각 세균의 거동을 조사하였다. *S. aureus*는 생선 homogenate와 액체배지 모두 35°C에서 큰 차이없이 빠르게 증식하였다. 5°C에 3주간 저장하였을 때 *S. aureus*는 1-1.6 log cycle 감소하였으나 -20°C에서는 6주간의 저장기간 동안 0.3-1.2 log cycle의 세균수 감소를 나타내었다. *L. monocytogenes*는 35°C에서 광어 homogenate, 새우 homogenate와 TSB에서 증식이 빨랐으나 굴 homogenate에서는 유도기를 거친 후에 증식이 진행되었다. 5°C에서 *L. monocytogenes*는 광어 homogenate, 새우 homogenate와 TSB에서 3주간 증식이 진행되어 세균수가 3.8-5 log cycle 증가하였으나 굴 homogenate에서는 2.2 log cycle의 증가에 불과하였다. -20°C에 6주간 저장하였을 때 *L. monocytogenes*의 세균수는 광어 homogenate, 새우 homogenate 및 TSB에서 1.5-1.8 log cycle 감소하였으나 굴 homogenate에서는 2.8 log cycle 감소하였다.

#### 감사의 글

본 연구는 1993년도 한국학술진흥재단의 자유공모(지방대학육성)과제 연구비에 의하여 수행된 연구결과의 일부이며, 연구비를 지원하여 준 학술진흥재단에 깊은 감사를 드립니다.

#### 참고문헌

- Liston, J., Microbial hazards of seafood consumption. *Food Technol.* **44**: 56-62 (1990).
- Ronda, M.D. and Patel, T.R., Listeria in seafoods: A review. *J. Food Prot.*, **55**: 1009 (1992).
- Zottola, E.A., and Smith, L.B., The microbiology of food-borne disease outbreaks: an update. *J. Food Safety*, **11**: 13 (1991).
- Martinez-Manzanares, E., Morinigo, M.A., Castro, D., Balebona, M.C., Munoz, M.A. and Borrego, J.J., Relationship between indicators of fecal pollution in shellfish-growing water and the occurrence of human pathogenic microorganisms in shellfish. *J. Food Prot.*, **55**: 609-614 (1992).
- Weagant, S.D., Sado, P.N., Colburn, K.G., Torkelson, J.D., Stanley, F.A., Krane, M.H., Shields, S.C. and Thayer, C.F., The incidence of *Listeria* species in frozen seafood products. *J. Food Prot.*, **51**: 655-657 (1988).
- Buchanan, R.L., Smith, J.L., Mccolgan, C., Marker, B.S., Golden, M. and Dell, B., Response surface models for the effects of temperature, pH, sodium chloride, and sodium nitrite on the aerobic and anaerobic growth of *Staphylococcus aureus* 196 E. *J. Food Safety*, **13**: 159 (1993).
- Ro, S.J. and Speck, M.L., Microbial food-borne disease. *Korean J. Appl. Microbiol. Bioeng.*, **6**: 135 (1978).
- Hardt-English, P., York, G., Stier, R. and Cocotas, P., Staphylococcal food poisoning outbreaks caused by canned mushrooms from China. *Food Technol.* **44**: 74-76 (1990).
- Doyle, M.P., Effect of environmental and processing conditions on *Listeria monocytogenes*. *Food Technol.*, **42**: 169 (1988).
- Schlech, W.F., Lavigne, P.M., Bortolussi, R.A., Johnson, S.E., King, S.H., Nicholls, E.S. and Broome, C.V., Epidemic listeriosis evidence for transmission by food. *N. Engl. J. Med.* **308**: 203 (1983).
- Fleming, D.W., Cochi, S.L., MacDonald, K.L., Brondium, J., Hayes, P.S., Plikaytis, B.D., Holmes, M.B., Audurier, A., Broome, C.V. and Reingold, A.L., Pasteurization milk as a vehicle of infection in an out-

- break of listeriosis. *N. Engl. J. Med.* **312**: 404. (1985).
12. Buchanan, R.L., Stahl, H.G., Bencivengo, M.M. and Corral, F.D., Comparison of lithium chloride phenylethanol-moxalactam and modified Vogel Johnson agars for detection of *Listeria* spp. in retail-level meats, poultry and seafood. *Appl. Environ. Microbiol.*, **55**: 599 (1989).
  13. Concon, J.M., Food toxicology, Part B: Contaminants and additives. Marcel Dekker Inc., New York, p. 977 (1988).
  14. Jerry, W.N., Dickson, J.S. and Crouse, J.D., Use of bacteriocin produced by *Pedococcus acidilactici* to inhibit *Listeria monocytogenes* associated with fresh meat. *Appl. Environ. Microbiol.*, **56**: 2142 (1990).
  15. 김성효, 성현주, 신요서, 김동환, 이갑상: 젖산균과 그 대사산물이 *Staphylococcus aureus*의 생육에 미치는 억제효과, *한국식품과학회지*, **26**: 644 (1994).
  16. Zaika, L.L., Spices and herbs: their antimicrobial activity and its determination. *J. Food Safety*, **9**: 97 (1988).
  17. Shelef, L.A., Naglik, O.A., and Bogen, D.W., Sensitivity of some common food-borne bacteria to the spices sage, rosemary, and allspice. *J. Food Sci.*, **45**: 1042 (1980).
  18. Hefnawy, Y.A., Moustafa, S.I. and Marth, E.H., Sensitivity of *Listeria monocytogenes* to selected spices. *J. Food Prot.*, **56**: 876 (1993).
  19. 한지숙, 신동화, 윤세영, 김문숙: *Listeria monocytogenes*의 증식을 억제하는 식용 가능한 식물 추출물의 검색. *한국식품과학회지*, **26**: 545 (1994).
  20. Beuchat, L.R. and Golden, D.A., Antimicrobials occurring naturally in foods. *Food Technol.* **43**: 134 (1989).
  21. Weaver, R.A. and Shelef, L.A., Antilisterial activity of sodium, potassium or calcium lactate in pork liver sausage. *J. Food Safety*, **13**: 133 (1993).
  22. Harrison, M.A., Huang, Y.W., Chao, C.H. and Shine-man, T., Fate of *Listeria monocytogenes* on packed, refrigerated, and frozen seafood. *J. Food Prot.*, **54**: 524 (1991).
  23. James, S.J. and Evans, J., Consumer handling of chilled foods: Temperature performance. *Rev. Int. Froid.*, **15**: 299 (1992).
  24. Lyman, J. and Fleming, R.H., Composition of sea water. *Marine research*, **3**: 134 (1940).
  25. Bracket, R.E., Presence and persistence of *Listeria monocytogenes* in food and water. *Food Technol.*, **42**: 162 (1988).
  26. Motes, M.L., Jr., Incidence of *Listeria* spp. in shrimp, oysters and estuarine waters. *J. Food Prot.*, **54**: 170 (1991).
  27. 奥積昌世, 堀江進, 今井賢二, 松原清子, 冷凍魚類のミクロフローラ. *食衛誌*, **15**: 22 (1974).
  28. Wong, H.C., Chao, W.L. and Lee, S.J., Incidence and characterization of *Listeria monocytogenes* in foods available in Taiwan. *Appl. Environ. Microbiol.*, **56**: 3101 (1990).