

Tryptic Soy Broth와 생선 Homogenate에 첨가한 Ethanol이 *Vibrio parahaemolyticus*의 증식과 생존에 미치는 영향

박 찬 성
경산대학교 식품과학과

Inhibition of *Vibrio parahaemolyticus* by Ethanol in Tryptic Soy Broth and Some Fish Homogenates

Chan-Sung Park
Dept. of Food Science, Kyungsan University, Kyungsan, 712-240, Korea

Abstract

The survival and growth of *Vibrio parahaemolyticus* in tryptic soy broth(TSB), flounder homogenate and oyster homogenate with 0 or 5% of ethanol was tested at -20, 5, 35, 45 and 50°C. Growth pattern of *V. parahaemolyticus* was similar in TSB and flounder homogenate but slightly poor in oyster homogenate at 35°C. Growth occurred at 5% ethanol, in TSB and flounder homogenate after a prolonged lag period but decreased in oyster homogenate during incubation at 35°C. TSB and fish homogenates containing 0 or 5% of ethanol were inoculated with 10^6 - 10^7 cells/ml of *V. parahaemolyticus* and cold or heat resistance of the cells were determined at -20, 5, 45 and 50°C. At 5°C, the viability in culture broth with 5% of ethanol or without ethanol was not vary with the culture broth. In the presence of 5% of ethanol at -20°C, cells of *V. parahaemolyticus* in flounder homogenate and oyster homogenate were more significantly inhibited than in TSB. The D-values for *V. parahaemolyticus* at 45 and 50°C was significantly lower in oyster homogenate than in TSB and flounder homogenate with 5% of ethanol or without ethanol. The D-values in each culture broth without ethanol were 1.9-3.5 times of that value in each culture broth containing 5% of ethanol at 45 and 50°C.

Key words: *Vibrio parahaemolyticus*, ethanol, fish homogenates, survival and growth, D-value

I. 서 론

세계 각국의 해산물에서 호염성 식중독세균^{1,3)}을 비롯한 coliform bacteria 및 enteric bacteria^{4,5)}, *Listeria*속 세균^{6,7)} 등 다양한 종류의 세균이 분리되고 있으며 해산물의 미생물학적 안전성에 관해 우려를 나타내는 많은 보고들^{8,10)}이 있다. 특히 해산물 생산량의 50% 이상이 연안해역에서 생산되고 있어 연안해수의 오염은 어패류의 안전성에 대단히 중요한 영향을 미치고 있기 때문에 해산물 섭취에 의한 세균학적 위험성이 높아지고 있다. 연안해역의 환경오염은 분변세균의 증가와 더불어 식중독세균의 검출율이 높은 것으로 보고되고 있으며¹¹⁾ Chun 등¹²⁾은 우리나라의 어패류에서 *V. parahaemolyticus*의 검출율이 생선에 비하여 높다고 보고하였다. 한편, 장¹³⁾은 우리나라 어패류의 식품 위생학적 안전성에 대하여 우리나라의 청정해역을 제외한 여타지역에서 세균 오염도가 높아서 여름철 연

안해수로부터 호염성의 장염, 패혈증의 원인이 되는 *Vibrio*균의 검출율도 높은 경향을 보이고 있어 어패류에 의한 세균성 식중독 사고의 위험성이 점차 높아지고 있다고 보고하였다.

어패류중 특히 굴은 연안해역에서 생산될 뿐만 아니라 filter feeding을 통하여 살고 있는 생물로서 서식 환경의 오염상태와 식중독세균에 의한 오염과 밀접한 관계가 있다. 세계의 여러나라에서는 굴의 세균학적 오염상태를 파악하기 위한 Microflora에 관한 연구보고^{14,16)}가 많으며 굴의 식중독세균 오염상태는 구미지역^{14,15)}에 비하여 일본에서의 경우¹⁶⁾가 *Vibrio* 검출율이 월등히 높아서 우리나라에서 생산되는 굴의 경우 일본과 비슷한 오염상태가 예상된다.

식중독 세균들의 증식을 억제시킬 수 있는 수단으로 대부분의 소비자들이 안전한 천연물의 사용을 희망하고 있어 각종 식용식물¹⁷⁻¹⁹⁾, 약초와 향신료²⁰⁻²²⁾ 및 ethanol^{23,24)} 등의 천연물에 의한 항균작용 연구가 활발

히 진행되고 있다. Shelef 등²⁰⁾은 0.3%의 sage나 rosemary에 의하여 Kanagawa 양성의 *V. parahaemolyticus*가 사멸하였다고 보고하였으며 Beuchat²¹⁾는 Oregano와 Thyme에 의한 *V. parahaemolyticus* 증식과 생존 억제효과를 보고하였다. 한편, Ethanol은 거의 모든 발효식품에 존재하는 성분으로서 세균, 효모, 곰팡이의 증식을 억제하는 소독제로서 이용되었으나 1970년대 이후 햄버거, 간장, sponge cake 등에 2-5% 첨가하여 식품의 shelf-life를 연장하는 보존제로 사용되었으며²²⁾ 저농도의 ethanol은 *V. parahaemolyticus*와 *L. monocytogenes* 등의 식중독세균의 증식과 생존을 억제시키는 효과를 나타낸 것으로 보고되고 있다^{23,24)}.

본 연구는 어패류에서 주로 분리되는 대표적 식중독 세균으로서 *V. parahaemolyticus*의 효율적인 제거방안을 모색하기 위하여 액체배지로서 tryptic soy broth (TSB)와 생선 homogenate에 5%의 ethanol을 함유하였을 때 TSB와 생선 homogenate의 종류에 따른 항균효과를 이 세균의 최적온도(35°C)와 저온(-20, 5°C) 및 고온(45, 50°C)에서 검토하였다.

II. 재료 및 방법

1. 시험균주

본 실험에 사용한 균주는 환자로부터 분리된 *Vibrio parahaemolyticus* 10136(Kanagawa +, serotype O4:K8)을 D.Brown(Division of Microbiology, U.S. Food and Drug Administration, Cincinnati, Ohio)으로부터 제공받아 사용하였다. 균주는 증식과 생존실험에 사용하기 전에 보존균주를 50% 인공해수(ASW)²⁵⁾로 조제한 tryptic soy agar(TSA, Difco) slant에 35°C에서 24시간씩 3회 계대배양하였다.

2. 광어, 굴 homogenate 및 배지의 조제

생선 homogenate는 어육 중량의 3배에 해당하는 50% ASW를 가하여 100°C에서 30분간 가열한 후 homogenizer로 10,000 rpm에서 3분간 분쇄하여 121°C에서 15분간 멸균하였으며 전배양 및 본배양을 위한 액체배지는 50% ASW tryptic soy broth(TSB, Difco)를 121°C에서 15분간 멸균하였다. 멸균한 생선 homogenate와 TSB에 ethanol(ethyl alcohol absolute)을 배지의 5%(v/v) 되게 첨가하였으며 ethanol을 첨가하지 않은 경우와 비교하였다. 생균수의 측정을 위한 고체배지는 50% ASW로 조제한 TSA를 121°C에서 15분간 멸균한 후 평판을 만들어 사용하였으며 생균수의 측정을 위하여 50% ASW를 균액의 회석액으로

사용하였다.

3. 세균의 접종과 배양

증식과 생존실험을 위하여 계대배양한 균주 1 배금 이를 50% ASW TSB 10 ml에 접종하여 35°C에서 16-18시간 배양하여 활성화시킨 균액을 적당한 농도로 회석하여 접종하였다. Ethanol을 함유하거나 함유하지 않은 광어, 굴 homogenate와 TSB 10 ml가 들어 있는 screw cap 시험관을 미리 각 실험온도에 보존하였으며 -20°C의 경우에는 시험관을 얼음에 채워 두었다가 세균을 접종하였다. 증식실험을 위하여 전배양 균액을 실험초기의 세균수가 약 10⁴ cells/ml 되게 접종한 후 35°C의 incubator에, 저온과 고온에서의 생존저해 실험에서는 실험초기의 세균수가 약 10⁶-10⁷ cells/ml가 되게 접종한 후 저온(-20, 5°C)의 경우는 가정용 냉장고(Hitachi R925CV)의 냉장실(5±1.5°C)과 냉동실(-20±2°C)에 저장하였으며 고온(45, 50°C)의 경우에는 시험관을 각 온도의 water bath속에 잠기도록 저장하였다.

4. 생균수 측정

각 온도에 저장중인 광어, 굴 homogenate와 TSB를 일정 시간 간격으로 철수하여 동결저장의 경우에는 흐르는 수도물로 해동시킨 후 생균수를 측정하였다. 생균수의 측정은 세균의 배양액 혹은 각 배양액의 10배 단계 회석액 0.1 ml를 50% ASW로 조제한 TSA 평판배지에 도말한 후 35°C의 incubator에서 2일간 배양하여 colony수를 측정한 후 배양액 ml 당의 colony forming unit(CFU/ml)로 나타내었다. 생균수 측정을 위한 회석액은 50% ASW를 사용하였다.

5. Decimal reduction time(D-value) 측정

45, 50°C에서의 생존억제 실험에서 50% ASW로 조제한 TSA에 평판도말하여 얻은 생균수로부터 각 저장온도별로 ethanol 농도에 따라 생균수가 90% 감소하는데 걸리는 시간(D-value)을 회귀직선법으로 구하였으며 Student's t-test로서 유의성을 검증하였다.

III. 결과 및 고찰

1. 최적온도에서 *V. parahaemolyticus*의 증식

Fig. 1은 TSB와 생선 homogenate에 ethanol을 함유하지 않은 경우(A)와 5%의 ethanol을 함유한 경우(B)에 생선 종류와 ethanol 함유에 따른 *V. parahaemolyticus*의 35°C에서의 증식곡선이다. 저장직전의 생

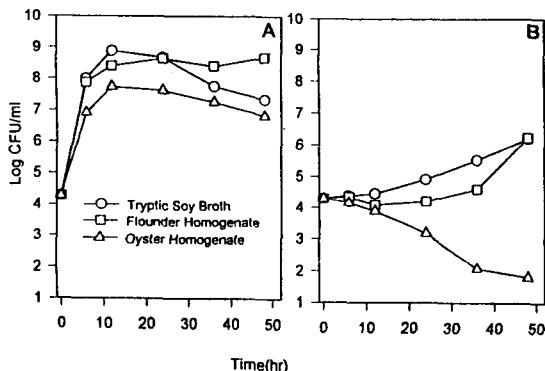


Fig. 1. Growth of *Vibrio parahaemolyticus* in tryptic soy broth, flounder homogenate and oyster homogenate at 35°C.
(A) without ethanol and (B) with ethanol 5%.

균수는 2.9×10^4 cells/ml였으며 ethanol을 함유하지 않은 경우에 TSB와 광어 homogenate에서 비슷한 속도로 증식이 빨랐으며 24시간 후에는 약 4.5×10^6 에 도달하였으나 굴 homogenate에서는 증식이 가장 느려서 TSB와 광어 homogenate에 비하여 생균수가 약 1 log cycle 정도 낮은 값을 나타내었다.

5%의 ethanol을 함유한 경우, TSB와 광어 homogenate에서 긴 유도기를 거친 후에 증식이 시작되어 48시간 후에는 1.6×10^6 으로 약 2 log cycle 증가된 반면에 굴 homogenate에서는 저장초기부터 계속적으로 생균수 감소를 나타내어 48시간 후에는 6.5×10^1 cells/ml에 불과하여 약 2.5 log cycle 감소하였다. Ethanol에 의한 항균작용은 Ballesteros 등²³⁾과 Shapero 등²⁴⁾ *S. aureus*에 대하여 3.5%wt의 ethanol 존재하에서 수분활성이 낮을수록 저농도의 ethanol에 의하여도 세균증식의 억제가 가능함을 보고하였으며 박^{26,27)}은 3-7%의 ethanol로서 *V. parahaemolyticus*와 *L. monocytogenes*의 증식이 억제됨을 보고하였다. 특히 본 실험의 결과 (Fig. 1)에서 굴 homogenate에서 ethanol에 의한 증식 억제작용이 가장 크게 나타난 점은 *Vibrio* 검출율이 월등히 높은 굴의 식중독세균의 제거를 위한 효율적 방안이 될 수 있을 것으로 예상된다.

2. 저온에서 Ethanol에 의한 생존억제효과

(1) 5°C에서 *V. parahaemolyticus*의 생존

TSB와 생선 homogenate에 ethanol을 함유하지 않은 경우(A)와 5%의 ethanol을 함유한 경우(B)에 생선 종류와 ethanol 함유에 따른 *V. parahaemolyticus*의 5°C에서 생존은 Fig. 2와 같다. 저장직전의 생균수는 $4.1-8.1 \times 10^6$ cells/ml였으며 ethanol을 함유하지 않은 경우(A), TSB와 광어 homogenate에서 비슷한 속도로 생균

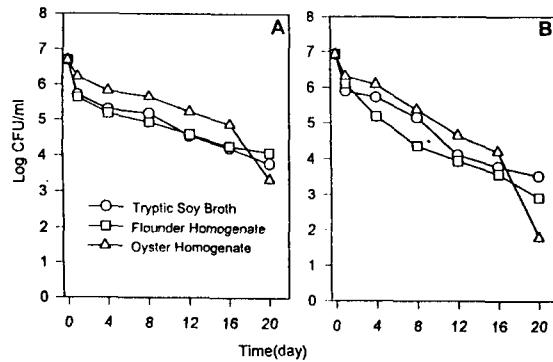


Fig. 2. Survival of *Vibrio parahaemolyticus* in tryptic soy broth, flounder homogenate and oyster homogenate at 5°C.
(A) without ethanol and (B) with ethanol 5%.

수가 감소하였으며 저장 20일간 2.5-2.9 log cycle 감소하였다. 그러나 굴 homogenate에서는 저장초기부터 저장 16일까지 TSB와 광어 homogenate에 비하여 약 0.5 log cycle 높은 생균수를 나타내었으나 저장 16일과 20일 사이에 큰 폭으로 감소하였다.

TSB와 광어 homogenate에 5%의 ethanol을 함유한 경우(B), *V. parahaemolyticus*의 생존은 ethanol을 함유하지 않은 경우(A)와 비슷한 생균수의 감소 경향을 나타내었으나 생균수의 감소속도는 TSB에서 가장 차이가 적어서 저장 20일 후의 생균수는 ethanol을 함유하지 않은 경우에 비하여 약 0.5 log cycle 낮은 값을 나타내었다. 광어와 굴 homogenate에서 저장 20일 후의 생균수는 ethanol을 함유하지 않은 경우에 비하여 약 1.5 log cycle 낮은 값을 나타내었다.

(2) -20°C에서 *V. parahaemolyticus*의 생존

Fig. 3은 -20°C에서 TSB와 생선 homogenate에 ethanol을 함유하지 않은 경우(A)와 5%의 ethanol을 함유한 경우(B) *V. parahaemolyticus*의 생균수 변화이다. 저장직전의 생균수는 $4.6-6.6 \times 10^6$ cells/ml였으며 ethanol을 함유하지 않은 경우(A)에 TSB와 광어 homogenate에서 비슷한 경향으로 생균수가 감소하였다. 저장 16일간 생균수의 감소는 각각 3.4, 2.8 log cycle로서 TSB에서 생균수는 저장초기부터 저장말기까지 광어 homogenate에 비하여 약 0.5 log cycle 낮은 값을 나타내었다. 그러나 굴 homogenate에서는 저장초기부터 비교적 빠른 속도로 생균수가 감소하였는데 저장 16일간 5.1 log cycle의 감소하여 TSB와 광어 homogenate에 비하여 1.5-1.8배의 생균수 감소를 나타내었다.

5%의 ethanol을 함유한 경우(B)에는 저장초기부터 생균수의 감소가 빨라서 TSB에서 저장 16일동안 약 5 log cycle 감소하였으며 광어와 굴 homogenate에서

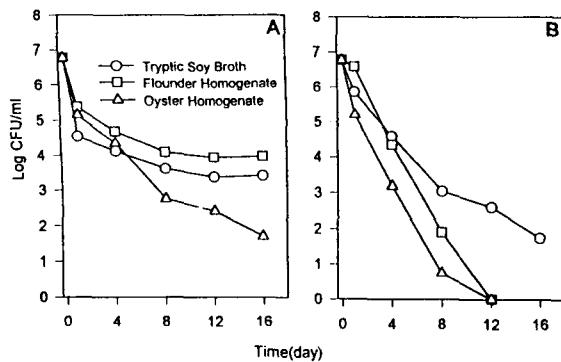


Fig. 3. Survival of *Vibrio parahaemolyticus* in tryptic soy broth, flounder homogenate and oyster homogenate at -20°C.
(A) without ethanol and (B) with ethanol 5%.

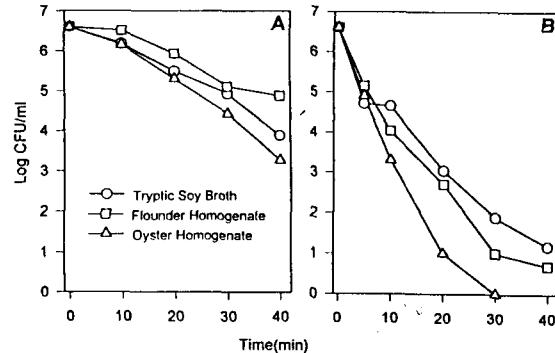


Fig. 4. Survival of *Vibrio parahaemolyticus* in tryptic soy broth, flounder homogenate and oyster homogenate at 45°C.
(A) without ethanol and (B) with ethanol 5%.

는 TSB에 비해 더욱 빠른 속도로 감소하여 저장 12일에 모두 사멸하였다. 이와 같이 동결저장에서 ethanol에 의한 효율적인 항균효과는 Takano 등²³⁾이 laurate와 그 유도체 및 여러가지 화합물을 액체배지에 첨가하여 Gram 양성균과 Gram 음성균을 동결저장 하였을 때 이들 화합물이 우수한 항균효과를 나타낸 것과 같은 효과로 생각된다.

본 실험의 결과에서 냉장(5°C)과 동결저장(-20°C)은 *V. parahaemolyticus*의 제거를 위한 효율적 방안으로 생각되며 저온저장에서 ethanol 첨가는 이 세균의 제거효과를 증대시킬 수 있는 효율적인 방법이 될 것으로 예상된다. 뿐만아니라 5%의 ethanol을 첨가한 생선 homogenate에서 TSB에 비해 더욱 큰 항균효과를 나타낸 본 실험결과는 ethanol을 식품에 사용할 때 더욱 효율적인 항균제가 될 수 있음을 입증하는 것으로 생각된다.

3. 고온에서 Ethanol에 의한 생존억제효과

(1) 45°C에서 *V. parahaemolyticus*의 생존

*V. parahaemolyticus*를 45°C에 저장하였을 때 TSB와 생선 homogenate에 ethanol을 함유하지 않은 경우(A)와 5%의 ethanol을 함유한 경우(B)의 생존은 Fig. 4와 같다. 저장직전의 생균수는 $3.7\text{-}4.2 \times 10^6 \text{ cells/ml}$ 였으며 ethanol을 함유하지 않은 경우(A), 40분간의 저장에서 TSB, 광어, 굴 homogenate에서 각각 2.7, 1.7, 3.3 log cycle 감소하여 광어 homogenate에서 생존율이 가장 높았으며 굴 homogenate에서는 광어에 비해 약 2배의 생균수 감소를 나타내었다.

5%의 ethanol을 함유한 경우(B)에는 저장초기부터 생균수의 감소가 빨라서 TSB에서 저장 40분 동안 약 5.4, 광어 homogenate에서 5.9 log cycle 감소하였다.

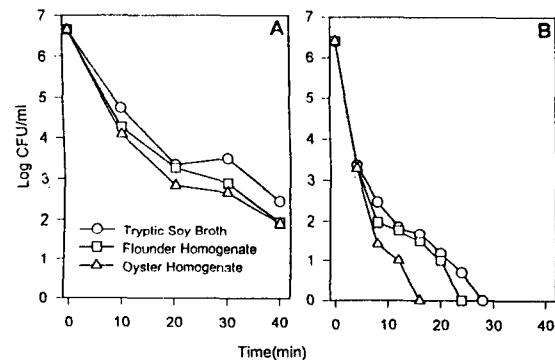


Fig. 5. Survival of *Vibrio parahaemolyticus* in tryptic soy broth, flounder homogenate and oyster homogenate at 50°C.
(A) without ethanol and (B) with ethanol 5%.

굴 homogenate에서는 생균수의 감소속도가 가장 빨라서 저장 30분 후에 사멸하였다. 박²⁷⁾은 *L. monocytogenes*를 TSB에 5%의 ethanol을 첨가하여 45°C에서 120분간 저장하였을 때 1.7 log cycle 감소한 것으로 보고하였는데 본 실험 결과에서 종온균의 생육 최고온도³⁰⁾인 45°C에서 *V. parahaemolyticus*가 이와 같이 큰 생균수의 감소를 나타낸 것은 본 실험에 사용한 균주가 열에 대한 내성이 대단히 약한 특성을 가진 것으로 추정된다.

(2) 50°C에서 *V. parahaemolyticus*의 생존

Fig. 5는 생선 homogenate와 TSB에 ethanol을 함유하지 않은 경우(A)와 5%의 ethanol을 함유한 경우(B)에 *V. parahaemolyticus*의 생균수의 변화이다. Ethanol을 함유하지 않은 경우(A), 40분간의 저장에서 TSB, 광어, 굴 homogenate에서 생균수의 감소는 각각 4.2, 4.7, 4.7 log cycle로서 큰 차이없이 비슷한 경향을 나타내었다.

Table 1. D-value and regression values for *V. parahaemolyticus* incubated at 45 and 50°C

Temp. (°C)	Ethanol (%)	culture broth	slope	Y-intercept	Determination coefficient (r^2)	D-value (min) ^d
45	0	TSB	-0.0669	6.754	0.976	14.94 ^a
		FH	-0.0484	6.774	0.943	20.66 ^a
		OH	-0.0840	6.828	0.978	11.90 ^a
	5	TSB	-0.1277	5.914	0.948	7.83 ^b
		FH	-0.1475	5.947	0.949	6.78 ^b
		OH	-0.2205	6.027	0.955	4.54 ^b
50	0	TSB	-0.0962	6.054	0.880	10.40 ^a
		FH	-0.1079	5.954	0.903	9.30 ^b
		OH	-0.1090	5.802	0.859	9.20 ^b
	5	TSB	-0.1852	4.803	0.833	5.40 ^c
		FH	-0.2176	4.893	0.817	4.60 ^c
		OH	-0.3775	5.438	0.892	2.65 ^c

TSB: tryptic soy broth, FH; flounder homogenate, OH; oyster homogenate.

^aFor each temperature, values with the different letter in column are significantly different ($p < 0.05$).

^bD-values were calculated by linear regression of Fig. 4 and 5. Calculated mean value from two experiments in which at least four dwell times were used for linear regression analysis. Three replicates enumerated for each dwell time.

5%의 ethanol을 함유한 경우(B)에는 저장초기부터 생균수의 감소가 급격하였으며 저장초기의 4분동안 TSB, 광어, 굴 homogenate에서 모두 3 log cycle 이상 감소하였다. 이후부터 생균수의 감소속도에 차이를 나타내어 TSB에서 28분, 광어 homogenate에서 24분, 굴 homogenate에서 16분 후에 각각 사멸하여 굴 homogenate에서 가장 빠른 속도로 생균수가 감소하였다.

Fig. 4와 5의 결과에서 *V. parahaemolyticus*는 45-50°C에서도 높은 사멸율을 나타내었는데 Shultz 등³¹은 *V. cholerae*, Delmore와 Crisley³²는 *V. parahaemolyticus*, Cook와 Rupple³³은 *V. vulnificus*에 대하여 열에 대한 내성을 조사한 결과, *Vibrio*속 세균들이 공통적으로 열에 대하여 대단히 약한 세균임이 확인되었다. 본 실험의 결과로 볼때 식품에 함유된 *V. parahaemolyticus*는 적절한 가열조리에 의해 쉽게 사멸될 수 있을 것으로 생각되며 저농도의 ethanol 첨가는 보다 더 낮은 가열 온도와 더욱 짧은 가열시간내에 식품의 품질을 저하시키지 않고 세균을 제거시킬 수 있는 효율적 방법이 될 수 있을 것으로 기대된다.

Table 1은 *V. parahaemolyticus*를 45°C와 50°C에 저장하였을 때의 생균수변화(Fig. 4, 5)로부터 decimal reduction time(D-value)을 계산한 결과이다.

45°C에서 ethanol을 함유하지 않았을 때의 D-value는 광어 homogenate에서 20.66분으로서 가장 커으며 굴 homogenate에서 11.90분으로 가장 작았다. Ethanol을 함유하지 않은 경우의 D-value는 ethanol을 함유한 경우에 비하여 1.9-3배 큰 값을 나타내었다. 50°C의 경우에는 ethanol을 함유하지 않았을 때의 D-value가 각각

TSB 10.40, 광어 homogenate 9.30, 굴 homogenate 9.20분으로서 각 시료간에 큰 차이를 나타내지 않았다. 그러나 5%의 ethanol을 함유했을 경우, D-value는 각각 TSB 5.40, 광어 homogenate 4.60, 굴 homogenate 2.65분으로서 각 시료간에 큰 차이를 나타내었다. 50°C에서 ethanol을 함유하지 않은 경우의 D-value는 ethanol을 함유한 경우에 비하여 각각 TSB에서 1.9배, 광어 2배, 굴 homogenate에서 3.5배로서 45°C에서 ethanol 첨가에 의한 D-value의 감소율과 비슷한 효과를 나타내었다.

IV. 요 약

Tryptic soy broth(TSB)와 광어, 굴 homogenate에 ethanol을 함유하지 않은 경우와 5%의 ethanol(v/v)을 함유한 경우에 ethanol이 *V. parahaemolyticus*의 증식과 생존에 미치는 영향을 이 세균의 최적온도(35°C)와 저온(-20, 5°C) 및 고온(45, 50°C)에서 검토하였다. 35°C에서의 *V. parahaemolyticus*의 증식은 TSB와 광어 homogenate에서 빨랐으나 굴 homogenate에서 약간 느렸다. 5%의 ethanol 존재하에서는 TSB와 광어 homogenate에서 진 유도기를 거친 후에 증식이 시작되었으나 굴 homogenate에서는 저장초기부터 계속 생균수가 감소하였다. 5%의 ethanol을 함유한 것과 ethanol을 함유하지 않은 액체배지에 $10^6\text{-}10^7$ cells/ml의 *V. parahaemolyticus*를 접종하여 저온(5, -20°C)과 고온(45, 50°C)에 저장하면서 ethanol에 의한 생존억제 작용을 조사하였다. 5°C에서 ethanol을 함유한 것과 ethanol을 함유하지 않은 액체배지에서 시료간의 생균

수는 현저한 차이가 없었으나 -20°C에서는 5%의 ethanol 존재하에서 광어와 굴 homogenate에서 *V. parahaemolyticus*의 생존이 TSB에 비하여 현저히 억제되었다. 45°C와 50°C에서 D-value는 ethanol을 함유하지 않은 경우와 5%의 ethanol을 함유한 경우 모두에서 굴 homogenate가 TSB와 광어 homogenate에 비하여 가장 낮은 값을 나타내었다. 45°C와 50°C에서 ethanol을 함유하지 않은 각 액체배지에서의 D-value는 5%의 ethanol을 함유한 각각의 액체배지에서의 D-value보다 1.9-3.5배 높은 값을 나타내었다.

참고문헌

- Hackney, C.R., Ray, B. and Speck, M.L.: The incidence of *Vibrio parahaemolyticus* in and the microbiological quality of seafood in North Carolina. *J. Food Prot.* **43**: 769 (1980).
- Klontz, K.C., Williams, L., Baldy, L.M. and Campos, M.: Raw oyster-associated *Vibrio* infections: Linking epidemiologic data with laboratory testing of oysters obtained from a retail outlet. *J. Food Prot.* **56**: 977 (1993).
- Trudi, N.G. and Oliver, J.D.: Interaction of *Vibrio vulnificus* and the eastern Oyster, *Crassostrea virginica*. *J. Food Prot.* **57**: 224 (1994).
- Cole, M.T., Kilgen, M.B., Reily, L.A. and Hackney, C.R.: Detection of enteroviruses and bacterial indicators and pathogens in Louisiana oysters and their overlying waters. *J. Food Protect.* **49**: 596 (1986).
- Sobsey, M.D., Hackney, C.R., Carrick, R.J., Ray, B. and Speck, M.L.: Occurrence of enteric bacteria and viruses in oysters. *J. Food Protect.* **43**: 111 (1980).
- Stephen, D., 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 (1988).
- Ronda, M.D. and Patel, T.R.: *Listeria* in seafoods: A review. *J. Food Prot.* **55**: 1009 (1992).
- Liston, J.: Microbial hazards of seafood consumption. *Food Technol.* **44**: 104 (1990).
- Abott, S.L., Powers, C., Kaysner, C.A., Takeda, Y., Ishibashi, M., Joseph, S.W. and Janda, J.M.: Emergence of a restricted bio-serovar of *Vibrio parahaemolyticus* as the predominant cause of *Vibrio*-associated gastroenteritis on the west coast of the United States and Mexico. *J. Clin. Microbiol.* **27**: 2891 (1989).
- Blake, P.: Diseases of humans (other than cholera) caused by *Vibrios*. *Ann. Rev. Microbiol.* **34**: 341 (1980).
- Martinez-Manzanares, E., Moringo, 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 Protect.* **55**: 609 (1992).
- Chun, D., Chung, J.K., Seol, S.Y. and Tak, R.: *Vibrio parahaemolyticus* in the Republic of Korea. *Am. J. Trop. Med. and Hyg.* **23**: 1125 (1974).
- 장동석: 식품위생학적으로 본 어패류의 안전성. *한국 영양식량학회지*, **19**: 530 (1990).
- Colwell, R.R. and Liston, J.: Microbiology of shellfish. Bacteriological study of the natural floral of Pacific oysters (*Crassostrea gigas*). *Appl. Environ. Microbiol.* **8**: 104 (1960).
- Kampelmacher, E.H., Jansen, L.M.N.: A survey of *Vibrio parahaemolyticus* and *V. alginolyticus* on muscle and oyster and in estuarine waters in the Netherlands. *J. Appl. Bact.* **35**: 431 (1972).
- 奥積昌世, 中泉洋, 小池宏幸: カキの細菌フローラ. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.* **45**: 1189 (1979).
- Kyung, K.H. and Fleming, H.P.: Antibacterial activity of cabbage juice against lactic acid bacteria. *J. Food Sci.* **59**: 125 (1994).
- 이갑득, 서연찬, 박상신, 민태진: 버섯중 항균물질의 검색 및 개발에 관한 연구 -곰팡이에 대한 항균물질의 검색(1보)-, *한국균학회지*, **23**: 37 (1995).
- 박상신, 이갑득, 민태진: 버섯중 항균물질의 검색 및 개발에 관한 연구 -그람음성균 및 곰팡이에 대한 항균물질의 검색(2보)-, *한국균학회지*, **23**: 176 (1995).
- Shelef, L.A., Naglik, O.A. and Bogen, D.W.: Sensitivity of some common foodborne bacteria to the spices sage, rosemary, and allspice. *J. Food Sci.* **45**: 1042 (1980).
- Beuchat, L.R.: Sensitivity of *Vibrio parahaemolyticus* to spices and organic acids. *J. Food Sci.* **41**: 899 (1976).
- Zaika, L.L.: Spices and herbs: Their antimicrobial activity and its determination. *J. Food Safety*, **9**: 97 (1988).
- Ballesteros, S.A., Chirife, J., and Bozzini, J.P.: Antibacterial effects and cell morphological changes in *Staphylococcus aureus* subjected to low ethanol concentrations. *J. Food Sci.*, **58**: 435 (1992).
- Shapero, M., Nelson, D.A. and Labuza, T.P.: Ethanol inhibition of *Staphylococcus aureus* at limited water activity. *J. Food Sci.*, **43**: 1467 (1978).
- Shibusaki, I.: Food preservation with nontraditional antimicrobial agents. *J. Food Safety*, **4**: 35 (1982).
- 박찬성: Hackney, C.R., 저농도의 Ethanol o] *Vibrio parahaemolyticus*의 증식과 생존에 미치는 영향. *한국 조리과학회지*, **11**: 153 (1995).
- 박찬성: 저농도의 Ethanol에 의한 *Listeria monocyt-*

- genes*의 증식과 생존억제. 한국조리과학회지, 11(4) (1995) 투고중.
28. Lyman, J. and Fleming, R.H., Composition of sea water. *Marine research*, 3: 134 (1940).
 29. Takano, M., Simbol, A.B., Yasin, M. and Shibasaki, I., Bactericidal effect of freezing with chemical agents. *J. Food Sci.*, 44: 112 (1979).
 30. Lee, J.S., What seafood processors should know about *Vibrio parahaemolyticus*. *J. Milk Food Technol.*, 36: 405 (1973).
 31. Shultz, L.M., Rutledge, J.E., Grodner, R.M. and Biede, S.L., Determination of the thermal death time of *Vibrio cholerae* in blue crabs (*Callinectes sapidus*). *J. Food Prot.* 47: 4 (1984).
 32. Delmore, R.P., and Crisley, F.D., Thermal resistance of *Vibrio parahaemolyticus* in clam homogenate. *J. Food Prot.* 42: 131 (1979).
 33. Cook, D.W. and Ruple, A.D.: Cold storage and mild heat treatment as processing aids to reduce the numbers of *Vibrio vulnificus* in raw oysters. *J. Food Prot.* 55: 985 (1992).

(1995년 12월 1일 접수)