

## 식품접촉물질에 부착된 *Listeria monocytogenes*의 증식 및 제거에 관한 연구

윤희정 · 고영립\*† · 나승식 · 이응욱

서울대학교 보건대학원  
\*서울보건대학 환경위생과

## Studies on Growth and Decontamination of *Listeria monocytogenes* Attached to Food Contact Surface Materials

Hee Jeong Yun, Young Lim Kho\*†, Seung Sik Na and Yong Wook Lee

Graduate School of Public Health, Seoul National University

\*Department of Environmental Health, Seoul Health Junior Colledge

(Received 3 January 2001 ; Accepted 30 February 2001)

### ABSTRACT

Microorganisms can attach firmly to food contact surface material and the resistance of adherent bacteria differ markedly from planktonic cells. Therefore, adherent cells are a potential contamination problem to the food preparation because of their high resistance to sanitation and heat treatment. This study was carried out in order to investigate growth and decontamination of *Listeria monocytogenes* attached to stainless steel, glass and plastic. *Listeria monocytogenes* cells could attach to all types of surface at three temperatures after contact times for 24 hrs. The numbers of adherent cells were greater at higher temperatures, but not increased with incubation time. When recovery of adherent cells was investigated, after 24 hrs, the numbers of adherent cells were about  $10^7$ ,  $10^{10}$ ,  $10^{11}$  at 4°C, 25°C, 30°C respectively. Planktonic cells decreased by 2 log cycles after exposure to the domestic sanitizer. Adherent cells showed high resistance to domestic sanitizers and that was dependent upon surface materials studied, being greatest on plastic followed by stainless steel and glass. Adherent cells were more resistant to heat treatment than planktonic cells. When adherent cells were exposed to the temperature of 50°C, 55°C, 57.5°C for 10 min, their populations did not decrease significantly. When the temperature increased to 60°C, cells attached to all types of surfaces were completely inactivated for 10 min.

**Keywords :** *Listeria monocytogenes*, Adherent cell, Stainless steel, Plastic, Glass, Domestic sanitizer, Heat treatment

### I. 서 론

식품위생기술의 발달 및 환경위생의 개선에도 불구하고 전세계적으로 식중독의 발생은 증가하고 있다. 우리나라의 경우도 1980년 이후 세균성식중독이 지속적으로 증가하였는데,<sup>1,2)</sup> 이는 세균성 식중독 관리의 어려움을 보여주는 것이다. 식중독의 발생요인은 매우 다양하게 나타나지만 우리나라는 일본에 비해 가정에서의 식중독 발생률이 높는데,<sup>3)</sup> 이는 가정에서의 식품 처리에 많은 문제점이 있다는 것을 알려준다. 우리나라는 아직

재래식 시장에서 씻기와 다듬기와 같은 전처리가 행해지지 않고 판매되는 식품이 많은 비율을 차지하며, 최근에는 수입식품의 급증으로 시판되는 원재료의 미생물학적 안전성을 검증받는데 많은 어려움이 있다. 또한, 근래의 여러 자료는 이미 시판되는 식품에서 식중독의 원인될 수 있는 세균들이 다량 검출되고 있음을 말해준다.<sup>4,6)</sup> 원재료 또는 조리된 식품 내의 세균들은 식품접촉표면에 쉽게 부착할 수 있으며, 이 부착된 세균들이 증식하여 식중독을 일으킬 수 있다.

Biofilm이란 액체속에 담겨진 물질의 표면에 부착된 미생물이 그 표면에서 번식하면서 체외방출물(extracellular polymer)을 생산하고, 이러한 물질들과 미생물이 얽혀서 탄수화복합물질(glycocalyx)을 형성하며 이 속에서 미생물들이 자라서 microcolony를 형성하여

†Corresponding author : Department of Environmental Health, Seoul Health Junior Colledge  
Tel: 031-740-7142, Fax: 031-740-7269  
E-mail: ylkho@shjc.ac.kr

생성된 유기물질의 얇은 막을 말한다.<sup>8)</sup> 따라서 biofilm 속에 존재하는 세균들은 부유 세균(planktonic cell)과는 성장속도, 세포벽의 구조 및 조성, 면역학적 성질, 효소 활성, 항균제에 대한 감수성 등의 성질이 매우 다르다.<sup>9)</sup> 이는 탄수화복합물질(glycocalyx)이나 biofilm에 의해 그 속에 존재하는 미생물이 위생세제, 항생물질, 그리고 항체의 공격에 영향을 받지 않거나 적게 받게 하는 방패 역할을 함으로써 위생세제 등 항미생물질들의 효력을 크게 저하시키기 때문이다.<sup>10)</sup> 따라서 식품접촉표면의 biofilm은 식품가공공정이나 조리시에 병원성세균의 중요한 저장소 역할을 하므로,<sup>9)</sup> biofilm 내부의 세균들은 저항성의 증가로 세척에 의해 제대로 제거되지 않으므로, 재증식하여 식품의 안전에 큰 위협요소가 될 수 있다.

*Listeria monocytogenes*는 환경에 널리 퍼져 있는 중요한 병원성 세균이며<sup>11)</sup> 특히, 저온에서의 증식능력은 보건학적으로 중요한 의의<sup>12)</sup>를 가지고 열에 대한 저항성도 가진다. 이 균은 다양한 경로를 통해 식중독을 일으키며, 특히 당뇨병·백혈병 환자 및 신생아·임신부 등에 발병하기 쉽고 치사율은 30%이상으로 감염되면 폐혈병증세, 뇌막염 또는 뇌염을 일으키는<sup>6)</sup> 식품위생학적으로 매우 중요한 식중독 균이다.

*Listeria monocytogenes*는 스테인레스 스틸이나 유리, 플라스틱등의 여러 식품접촉물질에 강하게 부착<sup>12-15)</sup>될 수 있으며, 이 부착된 세균은 이들의 세척 저항성 때문에 식품에 중요한 영향을 미치게 된다.<sup>9,15,16)</sup> Herard와 Zottola는 *Listeria monocytogenes*가 다양한 pH와 온도 범위의 영양배지에서 스테인레스 스틸의 표면에 잘 부착된다고 하였다.<sup>17,18)</sup> 이렇게 부착된 *Listeria monocytogenes* 역시 다른 미생물과 같이 화학적 세제 등에 저항성을 가진다고 하였다.<sup>9,14,15,18-20)</sup>

그러나 지금까지의 연구는 식품가공공정에서 분체될 수 있는 부착미생물과 공장용 세제에의 저항성에 중점을 두었으며, 가정내에서 사용되는 다양한 식품접촉표면의 교차오염에 의한 식중독 유발 가능성은 어느정도이며, 이에 따라 가정내에서 취할 수 있는 예방법은 어떠한 것인지에 대한 연구는 아직 보고된 바가 없는 실정이다.

본 연구의 목적은 식품중에 널리 존재하는 *Listeria monocytogenes*가 실온이나 냉장온도에서 유리, 스테인레스 스틸, 플라스틱과 같은 식품접촉 표면에 부착되고 증식되는 정도를 알아보고, biofilm을 형성한 *Listeria monocytogenes*가 가정내에서 사용하는 세제에 대해 저항성을 가지는가를 조사하였으며, 열처리능 biofilm의 제거에 어떠한 영향을 미치는지를 알아보아

가정내 유해 biofilm의 제거를 위한 기초자료를 제공하고자 하였다.

## II. 실험재료 및 방법

### 1. 실험재료

#### (1) 실험 균주 및 실험균액의 제조

본 실험에 사용한 *Listeria monocytogenes*는 서울대학교 수의과대학 미생물학교실에서 1997년 시판 식육에서 분리한 것을 분양받아, tryptic soy broth, 37% glycerol, 1% peptone 배지에 진하게 부유시켜 -70°C에 동결보관하였다. 시험용 균은 tryptic soy agar (Difco)에 도말하여 35±1°C, 48시간 배양한 후 4°C에 냉장보관하고 7일마다 계대배양시키면서 사용하였다. 실험에 사용할 때에는 계대배양시킨 균주를 nutrient broth에 접종하여 25°C에서 24시간동안 200 rpm으로 진탕배양(Shaking incubator, Vision Scientific Co., Ltd.)하여 사용하였다.

#### (2) 식품접촉재료의 제조

식품접촉재료는 실생활에서 널리 사용되는 유리, 플라스틱(내열성을 가진 polyethylene) 및 스테인레스 스틸을 시험하였다. 이 조각들은 1×1 cm 크기로 자른 후, 이물질 제거를 위해 아세톤으로 닦아내고 초음파세척기로 30분 동안 세척한 후 증류수에 하루 동안 담그어 두고, 공기건조시킨 후 121°C에 15분간 멸균하여 사용하였다.

#### (3) 가정용 주방 세제 용액의 제조

가정용 주방세제는 일반 가정내에서 사용되는 일반 주방세제 sanitizer I(제품명: 풍풍, 제조회사: LG), sanitizer II(제품명: 트리오, 제조회사: 에경)와 항균세제(antibacterial sanitizer, 제품명: 크리어, 제조회사: 에경)를 사용하였다. 각 세제는 권장량의 10배가 되도록 3차 증류수에 희석한 후 stock solution을 만들어 거품이 제거되도록 하루 이상 실온에 보관 후, 실험시에 권장량에 알맞은 농도로 희석하여 사용하였다. Sodium pyrrithione 용액은 1%의 stock solution을 만든 후, 예비 실험을 통하여 부유 세균(planktonic solution)에 효과적인 저해(99.99% 이상)를 보이는 농도를 실험에 적용하였다.

### 2. 실험방법

본 연구에서는 *Listeria monocytogenes*가 식품접촉물질인 유리, 플라스틱, 스테인레스스틸에 부착되고 증식되는 정도를 측정하고, 일반가정용세제 및 열처리에 의한 균량의 변화를 조사하기위해 다음과 같이 실험을 수행하였다.

(1) 식품접촉표면에 *Listeria monocytogenes*의 부착 정도 측정

30ml용량의 유리병에 nutrient broth를 20 ml씩 분주하고, 121°C에서 15분간 멸균한 후 멸균된 조각들을 3개씩 각각 핀셋으로 무균적으로 넣고, 배양된 균액을 0.2 ml씩 접종한 후, 4°C, 20°C 및 35°C에서 24시간 진탕배양하고, 4°C와 20°C는 7일까지 보관하면서, 각각 1일, 3일, 7일에 조각들을 무균적으로 채취하고 증류수 5 ml로 씻어내어 묻어있는 세균을 제거한 후 부착된 균수를 측정하였다.

(2) 부착된 *Listeria monocytogenes*의 재증식 정도 측정

위와 같은 방법으로 만들어진 조각이 들어있는 nutrient broth를 35°C에 24시간 동안 진탕배양하여 표면에 균을 부착시킨 후 조각들을 무균적으로 채취하여 증류수 5 ml로 씻어내고, 다시 nutrient broth 10 ml가 들어있는 시험관에 넣어 4°C, 20°C, 35°C에서 24시간 동안 재증식시켜 균수를 측정하였다.

(3) 부착된 *Listeria monocytogenes*의 세제에 대한 저항성 측정

균이 부착된 조각들을 무균적으로 채취하여 증류수 5 ml로 씻어내어 묻어있는 균을 제거시킨 후, 각종 세제의 사용적정농도에 1시간 동안 실온에서 진탕배양하면서 노출시키고, pyriithione은 24시간 노출시켜 남아있는 부착균수를 측정하였다.

(4) 부착된 *Listeria monocytogenes*에 열처리가 미치는 영향 측정

균이 부착된 조각들을 무균적으로 채취하여 증류수 5 ml로 씻어내고 항온수조에 nutrient broth가 든 시험관을 넣어 온도가 각각의 일정온도를 유지하게 되었을 때 균이 부착된 조각들을 무균적으로 시험관에 넣고 각각 50°C, 55°C, 57.5°C, 60°C에서 10분간 처리한 다음 바로 얼음에 냉각시키고 균수를 측정하였다.

(5) 부착된 세균수의 측정

부착된 세균수의 측정은 Krysinski등<sup>13)</sup>의 방법을 따랐다. 균이 부착된 조각들은 직경 1 mm의 glass bead가 들어있는 nutrient broth 10 ml에 넣고 2분간 vortexing 하였다. 부착된 세균을 떨어뜨린 후 멸균생리식염수로 10배 단계 희석하고 각 단계 희석액을 tryptic soy agar가 담긴 페트리디쉬에 0.1 ml씩 도말하였다. 이 평판을 35±1°C에서 48시간 배양하고 집락계수기로 집락수를 세어 3개의 평균치를 산출하였다. 그 평균치는 각 조각의 표면적으로 나누어져 면적당 균수의 대수(log10 CFU/cm<sup>2</sup>)를 취하였다.

(6) 데이터의 분석 및 통계처리

각 평균치가 조각의 종류와 온도에 따라 통계적으로 유의한 차이가 있는지를 알아보기 위해 ANOVA test와 Duncan multiple-range test를 실시하여 분석하였다. 각 통계처리는 SPSS를 사용하였다.

### III. 결과 및 고찰

#### 1. *Listeria monocytogenes*의 식품접촉표면에서의 부착

먼저 각종 표면에 *Listeria monocytogenes*의 부착 정도를 측정해 보았는데, 실험시 균액이 표면에 골고루 부착하도록 하기 위하여 넣은 용기를 100 rpm으로 진탕배양하였다. Stone 등<sup>21)</sup>은 환경적 충격없이 고정적 상태로 배양한 것과 진탕배양한 것의 부착량에는 유의한 차이가 없는 것으로 보고하였으므로 실제 식기에 식품을 담아 보관하는 상황과 유의한 차이는 없는 것으로 간주하였다. 또한 표면의 각종 균의 부착은 표면이 균 노출이전에 접촉된 용액의 성질이나 배양액의 종류에 따라 달라진다<sup>22)</sup>는 보고가 있어, 본 실험에서는 실험직전 조각들을 초음파세척하고 멸균한 후 공기건조시켜 사용하여 노출이전의 효과를 극소화시켰다.

각종 표면에 *Listeria monocytogenes*의 부착 정도를 측정해 본 결과는 Table 1과 같은데, 4°C, 20°C, 35°C 모두에서 24시간 이내에 10<sup>4</sup>-10<sup>5</sup> log CFU/cm<sup>2</sup>의 균량에 달하였으며, 온도가 증가함에 따라 부착량도 증가하였다(p<0.001). 특히 유리(P<0.05)와 플라스틱(P<0.001)은 온도가 증가함에 따라 부착량이 유의하게 증가하였다. 4°C의 부착량이 상대적으로 높게 나타났는데, 이는 우리가 식품을 식기에 담아 냉장고에 보관한다 하더라도 그 식품이 *Listeria monocytogenes*와 같은 저온성 세균에 오염될 경우 식기에 세균이 상당량 부착되어 식품위생상의 위해를 일으킬 수 있다는 사실을 알려준다.

**Table 1.** Adherent cell formation of *Listeria monocytogenes* - Chips are incubated at 4, 20 and 35 in nutrient broth for 24 hr. A

Temp.	Planktonic cells	Adherent cell <sup>B</sup>		
		Glass	Plastic	Stainless steel
4	7.37 ± 0.45 <sup>C</sup>	4.06 ± 0.10 <sup>A</sup>	4.48 ± 0.16 <sup>A</sup>	4.90 ± 0.40 <sup>A</sup>
20	8.94 ± 0.05	4.66 ± 0.59 <sup>A</sup>	4.68 ± 0.13 <sup>A</sup>	5.16 ± 1.02 <sup>A</sup>
35	10.87 ± 0.22	5.91 ± 0.07 <sup>B</sup>	5.50 ± 0.07 <sup>B</sup>	5.68 ± 0.03 <sup>A</sup>

<sup>A</sup> Values shown are means ± SD.

<sup>B</sup> Within columns(except planktonic cells), values followed by different lower-case superscripts are significantly different (P<0.05 ; N=3)

<sup>C</sup> Cell numbers expressed as planktonic cells=log10 CFU/ml  
adherent cells=log10 CFU/cm<sup>2</sup>

Alcier 등<sup>12)</sup>에 의하면, *Listeria monocytogenes*는 20°C 나 4°C에서 짧은 접촉시간에도 각종 표면에 부착되었다고 하였으며, Scanning electron microscopy로 관찰한 결과 스테인레스 스틸은 흠이나 틈이 많이 관찰되었고, 유리의 표면은 매우 매끄러웠으나 세균이 침입할 수 있는 균함과 패임이 많이 관찰되었다. 플라스틱의 표면 역시 매끄럽지만, 작은 구멍들이 관찰되었다고 하였다. 그러나, 표면의 울퉁불퉁한 정도와 부착률은 상관관계가 없었다고 보고하였다. 본 실험의 결과는 4°C와 20°C에서는 표면의 종류와 부착률사이에는 유의한 차이가 없었으나( $P>0.05$ ), 35°C에는 종류에 따른 유의성이 관찰되었다( $P<0.001$ ).

Herald 등<sup>17)</sup>은 *Listeria monocytogenes*를 10°C, 21°C, 35°C에서 각각 균을 부착시켜 scanning electron microscopy로 관찰하였는데 세균은 모든 온도에서 스테인레스 스틸 표면에 잘 부착되었다고 보고하였으며, *Listeria monocytogenes*는 철에도 잘 부착<sup>25)</sup>되는 것으로 보고되고 있다. 또한 Stone 등<sup>21)</sup>은 *Pseudomonas fragi*가 4°C와 25°C에서 스테인레스 스틸에 부착되는 정도를 측정한 결과, 온도간의 유의한 차이는 없는 것으로 보고하였다. 이는 4°C의 경우 본 실험의 결과와 일치하였으나, 본 실험에서 사용한 유리화와 플라스틱의 경우에

는 온도에 따른 유의성이 관찰되었다.

Herald 등<sup>24)</sup>은 10°C, 21°C, 35°C에서 *Listeria monocytogenes*와 *Yersinia enterocolitica*의 부착되는 양은 온도가 낮을수록 증가하였다고하여 본 실험결과와는 차이가 있었다.

*Listeria monocytogenes*를 10°C에서 우유나 육류에서 유래할 수 있는 다른 세균들과 함께 배양했을 경우, 스테인레스스틸에 biofilm을 형성하는 것이 느리기는 하였으나, 균의 부착을 억제하지는 못하였다는 보고<sup>25)</sup>가 있으며, 슈도모나스의 존재하에서 *Listeria monocytogenes*가 유리표면에 더 잘 부착된다는 보고<sup>26)</sup>도 있어 본실험에서와 같이 *Listeria monocytogenes*의 순수배양상태 뿐 아니라, 실제 식품내의 영양물질이나 다른 균과 함께 경쟁적으로 오염되어있다 하더라도 균의 부착을 억제시킬 수는 없다는 사실을 알 수 있다.

이렇게 부착된 균을 냉장온도(4°C)와 실온(20°C)에서 7일까지 보존하며, 부착량의 증가를 살펴본 결과(Table 2, Table 3) 유의한 증가는 관찰되지 않았다( $P>0.05$ ). 따라서 각종 식기재료의 균부착은 24시간 이내에 이루어지며, 그 이후에는 일정균량을 유지하는 것으로 나타났다. 7일 이후 접촉표면별 비교결과 4°C에서 플라스틱에의 부착량만 유의하게 높았으며( $p<0.05$ ), 20°C에서

**Table 2.** Population of planktonic and adherent cells of *Listeria monocytogenes* after incubation in nutrient broth at 4 for 7 days. A

cell types	days			
	0	1	3	7
Planktonic cells <sup>B</sup>	7.99±0.29	7.37±0.45 <sup>C</sup>	7.72±0.06	8.12±0.12
Glass	0	4.06±0.10	4.08±0.07	4.39±0.02
Adherent cells				
Plastic	0	4.48±0.16	5.14±0.17	5.40±0.36
Stainless steel	0	4.90±0.40	4.63±0.24	4.58±0.36

<sup>A</sup> Values shown are means±SD (N=3)

<sup>B</sup> Cell numbers expressed as planktonic cells = log<sub>10</sub> CFU/ml  
adherent cells = log<sub>10</sub> CFU/cm<sup>2</sup>

<sup>C</sup> Values in rows(except 0 day) are not significantly different ( $P>0.05$  ; N=3)

**Table 3.** Population of planktonic and adherent cells of *Listeria monocytogenes* after incubation in nutrient broth at 20 for 7 days. A

cell types	days			
	0	1	3	7
Planktonic cells <sup>B</sup>	7.99±0.29	8.94±0.05 <sup>C</sup>	9.91±0.17	11.14±0.32
Glass	0	4.66±0.59	4.44±0.04	4.94±0.62
Adherent cells				
Plastic	0	4.68±0.13	5.41±0.36	5.75±0.04
Stainless steel	0	5.16±1.02	5.42±0.95	5.46±0.26

<sup>A</sup> Values shown are means±SD (N=3)

<sup>B</sup> Cell numbers expressed as planktonic cells=log<sub>10</sub> CFU/ml  
adherent cells=log<sub>10</sub> CFU/cm<sup>2</sup>

<sup>C</sup> Means in rows(except 0 day) are not significantly different ( $P>0.05$  ; N=3)

는 종류간의 유의성이 나타나지 않았다.

이는 Krysinski 등<sup>13)</sup>이 플라스틱과 스테인레스 스틸에 *Listeria monocytogenes*을 부착시킨 결과 24시간과 74시간의 부착량에는 큰 변화가 없었으며, 표면의 종류도 부착률에는 큰 영향을 미치지 않았다고 보고한 사실과 일치한다.

여기에서 부착된 세균을 분리시키기 위해 유리구슬(glass bead)을 넣고 vortexing하는 방법을 사용하였는데 Krysinski 등<sup>13)</sup>은 이와 같은 방법이 약간의 세균손상이 일어나기는 하지만, 부착된 세균을 완전히 제거하는 데는 매우 효과적임을 scanning electron microscopy 관찰을 통해 증명하였다.

**2. 부착된 *Listeria monocytogenes*의 재증식**

다음으로 부착된 균세포의 재증식상태를 조사하였는데(Table 4) 24시간이 경과한 후 4°C에 보관한 경우에는 10<sup>7</sup> CFU/ml, 20°C에서는 10<sup>10</sup> CFU/ml, 35°C에서는 10<sup>11</sup> CFU/ml까지 증가하여 짧은 시간에 전 온도에서 식중독을 유발시킬 수 있는 균량에 달하여, 부착세균의 식중독 위험성이 매우 높음을 말해준다.

정 등<sup>27)</sup>에 의하면, 우유에 *Listeria monocytogenes*를 접종하여 4°C에 보관할 경우 초기에는 다소 감소하는

경향을 보이긴 하였으나 곧 회복되어 완전한 성장률을 보였다고 하여, 4°C의 냉장온도가 더 이상 미생물 증식의 안전지대가 아님을 보여주었다. 특히, 비병원성에 비해 병원성 *Listeria monocytogenes*는 저온에 대한 저항성과 나쁜 환경 조건에서의 생존률이 더 높고, 낮은 온도나 열악한 환경에서 독성이 오히려 크게 증가하는 것으로 알려져,<sup>28)</sup> 냉장식품의 보관에 보다 많은 주의가 필요함을 알 수 있다.

**3. 각종 가정용 주방세제에 대한 *Listeria monocytogenes*의 저항성**

다음으로 부착된 균세포의 각종 가정용 주방세제에 대한 저항성을 측정(Table 5)하였는데, 먼저 일반세제 sanitizer I과 sanitizer II로 1시간 동안 처리한 결과 일반세제는 부유세균의 경우 10<sup>2</sup> CFU/ml 정도의 감소를 보였으나, 부착세균의 저하에는 아무런 효과가 없었다. 다음으로 항균세제(antibacterial sanitizer)로 1시간동안 처리한 결과는 일반세제와 유의한 차이가 나타나지 않아 항균세제의 효과는 없는 것으로 드러났다(p>0.05). 그러나 플라스틱의 저항성이 유의하게 강하게 나타났다(p<0.05). 마지막으로, 항균제로 수세미에 사용되고 있는 pyrithione 0.02% 용액으로 균을 처리한 결과(Table 6) 부유세균은 105.76 CFU/ml로 현저한 감소를 보인 반면, 부착세균은 전혀 감소하지 않았다. 여기에서 세가지 식기재료의 저항성이 플라스틱, 스테인레스 스틸, 유리의 순으로 유의하게 다르게 나타났다(p<0.001).

Krysinski 등<sup>13)</sup>은 스테인레스 스틸과 플라스틱에 부착된 세균을 여러 세제로 처리한 결과 스테인레스 스틸 보다 플라스틱에 부착된 세균이 더 저항성이 크다고 하여 본 실험결과와 일치하였다.

따라서 우리가 사용하는 일반세제나 항균세제는 부착된 식중독균을 저하시키는데 아무런 영향을 줄 수 없으며, 강한 항균제라 하더라도 부유세균에만 영향을 미

**Table 4.** Recovery of adherent cells of *Listeria monocytogenes* after incubating in nutrient broth for 24 hrs

Temp.	Adherent cells <sup>A</sup>		
	Glass	Plastic	Stainless steel
4	7.02 ± 0.19 <sup>B</sup>	6.78 ± 0.44	7.19 ± 0.23
20	9.63 ± 0.17	10.26 ± 0.33	10.08 ± 0.19
35	11.31 ± 0.31	11.47 ± 0.24	11.23 ± 0.13

<sup>A</sup>Means in rows are not significantly different (P>0.05 ; N=3)

<sup>B</sup>Values shown are means ± SD (N=3)

<sup>C</sup>Cell numbers expressed as planktonic cells=log10 CFU/ml adherent cells = log10 CFU/cm<sup>2</sup>

**Table 5.** Effects of domestic sanitizers on 1 hr culture of *Listeria monocytogenes* attached to surfaces. A

Sanitizers	Planktonic cells	Adherent cells		
		Glass	Plastic	Stainless steel
Sanitizer	2.07 <sup>B</sup>	0.65	0.17	0.80
Sanitizer	2.08	0.88	0.56	1.40
Antibacterial Sanitizer	2.22	0.75	0.23	0.84
Means ± SD <sup>C</sup>	2.12 ± 0.09 <sup>C</sup>	0.76 ± 0.11 <sup>AB</sup>	0.32 ± 0.21 <sup>A</sup>	1.01 ± 0.34 <sup>B</sup>

<sup>A</sup>Cell numbers expressed as planktonic cells = log10 CFU/ml adherent cells = log10 CFU/cm<sup>2</sup>

<sup>B</sup>Means in columns are not significantly different (P>0.05)

<sup>C</sup>Means followed by different lower-case superscripts are significantly different (P<0.05 ; N=3)

**Table 6.** Effect of sodium pyrrithione on 24hrs culture of *Listeria monocytogenes* attached to surfaces. A

Planktonic cells	Adherent cell		
	Glass	Plastic	Stainless steel
5.76 ± 0.36 <sup>BC</sup>	1.18 ± 0.09 <sup>C</sup>	0.19 ± 0.17 <sup>A</sup>	0.70 ± 0.15 <sup>B</sup>

<sup>A</sup>Exposure to 0.02% sodium pyrrithione

<sup>B</sup>Cell numbers expressed as planktonic cells=log10 CFU/ml  
adherent cells=log10 CFU/cm<sup>2</sup>

<sup>C</sup>Values followed by different lower-case superscripts are significantly different (P<0.05 ; N=3)

칠 뿐 부착세균을 감소시킬 수는 없으므로, 일단 한번 부착된 세균은 강한 저항성으로 여러 외부환경에도 잘 죽지 않으며, 다시 증식하여 다른 식품을 오염시킴으로써 식품의 안전성을 위협할 수 있다는 결론을 내릴 수 있다.

*Pseudomonas fragi*가 스테인레스 스틸에 부착되고 제거되는 데에 각종 화학물질의 영향을 살펴본 보고에서는, polysaccharide와 반응한다고 알려진 화학물질들이 부착저해와 제거에 가장 효과적이었다고 하였다.<sup>29)</sup> 이 결과는 앞에서 말했듯이 부착된 세균세포에 polysaccharide와 protein등의 물질이 세균을 둘러싸고 보호막의 역할을 하고 있다는 사실을 알려주는 증거이며, 따라서 이들 물질을 분해하는 성분이 부착세균의 제거에 효과적이라는 것을 알 수 있다.

Helke 등<sup>30)</sup>은 단백질은 정전기적인 힘과 소수성의 상호작용을 함께 나타내므로 이들의 힘의 일부가 세균의 부착에 관여한다고 하였으며, β-lactoglobulin과 같은 물질은 세균표면과 각종 표면에 흡수됨으로써 세균의 부착을 저해시키는 작용을 하여 부착된 세균을 효과적으로 감소시킬 수 있다고 한 보고<sup>30)</sup>도 있으나, 찌꺼기들이 남아있을 경우 표면의 틈새와 같이 잘 세척되기 어려운 곳에 끼어들어가 남겨짐으로써 세균이 증식할 수 있는 저장소의 역할도 하게되므로, 단백질이 세균의 부착을 저해한다고 볼 수는 없을 것이다. 따라서 잘 세척되지 않은 식기는 병원성 세균의 부착을 증가시킬 수

도 있다.

Korber 등<sup>31)</sup>은 표면의 울퉁불퉁한 정도와 같은 성질이 부착된 세균의 세제에 대한 민감도에 영향을 미친다고 하였는데 이 표면의 거친정도(roughness)는 항균 물질의 침투를 방해하여 세균을 보호하는 역할을 한다고 하였다. 앞에서 제시했듯이<sup>12)</sup> SEM으로 관찰된 플라스틱의 표면은 작은 구멍들이 많아 세균을 사이에 끼어들게 하여 세제의 효과를 저해시키는 것으로 보여진다.

#### 4. 부착된 *Listeria monocytogenes*에 열처리가 미치는 영향

마지막으로 부착된 균세포에 열처리를 가하여 감소효과를 살펴보았는데(Table 7) 50°C, 55°C, 57.5°C에서는 부유세균이 각각 101.73, 103.35, 103.56씩 감소하였으며, 부착된 세균은 감소하는 경향을 보였으나(p<0.05), 이 세 온도 사이의 감소량에는 유의한 차이가 없었다(p>0.05). 그리고, 60°C의 처리에서는 부착된 세균이 검출되지 않았는데, 이는 열처리가 부착세균의 제거에 효과적이라는 것을 알려주며, *Listeria monocytogenes*의 부착세균에 있어서는 60°C의 10분간처리로 균을 모두 사멸시킬 수 있는 것으로 보여진다.

Oh 등<sup>9)</sup>은 스테인레스 스틸에 1일간, 7일간 부착된 *Listeria monocytogenes*로 열처리를 한 결과 7일간 부착된 균이 열에 대한 저항성이 더 컸다고 보고하였으며, 65°C의 5분간 처리에서 1일 부착세균은 불검출되었으나, 7일간 부착된 세균은 1.4 log cycle만이 감소하였다고 하였다. 그러나, 본실험결과 7일간 부착된 부착세균이 1일간의 부착세균과 열저항성에 유의한 차이가 없어 데이터를 제시하지 않았다(P>0.05).

Joseph 등<sup>14)</sup>은 2주간 부착된 *Listeria monocytogenes*와 배양액 속의 세균은 55°C에서 처리한 결과 배양액 속의 세균은 현저히 감소한 반면 부착세균은 거의 감소하지 않았고, 70°C의 5분간 처리에도 부착세균은 완전히 사멸되지 않았다고 보고하였다. 그러나 본실험에

**Table 7.** Reduction (Log decrease in CFU/ml, cm<sup>2</sup>) of adherent cells of *Listeria monocytogenes*. A

Temp.	Planktonic cells	Adherent cells		
		Glass	Plastic	Stainless steel
50	1.73 ± 0.07 <sup>A</sup>	0.77 ± 0.25	0.19 ± 0.15	1.08 ± 0.14
55	3.35 ± 0.39	1.07 ± 0.02	0.33 ± 0.10	1.00 ± 0.46
57.5	3.56 ± 0.19	0.76 ± 0.14	0.32 ± 0.14	0.68 ± 0.32
60	5.60 ± 0.09	ND <sup>B</sup>	ND	ND

<sup>A</sup>Value shown are means ± SD, Each trial was performed in triplicate.

<sup>B</sup>None detected.

사용된 시판 식육에서 분리한 *Listeria monocytogenes*는 60°C의 10분간 처리에서 모두 사멸하여 그 특성에 차이가 있는 것으로 관찰되었다.

따라서, 세제에 큰 저항성을 나타내는 부착세균이라 하더라도 적절한 온도의 열처리에 의해서는 쉽게 사멸하는 것으로 나타났으므로, 가정에서 칼, 도마, 식기 등을 다룰 때 세제에 의한 세척에 부가하여 간단한 열처리를 병용함으로써 교차오염에 의한 가정내에서의 세균성 식중독을 현저히 감소시킬 수 있을 것으로 여겨진다.

#### IV. 결 론

각종 표면에 형성된 biofilm속의 세균세포들은 부유세균(planktonic cell)과는 성질이 매우 다르며, 각종 위생세제등에 저항성을 가진다. *Listeria monocytogenes*는 스테인레스 스틸이나 유리, 플라스틱등의 여러 식품접촉표면에 강하게 부착될 수 있으며, 이 균의 저온증식성과부착된 세균의 세제 저항성 때문에 식품을 오염시켜 식중독 발생의 위험성을 증가시키게 된다.

이 논문에서는 식품중에 널리 존재하는 *Listeria monocytogenes*가 실온이나 냉장온도에서 유리, 스테인레스 스틸, 플라스틱의 식품접촉 표면에 어느정도 부착되고 증식되는지를 알아보고, biofilm내에 존재하는 *Listeria monocytogenes*의 각종 세제에 대한 저항성 및 열처리가 biofilm의 제거에 미치는 영향을 알아보았으며, 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 각종 표면에 *Listeria monocytogenes*의 부착 정도를 측정해 본 결과, 4°C, 20°C, 35°C 모두 24시간 이내에 10<sup>4</sup>-10<sup>5</sup> CFU/cm<sup>2</sup>의 균량에 달하였으며, 온도가 증가함에 따라 부착량도 증가하였으나, 4°C와 20°C는 유의한 차이를 보이지 않았으며(P>0.05), 35°C에서는 유리와 플라스틱에 부착된 세균이 유의하게 증가하였다(P<0.001).

이렇게 부착된 균을 냉장온도(4°C)와 실온(20°C)에서 7일까지 보존하며, 부착량의 증가를 살펴본 결과 유의한 증가는 관찰되지 않았다(P>0.05). 따라서 각종 식기재료의 균부착은 24시간 이내에 이루어지며, 그 이후에는 일정균량을 유지하는 것으로 나타났다.

2. 부착된 *Listeria monocytogenes*의 재증식 정도를 측정할 결과, 4°C에서 10<sup>7</sup> CFU/ml, 20°C에서 10<sup>10</sup> CFU/ml, 35°C에서 10<sup>11</sup> CFU/ml로 모두 24시간 이내에 식중독을 유발할 수 있는 균량에 달하였다.

3. 부착된 *Listeria monocytogenes*의 가정용 주방세제에 대한 저항성을 측정할 결과, 먼저 일반세제와 항균

세제로 1시간동안 처리하였을 때 일반세제의 경우 부유세균은 10<sup>2</sup> CFU/m<sup>2</sup>정도의 감소를 보였으나, 부착세균의 저하에는 아무런 효과가 없었으며, 항균세제는 일반세제와 유의한 차이가 나타나지 않았다(P>0.05). pyrrithione 0.02% 용액으로 균을 처리한 결과 부유세균은 10<sup>5</sup> CFU/m<sup>2</sup>정도로 현저한 감소를 보인 반면, 부착세균은 전혀 감소하지 않았으며, 플라스틱이 가장 저항성이 강하였다 (P<0.001).

4. 부착된 *Listeria monocytogenes*에 각종 온도에서 10분간의 열처리를 가하여 감소효과를 살펴본 결과는 50°C, 55°C, 57.5°C에서는 부유세균은 각각 로그값으로 1.73, 3.35, 3.56씩 감소하였으나, 부착된 세균은 큰 감소를 나타내지 않았고, 60°C의 처리에서는 부착된 세균이 전혀 검출되지 않았다.

따라서, 세제에 큰 저항성을 나타내는 부착세균이라 하더라도 적절한 온도의 열처리에 의해서는 쉽게 사멸하는 것으로 나타났으므로, 가정에서 칼, 도마, 식기 등을 다룰 때 세제에 의한 세척에 부가하여 간단한 열처리를 병용함으로써 교차오염에 의한 가정내에서의 세균성 식중독을 현저히 감소시킬 수 있을 것으로 여겨진다.

#### 참고문헌

- 1) 이용욱, 김종규 : 우리나라의 식중독에 관련된 문헌고찰, 식품위생학회지, 4, 199-256, 1989.
- 2) 박선희 : 우리나라 식중독 발생과 관리개선방향, '96방역사업평가세미나, 보건복지부, 1996.
- 3) 이원창, 정충일 : A retrospective study on the comparison of outbreaks of food poisoning for food hygiene in Korea and Japan, 한국식품위생안전성학회지, 11, 277-286, 1996.
- 4) Garcia-Gimeno, R. M., Zurera-Cosano, G. and Amaro-Lopez, M.: Incidence, survival and growth of *Listeria monocytogenes* in ready-to-use mixed vegetable salads in Spain, *J. Food Safety*, 16, 75-86, 1996.
- 5) 구동환, 정충일, 정동관, 남은숙 : 국내 시판 쇠고기의 *Listeria* spp. 오염, 한국식품위생안전성학회지, 10, 89-95, 1995.
- 6) 조성환, 김기욱, 정진환, 류충호 : 농축수산물 식품원료 및 그 가공식품에 대한 *Listeria*균주의 오염실태조사와 *Listeriosis* 발생억제방법, 한국식품위생안전성학회지, 9, 191-198, 1994.
- 8) 정동관 : 식중독균 *Listeria monocytogenes*의 특성과 식품에서의 문제점, 식품위생학회지, 8, S1-S11, 1993.
- 9) Oh, D. H. and Marshall, D. L.: Destruction of *Listeria monocytogenes* biofilms on stainless steel using monolaurin and heat, *J. Food Prot.*, 58, 251-255, 1995.
- 10) Jeong, D. K.: The competitive growth in biofilms of *Listeria monocytogenes* with cultures isolated from

- dairy and meat plant environment, ph. D. Dissertation, University of Georgia, Athens, Georgia, U.S.A., 1992.
- 11) Cox, L. J., Kleiss, T., Cordier, J. L., Cordelana C., Konkel P., Pedrazzini, C., Beuner, R. and Siebenge, A.: *Listeria spp.* in food processing, non-food and domestic environments, *Food Microbiol.*, **6**, 49-61, 1989.
  - 12) Mafu, A. A., Roy, D., Goulet, J. and Magny, P.: Attachment of *Listeria monocytogenes* to stainless steel, glass, polypropylene and rubber surfaces after short contact times, *J. Food Prot.* **53**, 742-746, 1990.
  - 13) Krysinski, E. P., Brown, L. J. and Marchisello, T. J.: Effect of cleaners and sanitizers on *Listeria monocytogenes* attached to product contact surfaces, *J. Food Prot.*, **55**, 246-251, 1992.
  - 14) Frank, J. F. and Koffi R. A.: Surface-adherent growth of *Listeria monocytogenes* is associated with increased resistance to surfactant sanitizers and heat, *J. Food Prot.*, **53**, 550-554, 1990.
  - 15) Mustapha, A. and Liewen, M. B.: Destruction of *Listeria monocytogenes* by sodium hypochlorite and quaternary ammonium sanitizers., *J. Food Prot.*, **52**, 306-311, 1989.
  - 16) Ren, T. J. and Frank, J. F.: Susceptibility of starved planktonic and biofilm *Listeria monocytogenes* to quaternary ammonium sanitizer as determined by direct viable and agar plate counts, *J. Food Prot.*, **56**, 573-576, 1993
  - 17) Herald P. J. and Zottola E. A.: Attachment of *Listeria monocytogenes* to stainless steel surfaces at various temperatures and pH values, *J. Food Science*, **53**, 1549-1552, 1988.
  - 18) Ronner, A. B. and Wong, A. L.: Biofilm development and sanitizer inactivation of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella Typhimurium* on stainless steel and buna-n rubber, *J. Food Prot.*, **56**, 750-758, 1993.
  - 19) Oh, D. H. and Marshall D. L.: Monolaurin and acetic acid inactivation of *Listeria monocytogenes* attached to stainless steel, *J. Food Prot.*, **59**, 249-252, 1996.
  - 20) Lechevallier M. W., Cawthon, C. D. and Lee, R. G.: Inactivation of biofilm bacteria, *Appl. Environ. Microbiol.*, **54**, 2492-2499, 1988.
  - 21) Stone, L. S. and Zottola, E. A.: Relationship between the growth phase of *Pseudomonas fragi* and its attachment to stainless steel, *J. Food Science*, **50**, 957-960, 1985.
  - 22) Hood, S. K. and Zottola E. A.: Growth media and surface conditioning influence the adherence of *Pseudomonas fragi*, *Salmonella Typhimurium* and *Listeria monocytogenes* cells to stainless steel, *J. Food Prot.*, **60**, 1034-1037, 1997.
  - 23) Spurlock, A. T. and Zottola, E. A.: Growth and attachment of *Listeria monocytogenes* to cast iron, *J. Food Prot.*, **54**, 925-929, 1991.
  - 24) Herald, P. J. and Zottola, E. A.: Attachment of *Listeria monocytogenes* and *Yersinia enterocolitica* to stainless steel at various temperatures and pH values, *J. Food Prot.*, **50**, 894, 1987.
  - 25) Jeong, D. K. and Frank, J. F.: Growth of *Listeria monocytogenes* at 10 in biofilms with microorganism isolated from meat and dairy processing environments, *J. Food Prot.*, **57**, 576-586, 1994.
  - 26) Sasahara, K. C. and Zottola, E. A.: Biofilm formation by *Listeria monocytogenes* utilizes a primary colonizing micro-organism in flowing systems, *J. Food Prot.*, **56**, 1022-1028, 1993.
  - 27) 정동선, 권미라, 어중혁, 조광연, 최영훈, 국승욱, 박관화 : 냉장실의 온도 정온화가 냉장 식품의 품질과 미생물의 생육에 미치는 영향, *한국식품과학회지*, **28**, 632-637, 1996.
  - 28) Junttila, J., Niemela, S. E. and Him, J.: Minimum growth temperatures of *Listeria monocytogenes* and non-hemolytic *Listeria*, *J. Appl. Bacteriol.*, **65**, 321, 1988.
  - 29) Herald, P. J. and Zottola, E. A.: Effect of various agents upon the attachment of *Pseudomonas fragi* to stainless steel, *J. Food Science*, **54**, 461-464, 1989.
  - 30) Helke, D. M., Somers, E. B. and Wong, A. L.: Attachment of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella Typhimurium* to stainless steel and buna-N in the presence of milk and individual milk components, *J. Food Prot.*, **56**, 479-484, 1993.
  - 31) Korber, D. R., Choi, A., Wolfaardt, G. M., Ingham, S. C. and Caldwell, D. E.: Substratum topography influences susceptibility of *Salmonella enteritidis* biofilms to trisodium phosphate, *Appl. Environ. Microbiol.*, **63**, 3352-3358, 1997.