

*Listeria monocytogenes*에 대한 황금추출물의 항균효과

조성환[†] · 김영록
경상대학교 식품공학과

Antimicrobial Effects of *Scutellariae Radix* Extract against *Listeria monocytogenes*

Sung-Hwan Cho[†] and Young-Rok Kim

Dept. of Food Science and Technology, Gyeongsang National University, Chinju 660-701, Korea

Abstract

To investigate the antimicrobial effects of *Scutellariae Radix* extract against *L. monocytogenes* from foods, *L. monocytogenes* strains isolated from livestock products, processed food from meat and milk, and frozen foods were examined for their sensitivity to *Scutellariae Radix* extract. 30 *L. monocytogenes* strains were isolated from total 178 samples (16.9%); 13 (14.0%) strains from beef, 6 (20.7%) strains from pork, 9 (39.2%) strains from chicken and 2 (16.7%) strains from frozen foods but was not found from processed products. The serotypes of isolated *L. monocytogenes* were serotype O-1 strains (23, 76.7%) and serotype O-4 strains (7, 23.3%) on antisera agglutination test. The growth curves of isolates were shown lag phase, logarithmic phase, stationary phase and death phase as typical sigmoid curve on the preservative-free hams. After 6 hours, *Scutellariae Radix* extract contain group differ from control group on preservative-free ham samples, and the isolates were inhibited in more than 1000 ppm *Scutellariae Radix* extract on the inhibitory growth curve of *L. monocytogenes*. The morphological changes were observed by transmission electron microscope and the microbial cells membrane was destroyed by *Scutellariae Radix* extract.

Key words: antimicrobial effects, *Scutellariae Radix* extract, preservative-free hams

서 론

북미와 유럽에서 많은 집단발병 사례들을 보이며 사회적 인 분제가 되었던 *Listeria monocytogenes*(이하, *L. monocytogenes*)균은 그람양성 단간균으로 5°C 이하의 저온에서 생육이 가능하고, pH 4.6~9.2 범위에서도 생존할 수 있으며, 증식이 가능한 최소 수분 활성도는 0.92~0.93이고(1), 식품 공장의 시설표면에서 Bio-film을 형성하여 항균제에 대한 저항성이 크기 때문에 가공식품에 있어서 잠재적인 위험요인이 될 수 있다(2~4).

*L. monocytogenes*균에 감염되면 임산부에게 있어서는 유산이나 사산을 유발하며, 신생아·유아·면역기능이 저하된 성인들에게는 폐렴, 심내막염, 패혈증, 국소농양, 결막염 등의 listeriosis(리스테리아증)를 유발하게 된다(5,6). 이 균에 의한 집단발병의 사례로서는 1981년 Canada Maritime Province에서 양배추의 오염으로 41명의 환자에서 17명이 사망한 사건을 비롯하여 치명적인 수많은 집단발병 사례들이 있었다(7~11).

우리나라에서는 *L. monocytogenes*균에 의한 식중독과 관

련하여 보고된 집단발병 사례는 없지만 대형 뷔페식당이나 패스트 푸드 등과 같은 외식문화의 발달과 육식과 가공식품을 선호하는 식생활의 변화와 더불어 환자발생의 가능성은 점차로 높아지고 있다.

이에, 식품의 안전성 확보 및 공중보건 향상을 위하여 예비 실험에서 약용식물들 중 항균력이 뛰어나고, 추출수율이 높은 황금추출물을 대상으로 *L. monocytogenes*균에 대한 천연항균제로서의 적용가능성을 검토하였다. 먼저 식품가검물에 있어서 *L. monocytogenes*균의 오염실태를 조사하였고, *L. monocytogenes*균이 접종된 식품에 있어서 황금추출물의 항균작용을 살펴보았으며, 전자현미경을 이용하여 황금추출물에 의한 *L. monocytogenes*균의 세포형태 변화를 관찰하였다.

재료 및 방법

*L. monocytogenes*의 분리 및 동정

경남도내 중부지역(창원시, 마산시), 서부지역(진주시, 함양군), 동부지역(김해시, 밀양시)의 3개 권역에서 2000년 3월부터 10월까지 시판된 국내산 및 수입 축산물 및 식육 가공

[†]Corresponding author. E-mail: sunghcho@nongae.gsnu.ac.kr
Phone: 82-55-751-5478, Fax: 82-55-751-6113

품, 유가공품, 냉동식품 등 총 178건을 대상으로 *L. monocytogenes*균의 오염실태 조사를 실시하였다. *L. monocytogenes*균의 분리 및 동정은 식품공전(12), 축산물 가공기준 및 성분규격(13)에 따라 식육 및 식육가공품과 유가공품으로 분리하여 실험하였다.

혈청형

식품으로부터 분리된 *L. monocytogenes* 30균주를 대상으로 Difco사의 serotype O-1, O-4의 항혈청(antisera)을 이용하여 슬라이드 응집법(slide agglutination)으로써 균체 항원인 serotype O형의 혈청형을 결정하였다.

식품에 있어서 *L. monocytogenes*의 생육

식품에 있어서 분리균주의 생육특성을 조사하기 위하여 시판되는 무방부제햄 50 g을 121°C에서 15분간 증기멸균한 후, 동량의 멸균생리식염수를 넣고 균질화시킨 것을 시료로 이용하였다. 시료를 3개의 시험군으로 하여 식품 가검물에서 분리된 *L. monocytogenes* serotype O-1과 O-4 및 표준균주인 *L. monocytogenes* ATCC 19111 균주를 1백금이 씩 취해서 10 mL TSB에 각각 접종한 다음 35°C에서 24시간 동안 배양시킨 배양액을 McFarland No.1 표준탁도로 맞춘 다음 1 mL를 시료에 접종하였다. 각각 접종한 다음, 이를 35°C에서 0, 3, 6, 24, 48, 72, 96, 120시간 동안 배양하였다. 각각의 시험군에서 시료 1 mL씩을 취한 다음 멸균생리식염수로써 10배수 단계별 희석액 100 µL씩을 Oxford 배지에 도말하여 35°C, 24시간 배양한 후에 colony를 count하여 생육곡선을 측정하였다.

식품에 있어서 황금추출물의 항균작용

식품에 있어서 황금추출물의 항균작용을 알아보기 위하여 *L. monocytogenes* 균에 대한 황금추출물의 생육저해곡선을 측정하였다. 시판되는 무방부제햄 50 g을 121°C에서 15분간 증기멸균한 후, 동량의 멸균생리식염수를 넣고 황금추출물을 0, 500, 1,000 및 5,000 ppm(mg/kg)의 4개의 시험군으로 하여 균질기를 이용하여 균질화시킨 것을 시료로 사용하여 생육곡선 측정에서와 같은 방법으로 35°C에서 0, 3, 6, 24, 48시간 동안 배양하면서 생육저해곡선을 측정하였다.

황금추출물에 의한 *L. monocytogenes*의 세포형태 변화

황금추출물의 처리로 인한 *L. monocytogenes*의 세포형태 변화를 알아보기 위해 대수성장기의 균체세포들에 대하여 황금추출물 1,000 ppm의 농도로 처리한 것과, 처리하지 않은 것을 대조구로 이용하였다. 처리전후의 세포구조는 Park 등(14)의 방법에 따라 조직표본을 제작하여 투과전자현미경(TEM : Transmission electron microscope, Hitachi H-600, Japan)으로 관찰하였다.

결과 및 고찰

***L. monocytogenes*의 검출현황**

전처리 한 시료들을 증균배양 시킨 후 Oxford Agar 상에서

흑갈색의 전형적인 집락을 선별하여 Gram염색 양성, motility 양성, catalase 양성, oxidase 음성, β-hemolysis 양성인 균주를 골라 API-Listeria(bioMericux) kit를 사용하여 판독하였다. 그 결과 축산물의 유형별 *L. monocytogenes* 검출율은 Table 1과 같으며, 검사대상 가검물 178 건 중 30건이 검출되어 16.9%의 검출율을 나타내었다. 쇠고기에 있어서 93건 중 13건이 검출되어 14.0%의 검출율을 보였고, 원산지별로는 한우 27건 중 5건, 미국산 32건 중 5건, 호주산 25건 중 2건, 캐나다산 9건 중 1건의 순으로 검출되었다. 돼지고기에서는 29건 중 6건이 분리되어 20.7%의 비교적 높은 검출율을 보였으며, 닭고기는 검사 시료 23건 중 9건이 검출되어 39.2%의 가장 높은 검출율을 나타내었다. 한편, 가공식품에 있어서 육제품인 소시지류 및 햄류와 유제품인 치즈, 시유 등의 살균제품에서는 *L. monocytogenes* 균이 검출되지 않은 반면, 냉동식품인 분쇄가공품에서는 검사시료 12건 중 2건(16.7%)이 검출되었다.

혈청형

분리된 *L. monocytogenes* 30균주를 슬라이드 응집법(slide agglutination)으로 혈청형을 확인하였는데 그 결과는 Table 2와 같으며, 분리된 *L. monocytogenes* 30균주 중에서 serotype O-1은 23건(76.7%)확인되었으며, serotype O-4는 7건(23.3%)으로 나타났다. 축산물의 유형별 혈청형을 살펴보면 쇠고기 8균주, 돼지고기 4균주를 비롯한 닭고기에서 분리한 9균주와 냉동식품에서 분리한 2균주는 모두 serotype O-1 혈청형이었고, 쇠고기에서 분리된 5균주, 돼지고기에서 분리

Table 1. Incidence of *L. monocytogenes* in the various food sources

Sample	Number of samples	Number of identified samples	Isolation ratio (%)
Total	93	13	14.0
Beef	Korea	5	18.5
	USA	32	15.6
	Canada	9	11.1
	Australia	25	8.0
Pork	29	6	20.7
Chicken	23	9	39.1
Meat products	11	0	0
Dairy products	10	0	0
Frozen foods	12	2	16.7
Total	178	30	16.9

Table 2. Serotypes of *L. monocytogenes* isolated from food sources

Sample (Number of isolates)	Number of isolates	
	Serotype O-1	Serotype O-4
Beef (13)	8	5
Pork (6)	4	2
Chicken (9)	9	-
Frozen foods (2)	2	-
Total (30)	23 (76.7%)	7 (23.3%)

된 2균주는 serotype O-4 혈청형으로 확인되었다.

식품에 있어서 *L. monocytogenes*의 생육

식품에 있어서 분리균주의 생육관계를 조사하기 위하여 시판되는 무방부제햄을 시료로 하여, *L. monocytogenes* serotype O-1과 O-4 및 표준균주인 *L. monocytogenes* ATCC 19111 균주를 접종한 다음 35°C에서 0, 3, 6, 24, 48, 72, 96, 120시간 동안 배양하면서 얻은 *L. monocytogenes*의 생육곡선은 Fig. 1과 같다. *L. monocytogenes* serotype O-1과 O-4 및 표준균주인 *L. monocytogenes* ATCC 19111 모두가 유도기, 대수기, 정지기, 사멸기를 거치는 전형적인 S자 모양의 생육 곡선을 나타내고 있음을 볼 수 있다.

식품에 있어서 황금추출물의 항균작용

식품에 있어서 황금추출물의 항균작용을 알아보기 위하여 시판되는 무방부제햄에 황금추출물을 0, 500, 1000, 5000 ppm (mg/kg)의 농도가 되도록 첨가한 4개의 시험군에 *L. monocytogenes* serotype O-1과 O-4 및 표준균주인 *L. monocytogenes* ATCC 19111 균주를 접종한 다음 35°C에서 0, 3, 6, 24, 48시간 동안 배양하면서 얻은 *L. monocytogenes*에 있어서 생육 저해곡선은 Fig. 2, 3, 4와 같다. *L. monocytogenes* serotype O-1과 O-4 및 표준균주인 *L. monocytogenes* ATCC 19111 균주 모두가 유도기를 거친 다음인 6시간이 경과된 후 황금추출물의 농도에 따라 시험군주의 균수 차이를 볼 수 있었다. 황금추출물 1,000 ppm 농도에서 생육이 억제되는 것을 확인할 수 있었고, 5,000 ppm 이상의 농도에서는 생육이 크게 저해되는 것을 볼 수 있었다. 황금추출물에 대한 감수성에 있어서는 표준균주인 *L. monocytogenes* ATCC 19111 균주가 식품 가검물에서 분리한 *L. monocytogenes* serotype O-1과 O-4 균주들에 비해 감수성이 높은 것을 확인할 수 있었다.

황금추출물에 의한 *L. monocytogenes*의 세포형태 변화

황금추출물의 처리로 인한 *L. monocytogenes*의 세포들과 대조구 세포들을 전자현미경으로 관찰한 결과는 Fig. 5와 같

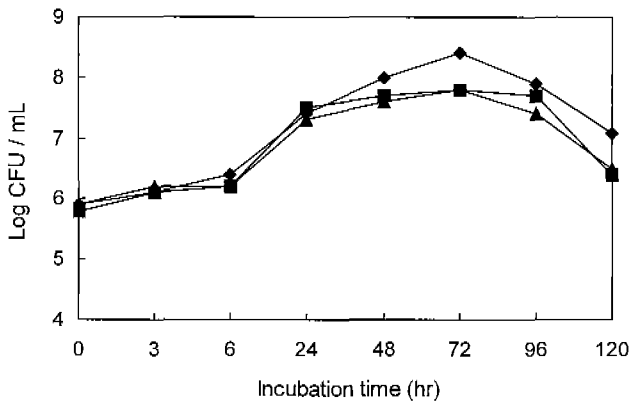


Fig. 1. Growth curve of *L. monocytogenes* ATCC 19111, serotype O-1 & O-4 inoculated into preservative-free hams. ◆: *L. monocytogenes* ATCC 19111, ■: *L. monocytogenes* serotype O-1, ▲: *L. monocytogenes* serotype O-4.

은데, 투과전자현미경(TEM) 상에서 황금추출물 처리구 균주들의 세포내용물들이 용출되어진 것을 볼 수 있는데, 이는 황금추출물 처리로 인한 세포막 기능의 파괴로 인한 것으로

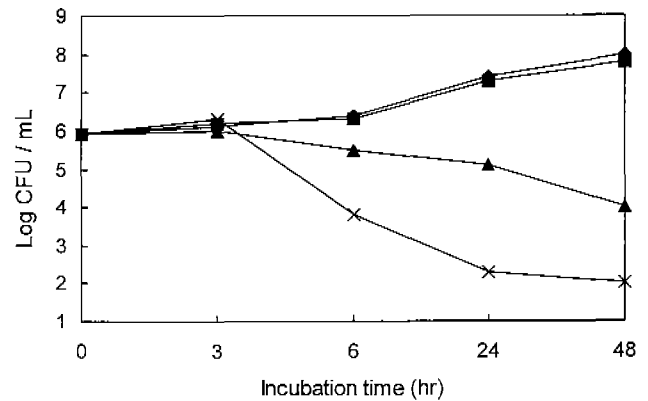


Fig. 2. Growth inhibition of *L. monocytogenes* ATCC 19111 inoculated into preservative-free hams containing *Scutellariae Radix* extract.

◆: 0 ppm (control), ■: 500 ppm, ▲: 1,000 ppm, ×: 5,000 ppm.

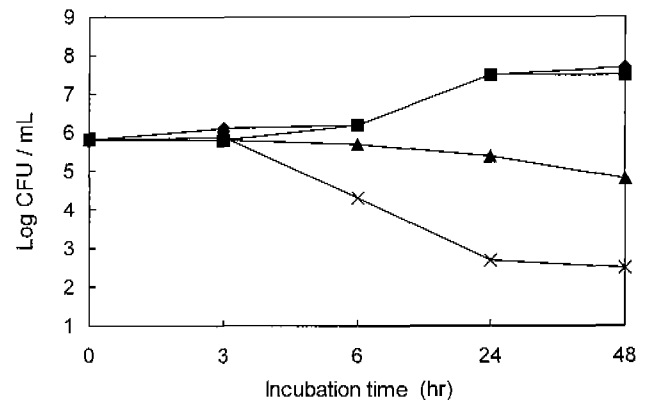


Fig. 3. Growth inhibition of *L. monocytogenes* serotype O-1 inoculated into preservative-free hams containing *Scutellariae Radix* extract.

◆: 0 ppm (control), ■: 500 ppm, ▲: 1,000 ppm, ×: 5,000 ppm.

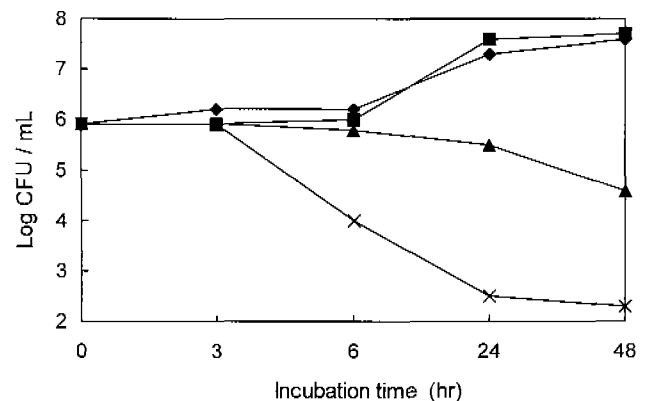


Fig. 4. Growth inhibition of *L. monocytogenes* serotype O-4 inoculated into preservative-free hams containing *Scutellariae Radix* extract.

◆: 0 ppm (control), ■: 500 ppm, ▲: 1,000 ppm, ×: 5,000 ppm.

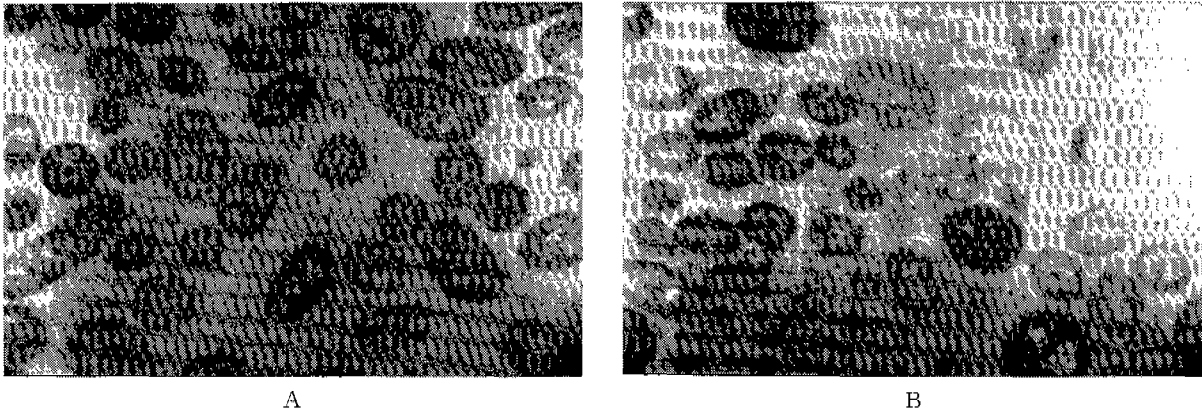


Fig. 5. Transmission electron micrographs of *L. monocytogenes*. Cells not-treated (A: control) and cells treated with *Scutellariae Radix* extract (B: 1,000 ppm) (manification: $\times 25,000$).

추정되었다.

요 약

식품 가검물로부터 분리·동정된 *L. monocytogenes*에 대하여 황금추출물의 항균력을 검토하였다. 먼저 오염실태를 조사하였는데, 검사대상 가검물 178건 중 30건이 검출되어 16.9%의 검출율을 보였다. 쇠고기에서는 93건 중 13건(14.0%)이 검출되었고, 돼지고기에서는 29건 중 6건(20.7%)이 분리되었으며, 닭고기는 검사 시료 23건 중 9건(39.2%)이 검출되어 가장 높은 검출율을 나타내었다. 가공식품에 있어서 육제품인 소시지류 및 햄류와 유제품인 치즈, 시유 등의 살균제품에서는 *L. monocytogenes* 균이 검출되지 않은 반면, 냉동식품인 분쇄가공품에서는 검사시료 12건 중 2건(16.7%)이 검출되었다. 분리된 *L. monocytogenes* 30균주를 슬라이드 응집법으로 혈청형을 확인한 결과 30균주 중에서 serotype O-1은 23건(76.7%)이 확인되었으며, serotype O-4는 7건(23.3%)으로 나타났다. 식품에 있어서 생육관계를 조사하기 위하여 시판되는 무방부제햄을 시료로 분리균주들을 각각 접종한 다음 35°C에서 0, 3, 6, 24, 48, 72, 96 및 120시간 동안 배양하여 얻은 생육곡선에서 *L. monocytogenes* 균주들 모두가 유도기, 대수기, 정지기, 사멸기를 거치는 전형적인 S자 모양의 생육곡선을 보였다. 식품에 대한 황금추출물의 항균작용을 알아보기 위하여 증기멸균된 무방부제햄과 동량의 멸균생리식염수를 넣고 황금추출물의 농도가 0, 500, 1,000 및 5,000 ppm(mg/kg)이 되도록 균질화시킨 시료에 분리균주들을 각각 접종한 다음, 35°C에서 0, 3, 6, 24, 48시간 동안 배양하여 얻은 생육저해곡선에서 *L. monocytogenes* 균주들 모두가 유도기를 거친 다음인 6시간이 경과된 후 황금추출물의 농도에 따라 시험균주의 균수 차이를 보였고, 식품 중의 *L. monocytogenes*에 있어서 생육이 억제되는 황금추출물 유효저해농도는 1000 ppm이었다. 세포형태변화를 관찰하기 위한 투과형전자현미경(TEM)상에서 황금추출물 처리로 인한 *L. mono-*

cytogenes 균주들의 세포막기능의 파괴로 세포내용물들이 용출된 것을 볼 수 있었다.

문 헌

1. Welbourn, J.L. and William, J.Jr.: New *Listeria* control measures under consideration. *Dairy, Food, Environ. Sanit.*, **19**, 399-401 (1999)
2. Peter, M.M.: Bacteriocins for control of *Listeria* spp. in food. *J. Food Prot.*, **Supplement**, 54-63 (1996)
3. 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)
4. Zottola, E.A.: Microbial attachment and bio-film formation: a new problem for the food industry? *Food Tech.*, **48**, 107-114 (1994)
5. Farber, J.M. and Peterkin, P.I.: *Listeria monocytogenes*, a food-borne pathogen. *Microbial Review*, **55**, 476-511 (1991)
6. Donnelly, C.W., Briggs, E.H. and Baigent, G.J.: Analysis of raw milk for the epidemic serotype of *Listeria monocytogenes* linked to an outbreak of listeriosis in California. *J. Food Prot.*, **49**, 846-847 (1986)
7. Schlech, W.F., Lavigne, P.M., Bortolussi, R.A., Allen, A.C., Haldane, E.V., Wort, A.J., Hightower, A.W., Johnson, S.E., King, S.H., Nicholls, E.S. and Broome, C.V.: Epidemic listeriosis-evidence for transmission by food. *New Engl. J. Med.*, **308**, 203-206 (1983)
8. Fleming, D.W., Cochi, S.L., Cochi, S.L., MacDold, K., Brondum, J., Hays, P.S., Plikaytis, B.D., Holmes, M.B., Audurier, A., Broome, C.V. and Reingold, A.L.: Pasteurized milk as vehicle of infection in an outbreak of listeriosis. *New Engl. J. Med.*, **312**, 404-407 (1985)
9. Linnan, J.M., Mascola, L., Lou, X.D., Goult, V., May, S., Salminen, C., Hird, D.W., Yonekura, L., Hayes, P., Weaver, R., Audurier, A., Plikaytis, B.D., Frannin, S.L., Kleks, A. and Broome, C.V.: Epidemic listeriosis associated with *Mexican-style cheese*. *New Engl. J. Med.*, **319**, 823-825 (1988)
10. James, S.M., Franin, L., Agree, B.A., Hall, B., Parker, E., Vogt, J., Run, G., William, J., Lieb, L., Salminen, C., Prendergast, T., Werner, S.B. and Chin, J.: Listeriosis outbreak associated with *Mexican-style cheese* California. *Morbidity Mortal. Weekly Rev.*, **34**, 56-57 (1985)
11. Lennon, D., Lewis, B., Mantell, C., Becroft, D., Dove, B.,

- Farmer, K., Tonkin, S., Yeates, S., Stamp, R. and Mickleson, K. : Epidemic perinatal listeriosis. *Pediatr. Infect. Dis.*, 3, 30-34 (1984)
12. Korea food & drug administration : *Food code. (II)* 109 (2000)
13. National veterinary research and quarantine service : Processing standards and ingredient of specification for live-stock products. p.190-191 (2001)
14. Park, W.W., Cho, S.W. and Lee, D.S. : Effect of grapefruit seed extract and ascorbic acid on the spoilage microorganism and keeping quality of soybean sprouts. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 27, 1086-1093 (1998)

(2001년 7월 24일 접수)