

수학적 정량평가모델을 이용한 *Vibrio parahaemolyticus*의 성장 예측모델의 개발

문성양 · 장태은 · 우건조¹ · 신일식*
 강릉대학교 해양생명공학부, ¹식품의약품안전청

Development of Predictive Growth Model of *Vibrio parahaemolyticus* Using Mathematical Quantitative Model

Sung-Yang Moon, Tae-Eun Chang, Gun-Jo Woo¹, and Il-Shik Shin*
 Faculty of Marine Bioscience and Technology, Kangnung National University
¹Korea Food and Drug Administration

Predictive growth model of *Vibrio parahaemolyticus* in modified surimi-based imitation crab broth was investigated. Growth curves of *V. parahaemolyticus* were obtained by measuring cell concentration in culture broth under different conditions (Initial cell level, 1×10^2 , 1×10^3 and 1×10^4 colony forming unit (CFU)/mL; temperature, 15, 25 37, and 40°C; pH 6, 7, and 8) and applying them to Gompertz model. Microbial growth indicators, maximum specific growth rate (k), lag time (LT), and generation time (GT), were calculated from Gompertz model. Maximum specific growth rate (k) of *V. parahaemolyticus* increased with increasing temperature, reaching maximum rate at 37°C. LT and GT were also the shortest at 37°C. pH and initial cell number did not influence k , LT , and GT values significantly ($p > 0.05$). Polynomial model, $k = a \cdot \exp(-0.5 \cdot ((T - T_{max})/b)^2 + ((pH - pH_{max})/c)^2)$, and square root model, $\sqrt{k} = 0.06 (T - 9.55) [1 - \exp(0.07 (T - 49.98))]$, were developed to express combination effects of temperature and pH under each initial cell number using Gauss-Newton Algorithm of Sigma plot 7.0 (SPSS Inc.). Relative coefficients between experimental k and k Predicted by polynomial model were 0.966, 0.979, and 0.965, respectively, at initial cell numbers of 1×10^2 , 1×10^3 , and 1×10^4 CFU/mL, while that between experimental k and k Predicted by square root model was 0.977. Results revealed growth of *V. parahaemolyticus* was mainly affected by temperature, and square root model showing effect of temperature was more credible than polynomial model for prediction of *V. parahaemolyticus* growth.

Key words: predictive growth model, *Vibrio parahaemolyticus*, Gompertz model, polynomial model, square root model, maximum specific growth rate (k)

서 론

식품은 그 영양적 가치 및 기호성 등에 못지않게 인간의 질병 예방 및 건강을 유지하는 차원에서 반드시 위생학적 안전성이 확보되어야만 한다. 그러나 해마다 국내외적으로 병원미생물에 의한 식중독 사건이 끊임 없이 발생하고 그 규모면에 있어서도 대형화되고 있는 추세이다. 더욱이 교통수단의 발달로 인하여 짧은 시간 내에 생산제품의 국가 간 유통이 광범위하게 이루어짐에 따라 식품의 위생학적 안전성 확보는 국제적인 문제점으로 대두되고 있다(1). 이에 식품의 위생학적 안전성 확보를

위한 유효수단으로서 HACCP(Hazard Analysis Critical Control Point) 시스템의 개념이 전 세계적으로 도입되고 있으며, 국내의 경우에도 일부 분야에서 도입되어 사용되고 있다. 또한, HACCP 시스템의 도입과 더불어, 최근에는 미국과 유럽 국가 등을 중심으로 식품 중의 미생물의 성장변화를 수학적 모델을 이용하여 예측하고자 하는 연구가 활발히 진행되고 있다.

예측미생물학(Predictive microbiology)이라고 불리는 이 연구 분야는 수학적 모델을 이용하여 식품의 원료로부터 제조과정, 유통, 보관, 판매, 소비에 이르기까지의 전 과정 중에서 병원 및 부패미생물의 거동을 정량적으로 예측하고 제어함을 목적으로 하고 있다. 예측미생물학에서 사용되는 수학적 모델로서는 미생물의 성장을 표현하는 기본 모델(1차 모델)과 미생물의 증식에 미치는 환경요인(온도, pH, 수분활성 등)의 영향을 표현하는 2차 모델 그리고 균의 종류와 기본적인 증식 조건 등을 입력함으로써 균의 성장 변화를 예측(simulation)할 수 있는 프로그램인 3차 모델로 구성되어 있다(2,3).

예측미생물학의 적용은 식품의 안전성 문제에 있어 가장 중

*Corresponding author : Il-Shik Shin, Faculty of Marine Bioscience and Technology, Kangnung National University, 123, Jibyun-dong Gangneung-si, Gangwon-do 210-702, Korea
 Tel: 82-33-640-2346
 Fax: 82-33-640-2410
 E-mail: shinis@kangnung.ac.kr

요하고도 큰 비중을 차지하는 위해미생물만을 대상으로 하여, 이들의 성장을 수학적 모델에 의해 정량적으로 예측하고 평가하기 때문에 기존의 미생물 검사법에 비하여 매우 신속한 예측이 가능하다. 그러므로, 시간과 인력, 경비 등이 소요되는 미생물 집중시험·보존시험을 대체하는 단순하면서도 효율성이 높은 방법으로, 대상 식품 중의 병원 미생물의 정량적 위험도 평가(Quantitative risk assessment)와 HACCP 시스템의 기본 7원칙 중 정확한 허용한계 설정을 위한 저비용의 유효수단으로 인정되고 있다(3-5).

이러한 유효성으로 인하여 미국, 영국 등을 중심으로 활발한 연구가 이루어지고 있으며, 이미 식품에 관한 각종 초기 조건을 입력하여 컴퓨터에 의한 계산을 실행함으로써 대상 미생물의 성장변화를 예측·비교하고 graph로 표현 가능한 program의 개발이 진행되어 미국의 농무성(USDA)에서는 Pathogen Modeling Program, 영국의 농어식량성(MAFF)에서는 Food Micromodel을 각각 개발하였다(6). 그러나 이들 program을 이용하더라도 식품 중의 모든 미생물의 증식을 완전히 예측하는 것은 불가능하며, 계속된 program의 개선 및 연구가 진행 중에 있다.

한편, 삼면이 바다로 둘러싸인 국내의 경우, 식품소재 중의 수산물이 차지하는 비중이 외국에 비하여 높을 뿐만 아니라 다양한 수산가공제품의 개발이 이루어져 왔다. 그러나 어·패류를 중심으로 한 수산물의 경우 그 특성상 위해미생물에 의한 오염의 확률이 높으며, 수산물의 대표적 병원미생물이라고 할 수 있는 *Vibrio parahaemolyticus*(장염 비브리오)의 경우, 이로 인한 식중독 사고가 매년 끊임없이 발생하고 있어 이에 대한 대책이 필요한 실정이다. 또한 WTO 체제의 출범 이후, 국제간의 무역에 있어서도 식품의 위생학적 안전성 확보를 위한 정량적 평가법의 도입과 관련 자료제시에 대한 요구가 점점 증대됨에 따라 예측미생물학의 도입이 유효한 수단으로서 크게 주목되고 있다.

이에 본 연구에서는 수산식품의 대표적 식중독 세균이며, 현재 국내 상당한 수요를 차지하는 수산가공식품인 게맛살의 미생물학적 위해 요소로 정해져 있는 *V. parahaemolyticus*에 대하여, 제품에 균의 오염 시 균의 성장변화를 정량적으로 예측하는 수학적 모델의 개발을 위한 기초 자료를 제공하고자, 온도, pH에 대한 *V. parahaemolyticus*의 성장 예측모델을 개발하였다.

재료 및 방법

공시 균주

본 실험에 사용한 균주는 *Vibrio parahaemolyticus* ATCC 2210001로 한국생명공학연구원 유전자은행(KCTC)으로부터 분양 받아 3% NaCl을 첨가한 brain heart infusion(BHI, Difco Laboratories, Detroit, MI, USA) broth에 15%의 glycerol를 첨가하여 -80°C에 동결보관하면서 실험전 modified imitation crab(MIC) broth에서 37°C, 24시간 전배양하여 사용하였다.

공시 균주의 배양

공시균주의 배양은 향후, 균의 성장 모델을 포장연제품인 게맛살에 적용하기 위해 게맛살 성분(조단백 7.8%, 조지방 0.2%, 탄수화물 16%, 회분 2.5%, 수분 73.5%)과 유사한 배지(MIC broth)를 제조하여 사용하였다(Table 1).

균의 성장에 미치는 온도, pH 및 초기 균수 등 환경인자의 영향을 알아보기 위하여 동결 보존한 균주를 37°C water bath

Table 1. Composition of modified imitation crab (MIC) broth

| Ingredients | Concentration |
|--------------------|---------------|
| Pepton | 10 g |
| Disodium phosphate | 2.5 g |
| Yeast extract | 10 g |
| Dextrose | 10 g |
| Sodium chloride | 10 g |
| Distilled water | 1,000 mL |

에서 급속 해동한 후, 미리 준비한 멸균 MIC broth 50 mL에 접종하고 37°C incubator (Sanyo, Japan)에서 24시간 전배양 하였다. 전배양 한 균주를 18 mL의 멸균 생리 식염수(3% NaCl)를 이용해 10배씩 희석하여 200 mL의 MIC broth에 초기 균수가 10^2 , 10^3 , 10^4 CFU/mL가 되도록 접종하고 온도 15, 20, 37, 40°C, pH 6, 7, 8에서 각각 배양하였다.

균의 성장 측정

각 실험구별 시간의 경과에 따른 균의 성장은 일정시간 간격으로 plate count agar(PCA, Difco Laboratories, Detroit, MI, USA)를 사용하여 표준 평판 배양법(7)으로 생균수를 측정하여 나타내었다.

Gompertz model의 적용

균의 sigmoid 한 형태의 성장을 표현하기 위해 사용하는 연속함수의 식은 Gompertz가 1825년에 인구동태의 조사결과를 경험식으로서 제시한 Gompertz function (식 1)(8)을 사용하였으며, 1회의 배양실험에서 시간의 경과에 따른 12-16개의 생균수 값을 얻었으며, 15반복을 통한 실험 결과값을 Gompertz model에 대입하여 균의 생육지표치인 최대증식속도 상수($k = BC/e$)를 구하였다.

$$\text{Log}N = A + C \times \exp[-\exp\{-B \times (t - M)\}] \quad (1)$$

t: 배양시간(hr)

N(t): 배양시간에 따른 균수(CFU/mL)

A: 초기 균수의 log값(CFU/mL)

C: 균수 증가량의 log값(초기 균수와 최대 균수의 차, CFU/mL)

M: 발육속도가 최대가 되는 시점의 시간

B: 시간 M에서의 발육 속도(최대 발육 속도)

정량 평가 모델의 개발

균의 증식을 대표하는 균의 생육 지표로서, 최대 증식속도 상수(k)와 유도기(LT), 세대시간(GT)을 실험을 통한 Gompertz 모델에 의하여 도출하였으며, 최대 증식속도 상수, 유도기, 세대시간에 미치는 초기 균수, 온도, pH의 영향을 각각 One-way ANOVA-test를 실시하여 Duncan's multiple range test(9)로 처리 평균간의 유의성($P < 0.05$)을 SPSS (SPSS Inc., 2000) program (Ver. 10.0)으로 검정하였다. 또한 k 에 미치는 초기균수, 온도, pH의 복합적인 관계를 square root model과 polynomial model로 정량화 하였다.

Parameter의 결정과 모델의 평가

온도 15, 20, 37, 40°C, pH 6, 7, 8 및 초기균수 10^2 , 10^3 , 10^4 CFU/mL의 조건하에서 Gompertz model로부터 구한 최대 증식속도 상수(k)와 환경 조건과의 관계를 규명하기 위하여

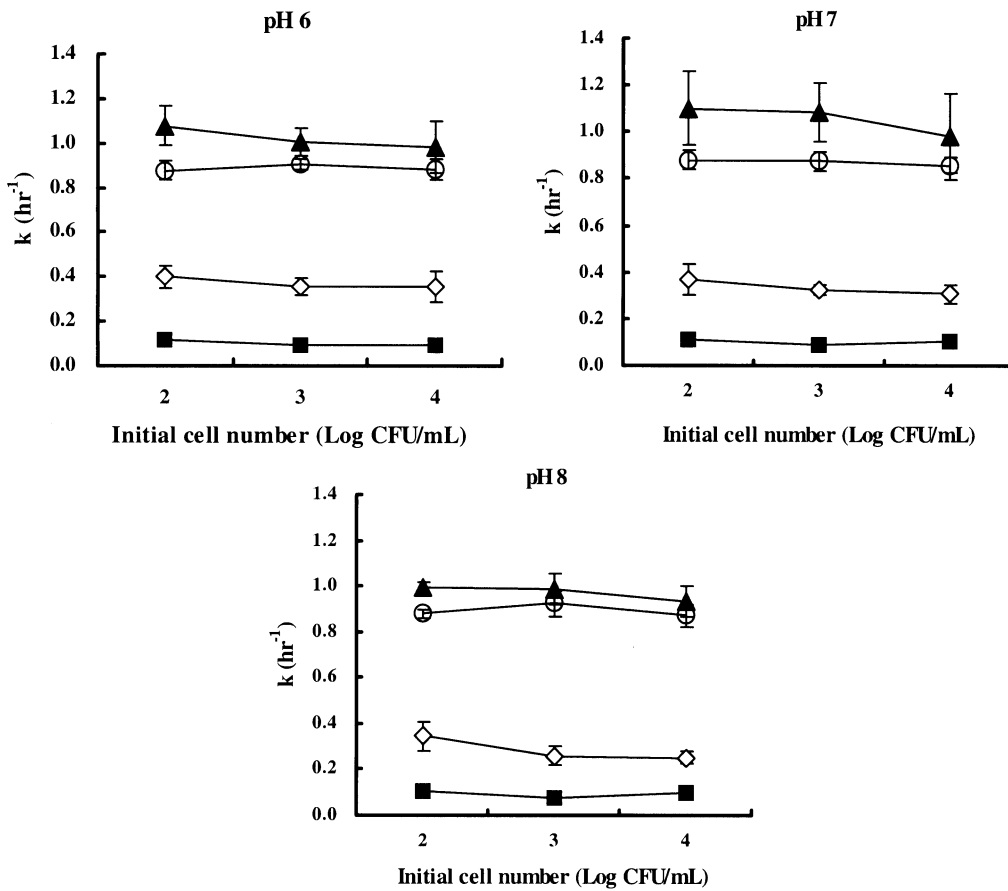


Fig. 1. Effects of temperature, pH, and initial cell number on the maximum specific growth rate (k) of *V. parahaemolyticus* (■ : 15°C, ◇ : 20°C, ▲ : 37°C, ○ : 40°C). Error bars indicate standard deviations (n=15).

square root model과 polynomial model에 각각 적용하여 SPSS (SPSS Inc., 2000) program(Ver. 10.0)을 이용하여 각 식의 parameter를 결정하고 Sigma Plot(SPSS Inc., version 7.0)으로 도식화 하였으며, 각 배양 조건을 대입하여 실제 실험으로부터 구한 최대 증식속도상수와 모델식으로부터 구한 최대 증식속도 상수와의 상관관계를 비교하였다.

*V. parahaemolyticus*의 성장 예측

MIC broth상에서의 *V. parahaemolyticus*의 온도와 초기균수에 따른 최대 증식속도 상수의 정량 평가 모형을 square root model

과 polynomial model을 이용하여 개발하였으며, 개발된 정량 평가 모델에 의하여 예측된 최대 증식속도 상수를 이용하여 온도, pH, 초기균수에 따른 *V. parahaemolyticus*의 성장을 Gompertz 모델로 예측, 증식 곡선으로 나타내었다.

결과 및 고찰

환경 조건에 따른 균의 생육 지표치의 변화

각 환경 요인에 따른 균의 증식을 예측하기 위하여 균의 증식을 대표하는 생육지표로써, 최대 증식속도 상수(k), 유도기

Table 2. Effects of temperature, pH, and initial cell number on lag time and generation time of *V. parahaemolyticus*

| pH | Initial cell number (Log CFU/mL) | Lag time (hr) | | | | Generation time (hr) | | | |
|----|----------------------------------|---------------|-------------|-------------|-------------|----------------------|-------------|-------------|-------------|
| | | 15°C | 20°C | 37°C | 40°C | 15°C | 20°C | 37°C | 40°C |
| 6 | 2 | 26.95 ± 1.45 | 5.93 ± 1.05 | 1.35 ± 0.88 | 1.19 ± 0.26 | 3.20 ± 0.61 | 0.90 ± 0.17 | 0.26 ± 0.04 | 0.47 ± 0.08 |
| | 3 | 25.63 ± 4.56 | 7.23 ± 0.90 | 1.66 ± 0.37 | 1.98 ± 0.68 | 3.61 ± 0.22 | 1.00 ± 0.17 | 0.29 ± 0.02 | 0.47 ± 0.05 |
| | 4 | 24.97 ± 2.10 | 5.79 ± 1.39 | 1.56 ± 0.47 | 1.47 ± 0.46 | 3.23 ± 0.25 | 0.96 ± 0.12 | 0.26 ± 0.03 | 0.47 ± 0.05 |
| 7 | 2 | 28.39 ± 1.53 | 6.36 ± 0.76 | 1.84 ± 1.58 | 1.87 ± 0.16 | 2.81 ± 0.11 | 0.86 ± 0.06 | 0.28 ± 0.04 | 0.46 ± 0.01 |
| | 3 | 26.82 ± 0.56 | 7.79 ± 0.58 | 1.61 ± 0.24 | 1.57 ± 0.26 | 3.37 ± 0.43 | 0.95 ± 0.06 | 0.28 ± 0.02 | 0.47 ± 0.01 |
| | 4 | 27.81 ± 0.99 | 6.72 ± 0.72 | 1.42 ± 0.12 | 1.58 ± 0.47 | 2.91 ± 0.35 | 0.91 ± 0.07 | 0.26 ± 0.04 | 0.48 ± 0.12 |
| 8 | 2 | 30.96 ± 1.01 | 6.40 ± 0.51 | 1.66 ± 1.29 | 1.98 ± 0.26 | 2.78 ± 0.08 | 0.88 ± 0.10 | 0.28 ± 0.04 | 0.43 ± 0.03 |
| | 3 | 31.26 ± 0.85 | 6.41 ± 0.53 | 1.89 ± 0.28 | 1.83 ± 0.26 | 2.90 ± 0.13 | 0.93 ± 0.05 | 0.29 ± 0.02 | 0.38 ± 0.04 |
| | 4 | 31.50 ± 1.18 | 6.59 ± 0.66 | 1.63 ± 0.47 | 1.78 ± 0.47 | 2.76 ± 2.43 | 0.88 ± 0.10 | 0.26 ± 0.01 | 0.45 ± 0.05 |

Values (mean ± S.D. of 15 times replication) in the same column not sharing a common superscript are significantly different (P<0.05).

Table 3. Parameters of polynomial model for the prediction of the maximum specific growth rate (k) of *V. parahaemolyticus* at different initial cell numbers

| Initial level (CFU/mL) | Parameters | | | | |
|------------------------|------------|---------|---------|-----------|------------|
| | a | b | c | T_{max} | pH_{max} |
| 1.0×10^2 | 1.18642 | 8.79753 | 3.79321 | 33.4201 | 6.62192 |
| 1.0×10^3 | 1.11402 | 8.93174 | 4.2621 | 34.2014 | 6.89355 |
| 1.0×10^4 | 1.02322 | 9.61076 | 9.63489 | 34.9752 | 4.73513 |
| Unification | 1.09724 | 9.0909 | 4.67523 | 34.1378 | 6.58586 |

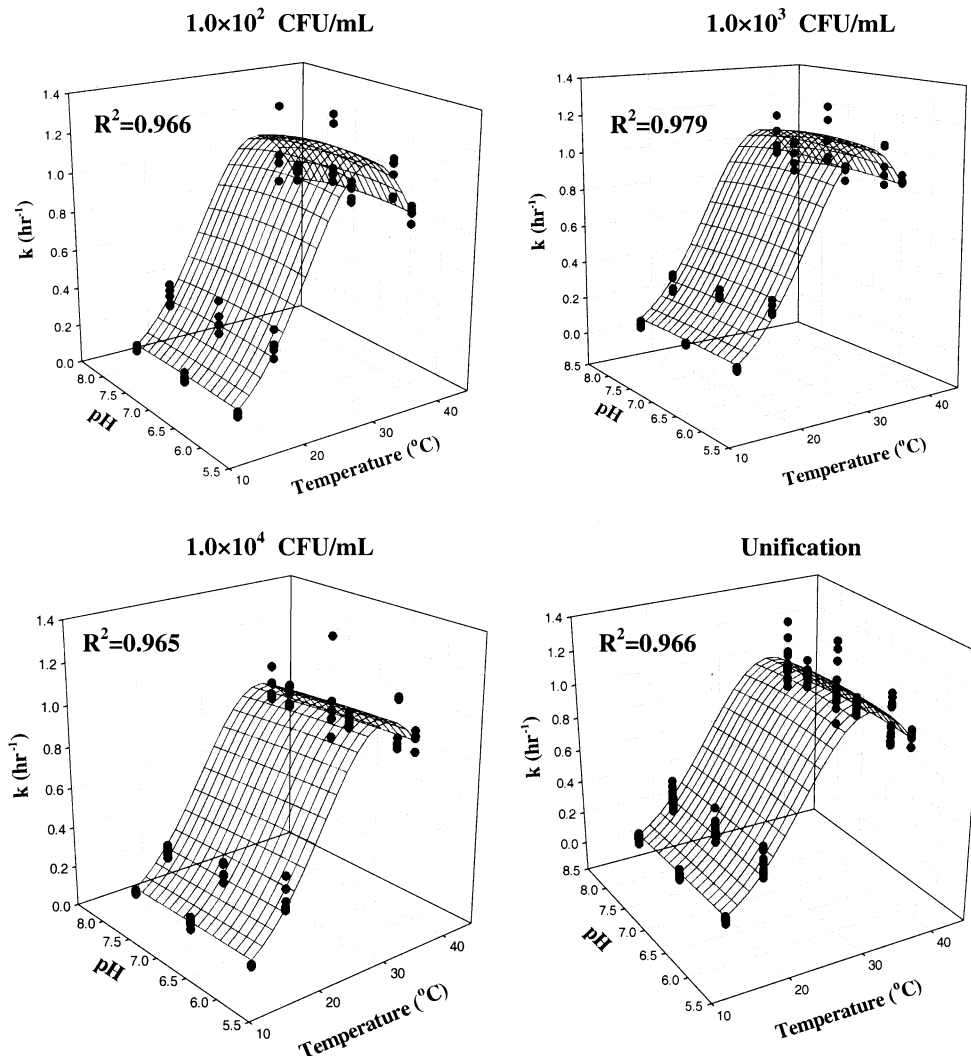


Fig. 2. Comparison of experimental k and predictive k by the response surface model of *V. parahaemolyticus* at different culture conditions (●: Experimental k , ▤: Predictive k).

(LT), 세대시간(GT)을 Gompertz 모델로부터 구하였다. 균의 성장을 표현하는 식으로는 지금까지 여러가지의 형태로 보고되어 있으나, 그 중에서 특히 Gompertz model에 관한 연구가 가장 많으며 영국과 미국에서 각각 개발된 food micromodel (FMM) and Pathogen Modeling program(PMP) 경우에도 Gompertz model을 사용하고 있다.

$$\log N = A + C \times \exp[-\exp\{-B \times (t - M)\}]$$

$$k = BC/e$$

$$GT(\text{hr}) = (\log 2)e/BC$$

$$LT = M - (1/B)$$

*V. parahaemolyticus*의 온도, pH, 초기균수에 따른 최대 증식 속도 상수의 변화를 Fig. 1에 나타내었다. 온도가 높아질수록 최대증식 속도상수는 증가하여 37°C에서 가장 높은 값을 나타내었으며, 40°C에서는 감소하는 경향을 나타내었다. 한편, 37°C, pH 7, 초기균수 1.0×10^2 CFU/mL 일때 *V. parahaemolyticus*의 최대 증식속도상수는 1.10 ± 0.16 으로 가장 높은 값을 나타내었다.

동일한 온도 조건에서 pH와 초기균수를 달리한 실험구에서는 최적 온도인 37°C 실험구에서 pH와 초기균수에 따른 유의

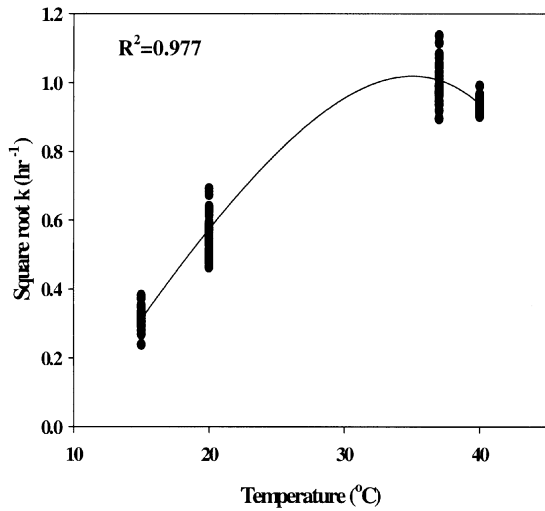


Fig. 3. Comparison of experimental \sqrt{k} and predictive \sqrt{k} by the square root model of *V. parahaemolyticus* at different culture conditions (●: Experimental \sqrt{k} , —: Predictive \sqrt{k}).

적인 차이가 없었다. 그 외의 온도에서는 pH 6과 pH 8의 일부 실험구에서 초기균수에 따른 최대증식속도의 유의적인 차이가 나타났지만 pH와 초기균수에 따른 최대증식속도상수 변화의 일정한 형태는 보이지 않았다. 이는 pH나 초기균수 보다 온도가 균의 최대증식속도상수에 지배적인 영향을 미치는 것으로 나타났다.

온도, pH 및 초기균수에 따른 유도기, 세대시간의 변화를 Table 2에 나타내었다. 유도기는 온도가 높아질수록 짧아지며, 37°C와 40°C에서는 비슷한 유도기를 나타내었다. 세대시간 또한 온도가 높아질수록 짧아졌으며, 37°C에서 가장 짧은 세대시간(평균 0.31±0.041 hr)을 나타내었고, 40°C에서는 다시 길어졌다. 유도기, 세대시간도 최대 증식속도와 같이 pH와 초기균수보다 온도의 영향을 더 받는 것으로 나타났다.

환경 조건에 따른 최대증식속도상수의 정량화 모델

온도와 pH의 변화에 따른 초기균수별 정량평가 모델: 온도, pH, 초기 균수에 따른 *V. parahaemolyticus*의 성장을 정량적으로 예측하기 위하여 square root model과 polynomial model을 이용하였다. 각 초기균수 조건에서 온도와 pH의 복합적인 영향을 표현하기 위해서 sigmaplot 7.0(SPSS Inc.)의 Gauss-Newton 알고리즘을 사용하여 식 (2)와 같은 비선형 회귀분석식을 통하여 모델화하였다.

$$f = a \cdot \exp(-0.5(((T-T_{max})/b)^2 + ((pH-pH_{max})/c)^2)) \quad (2)$$

식 (2)에서 a, b, c는 각 항의 상수이며, T_{max} 와 pH_{max} 는 최대 속도상수가 최대가 되는 온도와 pH를 나타낸다. 각 초기균수 조건에서 식 (2)에 해당하는 각 parameter 값을 Table 3에 나타내었으며, 초기균수에 따른 최대증식속도상수의 유의적인 차이가 나지 않으므로, 초기균수를 고려하지 않고, 식 (3)과 같은 온도와 pH에 관한 하나의 식으로 나타내었다.

$$k = 1.10 \cdot \exp(-0.5(((T-34.14)/9.09)^2 + ((pH-6.59)/4.68)^2)) \quad (3)$$

한편, Fig. 2에 나타난 바와 같이 pH에 따른 최대증식속도상수(k)의 유의적인 차이는 없었으며(P>0.05), Miles 등(10)도 *V. parahaemolyticus*의 최대증식속도상수는 pH 6.5에서 pH 8.9 범

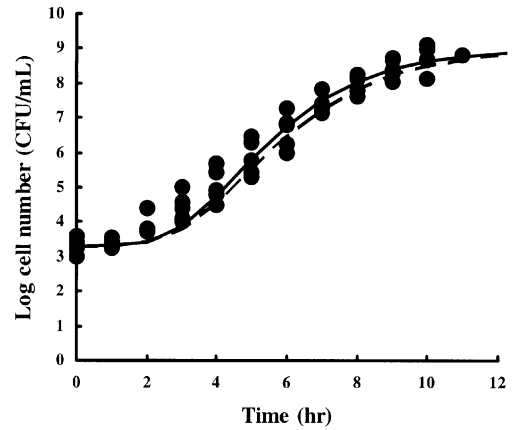


Fig. 4. Predictive growth curve of *V. parahaemolyticus* by the polynomial model and square root model (Initial cell number: 1.0×10^3 CFU/mL, Temperature: 37°C, pH 6, ●: Experimental data, —: Growth curve by polynomial model, - - -: Growth curve by square root model).

위에서 비교적 일정하다고 보고하였다. 이 같은 pH 범위는 대부분의 수산 식품의 어류나 계, 새우 등의 갑각류, 패류 등의 해양 생물의 pH 범위와 일치하기 때문에, 수산 식품의 원료 또는 가공식품의 병원성 인자인 *V. parahaemolyticus*의 성장 예측 모델에서 pH를 변수에서 제외하고, Ratkowsky 등(11), Zwietering 등(12,13)이 정의한 초기균수를 고려하지 않은 온도와 최대 증식속도상수(k)간의 상호작용을 표현하는 2차 모델인 square root model의 확장된 형태를 사용하여 $\sqrt{k} = b(T - T_{min})[1 - \exp(c(T - T_{max}))]$ 로 통합하여 식 (4)과 같이 정량화 하였으며, 통계적 분석치를 Table 4에 나타내었다.

$$\sqrt{k} = 0.06(T - 9.55)[1 - \exp(0.07(T - 49.98))] \quad (4)$$

Miles 등(14)은 *V. parahaemolyticus*의 증식 속도에 미치는 온도와 수분활성에 관한 연구에서 4 종류의 다른 strain의 *V. parahaemolyticus*의 생육이 가능한 최저 온도는 5.3-8.3°C인 반면, 최대 온도는 45.3-48°C이며, 최적 온도는 37-39°C로 보고하였다. 한편, 본 실험의 square root model에 의한 *V. parahaemolyticus*의 생육 최저 온도는 9.5°C, 최대 온도는 49.9°C로 이와 유사한 결과를 나타내었다.

정량평가 모델로 예측한 최대증식속도상수(k)와 실험치의 비교:

Polynomial model(식 3)로부터 예측한 *V. parahaemolyticus*의 최대증식속도상수와 실험치를 비교한 결과를 Fig. 2에 곡면 응답 모델로 나타내었다. 1.0×10^2 , 1.0×10^3 , 1.0×10^4 CFU/mL의 각 초기균수 조건에서 실험치와 예측치의 상관계수는 각각 0.966, 0.979, 0.965이며, 초기균수를 고려하지 않은 모델식은 상관계수가 0.966으로 나타났다. 한편, square root model의 확장된 형태인 식 (4)로부터 예측한 최대증식속도상수와 실험치를 비교한 결과는 Fig. 3과 같으며, 실험치와 예측치의 상관계수는 0.977로 polynomial model(식 3)보다 다소 높은 상관관계를 나타내었다.

2차 모델식과 Gompertz 모델에 의한 *V. parahaemolyticus*의 성장 예측:

서로 다른 초기 균수, 온도, pH 조건하에서 polynomial model과 square root model로 예측한 최대증식속도상수(k)를 균의 성장 곡선을 표현하는 Gompertz식에 적용함으로써, 각

Table 4. Parameters of square root model for the prediction of the maximum specific growth rate (*k*) of *V. parahaemolyticus*

| | | Statistical analysis | | | | |
|-------------------|------------------|----------------------|---------------------|---------|---------|-------------------|
| | | Coefficient | S. E. ¹⁾ | t-value | P | S. E. of Estimate |
| Square root model | T _{min} | 9.5459 | 0.3554 | 26.8617 | <0.0001 | 0.0436 |
| | T _{max} | 49.980 | 0.9566 | 52.2472 | <0.0001 | |
| | b | 0.0636 | 0.0057 | 11.1888 | <0.0001 | |
| | c | 0.0663 | 0.0129 | 5.1318 | <0.0001 | |

¹⁾Standard error.

조건에서 Gompertz 식에 의한 균의 성장을 예측할 수 있게 되었다. 초기 균수 1.0×10^3 CFU/mL, 온도 37°C, pH 6에서의 반복실험을 통한 성장곡선(실험치)과 같은 조건에서의 polynomial model과 square root model에 의한 예측 성장 곡선(예측치)을 비교한 결과는 Fig. 4과 같다. 실험을 통해 관찰된 균의 성장과 예측 정량평가 모델을 이용한 균의 성장은 잘 일치하는 것으로 나타났다. 이러한 최대증식속도상수에 관한 정량적인 모델은 *V. parahaemolyticus*의 환경 요인에 대한 성장을 손쉽게 모니터링 할 수 있으며, 수분활성이나 좀 더 넓은 pH 범위, 여러 첨가물의 농도, 포장시 충전하는 N₂ 또는 CO₂ 농도나 이러한 조건들 간의 상호작용 등 물리 화학적인 요인에 관한 추가적인 연구를 계속한다면 보다 다양한 환경 조건하에서 보다 정확하게 *V. parahaemolyticus*의 성장을 정량적으로 예측할 수 있을 것으로 기대된다.

요 약

수산식품에서 문제가 되는 식중독 균인 *V. parahaemolyticus*를 대상으로 온도, pH 및 초기균수에 따른 균의 성장 실험 결과를 데이터베이스화하여 이를 바탕으로 균의 성장을 정량적으로 평가할 수 있는 수학적 모델을 개발하였다. 1.0×10^2 , 1.0×10^3 , 1.0×10^4 CFU/mL의 각 초기균수 조건에서 실험치와 예측치의 상관계수는 각각 0.966, 0.979, 0.965으로 나타났다. 또한, 초기균수를 고려하지 않은 모델식은 상관계수가 0.966으로 다음과 같이 나타났다.

Polynomial model:

$$k = 1.10 \cdot \exp(-0.5(((T-34.14)/9.09)^2 + ((pH-6.59)/4.68)^2))$$

균의 증식 지표치인 최대증식속도상수 *k*는 온도에 지배적인 영향을 받았으며, pH 및 초기균수에 따른 유의적인 차이는 없었으므로 ($P > 0.05$), *k*와 온도와의 관계식인 square root model로 나타내었다.

Square root model:

$$\sqrt{k} = 0.06(T - 9.55)[1 - \exp(0.07(T - 49.98))]$$

*V. parahaemolyticus*의 경우, square root model에 의한 실험치와 예측치의 상관계수는 0.977로 polynomial model보다 높은 적용성을 나타내었다.

감사의 글

본 연구는 2000년도 수산특정연구개발사업의 일환으로 해양수산부의 연구비 지원에 의해 수행된 연구 결과이며, 이에 깊이 감사드립니다.

문 헌

- Ross T, McMeekin TA. Predictive microbiology. *Int. J. Food Microbiol.* 23: 241-264 (1994)
- Coleman ME, Marks HM. Qualitative and quantitative risk assessment. *Food Control* 10: 289-297 (1999)
- Baker DA. Application of modelling in HACCP plan development. *Int. J. Food Microbiol.* 25: 251-261 (1995)
- Notermans S, Gallhoff G, Zwietering MH, Mead GC. The HACCP concept: specification of criteria using quantitative risk assessment. *Food Microbiol.* 12: 81-90 (1995)
- Ross T, McMeekin TA. Predictive microbiology. *Int. J. Food Microbiol.* 23: 241-264 (1994)
- Yano N. Predictive Microbiology and its application in food industry. *Jpn. J. Food Microbiol.* 15: 81-87 (1998)
- AOAC. Official Methods of Analysis. Method 940.36. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA, USA (2000)
- Ratkowsky DA, Ross T. Modelling the bacterial growth/no growth interface. *Lett. Appl. Microbiol.* 20: 29-33 (1995)
- Duncan DB. Multiple-range and multiple F test. *Biometrics* 11: 1-42(1955)
- Miles DW. Predicting the growth of *Vibrio parahaemolyticus*. BS thesis, University of Tasmania, Tasmania, AU (1994)
- Ratkowsky DA, Lowry RK, McMeekin TA, Stokes AN, Chandler RE. Model for bacterial culture growth rate through the entire biokinetic temperature range. *J. Bacteriol.* 154: 1222-1226 (1983)
- Zwietering MH, de Koos JT, Hasenack BE, de Wit JC, van 'T Riet K. Modeling of bacterial growth as a function of temperature. *Appl. Environ. Microbiol.* 57: 1094-1101 (1991)
- Zwietering MH, Cuppers HGAH, de Wit JC, van 'T Riet K. Evaluation of data transformations and validation of a model for the effect of temperature on bacterial growth. *Appl. Environ. Microbiol.* 60: 195-203 (1994)
- Miles DW, Thomas R, Olley J, Thomas A, McMeekin TA. Development and evaluation of a predictive model for the effect of temperature and water activity on the growth rate of *Vibrio parahaemolyticus*. *Int. J. Food Microbiol.* 38: 133-142 (1997)

(2003년 12월 24일 접수; 2004년 3월 30일 채택)