

# 가열처리 조건에 따른 오염굴(*Crassostrea gigas*) 중의 Male Specific Coliphage와 노로바이러스 농도변화

박큰바위 · 박용수 · 권지영 · 유홍식<sup>1</sup> · 이희정<sup>1</sup> · 김지회<sup>2</sup> · 이태식 · 김풍호\*

국립수산과학원 식품위생가공과, <sup>1</sup>국립수산과학원 서해수산연구소, <sup>2</sup>국립수산과학원 연구기획과

## Effect of Heat Treatment on Male specific Coliphage and Norovirus Concentrations in Norovirus Contaminated Oyster *Crassostrea gigas*

Kunbawui Park, Yong Su Park, Ji Young Kwon, Hong Sik Yu<sup>1</sup>, Hee Jung Lee<sup>1</sup>, Ji Hoe Kim<sup>2</sup>,  
Tae Seek Lee and Poong Ho Kim\*

Food Safety and Processing Research Division, National Institute of Fisheries Science, Busan 46083, Korea

<sup>1</sup> West Sea Fisheries Research Institute, National Institute of Fisheries Science, Incheon 22383, Korea

<sup>2</sup> Research and Development Planning Division, National Institute of Fisheries Science, Busan 46083, Korea

Noroviruses (NoV) are known to cause acute epidemic gastroenteritis worldwide. Outbreak strains are predominantly genogroup I (GI) and genogroup II (GII) in oysters *Crassostrea gigas*. We investigated the changes in concentration of male specific coliphage (MSC) and NoV under heat treatment of the naturally contaminated oyster, *Crassostrea gigas*. After heat treatment for 5 min in 85 °C, no viable MSC was detected. The concentrations of GI and GII NoV decreased by 1.65 log and 2.25 log, respectively, following heat treatment for 5 min at 100 °C. Moreover, both GI and GII NoV were completely deactivated by heat treatment for 10 min at 100 °C. Therefore, in order to reduce the risk of norovirus infection from contaminated oysters, immersion in boiling water for at least 10 min is recommended.

Key words: Heat-treatment, Male specific coliphage, Norovirus, Oyster

### 서론

바이러스성 식중독의 대표적인 원인체인 노로바이러스는 *Caliciviridae*과에 속하며 외피(envelope)가 없는 단일가닥 RNA 바이러스(약 7.6 kb)로 3개의 open reading frame (ORF)로 구성되어 있고, 변이가 쉬운 RNA 바이러스 특성상 노로바이러스는 5개의 genogroup (G I -G V)으로 분류되고 있으며, 이들 중 G I 및 G II genogroup의 노로바이러스가 바이러스성 식중독을 일으키는 원인으로 알려져 있다. 노로바이러스는 10~100개의 소량 입자로도 감염증을 유발시킬 수 있으며, 인체 감염시 많은 수의 바이러스가 분변으로 배출되는 특징이 있다 (Koopmans et al., 2002; Blackburn et al., 2004).

노로바이러스 식중독은 감염증 환자의 분변에 의해 식품이 오염되고, 오염된 식품을 섭취할 경우 환자가 발생하는 순환고리 (fecal-oral route)를 형성하고 있다. 감염증 환자의 분변에 오

염된 해역에서 생산된 패류는 노로바이러스 식중독의 매개체 역할을 할 가능성이 크며, 패류 중에서도 주로 날 것으로 섭취가 많은 굴에 의한 노로바이러스 식중독 사고는 호주, 뉴질랜드, 일본 등 여러나라에서 보고 되고 있다(Webby et al., 2007; Simmons et al., 2007; Alfano-Sobsey et al., 2012; Iritani et al., 2014).

한편, male specific coliphage (MSC)는 처리되지 않은 폐수 또는 하수처리장에서 처리된 후 배출되는 방출수 중에 높은 농도로 검출된다. MSC의 크기(head diameter)는 25 nm이고, 단일 가닥 RNA 구조이며, 염소소독 및 환경스트레스에 대한 내성 정도가 노로바이러스 등 다른 장관계바이러스의 생화학적 특성과 유사하여 인간 분변 유래 장관계바이러스의 오염지표로써 주목 받고 있다(Burkhardt et al., 1992).

우리나라에서 굴 생산해역의 대부분이 연안해역에 위치하고 있어 육·해상오염원으로부터 유입되는 분변성 오염물질의 영

<http://dx.doi.org/10.5657/KFAS.2015.0898>



This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Korean J Fish Aquat Sci 48(6) 898-903, December 2015

Received 29 September 2015; Revised 5 November 2015; Accepted 6 November 2015

\*Corresponding author: Tel: +82. 51. 720. 2630 Fax: +82. 51. 720. 2619

E-mail address: phkim1@korea.kr

향을 쉽게 받고 있으며, 강우 발생시 많은 분변성 오염물질들이 일시에 패류 생산해역으로 유입되어 해역의 위생상태가 악화되고 있다는 보고도 있다(kwon et al., 2007; Park et al., 2011; Park et al., 2012).

특히 인축의 분변에는 병원성세균, 장관계 바이러스 등의 식중독 원인체가 함유되어 있을 가능성이 있으며, 분변이 유입된 해역에서 생산된 굴은 여과섭이(filter feeding) 과정을 통해서 식중독 원인물질을 굴 체내에 축적할 가능성이 높다. 최근 우리나라에서도 연안해역에서 생산 또는 유통되는 굴에서 노로바이러스가 검출된 사례가 보고 되고 있으며, 굴이 노로바이러스 식중독의 매개체 역할을 가능성이 점점 커지고 있다(Moon et al., 2011; Shin et al., 2013; Shin et al., 2014).

한편, 노로바이러스에 오염되지 않은 안전한 굴을 생산하기 위해서는 인축의 분변이 패류 생산해역으로 유입되는 것을 차단하는 것이 근원적인 해결책이지만, 분변성 오염물질의 해양 유입을 완벽하게 차단하기에는 현실적인 한계가 있기 때문에 전 세계적으로 노로바이러스에 오염된 패류 섭취로 인한 식중독을 예방하기 위하여 패류 수확 후 정화처리(depuration), 고압처리(high hydrostatic pressure) 등의 노로바이러스 제어 연구가 활발히 이루어지고 있으나, 대규모의 패류 가공공장에 적용이 가능할 정도의 연구성과는 아직까지 없는 실정이다(Ueki et al., 2007; Arcangeli et al., 2012).

또한, 일반 가정집과 식당에서 굴 섭취로 인한 식중독을 예방하기 위해서는 가열 조리한 후 굴을 섭취하는 것이 가장 안전한 굴 섭취방법이라고 할수 있으나, 각굴 중에 함유되어 있는 노로바이러스가 가열온도 및 처리시간에 따라 제거되는 효과에 대한 연구가 미미한 실정이다.

따라서 본 연구에서는 안전한 굴 섭취 요령의 기초자료로 활용하고자 가열온도 및 처리시간에 따라 인위감염 시킨 오염 굴 중의 male specific coliphage와 노로바이러스 농도변화를 파악하여 각굴 중의 노로바이러스를 제거 하기 위한 적절한 가열온도와 가열처리 시간을 조사하였다.

## 재료 및 방법

### 노로바이러스 및 male specific coliphage 오염굴 제작

가열온도 및 가열시간에 따른 각굴 중의 노로바이러스 및 MSC 농도변화를 조사하기 위한 노로바이러스 및 MSC 감염은 naturally-contamination 방법을 이용하여 인위적으로 감염시켰다(Shin et al., 2014).

참굴(*Crassostrea gigas*)의 여과섭이 활동이 저해 받지 않게 사각 채롱에 참굴을 넣은 후 대규모 주거시설과 상업시설이 위치하고 있으며 하수처리장의 배출수가 유입되고 있는 부산시 용호항 부근의 해상구조물에 참굴이 들어 있는 사각 채롱을 설치한 후 노로바이러스 및 MSC가 참굴에 자연적으로 오염되도록

14일간 인위감염을 실시하였으며, 각굴 중의 노로바이러스와 MSC의 오염 정도를 확인하기 위하여 7일 간격으로 각각 12개체를 채취하여 실험에 사용하였다.

### 노로바이러스와 male specific coliphage 오염굴의 가열처리 조건

각굴을 가열처리하여 섭취할 경우 적절한 가열온도 및 가열시간을 파악하기 위하여 노로바이러스와 MSC의 오염이 확인된 각굴 속에 존재하는 굴에 영향을 미칠 수 있는 온도와 노로바이러스와 MSC가 열처리에 의해 파괴시킬 수 있는 온도를 고려하여 가열처리 온도를 설정하였다.

85℃ 및 100℃로 설정된 항온수조에 노로바이러스와 MSC가 오염되어 있는 각굴을 수침한 후 5분, 10분, 15분 및 20분 동안 각각 가열처리 하였다. 각 가열처리 조건에 따라 24개체의 각굴을 사용하였으며, 실험에 사용된 각굴의 평균 각장과 각고 그리고 평균 무게는 각각  $9.7 \pm 1.4$  cm,  $4.6 \pm 0.9$  cm,  $61.8 \pm 15.9$  g 이었다.

한편, 가열처리된 각굴은 즉시 패각을 분리하여 알굴을 무균적으로 회수하여 즉시 노로바이러스 및 MSC 분석을 실시하였다.

### 굴 중의 male specific coliphage 검출

굴 중에 함유되어 있는 MSC는 Cabelli VJ (1988)의 한천 중첩법 (agar overlay method)을 일부 변형하여 사용하였다. 실험에 사용한 MSC 숙주세포는 *Escherichia coli* HS (pFamp) R (ATCC 700891)을 사용하였으며, 균질화된 굴 시료 20 g에 growth broth (tryptone 10 g, dextrose 1.0 g, NaCl 5.0 g, water 1,000 mL) 10 mL 첨가하여 혼합한 후 9,000 g에서 15분간 원심분리하고, 상정액을 회수하여 MSC 분석 시료로 사용하였다.

멸균한 2.5 mL soft agar에 *E. coli* HS (pFamp)R 배양액을 0.2 mL 접종하고, 2.5 mL 시료를 첨가한 후 bottom agar에 중첩시키고, 35℃에서 24시간 배양 후 형성된 plaque 수를 측정하고, MSC에 대한 결과 표기는 100 g 당 plaque-forming unit (PFU)으로 나타내었다.

### 노로바이러스 분리 및 RNA 추출

굴에서 노로바이러스 분리는 Jothikumar et al. (2005)의 방법을 일부 변형하여 사용하였다. 가열처리된 굴로부터 분리된 중장선에 3 g에 동량의 300 µg/mL Proteinase K solution (Promega, USA)을 첨가하였으며, 호모게나이저로 완전히 균질화하였다. 균질화된 시료에 37℃, 320 rpm의 조건으로 1시간 반응시킨 후 Proteinase K의 불활성화 시키기 위하여 65℃에서 15분간 추가로 반응 후 3,000 g에서 5분간 원심분리 하여 상정액을 노로바이러스 RNA 추출 시료로 사용하였다.

RNA 추출에는 Vrial RNA mini kit (QIAGEN, USA)을 사용하였다. 샘플 300 µL에 AVL buffer 1,120 µL를 첨가하여 혼합한 후 실온에서 10분간 반응시켰다. 반응액에 95-100% 에탄올

1,120  $\mu$ L을 첨가하여 혼합하였으며, 혼합액을 630  $\mu$ L를 spin column tube로 옮겨 6,000 g에서 1분간 원심분리 하였다. 남은 혼합액을 동일한 방법으로 처리 한 후, 동일한 spin column tube에 AW1 완충액 500  $\mu$ L를 첨가하여 6,000 g에서 1분간 원심분리 하였다. 또한 AW2 완충액 500  $\mu$ L를 각각 첨가하여 20,000 g에서 3분간 원심분리 하였으며, 원심분리 후 spin column에 걸러진 용액은 제거하였다. 다음으로 spin column을 새로운 tube로 옮긴 후 AVE 완충액(sodium azide 함유) 60  $\mu$ L를 넣고 1분간 반응시켰다. 마지막으로 6,000 g로 1분간 원심분리하여 real time RT-PCR을 수행하기 위한 시료로 사용하였다.

#### Real time RT-PCR에 의한 노로바이러스 정량분석

추출된 RNA로부터 노로바이러스 유전자 검출과 가열온도 및 처리시간에 따른 노로바이러스 농도변화를 조사하기 위하여 다음과 같이 수행하였다. Real time RT-PCR 반응을 위하여 OneStep RT-PCR kit (QIAGEN, USA) 및 RNase inhibitor (Ambion, USA) 시약을 사용하였다. 폴리오미아비러스의 RNA를 internal control RNA (IC, US FDA 제공)로 첨가하여 반응이 적절히 이루어지는지 확인하였으며 음성대조군으로 RNase-free water를 사용하여 실험의 신뢰성을 확보하였다.

노로바이러스 유전자 검출을 위하여 Table 1의 primer와 probe를 이용하여 25  $\times$  enzyme mix 0.5  $\mu$ L, 5  $\times$  buffer 5  $\mu$ L, 10  $\times$  dNTPs 1  $\mu$ L, RNase inhibitor (5 units/  $\mu$ L) 0.25  $\mu$ L, 10  $\mu$ M primer (Forward 및 Reverse) 1  $\mu$ L, 10  $\mu$ M IC primer (Forward 및 Reverse) 0.5  $\mu$ L, 10  $\mu$ M probe (노로바이러스 및 IC) 0.5  $\mu$ L, IC RNA 1  $\mu$ L, 추출한 RNA 5  $\mu$ L로 반응액을 조성한 후, 멸균증류수를 첨가하여 최종적으로 25  $\mu$ L의 반응액을 조성하였으며, 유전자 증폭을 위해서는 Thermal cycler dice TP800 (Takara, Japan)를 이용하여 50 $^{\circ}$ C에서 50분간 reverse transcription을 수행하고, 95 $^{\circ}$ C에서 15분간 DNA를 변성하였다. 이 후 95 $^{\circ}$ C에서 10초, 53 $^{\circ}$ C에서 25초, 62 $^{\circ}$ C에서 70초로 45 cycles를 반복하였다. 양성대조군으로 노로바이러스 RNA (Takara, Japan)를 사용하고, 음성대조군으로 멸균증류수를 사용하였다.

## 결과 및 고찰

### MSC와 노로바이러스의 오염확인

면역력이 약한 노약자 등이 오염된 굴 섭취로 인한 식중독 사고 예방을 위한 적절한 가열처리 온도 및 시간을 권고하기 위하여 각굴을 naturally-contamination 방법으로 노로바이러스와 MSC를 오염시켰으며, 그 결과를 Table 2에 나타내었다. 인위 감염 7일차에는 굴 중의 MSC와 노로바이러스(G I & G II) 오염정도는 1,380 PFU/100 g,  $9.24 \times 10^1$  copies/g 및  $2.30 \times 10^2$  copies/g으로 확인되었으며, 인위감염 14일차때는 MSC와 노로바이러스 오염정도는 4,107 PFU/100 g,  $1.04 \times 10^4$  copies/g 및  $5.73 \times 10^4$  copies/g으로 나타나, 가열처리 온도 및 시간에 따라 오염굴 중의 MSC와 노로바이러스 농도변화 조사 시료로 사용하였다.

한편, Shin et al. (2014)이 경상남도 통영시 인평동 인근 굴 양식장에서 7일간격으로 채취한 굴 중의 노로바이러스 농도가 G I 형이  $2.24 \times 10^2$  copies/g- $8.97 \times 10^2$  copies/g, G II 형이  $7.47 \times 10^1$  copies/g- $3.05 \times 10^2$  copies/g으로 나타났다고 보고한 결과보다는 다소 높았고, Lowther et al. (2012)가 영국 연안 해역에서 상업적 패류가 생산되는 해역에서 2009년 5월부터 2011년 4월까지 한달간격으로 채취한 굴 중에서의 노로바이러스가 검출된 시료 중 G I 형의 농도는  $1.65 \times 10^4$  copies/g, G II의 농도는  $1.80 \times 10^4$  copies/g이 가장 높았다는 조사 결과하고는 다소 비슷하였다.

이러한 결과 차이는 굴을 인위감염시킨 해역이 육지와 바로 인접해 있어 배수유역으로부터 유입되는 분변성 오염물질의 영향을 바로 받지만, 배수유역가 다소 떨어진 굴 양식장은 지선에서부터 굴 양식장까지 분변성 오염물질이 확산되기까지는 시간이 다소 걸리고, 확산과정 중에 분변성 오염물질의 농도가 희석되기 때문에 굴 양식장에서 채취한 굴에서의 노로바이러스 오염정도가 낮게 나타난 것으로 사료된다.

또한, 분변성 오염물질이 패류양식장으로 유입되는 시기와 정도에 따라 굴에서 노로바이러스가 검출되었다가 일정시간 경

Table 1. Primers and Probes used to detect norovirus

Genogroup	Name	Sequence (5'-3')
GI	COG1F	CGY TGG ATG CGN TTY CAT GA
	COG1R	CTT AGA CGC CAT CAT CAT TYA C
	RING1(a)-TP	ROX-AGA TYG CGA TCY CCT GTC CA-BHQ2
GII	COG2F	CAR GAR BCN ATG TTY AGR TGG ATG AG
	COG2R	TCG ACG CCA TCT TCA TTC ACA
	RING2(a)-TP	ROX-TGG GAG GGC GAT CGC AAT CT-BHQ2
Internal Control	ICF	GAC ATC GAT ATG GGT GCC G
	ICR	AAT ATT CGC GAG ACG ATG CAG
	ICP	FAM-TCT CAT GCG TCT CCC TGG TGAATG TG-TAMRA

Table 2. Concentration analysis of male specific coliphage (MSC) and norovirus (G I and G II) in oysters *Crassostrea gigas* for naturally contamination period

Naturally contamination period (day)	MSC (PFU/100 g)	G I (copies/g)	G II (copies/g)	No. of samples
0	ND <sup>1</sup>	ND	ND	12
7	1,380	9.24×10 <sup>1</sup>	2.30×10 <sup>2</sup>	12
14	4,107	1.04×10 <sup>4</sup>	5.73×10 <sup>4</sup>	12

<sup>1</sup>ND, Not detected.Table 3. Inactivation of male specific coliphage (MSC) by the different heat-treatment conditions in oysters *Crassostrea gigas*

Treatment time (min)	MSC (PFU/100 g)		No. of samples
	85°C	100°C	
Control	4,107	4,107	12
5	ND <sup>1</sup>	ND	12
10	ND	ND	12
15	ND	ND	12
20	ND	ND	12

<sup>1</sup>ND, Not detected.

과 후 다시 불검출 된다는 연구결과도 있다(Shin et al., 2014).

이상의 결과, 노로바이러스에 의한 굴 양식장 오염은 위생처리되지 않은 분변 유입에서 기인된 것으로 관리조치가 이행되지 않은 오염원이 굴 양식장 주변에 존재한다면 노로바이러스에 오염된 굴 섭취로 인한 식중독 사고는 언제든지 발생할 위험성이 상존해이기 때문에 안전한 굴 생산을 위해서는 굴 양식장 주변에 위치하고 있는 육·해상오염원의 관리조치가 반드시 이루어져야 한다.

#### 가열처리 온도 및 처리시간에 따른 굴 중의 MSC와 노로바이러스의 농도변화

인간 분변 유래 장관계바이러스 오염의 잠정적인 지표로서 활용되고 있는 MSC가 각굴에서 가열처리 온도 및 시간에 따라 불활성화되는 정도를 파악하기 위하여 조사하였으며, 그 결과

를 표 3에 나타내었다. 가열처리전 오염굴 중의 MSC 농도는 4,107 PFU/100 g이었으나, 85°C에서 5분간만 가열처리 하여도 MSC는 모두 불활성화가 이루어지는 것으로 확인이 되었다.

한편 노로바이러스 정량분석을 위한 표준곡선은 G I 및 G II 양성 RNA(Takara, Japan)를 10<sup>5</sup>-10<sup>1</sup> copies/reaction으로 희석하여 분석하였다. 표준곡선의 선형분석 결과, G I 형은 상관계수(R<sup>2</sup>) 0.999, 기울기는 -3.300으로 나타났고, G II 형은 상관계수(R<sup>2</sup>) 0.999, 기울기는 -3.315으로 나타났으며, 표준곡선에 real time RT-PCR 결과의 Ct value를 대입하여 시료 중의 노로바이러스 농도를 정량하였으며, 최종 결과값은 시료당 3회 실험 결과의 평균으로 나타내었다.

노로바이러스에 오염된 각굴을 가열처리 온도 및 처리시간에 따른 노로바이러스 농도변화를 real time RT-PCR로 분석하였으며, 그 결과를 Table 4와 Table 5에 나타내었다. 노로바이러스 감염굴 중의 G I 형의 가열처리전 농도는 1.04×10<sup>4</sup> copies/g이었지만, 85°C에서 5분간 가열처리에는 3.95×10<sup>3</sup> copies/g, 20분간 가열처리에는 1.40×10<sup>3</sup> copies/g으로 0.87 log만 감소하였지만, 100°C에서 5분간 가열처리에는 2.33×10<sup>2</sup> copies/g로 1.65 log 감소하였고, 10분간 가열처리 후부터는 오염굴에서 노로바이러스 G I 는 불검출이었으며, Shin et al. (2014)이 노로바이러스에 오염된 알굴을 70°C에서 15분간 가열처리 하였을 때 노로바이러스 G I 의 농도는 약 1.0 log 감소하였고, 100°C에서 15분간 가열처리 했을 경우에는 G I 은 불검출 되었다는 조사결과하고 비슷하였다.

노로바이러스 G II 형의 경우에도 가열처리전 농도는 5.73×10<sup>4</sup> copies/g이었지만, 85°C에서 5분간 가열처리에는 7.49×10<sup>3</sup> copies/g, 20분간 가열처리에는 1.39×10<sup>3</sup> copies/g으로 1.61 log만 감소하였지만, 100°C에서 5분간 가열처리에는 3.26×10<sup>2</sup> copies/g로 2.25 log감소하였고, 10분간 가열처리 후부터는 오염굴에서 노로바이러스 G II 는 불검출이었다.

한편, Shin et al. (2014)은 노로바이러스에 오염된 알굴을 70°C에서 15분간 가열처리 하였을 때 G I 과 G II 농도는 각각 89.4% 및 80.1% 감소되었으나, 100°C에서 15분간 가열처리 시에는 알굴 중의 G II 농도가 89.8% 감소되었으며 G I 은 불검출되었다는 연구결과와 본 연구결과하고는 다소 차이가 있는 것으로 나타났다.

Table 4. Inactivation of norovirus genogroup I by the different heat-treatment conditions in oysters *Crassostrea gigas*

Treatment time (min)	85°C		100°C		No. of samples
	Ct value	Avg Concn <sup>2</sup> copies/g)	Ct value	Avg Concn (copies/g)	
Control	33.47±0.07	1.04×10 <sup>4</sup>	33.47±0.07	1.04×10 <sup>4</sup>	12
5	34.91±0.19	3.95×10 <sup>3</sup>	39.12±1.48	2.33×10 <sup>2</sup>	12
10	34.61±0.07	4.43×10 <sup>3</sup>	ND <sup>1</sup>	ND	12
15	35.66±0.22	1.93×10 <sup>3</sup>	ND	ND	12
20	36.01±0.08	1.40×10 <sup>3</sup>	ND	ND	12

<sup>1</sup>ND, Not detected. <sup>2</sup>Average concentration of 3 times results.

Table 5. Inactivation of norovirus genogroup II by the different heat-treatment conditions in oysters *Crassostrea gigas*

Treatment time (min)	85°C		100°C		No. of samples
	Ct value	Avg Concn <sup>2</sup> (copies/g)	Ct value	Avg Concn (copies/g)	
Control	33.23±0.08	5.73×10 <sup>4</sup>	33.23±0.08	5.73×10 <sup>4</sup>	12
5	36.23±0.31	7.49×10 <sup>3</sup>	40.53±0.41	3.26×10 <sup>2</sup>	12
10	36.36±0.11	6.14×10 <sup>3</sup>	ND <sup>1</sup>	ND	12
15	38.10±0.65	1.76×10 <sup>3</sup>	ND	ND	12
20	38.25±0.13	1.39×10 <sup>3</sup>	ND	ND	12

<sup>1</sup>ND, Not detected. <sup>2</sup>Average concentration of 3 times results.

이러한 결과 차이는 Shin et al. (2014)은 알굴 상태로 본 연구에서는 각굴 상태로 가열처리 하였기 때문에 알굴과 각굴의 열전이도 차이에 기인한 것으로 사료된다.

한편, Sow et al. (2011)은 무린 노로바이러스(Murine norovirus)를 다랑조개(Soft shell clams)에 오염시킨 후 90°C에서 90초간 처리하였을 경우에는 가열처리하기전보다 무린 노로바이러스 농도가 3.33 log감소하였고, 90°C에서 180초간 가열처리 하였을때는 무린 노로바이러스 모두가 불성화 되었다고 보고하였으며, Croci et al. (1999)은 A형 간염바이러스에 오염시킨 홍합을 가열처리한 경우 80°C에서 10분간, 100°C에서 1분간 처리 하였을 때 A형 간염바이러스는 모두 불활성화 되었다는 보고하였다.

본 연구에서 사용된 각굴은 인위감염을 통해 다소 높은 농도의 바이러스가 감염된 굴이므로 굴 생산해역에서의 각굴 중의 노로바이러스 농도와 같이 노로바이러스 오염 정도가 낮은 각굴에 대한 가열처리 효과는 가열처리온도 및 시간에 따라 노로바이러스 농도의 감소율이 더 높아질 것으로 추정된다.

한편, 오염굴 중의 노로바이러스 감염농도에 따라 가열처리 온도 및 시간에 따른 오염굴 중의 노로바이러스 농도변화에 대한 추가적인 연구가 필요하지만, Hewitt and Greening (2006)은 뉴질랜드 담치(Greenshell mussels *Perna canaliculus*) 섭취에 따른 노로바이러스 식중독을 예방하기 위해서는 100°C 물에서 최소 3분간 가열처리해야 한다는 연구결과와 상기의 조사결과를 종합해 볼 때, 면역력이 약한 노약자나 어린아이들이 굴을 안전하게 섭취하기 위해서는 날 것으로 섭취하기 보다는 100°C 물에서 10분 이상 충분히 가열 조리한 후 섭취하는 것이 굴 섭취로 인한 노로바이러스 식중독 사고를 예방할 수 있을 것으로 사료된다.

## 사 사

이 논문은 2015년 해양수산부 재원으로 한국해양과학기술진흥원의 지원을 받아 수행된 수산실용화기술개발사업 연구임(노로바이러스 프리(free) 고부가가치 굴 및 가공품 개발). 또한 이 논문은 2015년도 국립수산물품질관리원 수산과학연구소(R201562)의 지원으로 수행된 연구이며 연구비 지원에 감사드립니다.

## References

- Arcangeli G, Terregino C, De Benedictis P, Zecchin B, Manfrin A, Rossetti E, Magnabosco C, Mancin M and Brutti A. 2012. Effect of high hydrostatic pressure on murine norovirus in Manila clams. *Lett Appl Microbiol* 54, 325-329. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1472-765X.2012.03211.x>.
- Alfano-Sobsey E, Sweat D, Hall A, Breedlove F, Rodriguez R, Greene S, Pierce A, Sobsey M, Davies M and Ledford SL. 2012. Norovirus outbreak associated with undercooked oysters and secondary household transmission. *Epidemiol Infect* 140, 276-282. <http://dx.doi.org/10.1017/S0950268811000665>.
- Blackburn, BG, Craun GF, Yoder JS, Hill V, Calderon RL, Chen N, Lee SH, Levy DA and Beach MJ. 2004. Surveillance for waterborne-disease outbreaks associated with drinking water-United States, 2001-2002. *MMWR Surveill Summ* 53, 23-45.
- Burkhardt W 3<sup>rd</sup>, Watkins WD and Rippey SR. 1992. Survival and replication of male-specific bacteriophages in molluscan shellfish. *Appl Environ Microbiol* 58, 1371-1373.
- Cabelli VJ. 1988. Microbial indicator levels in shellfish, water, and sediments from the upper Narragansett Bay conditional shellfish-growing area. Report to the Narragansett Bay Project. Narragansett Bay Project, Providence R.I.
- Croci L, Ciccozzi M, De Medici D, Di Pasquale S, Fiore A, Mele A and Toti L. 1999. Inactivation of hepatitis A virus in heat-treated mussels. *J Appl Microbiol* 87, 884-888.
- Hewitt J and Greening GE. 2006. Effect of heat treatment on hepatitis A virus and norovirus in New Zealand greenshell mussels (*Perna canaliculus*) by quantitative real-time reverse transcription PCR and cell culture. *J Food Prot* 69, 2217-2223.
- Iritani N, Kaida A, Abe N, Kubo H, Sekiguchi JI, Yamamoto SP, Goto K, Tanaka T and Noda M. 2014. Detection and genetic characterization of human enteric viruses in oyster-associated gastroenteritis outbreaks between 2001 and 2012 in Osaka City, Japan. *J Med Virol* 86, 2019-2025. <http://dx.doi.org/10.1002/jmv.23883>.
- Jothikumar N, Lowther JA, Henshilwood K, Lees DN, Hill VR and Vinjé J. 2005. Rapid and sensitive detection of noro-

- viruses by using TaqMan-based one-step reverse transcription-PCR assays and application to naturally contaminated shellfish samples. *Appl Environ Microbiol* 71, 1870-1875.
- Koopmans M, Bonsel CH, Vinje J, Medici D and Monroe S. 2002. Foodborne viruses. *FEMS Microbiol* 26, 187-205.
- Kwon JY, Park K, Song KC, Lee HJ, Park JH, Kim JD and Son KT. 2007. Evaluation of the bacteriological quality of a shellfish-growing area in Kamak bay, Korea. *Korean J Fish Aquat Sci* 11, 7-14. <http://dx.doi.org/10.5657/KFAS.2007.0007>.
- Lowther JA, Gustar NE, Powell AL, Hartnell RE and Lees DN. 2012. Two-year systematic study to assess norovirus contamination in oysters from commercial harvesting area in the United Kingdom. *Appl Environ Microbiol* 78, 5812-5817.
- Moon A, Hwang IG and Choi WS. 2011. Prevalence of noroviruses in oyster in Korea. *Food Sci Biotechnol* 20, 1151-1154.
- Park K, Jo MR, Lee HJ, Kwon JY, Son KT and Lee TS. 2011. Evaluation of the effect of the discharged water from Bong stream after events on the bacteriological water quality in Gangjinman, Korea. *Korean J Fish Aquat Sci* 44, 622-629. <http://dx.doi.org/10.5657/KFAS.2011.0622>.
- Park K, Jo MR, Kim YK, Lee HJ, Kwon JY, Son KT and Lee TS. 2012. Evaluation of the effects of the inland pollution sources after rainfall events on the bacteriological water quality in Narodo area, Korea. *Korean J Fish Aquat Sci* 45, 414-422. <http://dx.doi.org/10.5657/KFAS.2012.0414>.
- Shin SB, Oh EG, Yu HS, Son KT, Lee HJ, Park JY and Kim JH. 2013. Genetic diversity of noroviruses detected in Oyster in Jinhae bay, Korea. *Food Sci Biotechnol* 22, 1453-1460. <http://dx.doi.org/10.1007/s10068-013-0237-z>.
- Shin SB, Oh EG, Lee HJ, Kim YK, Lee TS and Kim JH. 2014. Norovirus quantification in oysters *Crassostrea gigas* Collected from Tongyeong, Korea. *Korean J Fish Aquat Sci* 47, 501-507. <http://dx.doi.org/10.5657/KFAS.2014.0501>.
- Simmons G, Garbutt C, Hewitt J and Greening G. 2007. A New Zealand outbreak of norovirus gastroenteritis linked to the consumption of imported raw Korean oysters. *N Z Med J* 120, U2773.
- Sow H, Desbiens M, Morales-Rayas R, Nqazoa SE and Jean J. 2011. Heat inactivation of hepatitis A virus and a norovirus surrogate in soft-shell clams (*Mya arenaria*). *Foodborne Pathog Dis* 8, 387-393. <http://dx.doi.org/10.1089/fpd.2010.0681>.
- Ueki Y, Shoji M, Suto A, Tanabe T, Okimura Y, Kikuchi Y, Saito N, Sano D and Omura T. 2007. Persistence of caliciviruses in artificially contaminated oysters during depuration. *Appl Environ Microbiol* 73, 5698-5701.
- Webby RJ, Carville KS, Kirk MD, Greening G, Ratcliff RM, Crerar SK, Dempsey K, Sarna M, Stafford R, Patel M and Hall G. 2007. Internationally distributed frozen oyster meat causing multiple outbreaks of norovirus infection in Australia. *Clin Infect Dis* 44, 1026-1031.