

저농도의 Ethanol에 의한 *Listeria monocytogenes*의 증식억제

박찬성 · 김미림*

경산대학교 식품과학과, 대구효성카톨릭대학교 식품영양학과*

Inhibition of *Listeria monocytogenes* by Low Concentrations of Ethanol

Chan - Sung Park, Mi - Lim Kim

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

*Dept. of Food and Nutrition, Catholic University of Taegu-Hyosung

Abstract

The effect of low concentrations of ethanol (3-7%, v/v) in tryptic soy broth (TSB) as an antibacterial agent against *Listeria monocytogenes* was tested at -20, 5, 35, 45, 50 and 55°C. Increasing concentrations of ethanol progressively inhibited initial growth of *L. monocytogenes* at 35°C. Growth occurred at 5% ethanol, but only after a prolonged lag period. The number of viable cells of *L. monocytogenes* declined during incubation at 7% ethanol. TSB containing 3-7% ethanol was inoculated with 10^5 - 10^6 cells/ml of *L. monocytogenes* and incubated at low temperatures (5°C, -20°C). In the presence of 3% of ethanol at 5 or -20°C, bacterial growth was inhibited more than 90% of control cells. TSB containing 3-7% ethanol was inoculated with 10^6 - 10^7 cells/ml of *L. monocytogenes* and incubated at high temperatures (45°C, 50°C, 55°C). Decrease in viability of the cells incubated at 45 or 50°C was slow and the survival of *L. monocytogenes* was not affected so much in the presence of 3% of ethanol. The viability of *L. monocytogenes* was decreased with increasing concentration of ethanol and temperature. Decimal reduction times (D-values) based on tryptic soy agar plates at 55°C were 20.1, 12.6, 7.4 and 4.2 min in 0, 3, 5 and 7% ethanol, respectively.

I. 서 론

*Listeria monocytogenes*는 오염된 환경에서 분리되는 균주¹⁾로서 내염성이 강하여²⁾ 해수와 담수에서 분리되고 있으며 1980년대에 구미지역에서 Coleslaw³⁾를 비롯하여 저온살균우유, cheese 등의 유제품^{4,5)}과 어육제품^{7,8)}의 섭취를 통하여 대규모의 식중독을 발생시켰으며 특히 임신부와 태아에게 유산, 사산, 미숙아 출산 등의 영향을 미치는 것으로 알려져 있다⁹⁾. Zottola와 Smith¹⁰⁾는 1983년부터 1987년 사이에 미국에서 발생한 식중독사고의 원인식품으로 해산물이 22.4%로서 1위를 차지하였으며 1987년에 발생한 식중독사고의 원인세균으로서 *Campylobacter jejuni*와 *Campylobacter coli*, *Salmonella*(non-typhi)에 이어 *L. monocytogenes*가 3위를 점하고 있다고 보고하여 3면이 바다인 우리나라에서도 해산물과 관련되는 listeriosis의 발생 가능성이 점차 높아질 것으로 보아 이에 대한 대책이 시급한 실정이다. 한편, Weagant 등¹¹⁾은 많은 종류의 냉동해산물을 조사한 결과, 61%가 *Listeria*속 세균을 함유하였으며 시험한 해산물의 26%는 *L. mono-*

*cytogenes*를 함유한 것으로 보고하였는데 이 시료 중에는 우리나라의 해산물도 다수가 포함되어 있어 충격을 주고 있다.

이러한 식중독 세균들의 증식을 억제시킬 수 있는 수단으로 많은 종류의 보존료가 식품가공시에 첨가물로 이용되고 있으나^{12,13)} 대부분의 소비자들이 합성첨가물의 안전성 문제에 의문을 제기하고 있으며¹⁴⁾ 항균작용을 가진 안전한 천연물의 사용을 희망하고 있다. 이러한 요구에 부응하여 식품의 세균학적 안전성을 확보하기 위한 방안으로 식품에서 분리되는 여러가지 세균에 대하여 각종 식용식물¹⁵⁻¹⁷⁾, 약초와 향신료^{18,19)}, 및 ethanol²⁰⁻²²⁾ 등의 천연물에 의한 항균작용 연구가 활발히 진행되고 있다. 물리적인 방법에 의한 저장기간의 연장수단으로는 일반 가정이나 유통과정에서 주로 저온저장이 널리 이용되어 왔으나 최근에는 50-80°C에서 해산물을 저온살균함으로써 식중독세균과 부패세균의 증식을 억제시켜 shelf-life를 연장하는 방법²³⁻²⁵⁾과 저온저장시에 식품첨가물과 유기산 등을 병용함으로써 효율적으로 세균증식을 억제시키는 방법²⁶⁾ 등이 보고되고 있다.

본 연구는 식품에 함유된 식중독세균의 효율적인 제거방안을 모색하기 위하여 저온저장 혹은 식품을 저온 살균할 때 천연물인 ethanol을 저농도로 액체배지에 첨가하였을 때 저장온도와 ethanol 농도에 따른 *L. monocytogenes*의 증식 억제효과를 이 세균의 최적온도(35°C)와 저온(-20, 5°C) 및 고온(45, 50, 55°C)에서 검토하였다.

II. 재료 및 방법

1. 시험균주

본 실험에 사용한 균주는 본 대학 식품미생물학 교실에 보관중인 *Listeria monocytogenes* ATCC 7644를 실험에 사용하기전에 tryptic soy agar(TSA, Difco) slant에 35°C에서 24시간씩 3회 계대배양하였다.

2. 배지의 조제

전배양 및 본배양을 위한 액체배지는 tryptic soy broth(TSB, Difco)를 121°C에서 15분간 멸균한 후에 ethanol(ethyl alcohol absolute)을 배지의 0, 3, 5, 7%(v/v) 되게 첨가하였다. 생균수의 측정을 위한 고체배지는 TSA를 121°C에서 15분간 멸균한 후 평판을 만들어 사용하였다. 생균수의 측정시 0.1% peptone수를 균액의 희석액으로 사용하였다.

3. 증식 및 생존억제 실험

증식과 생존실험을 위하여 계대배양한 균주 1 백균이를 TSB 10 ml에 접종한 후 35°C에서 18-24시간 배양하여 활성화시킨 균액을 적당한 농도로 희석하여 실험에 사용하였다. Ethanol과 TSB를 함유한 액체배지 10 ml가 들어 있는 screw cap 시험관을 미리 각 실험온도에 보존하였으며 -20°C의 경우에는 시험관을 얼음에 채워 두었다가 세균을 접종하였다. 증식실험을 위하여 전배양 균액을 희석하여 실험초기의 세균수가 10^5 - 10^6 cells/ml가 되게 액체배지에 접종한 후 35°C의 incubator에, 저온에서의 생존억제 실험에서는 세균수가 10^5 - 10^6 cells/ml가 되게 조정한 후 가정용 냉장고(Hitachi R925CV)의 냉장실($5 \pm 1.5^\circ\text{C}$)과 냉동실($-20 \pm 2^\circ\text{C}$)에 저장하였다. 고온에서의 생존억제 실험에서는 세균수가 10^6 - 10^7 cells/ml 되게 조정한 후 45, 50, 55°C의 waterbath에 접종한 균액이 충분히 잠기도록 보존하였다.

4. 세균수 측정

각 온도에 저장중인 균액은 일정한 시간간격으로 철수하여 생균수를 측정하였으며 -20°C의 경우에는

흐르는 수도물로 해동시킨 후 생균수를 측정하였다. 생균수의 측정은 세균의 배양액 또는 배양액의 희석액 0.1 ml를 고체배지(TSA)를 함유한 petri dish에 평판도말한 후 35°C에서 2일간 배양한 후 colony수를 측정하여 배양액 ml당의 colony forming unit(CFU/ml)로 나타내었다.

5. Decimal reduction time(D-value) 측정

45, 50, 55°C에서의 생존억제 실험에서 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. Ethanol 농도와 *L. monocytogenes*의 증식

Fig. 1은 배지에 첨가한 ethanol 농도에 따른 *L. monocytogenes*의 증식곡선이다. 저장직전의 생균수는 7.2×10^3 cells/ml였으며 ethanol을 첨가하지 않은 경우, 배양 24시간 후에 1.2×10^6 에 도달하여 약 5.2 log cycle 증가하였다. 배지에 첨가한 ethanol 농도의 증가와 더불어 *L. monocytogenes*의 유도기가 연장되고 증식은 억제되었다. 3%의 ethanol에서는 증식억제효과가 크지 않았으나 증식속도가 느려서 배양 60시간 후의 생균수는 1.1×10^6 에 도달하였으며 ethanol 5%에서

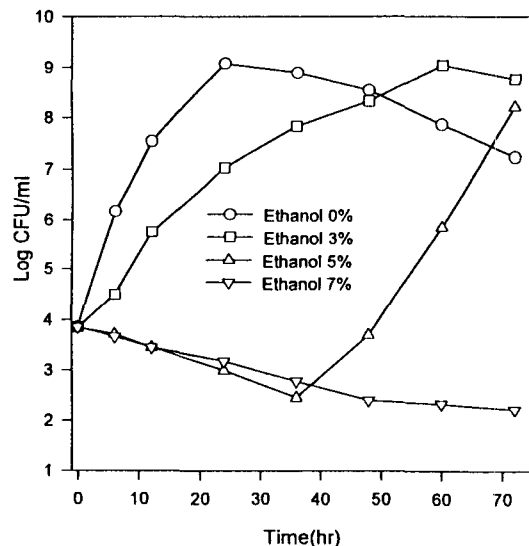


Fig. 1. Effect of ethanol on the growth of *Listeria monocytogenes* incubated at 35°C.

는 배양 36시간의 유도기 동안 약 1.4 log cycle의 생균수 감소를 나타낸 후에 증식이 시작되었으나 이후부터 빠른 속도로 증식하여 배양 72시간 후에는 1.6×10^8 에 도달하였다. 그러나 7% ethanol 존재하에서는 저장초기부터 생균수가 계속 감소하여 배양 72시간 후에는 1.7×10^2 으로서 약 1.6 log cycle 감소하였다.

이 결과는 Ballesteros 등²¹⁾이 *S. aureus* ATCC 6538 P에 대하여, Shapero 등²²⁾이 *S. aureus*에 대하여 ethanol의 항균작용을 조사한 결과에서도 3-5%wt의 ethanol에 의해 세균증식의 억제가 가능함을 보고한 결과와 비슷한 경향을 나타내었다. 그러나 *V. parahaemolyticus*의 경우, 7% ethanol 존재하에서 12시간 후에 사멸하였다²³⁾는 보고와 비교하면 본 실험에 사용한 균주 *L. monocytogenes* ATCC 7644는 타 균주에 비하여 ethanol에 대한 내성이 상당히 강한 균주로 판단된다.

2. 저온에서 Ethanol에 의한 생존억제효과

(1) 5°C에서 *L. monocytogenes*의 생존

Fig. 2는 *L. monocytogenes*를 5°C에 저장하였을 때 ethanol이 세균의 생존에 미치는 영향을 나타낸 결과로서 저장직전의 생균수는 4.7×10^5 cells/ml였으며 ethanol을 첨가하지 않은 경우, 저장초기부터 증식이 시작되어 저장 8일 이후에는 생균수가 10^9 cells/ml 이상에 도달하였다. 3%와 5%의 ethanol 존재하에서는 4일간의 유도기를 거친 후에 증식이 시작되었는데 3% 첨가한 경우에는 전 저장기간동안 control에 비하여 약

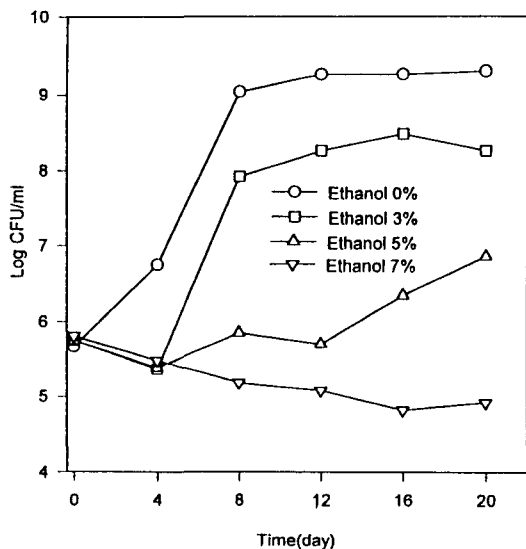


Fig. 2. Effect of ethanol on the growth of *Listeria monocytogenes* incubated at 5°C.

1 log cycle 낮은 생균수를 나타내었으며 5% 첨가한 경우에는 증식속도가 대단히 느려서 저장직전에 비하여 1.1 log cycle의 증가에 불과하였다. 그러나 7%의 ethanol 존재하에서는 생균수가 서서히 감소하여 20일간의 저장기간동안 약 0.9 log cycle의 감소를 나타내었다. 5°C에 세균을 저장한 경우 *V. parahaemolyticus*²⁷⁾와 *S. aureus*²⁸⁾는 세균수가 감소하는 것으로 보고되고 있으나 *L. monocytogenes*의 경우에는 광어 등의 생선 homogenate²⁸⁾와 crab meat²⁹⁾에서 증식하는 것으로 보고되고 있어 *L. monocytogenes*에 오염된 식품을 냉장할 경우에는 특히 주의를 요하고 있다. 본 실험의 결과에서 3%의 ethanol 첨가는 control에 비하여 90% 이상의 세균을 제거할 수 있는 이점이 있으며 5% 첨가시에는 저장 8일 이후부터 control보다 2.5-3.5 log cycle 낮은 생균수를 나타내고 있어 냉장시에 저농도의 ethanol을 첨가하는 것은 *L. monocytogenes*의 증식을 억제시키는 데 상당한 도움이 될 것으로 생각된다.

(2) -20°C에서 *L. monocytogenes*의 생존

Fig. 3은 -20°C에 저장한 *L. monocytogenes*의 ethanol 농도에 따른 생균수의 변화이다. Control은 20일간의 저장기간동안 생균수의 변화가 적어서 1.5 log cycle 미만의 생균수 감소를 나타내었다. 그러나 3-7%의 ethanol을 첨가한 경우에는 저장 초기의 8일간 생균수가 급격히 감소하여 저장직전에 비하여 2.1-2.3 log cycle 감소하였으나 첨가한 ethanol 농도차이에 따른 생균수 감소효과는 거의 나타나지 않았으며 저장 8일 이후

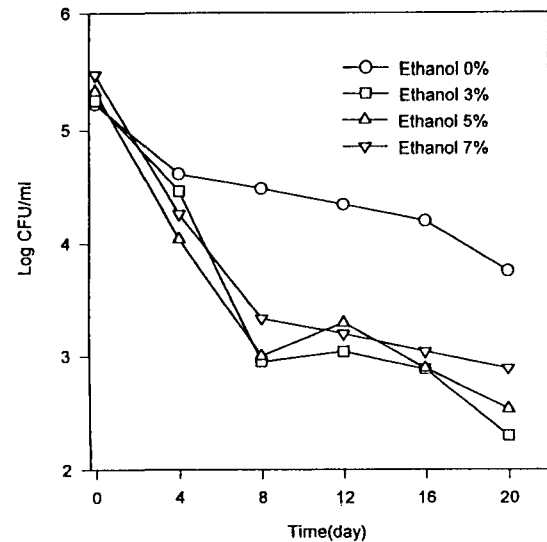


Fig. 3. Effect of ethanol on the survival of *Listeria monocytogenes* incubated at -20°C.

부터 저장말기까지는 생균수의 감소는 아주 미미한 정도에 불과하였다. 동결저장에서 3% 이상의 ethanol 첨가에 의한 생균수의 감소효과는 저장 8일 이후부터 저장말기까지 control에 비하여 약 1 log cycle 정도였으며 저농도의 ethanol에 의해 90% 이상의 세균을 제거할 수 있는 효과를 나타내었다.

이와 같이 *L. monocytogenes*가 동결저장에서 강한 저온내성을 나타낸 결과는 Weagant 등¹⁰과 Wong 등³⁰이 여러 종류의 냉동 해산물로부터 *L. monocytogenes*를 분리하였다고 보고한 결과에서도 이 세균이 냉동에 대하여 강한 내성을 가진 균주임을 입증하고 있다. 한편, 동결저장에서 ethanol에 의한 항균효과는 *V. parahaemolyticus*에 대하여 조사한 ethanol의 항균효과²⁸에서 5% 이상의 ethanol 농도에서 세균이 사멸하였으나 본 실험에 사용한 *L. monocytogenes*는 ethanol 농도에 따른 사멸율에 큰 차이가 없었는데 이러한 결과는 Gram 양성균과 Gram 음성균의 세포벽구조의 차이에 기인하는 것으로 추정된다.

5°C와 -20°C에 *L. monocytogenes*를 저온저장한 이상의 결과(Figs. 2, 3)에서 이 균주는 저온에 대한 내성이 대단히 강한 균주로서 control은 냉장온도에서 증식이 가능하며 동결저장에서도 생균수의 감소가 적은 편이었다. 3% 이상의 ethanol을 첨가하였을 때 90% 이상의 세균을 제거할 수 있어 냉장과 동결저장에서 저농도의 ethanol 첨가는 효율적인 *L. monocytogenes*의 제거에 상당한 도움이 될 것으로 생각된다.

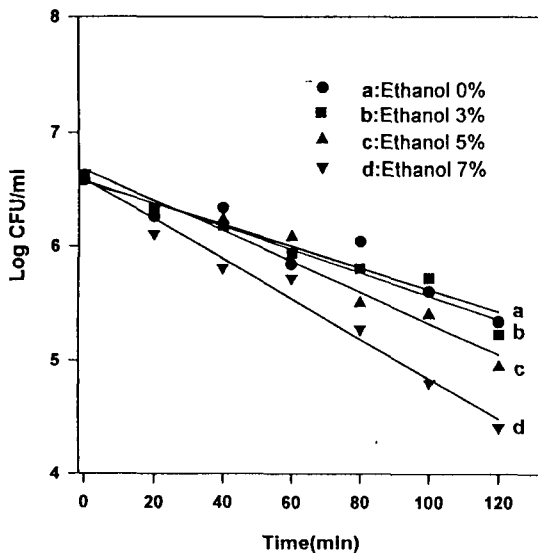


Fig. 4. Effect of ethanol on the survival of *Listeria monocytogenes* incubated at 45°C.

3. 고온에서 Ethanol에 의한 생존억제효과

(1) 45°C에서 *L. monocytogenes*의 생존

*L. monocytogenes*를 45°C에 저장하였을 때 ethanol이 세균의 생존에 미치는 영향은 Fig. 4와 같다. 저장직전의 생균수는 $3.9-4.5 \times 10^6$ cells/ml로서 2시간동안 저장하였을 때 ethanol농도에 따른 생균수 감소는 control에서 1.25, 3%에서 1.37, 5%에서 1.69, 7%에서는 2.24 log cycle 감소하여 ethanol 첨가에 의한 생균수의 감소효과는 ethanol 농도의 증가에 따라 생균수 감소효과도 증가하였다. 그러나 이 결과는 *V. parahaemolyticus*를 45°C에서 40분간 저장하였을 때 control의 생균수가 2.41 log cycle 감소하였으며 ethanol 5%와 7%에서는 저장초기부터 생균수가 급격히 감소되어 각각 저장 20분과 10분 후에 사멸한 결과²⁷와 비교하면 본 실험에서 사용한 *L. monocytogenes*는 열에 대한 내성이 대단히 강한 특성을 가진 것으로 추정된다.

(2) 50°C에서 *L. monocytogenes*의 생존

Fig. 5는 50°C에 저장한 *L. monocytogenes*의 ethanol 농도에 따른 생균수의 변화이다. 50°C에 저장한 *L. monocytogenes*는 저장직전의 생균수가 $4.3-5.6 \times 10^6$ cells/ml였으며 저장 30분 동안 ethanol 5% 이하의 농도에서는 ethanol 농도에 따른 생균수 감소의 차이가 거의 없었으나 저장 30분 이후부터 ethanol 농도에 따른 생균수 감소의 차이를 나타내기 시작하여 1시간동안 저장하였을 때 control에서 1.58, 3%에서 1.80, 5%에서 2.43, 7%에서 3.98 log cycle 감소하였다. Ethanol 첨가

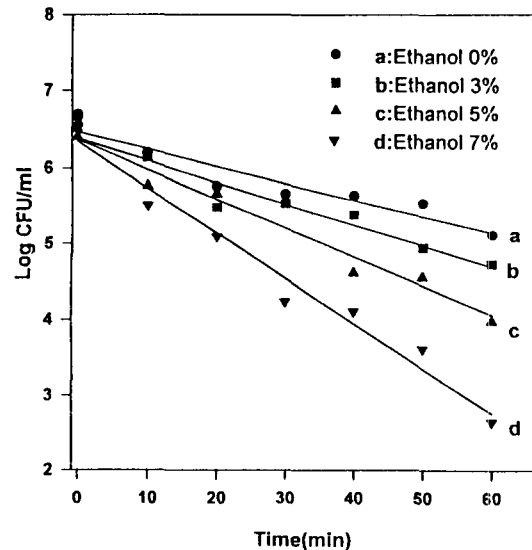


Fig. 5. Effect of ethanol on the survival of *Listeria monocytogenes* incubated at 50°C.

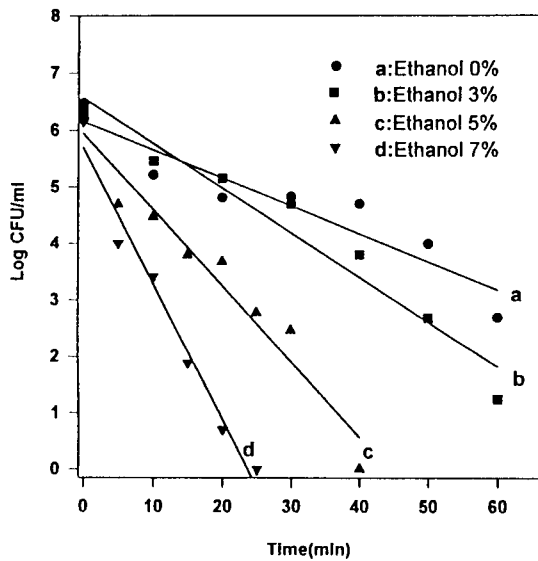


Fig. 6. Effect of ethanol on the survival of *Listeria monocytogenes* incubated at 55°C.

에 의한 생균수 감소효과는 ethanol을 첨가하지 않았을 때 45°C에 저장한 경우(Fig. 4)에 비하여 2배 이상 빠른 속도로 감소하였으며 ethanol을 첨가한 경우에는 ethanol 농도가 증가할수록 두 온도간의 사멸속도의 차이도 증대되었다.

(3) 55°C에서 *L. monocytogenes*의 생존

55°C에 저장한 *L. monocytogenes*의 ethanol 농도에 따른 생균수의 변화는 Fig. 6과 같다. *L. monocytogenes*는 저장직전의 생균수가 $1.3-1.5 \times 10^6$ cells/ml였으며 ethanol농도의 증가에 따른 생균수의 변화는 저장직후부터 상당한 차이를 나타내기 시작하였다. 저장 30분 동안 ethanol 농도에 따른 생균수 변화는 control에서 1.5, 3%에서 2.0 log cycle 감소하여 ethanol 첨가에 의한 생균수의 감소효과가 뚜렷하였으며 ethanol 5%와 7%에서는 저장 40분, 25분 후에 각각 사멸하였다.

이상의 45, 50, 55°C에 *L. monocytogenes*를 저장하였을 때의 ethanol에 의한 항균작용(Figs. 4, 5, 6)은 저장 온도와 ethanol 농도의 증가와 더불어 증가하였다. 그러나 *L. monocytogenes*는 *V. parahaemolyticus*²⁷⁾에 비하여 열과 ethanol에 대한 내성이 월등히 큰 결과를 나타내었는데 많은 연구자들의 보고^{4,5)}에서도 *L. monocytogenes*의 열에 대한 강한 내성으로 인하여 식품의 안전성에 대하여 우려를 나타내고 있으며 특히 저온살균한 우유에서도 이 세균이 검출되었다는 보고⁹⁾와 함께 저온살균 우유가 listeriosis 발생의 감염 원인이 될 수 있다는 보고⁹⁾도 있어 충격을 주고 있다.

Table 1. D-value and regression values for *L. monocytogenes* in low concentrations of ethanol incubated at 45, 50 and 55°C

Temp. (°C)	Ethanol (%)	slope	Y-intercept	De-termination coefficient (r ²)	D-value (min) ^e
45	0	-0.00959	6.577	0.892	104.27 ^a
	3	-0.01023	6.587	0.963	97.75 ^a
	5	-0.01357	6.683	0.956	73.69 ^{ab}
	7	-0.01763	6.598	0.979	56.82 ^c
50	0	-0.02200	6.463	0.889	45.45 ^a
	3	-0.02821	6.380	0.936	35.44 ^b
	5	-0.03843	6.367	0.949	26.02 ^{bc}
	7	-0.05979	6.341	0.968	16.72 ^d
55	0	-0.04968	6.219	0.867	20.07 ^a
	3	-0.07921	6.561	0.949	12.62 ^a
	5	-0.13446	5.947	0.945	7.43 ^{ab}
	7	-0.24103	5.703	0.975	4.15 ^c

^{a-d}For each temperature, values in column with no common letter designation are significantly different(p < 0.05).

^eD-values were calculated by linear regression of Fig. 4, 5 and 6. Calculated mean value from two experiments in which at least five dwell times were used for linear regression analysis. Three replicates enumerated for each dwell time.

Table 1은 *L. monocytogenes*를 45, 50, 55°C에 저장하였을 때의 생균수변화(Figs. 4, 5, 6)로부터 decimal reduction time(D-value)을 계산한 결과이다. Control의 경우, 45°C에서의 D-value는 104분이었으나 50°C와 55°C에서는 각각 45.5, 20.1분으로 감소하여 45°C의 경우에 비해 약 1/2, 1/5로 감소하였다. Ethanol을 첨가한 경우에는 ethanol 농도의 증가로 인한 D-value의 감소효과가 더욱 증가되었는데 55°C의 D-value는 45°C에 비해 ethanol 3%에서 약 1/8, 5%에서 1/16, 7%에서 1/13로 감소하였다.

Table 1의 결과로 미루어볼 때 Chai 등^{23,24)}과 Cook 등²⁹⁾이 제안한 50-80°C에서의 저온살균은 해산물에서 분리되는 *L. monocytogenes*를 비롯한 여러가지 식중독세균의 제거로서 shelf-life를 연장하는 효율적 방법이 될 것으로 생각된다. 저온살균에서 저농도의 ethanol 첨가는 가열온도를 낮추고 가열시간을 짧게 함으로써 식품의 조직손상에 의한 품질저하를 줄이면서 식품의 세균학적 안전성 확보를 위한 살균효과를 증대시킬 수 있는 효율적 방안이 될 것으로 판단된다.

IV. 요약

저농도의 ethanol(3-7%, v/v)을 tryptic soy broth

(TSB)에 첨가하여 *L. monocytogenes*의 증식과 생존에 미치는 효과를 이 세균의 최적온도(35°C)와 저온(-20, 5°C) 및 고온(45, 50, 55°C)에서 검토하였다. 35°C에서의 *L. monocytogenes*의 증식은 ethanol농도의 증가와 더불어 저해되었으며, 5% ethanol의 존재하에서는 긴 유도기를 거친 후에 증식이 시작되었으나 ethanol 7%에서는 생균수가 계속 감소하였다. 3-7%의 ethanol을 함유한 TSB에 10^5 - 10^6 cells/ml의 *L. monocytogenes*를 접종하여 저온(5°C, -20°C)에 저장하였을 때 5°C에서 세균은 5% 이하의 ethanol 첨가시에는 증식하였으나 -20°C에서는 저장초기에 생균수가 빠르게 감소한 후 감소속도는 느리게 진행되었다. 냉장과 동결저장에서 3%의 ethanol 첨가로서 control의 90% 이상의 세균이 제거되었다. 10^6 - 10^7 cells/ml의 *L. monocytogenes*를 접종하여 고온(45, 50, 55°C)에 저장한 경우, *L. monocytogenes*의 생균수는 45°C에서는 느리게 감소하였으며 3% 이하의 ethanol 첨가에 의한 항균효과는 뚜렷한 차이가 없었다. 50°C와 55°C에서 생균수가 빠르게 감소하였는데 특히 55°C에서는 3, 5, 7%의 ethanol 첨가로서 세균의 사멸속도는 각각 control의 1.5배, 3배, 5배 정도 증가하였다.

참고문헌

- Moore, D., How to control *Listeria* in dairy plants. *Modern Dairy*, **12**: 15 (1988).
- Doyle, M.P., Effect of environmental and processing conditions on *Listeria monocytogenes*. *Food Technol.* **42**: 169 (1988).
- Schlech, W.F., Lavigne, P.M., Bortolussi, R.A., Johnson, S.E., King, S.H., Nicholls, E.S. and Broome, C. V., Epidemic listeriosis evidence for transmission by food. *N. Engl. J. Med.* **308**: 203 (1983).
- Fernandez-Garayzabal, J.F., Dominguez-Rodriguez, L., Vazquez-Boland, J.A., Blanco-Cancelo, J.L. and Suarez-Fernandez, G., *Listeria monocytogenes* dans le lait pasteurise. *Can. J. Microbiol.* **32**: 149(1986)
- Fleming, D.W., Cochi, S.L., MacDonald, K.L., Bronrdium, J., Hayes, P.S., Plikaytis, B.D., Holmes, M.B., Audurier, A., Broome, C.V. and Reingold, A.L., Pasteurization milk as a vehicle of infection in an outbreak of listeriosis. *N. Engl. J. Med.* **312**: 404 (1985).
- Linnan, M.J., Mascola, L., Lou, X.D., Goulet, V., May, S., Salminen, C., Hird, D.W., Yonekura, M.L., Hayes, P., Weaver, R., Audurier, A., Plikaytis, B.D., Fannin, S.L., Kleks, A. and Broome, C.V., Epidemic listeriosis associated with Mexican-style cheese. *N. Engl. J. Med.* **319**: 823 (1988).
- Forsyth, J.R.L., *Listeria*-update and future implications. *Food Aust.* **43**: 99 (1991).
- Jemmi, T., Actual knowledge of *Listeria* in meat and fish products. *Mitt. Geb. Lebensmittelhygiene.* **41**: 107 (1990).
- Hitchins, A.D. and Tran, T., Initial cell concentration and selective media. Effects on the isolation of *Listeria monocytogenes* from enrichment cultures of inoculated foods. *J. Food. Prot.* **53**: 502 (1990).
- Zottola, E.A., and Smith, L.B., The microbiology of food-borne disease outbreaks: an update. *J. Food Safety*, **11**: 13 (1991).
- 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).
- Robach, M.C., Use of preservatives to control microorganisms in food. *Food Technol.*, **34**: 81 (1980).
- Giese, J., Antimicrobials: Assuring food safety. *Food Technol.*, **48**: 102 (1994).
- Brewer, M.S., Sprouls, G.K. and Russon, C., Consumer attitudes toward food safety issues. *J. Food Safety*, **6**: 29 (1983).
- Beuchat, L.R. and Golden, D.A., Antimicrobials occurring naturally in foods. *Food Technol.*, **43**: 134 (1989).
- 한지숙, 신동화, 윤세영, 김문숙: *Listeria monocytogenes*의 증식을 억제하는 식용 가능한 식물 추출물의 검색. *한국식품과학회지*, **26**: 545 (1994).
- Kyung, K.H. and Fleming, H.P., Antibacterial activity of cabbage juice against lactic acid bacteria. *J. Food Sci.* **59**: 125 (1994).
- Shelef, L.A., Antimicrobial Effects of spices. *J. Food Safety*, **6**: 29 (1983).
- Zaika, L.L., Spices and herbs: Their antimicrobial activity and its determination. *J. Food Safety*, **9**: 97 (1988).
- Ingram, L.O., Effects of alcohols on microorganisms. *Adv. Microbiol. Phys.*, **25**: 253 (1984).
- 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).
- Pace, J., Wu, C.Y. and Chai, T., Bacterial flora in pasteurized oysters after refrigerated storage. *J. Food Sci.* **53**: 325 (1988).
- Chai, T., Pace, J. and Cossaboom, T., Extension of shelf-life of oysters by pasteurization in flexible pouches. *J. Food Sci.* **49**: 331 (1984).

25. Cook, D.W. and Ruple, A.D., Cold storage and mild heat treatment as processing aids to reduce the numbers of *V. vulnificus* in raw oysters. *J. Food Prot.* **55**: 985 (1992).
26. Kim, C.R. and Hearnberger, J.O., Gram negative bacteria inhibition by lactic acid culture and food preservatives on catfish fillets during refrigerated storage. *J. Food Sci.* **59**: 513 (1994).
27. 박찬성, Hackney, C.R., 저농도의 Ethanol이 *Vibrio parahaemolyticus*의 증식과 생존에 미치는 영향. 한국조리과학회지, **11**: 153 (1995).
28. 박찬성: 해산물에서 분리된 식중독세균의 손상 및 회복. -생선 homogenate에서 *Staphylococcus aureus*와 *Listeria monocytogenes*의 저온저장중 세균수 변화-. 한국조리과학회지, **11**: 261 (1995).
29. Bracket, R.E., Presence and persistence of *Listeria monocytogenes* in food and water. *Food Technol.*, **42**: 162 (1988).
30. Wong, H.C., Chao, W.L. and Lee, S.J., Incidence and characterization of *Listeria monocytogenes* in foods available in Taiwan. *Appl. Environ. Microbiol.*, **56**: 3101 (1990).