

## 굴과 Weakfish의 저온저장중 생균수 및 Microflora의 변화

박 찬 성

경산대학교 식품과학과

## Changes in the Viable Counts and Microflora of Oyster and Weakfish during Cold Storage

Chan-Sung Park

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

### Abstract

Oyster (*Crassostrea virginica*) and Weakfish (*Cynoscion regalis*) were stored at 6, 0, -4 and -20°C for up to 45 days and examined for changes in microflora. Aerobic plate counts (incubated at 21°C) were performed at selected times during storage and 495 isolates (255 isolates from oyster and 240 isolates from Weakfish) were randomly selected from the plates during the storage. Before the storage of the fishes, viable counts of oyster were  $4.9 \times 10^5$  CFU/g of meat and those of Weakfish were  $1.5 \times 10^4$  CFU/cm<sup>2</sup> of skin. Microflora of oyster before storage, the major isolates identified as *Pseudomonas* spp. (67%) and *Vibrio* spp. (20%). *Pseudomonas* III/IV-H and *Flavobacterium/Cytophaga* were predominant genus in the microflora of oyster during cold storage at 6, 0, -4 and -20°C. The composition of the microflora of Weakfish before storage, *Acinetobacter* (40%) and *Moraxella* (33%) were the major species, with *Pseudomonas* and *Vibrio* constituting a small percentage of the total isolates. The microflora shifted to predominantly *Pseudomonas* spp. during storage at 6, 0 and -4°C, making up from 60 to 100% of isolated strains. During frozen storage, the percentage of isolates identified as *Moraxella* increased to 40-60% of the total isolates. During cold storage, halophilic bacteria (*Pseudomonas* III/IV-H and *Vibrio*) were predominant in oyster while nonhalophilic bacteria (*Pseudomonas* III/IV-NH and *Moraxella*) were predominant in Weakfish. *Vibrio* spp. were higher in oyster than in Weakfish. *Listeria* spp. were not isolated but unidentified  $\beta$ -hemolytic bacteria were isolated from both of the fishes during cold storage.

Key words: cold storage, microflora, oyster, Weakfish

### I. 서 론

건강식품으로 해산물의 섭취가 증가함에 따라 해산물에 의한 식중독사고도 증가하게되어 해산물의 안전성에 관한 관심도 커지게 되었다. 미국의 Centers for Disease Control(CDC)의 통계에 의하면 1978-1987년에 식품과 관련되어 발생된 전체 질병중 생선과 조개류가 차지하는 비율은 10.5%를 차지하였으며 생선은 주로 toxin의 생성과 관련이 있으며 조개류는 virus와 세균이 그 주요 원인이 되는 것으로 밝혀지고 있다<sup>1)</sup>. 그러나 Zottola와 Smith<sup>2)</sup>는 1983-1987년에 발생한 식중독사고의 원인식품으로 해산물이 22.4%로서 1위를 차지하였다고 보고하여 해산물에 의한 식중독사고의 위험성이 점차 증가되고 있는 실정이다.

생선의 자연상태의 microflora는 생선이 서식하는

물과 진흙, 어획된 장소, 계절 등, 여러가지 환경의 영향을 받게된다<sup>3,4)</sup>. 특히 해산물 생산량의 50% 이상이 연안해역에서 생산되고 있어 연안해수의 오염은 어패류의 안전성에 대단히 중요한 영향을 미치고 있으며 연안해역의 환경오염은 분변세균의 증가와 더불어 식중독세균의 검출율이 높은 것으로 보고되고 있다<sup>5,6,7)</sup>. 이러한 원인 때문에 세계 각국에서 해산물의 microflora에 대하여 많은 관심을 갖게 되었는데, 미국에서는 1960년대부터 지금까지 굴의 microflora에 관한 보고<sup>8-11)</sup>와 생굴의 섭취에 의한 *Vibrio* 식중독에 관한 보고<sup>12-14)</sup>가 대부분을 차지하고 있으며 일본에서는 생선의 저장온도에 따른 microflora의 변화<sup>15-17)</sup>와 생선에 의한 독성물질의 생성에 관한 보고<sup>18,19)</sup>가 대부분을 차지하여 대조를 이루고 있다. 그러나 80년대 이후부터 *Listeria monocytogenes*가 환경오염에 의한 것으로서

해산물에서 분리되는 식중독세균으로서 식품위생상 대단히 중요한 위치를 차지하고 있다<sup>2,20-25)</sup>. Stephen 등<sup>26)</sup>은 많은 종류의 냉동 해산물을 조사한 결과, 61%가 *Listeria*속 세균을 함유하였으며 조사한 해산물의 26%에서 *Listeria monocytogenes*가 검출되었다고 보고하였다는데 이 시료중에는 우리나라의 해산물도 다수가 포함되어 있어 충격을 주고 있다. 또한 Taiwan의 냉동 해산물에서도 다수의 *Listeria*속 세균이 검출되었다는 보고<sup>27)</sup>로 미루어 우리나라에서도 listeriosis의 발생 가능성이 점차 높아질 것으로 예상된다.

생선의 섭취에 의해 발생한 *Vibrio* 식중독증 대표적인 것은 *Vibrio cholerae*에 의한 콜레라, *Vibrio parahaemolyticus*에 의한 장염과 *Vibrio vulnificus*에 의한 패혈증 등<sup>12,28-30)</sup>이 있으며, *Listeria*속 세균에 의한 식중독사고는 주로 *Listeria monocytogenes*에 의한 유산, 사산, 미숙아 출산 및 패혈증 등<sup>2,31)</sup>이 보고되고 있다. 이들 세균에 의한 식중독 증상은 *Vibrio vulnificus*와 *Listeria monocytogenes*에 의한 패혈증은 면역기능이 약한 만성질환을 가진 사람에게 치명적인 영향을 주는 공통점을 갖고 있다<sup>14,31)</sup>. 그러나 *Vibrio*에 의한 패혈증은 사망률 42%로서 식중독사고의 85%가 5-10월에, 생굴을 섭취한 사람에게서 많이 발생하였으며 전체 환자의 90%가 남자로서 그 중 40세 이상인 사람이 95%를 차지하였다. *Listeria*속 세균 감염에 의한 환자의 사망률은 25-50%로서 신생아, 임신부, 노인들에게 감염의 위험성이 높고 내염성과 저온내성이 강하여 해산물뿐만 아니라 다양한 종류의 식품에서 계절에 관계없이 연중 발생할 수 있는 대조적인 결과가 보고되고 있다<sup>19,25,31-33)</sup>.

본 연구에서는 해산물 섭취에 의한 식중독사고의 예방을 위하여 어패류에 함유된 세균의 종류를 파악하고 식중독세균의 제거 방안을 모색할 수 있는 기초 자료를 얻기 위한 방안으로 생선을 finfish와 shellfish로 구분하여 finfish 중 Weakfish(*Cynoscion regalis*), shellfish 중 굴(*Crassostrea virginica*)을 선택하여 이들 어패류를 저온저장하면서 저장온도와 저장기간에 따른 생균수와 microflora의 변화를 조사하였다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 시료

어획직후의 굴(*Crassostrea virginica*)과 Weakfish(*Cynoscion regalis*)를 1994년 4월 Hampton(Virginia, U. S. A.) 어류도매시장에서 구입하여 시료가 직접 얼음에 닿지 않도록 얼음에 채운 후 Virginia Tech(Blacksburg,

Virginia) 식품미생물학 실험실에 운반하여 실험에 사용하였다.

### 2. 시료의 저장

굴은 Miescier 등의 방법<sup>34)</sup>에 따라 흐르는 수돗물에서 껌질을 brush로 깨끗이 세척하여 70% ethanol로서 헹군 후 멸균한 knife로 무균적으로 굴 껌질을 제거하고 육즙을 포함한 어육을 100 g씩 나누어 멸균 bag에 넣었으며 Weakfish는 각각 1마리씩 멸균 bag에 넣어 저온에 저장하였다. 시료의 저장은 냉장(6°C), 냉장(0°C), 부분동결저장(-4°C) 및 동결저장(-20°C)으로 구분하여 각 온도의 incubator에 45일간 저장하면서 실험용 시료로 사용하였다.

### 3. 생균수의 측정

굴은 어육 25 g, Weakfish는 등부위의 피부 25 cm<sup>2</sup>를 포함한 어육 25 g을 무균적으로 채취하여 225 ml의 50% 인공해수(Artificial sea water, ASW)<sup>35)</sup>와 함께 Stomacher bag에 넣고 Stomacher(STO-400, Tekmar)로서 2분간 homogenize하였다. 각 어육의 homogenate는 50% ASW로서 10배 단계 회석하여 그 회석액 0.1 ml를 plate count agar(PCA, Difco) 배지의 표면에 평판도 말한 후 21°C에서 생균수가 일정하게 될 때까지(약 5일) 배양하여 어육 1 g 혹은 피부 1 cm<sup>2</sup> 당의 colony forming unit(CFU)로 나타내었다.

### 4. 균주의 분리

생균수를 측정한 평판배지로 부터 각각의 시료당 무작위로 15주의 colony를 분리하여 굴에서 255주, Weakfish로 부터 240주, 합계 495주를 분리하여 고총 배지(polypeptone 5 g, beef extract 3 g, agar 5 g, ASW 500 ml, DW 500 ml, pH 7.0)에 배양하여 6°C의 항온기에 보존하면서 식염배지에 대한 발육시험 및 세균의 동정을 위한 생화학적 성상시험에 사용하였다. 최근에 문재시 되고있는 식중독세균인 *Listeria monocytogenes*의 분리를 위하여 굴과 Weakfish의 시료 25 g과 *Listeria* enrichment broth(LEB, BBL) 225 ml를 Stomacher bag에 넣고 Stomacher로 2분간 분쇄한 homogenate 0.1 ml를 *Listeria monocytogenes* 분리를 위한 선택배지(Oxford medium, Difco) 표면에 도말하였다. 사용하고 남은 생선 homogenate는 *Listeria monocytogenes*의 수가 너무 적어서 검출되지 않을 경우에 대비하여 35°C에서 1일간 회복시킨 후 같은 방법으로 Modified Oxford medium에 도말하여 각각 35°C에서 3일간 배양하였을 때 colony 주변을 검게 변화시키는

특징적인 colony를 분리하여 *Listeria monocytogenes*의 동정에 사용하였다.

### 5. 분리균주의 동정

분리한 균주들에 대하여 식염배지에 대한 발육시험, catalase, 유화수소 생성, 질산염 환원 및 항생물질에 대한 저항성 시험과 casein 분해시험은 奧積 등<sup>16,17)</sup>의 방법에 따라 행하였다. 그 외에는 Bergey's Manual of Systematic Bacteriology<sup>36,37)</sup>, Lovelace 등<sup>3)</sup>, Shewan 등<sup>38)</sup>과 堀江 등<sup>15)</sup>의 방법으로 동정하였으며 Modified Oxford medium 배지에서 분리된 균주에 대하여는 API Listeria strips<sup>39)</sup>를 사용하여 *Listeria spp.*에 대하여 확인, 동정하였다.

## III. 결과 및 고찰

### 1. 굴의 저온저장중 생균수 및 microflora의 변화

#### (1) 굴의 생균수 변화

굴의 저온저장중 생균수 변화는 Table 1과 같다. 저장 직전의 생균수는  $4.9 \times 10^5$  CFU/g 이었으며 냉장과 냉장한 시료간에는 생균수에 큰 차이가 없이 저장 15일에 생균수가  $10^8$  이상으로서 부패에 도달하였다. -4°C에서 부분동결저장한 굴은 25일 이후에 생균수가  $10^8$ 에 도달한 후 저장말기까지 거의 비슷한 수준을 유지하였으며 냉장 혹은 냉장한 시료에 비하여 저장기간이 상당히 연장되었다. 동결저장한 시료에서는 45일간의 전 저장기간동안 생균수의 변화는 큰 차이 없이  $10^5 \sim 10^6$ 의 범위를 유지하였다.

#### (2) 굴의 Microflora의 변화

굴의 저온저장중 microflora의 변화는 Table 2와 같다. 전 저장기간을 통하여 각 저장온도에서 공통적으로 호염성 균주인 *Pseudomonas* III/IV-H가 최우위를 점하였고 그 비율은 각각 냉장 시료의 41.6%, 냉장 시료의 75.6%, 부분동결저장 시료의 90.6%, 동결저장 시료의 60%로서 전체 분리균주의 67.4%를 차지하였다. 다음으로는 *Flavobacterium/Cytophaga*가 분리되었으나 그 비율은 10% 미만이었다. *Vibrio*는 냉장시료에서 가장 검출율이 높았으며 15일간의 저장기간동안

10주가 분리되어 16.6%를 차지하였으며 냉장과 동결저장 시료에서 약 4%씩 차지하였으나 부분동결저장 시료에서는 전혀 검출되지 않았다. 본 실험에 사용한 굴에서 분리된 *Vibrio*속 세균의 비율은 일본의 경우<sup>40)</sup> 보다 낮은 경향인데 그 원인은 본 시료의 채취시기가 4월인 점과 채취한 지역의 차이에 기인한 것으로 생각된다.

구균류는 전저장기간동안 각 저장온도에서 전혀 검출되지 아니하였다. 비동정균이 차지하는 비율은 냉장과 동결저장에서 각각 전체 분리균주의 31.7, 21.3%로서 냉장과 부분동결저장(-4°C)에 비하여 높은 편이었으며 그 중 특히 8일간 냉장한 시료에서 가장 높은 비율로서 60%를 차지하였는데 이들의 대부분이 항생물질에 대한 감수성 시험을 제외한 나머지 생화학적 시험 결과에서 *Vibrio*속과 가장 유사한 점으로 이루어 이들 균주의 상당수가 *Vibrio*속에 속할 것으로 추정된다.

이상의 결과로 볼 때 굴의 저온저장중 가장 문제가 될 것으로 예상되는 식중독 관련 세균은 *Vibrio*속 세균인데 Chun 등<sup>40)</sup>과 장<sup>7)</sup>은 우리나라의 어패류에서 호염성의 장염, 폐혈증의 원인이 되는 *Vibrio*균의 검출율도 높은 경향이 있다고 보고한 바 있다. 굴의 식중독세균 오염상태는 구미지역<sup>8,10)</sup>에 비하여 일본에서의 경우<sup>41)</sup>가 *Vibrio* 검출율이 월등히 높으며 Zen-Yozi 등<sup>42)</sup>은 일본에서 여름철 장염의 70%가 *Vibrio*에 기인한 것으로 보고하였다. 우리나라에서 생산되는 굴은 일본과 비슷한 오염상태가 예상되며 우리나라에서도 구미지역에서 여러 연구자들이 보고한 굴의 생식으로 인한 식중독사고<sup>12,14)</sup>의 가능성성이 높아질 것으로 예상되며 굴의 생식에 주의를 기울여야 할 것으로 생각된다.

### 2. Weakfish의 저온저장중 생균수 및 microflora의 변화

#### (1) Weakfish의 생균수 변화

Weakfish의 저온저장중 생균수 변화는 Table 3과 같다. 저장 직전의 생균수는  $1.5 \times 10^4$  CFU/cm<sup>2</sup> of skin으로서 堀江 등<sup>15)</sup>이 보고한 신선한 해산어의 생균수,  $10^3 \sim$

Table 1. Viable cell counts of oyster during storage at 6, 0, -4 and -20°C

Temp.	Days	(cells/g of meat)				
		0	4	8	15	25
6°C		$4.9 \times 10^5$	$2.7 \times 10^7$	$4.7 \times 10^7$	$2.0 \times 10^8$	-
0°C	-	-	$2.1 \times 10^6$	$8.7 \times 10^7$	$1.6 \times 10^8$	-
-4°C	-	-	$1.9 \times 10^6$	$6.1 \times 10^7$	$7.8 \times 10^7$	$6.3 \times 10^8$
-20°C	-	-	$1.6 \times 10^6$	$5.5 \times 10^6$	$1.8 \times 10^6$	$8.5 \times 10^5$

Table 2. Changes in the numbers of isolates from oyster during storage at 6, 0, -4 and -20°C

Bacterial genus	Temp	6°C				0°C			-4°C					-20°C					
		Days	0	4	8	15	4	8	15	4	8	15	25	45	4	8	15	25	45
<i>Pseudomonas</i> I/II		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Pseudomonas</i> III/IV-NH		3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
<i>Pseudomonas</i> III/IV-H		7	7	2	9	11	10	13	12	14	14	15	13	6	10	13	12	4	
<i>Vibrio</i>		3	3	2	2	1	0	1	0	0	0	0	0	2	0	0	1	1	
<i>Moraxella</i>		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
<i>Acinetobacter</i>		0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
<i>Flavobact.-Cytophaga</i>		0	0	2	2	2	3	1	2	1	1	0	0	4	3	0	0	3	
<i>Micrococcus</i>		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
<i>Staphylococcus</i>		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Unidentified		2	5	9	2	1	2	0	0	0	0	0	1	3	2	2	2	7	

Table 3. Viable cell counts of Weakfish during storage at 6, 0, -4 and -20°C (cell/cm<sup>2</sup> of skin)

Temp.	Days	0	4	8	15	25	45
6°C		$1.5 \times 10^4$	$4.7 \times 10^7$	$2.3 \times 10^8$	—	—	—
0°C		—	$1.3 \times 10^5$	$2.3 \times 10^7$	$1.0 \times 10^9$	—	—
-4°C		—	$2.0 \times 10^5$	$8.5 \times 10^6$	$8.5 \times 10^7$	$2.8 \times 10^8$	$3.7 \times 10^8$
-20°C		—	$3.6 \times 10^4$	$1.2 \times 10^4$	$1.4 \times 10^5$	$2.2 \times 10^6$	$3.1 \times 10^5$

1.3 × 10<sup>6</sup>/cm<sup>2</sup>와 비슷한 수준이었다. 냉장한 Weakfish에서는 저장 8일째에 생균수가 10<sup>8</sup>에 도달하였고 전형적인 생선의 부패취를 내며 부패되었다. 빙장한 Weakfish의 생균수는 저장 25일에 10<sup>9</sup>에 도달하였으며, 부분동결저장의 경우에는 저장 25일에 생균수가 10<sup>8</sup>에 도달한 후 45일까지 완만한 증가를 나타내었다. 동결저장한 생선은 전 저장기간동안 10<sup>4</sup>~10<sup>6</sup>의 범위였으며 생균수의 변화는 적은 편이었다.

## (2) Weakfish의 Microflora 변화

Weakfish의 각 저장온도에서 microflora의 변화를 조사한 결과는 Table 4와 같다. 저장직전의 시료에서는 *Acinetobacter*와 *Moraxella*가 전체의 73.3%를 차지하였으며 *Vibrio*는 1주가 검출되었다. 이후의 전 저장기간동안 냉장, 빙장 및 부분동결저장에서는 비호염균주인 *Pseudomonas* III/IV-NH가 각각 40, 46.7, 56%를 차지하였고 다음으로는 *Pseudomonas* I/II가 각각 11.1, 24.4, 21.2%를 차지하였다. 호염성균주인 *Pseudomonas* III/IV-H는 전 저장기간동안 전혀 검출되지 아니하였다. *Vibrio*는 냉장, 빙장 및 부분동결저장한 생선에서 전 저장기간동안 5주가 검출되어 앞의 굴의 경우(Table 2)에 비해 월등히 낮은 수준이었으며 이러한 결과로 미루어 볼 때 생선은 굴에 비하여 식중독사고의 위험률이 낮을 것으로 생각된다.

전 저장기간동안 각 저장온도에서 모두 *Moraxella*가 검출되었는데 특히 동결저장한 생선에서 48%로서 가장 높은 비율을 차지하였으며, 굴(Table 2)에서 전혀 검

출되지 않았던 구균류인 *Micrococcus*와 *Staphylococcus*는 각각 3주씩 분리되었다. 동결저장한 생선에서는 타 저장온도에 비하여 구균류와 비동정균의 비율이 높은 편이었으며 *Vibrio*가 전혀 검출되지 않았다.

Weakfish의 mircroflora를 일본의 경우와 비교해 보면 본 실험에 사용한 Weakfish에서 저장직전에는 *Acinetobacter*와 *Moraxella*가 전체의 70% 이상을 차지하였으나 堀江 등<sup>15)</sup>이 10종류의 신선한 해산어에서 분리한 세균의 53.9%가 *Pseudomonas*속이었으며 다음으로는 *Vibrio*가 25%를 차지했던 결과와 좋은 대조를 이루고 있다. 저장직전의 Weakfish에서는 *Vibrio*가 1주(6.6%) 검출되었으나 일본의 생선에서는 *Vibrio*가 25%를 차지하여 굴 뿐만 아니라 생선에서도 *Vibrio*의 검출율이 월등히 높다는 보고<sup>41,42)</sup>를 뒷받침하는 결과로서 이는 환경오염에 의해 식중독세균의 검출율이 점차 높아지는 결과에 기인한 것으로 생각된다.

본 실험에 사용한 Weakfish의 동결저장중 *Moraxella*가 전체의 48%를 차지하였는데 이는 奧積 등<sup>16)</sup>이 해산어에서 주로 분리되는 9종류의 세균을 동결저장했을 때 *Moraxella*, *Flavobacterium/Cytophaga*와 *Micrococcus*, *Staphylococcus* 등의 구균류가 특히 저온 내성이 강했으며 조사한 해산어의 세균 중 *Vibrio*가 가장 저온내성이 약하다는 보고와 일치하는 결과로 생각된다.

## 3. 저온저장중 *Listeria monocytogenes*의 검출

Table 4. Changes in the numbers of isolates from Weakfish during storage at 6, 0, -4 and -20°C

Bacterial genus	Temp.	6°C			0°C			-4°C					-20°C					
		Days	0	4	8	4	8	15	4	8	15	25	45	4	8	15	25	45
Pseudomonas I/II		1	1	3	3	5	3	1	1	6	2	6	2	0	0	0	0	5
Pseudomonas III/IV-NH		0	10	8	7	5	9	8	11	9	7	7	0	0	0	0	0	1
Pseudomonas III/IV-H		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Vibrio		1	1	0	0	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Moraxella		5	2	1	5	1	0	5	1	0	1	1	6	8	9	7	6	6
Acinetobacter		6	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	2	0	0	0	0	1
Flavobact.-Cytophaga		0	0	2	0	1	0	0	0	0	1	0	2	2	1	1	0	0
Micrococcus		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	2	2
Staphylococcus		0	0	0	0	2	1	0	1	0	0	0	0	1	2	0	0	0
Unidentified		2	1	1	0	0	1	0	0	0	4	0	3	4	3	6	0	0

Table 5. Numbers of suspected isolates of *Listeria monocytogenes* from the fishes during storage at 6, 0, -4 and -20°C

Fish sample	Temp.	6°C				0°C			-4°C					-20°C					
		Days	0	4	8	15	4	8	15	4	8	15	25	45	4	8	15	25	45
Oyster		1	2	2	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Weakfish		2	2	0	-	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	2

\*Colonies were isolated Oxford medium agar (OXA), yielding black with a black halo.

굴과 Weakfish를 저온저장한 시료로부터 선택배지 Oxford medium 표면에 도말하여 colony 주변을 검게 변화시킨 *Listeria monocytogenes*와 유사한 세균의 분리 현황은 Table 5와 같다. 굴과 Weakfish로부터 전 저장기간동안 각각 9주와 8주를 분리하였는데 이들 균주의 대부분이 냉장시료에서 분리되었고 특히 굴에서는 66.7%가 냉장시료에서 분리되었다. 이와 같이 *Listeria monocytogenes*가 타 저장온도에 비하여 냉장온도에서 검출률이 높은 것은 이 세균일 저온세균으로서 냉장온도에서도 증식이 가능하였다는 보고들<sup>43,44)</sup>과 일치하는 결과이다.

분리된 균주에 대하여 형태와 생화학적 실험을 행한 결과, G(+)의 단간균으로서 생화학적 성상이 *Listeria monocytogenes*와 대단히 유사하였으며 blood agar에서 강한 용-혈(β-hemolysis)현상을 나타내었으나 API Listeria로서 확인한 결과 *Listeria monocytogenes*의 성상과 완전히 일치하는 균주는 검출되지 아니하였다.

이 균주는 1926년 Murray 등<sup>45)</sup>에 의해 최초로 가축의 전염병과 관계되는 균주로서 *Bacterium monocytogenes*로 보고된 이래 여러가지 균주 이름으로 바뀐 후 지금의 *Listeria monocytogenes*에 이르게 되었다. 이 균주는 1980년 이후에 각종 식품과 환경으로부터 분리되기 시작하여 listeriosis의 원인세균으로 알려져 있으며<sup>19,26)</sup> 배양시간이 길어지면 구형에 가까운 형

태를 띠게되며 *Corynebacterium*, *Pneumococcus*, *Streptoccus*속 등으로 잘못 동정되기 쉬운 균주로 알려져 있다<sup>33,36)</sup>. 최근에도 이러한 균주들의 DNA와 RNA 구조상 차이에 따라 새로운 종으로 분류체계가 바뀌고 있는 실정이다<sup>33)</sup>. 이 균주는 오염된 환경에서 검출률이 높고<sup>2,21)</sup> 모두가 강한 용혈현상을 나타내는 공통점을 갖고 있어 식품위생상 큰 문제가 되고 있다.

본 실험에 사용한 굴과 Weakfish의 결과로 볼 때 오염된 지역에서 채취한 해산물을 날 것으로 섭취하는 것은 *Vibrio* 뿐마 아니라 *Listeria monocytogenes* 식중독의 위험성이 점차 높아질 것으로 예상되며 listeriosis의 예방을 위하여 *Listeria*속 세균의 분류체계에 대한 연구가 더욱 활발히 이루어져야 할 것으로 생각된다.

Table 6은 굴과 Weakfish의 저온저장중 분리된 세균의 microflora 변화(Table 2와 Table 4)를 종합한 것으로서 굴과 Weakfish간에는 여러가지 아주 대조적인 결과를 나타내었다.

첫째, 굴에서는 호염성 균주(*Pseudomonas* III/IV-H, *Vibrio*)가 차지하는 비율이 전체의 약 74%를 차지한 반면에 Weakfish에서는 비호염균주가 전체 분리균주의 약 90%를 차지하였다.

둘째, 굴은 *Vibrio* 검출율이 Weakfish에 비하여 3배나 높았다.

세째, 굴에서는 *Pseudomonas* I/II와 *Moraxella*가 분

Table 6. Total isolates from Oyster and Weakfish during storage at 6°C, 0°C, -4°C and -20°C

Bacterial genus	Weak fish		Oyster	
	No. of isolates	%	No. of isolates	%
<i>Pseudomonas</i> I/II	39	16.2	0	0
<i>Pseudomonas</i> III/IV-NH	82	34.1	4	1.6
<i>Pseudomonas</i> III/IV-H	0	0	172	67.4
<i>Vibrio</i>	5	2.1	16	6.3
<i>Moraxella</i>	58	24.2	0	0
<i>Acinetobacter</i>	10	4.2	1	0.4
<i>Flavobact.-Cytophaga</i>	10	4.2	24	9.4
<i>Micrococcus</i>	4	1.7	0	0
<i>Staphylococcus</i>	7	2.9	0	0
Unidentified	25	10.4	38	14.9
Total	240	100.0	255	100.0

리되지 않았으나 Weakfish에서는 이를 두 종류의 균주는 각각 16%, 24% 정도로 높은 비율을 차지하였다.

네째, 굴에서는 구균류가 전혀 검출되지 아니하였으나 Weakfish에서는 구균류가 4.6%를 차지하였다.

이상의 결과를 요약해 볼 때 생선의 저온저장에서 식중독세균에 대한 안전성의 문제로 볼 때 finfish에서는 *Staphylococcus*와 *Vibrio*에 대하여, shellfish에서는 *Vibrio*에 대하여 상세한 안전성의 검토가 필요할 것으로 판단된다.

#### IV. 요 약

굴(*Crassostrea virginica*)과 Weakfish(*Cynoscion regalis*)를 냉장(6°C), 빙장(0°C), 부분동결저장(-4°C) 및 동결저장(-20°C) 온도에서 45일간 저장하면서 생균수와 microflora의 변화를 조사하였다. 각 온도에서 저온저장중 굴로부터 255주, Weakfish로부터 240주, 합계 495주를 분리하여 microflora의 변화를 조사하였다. 저장직전의 생선에서 생균수는 굴이  $4.9 \times 10^5$  CFU/g, Weakfish가  $1.5 \times 10^4$  CFU/cm<sup>2</sup>였다. 저장직전의 굴에서는 *Pseudomonas* III/IV가 67%, *Vibrio*가 20%를 차지하였다. Weakfish에서는 *Acinetobacter*가 40% *Moraxella*가 33%로서 주종을 이루었으며 *Pseudomonas*과 *Vibrio*는 아주 적은 비율을 차지하였다.

굴의 저온저장중 microflora는 저장온도에 큰 관계 없이 모든 저장온도에서 *Pseudomonas* III/IV-H가 전체 균주의 67.4%, *Flavobacterium/Cytophaga*가 9.3%, 다음으로는 *Vibrio*가 6.3%를 차지하였고 약 15%의 세균은 동정하지 못하였다. Weakfish의 저온저장중 microflora는 냉장, 빙장, 부분동결저장한 경우에

비호염성균인 *Pseudomonas* III/IV-NH가 전체 균주의 60~100%를 차지하였으며 동결저장한 Weakfish에서는 *Moraxella*가 전체 분리 균주의 40~60%를 차지하였다.

전체적으로 굴에서는 호염성 균주(*pseudomonas* III/IV-H와 *Vibrio*)가 우세하였고 구균류가 분리되지 않았으나 Weakfish에서는 비호염균주(*Pseudomonas* III/IV-NH와 *Moraxella*)가 우세하였으며 구균류가 4.6% 검출되었다. 저온저장한 굴과 Weakfish에서 *Vibrio*의 검출률은 굴에서 Weakfish보다 3배 높았으며 *Listeria* spp.는 검출되지 않았으나 강한 용혈작용을 가진 균들이 각각 9주, 8주씩 분리되어 주의가 요망된다.

#### 감사의 글

본 연구는 1993년 한국학술진흥재단의 자유공모(지방대학육성)과제 연구비로 수행한 연구 결과의 일부이며, 연구비를 지원하여 준 학술진흥재단에 깊은 감사를 드립니다.

#### 참고문헌

1. Liston, J.: Microbial hazards of seafood consumption. *Food Technol.* **44**: 104 (1990).
2. Zottola, E.A., and Smith, L.B.: The microbiology of food-borne disease outbreaks: an update. *J. Food Safety*, **11**: 13 (1991).
3. Lovelace, T.E., Tubiash, H. and Colwell, R.R.: Quantitative and qualitative commensal bacterial flora of *Crassostrea virginica* in Chesapeakebay. *Proc. Nat. Shellfish. Assoc.*, **58**: 82 (1968).
4. Oliver, J.D., Warner, R.A. and Cleland, D.R.: Distribution of *Vibrio vulnificus* and other lactose-fermenting Vibrios in the marine environment. *Appl. Environ. Microbiol.* **45**: 985 (1983).
5. Martinez-Manzanares, E., Moringo, M.A., Castro, D., Balebona, M.C., Munoz, M.A. and Borrego, J.J.: Relationship between indicators of fecal pollution in shellfish-growing water and the occurrence of human pathogenic microorganisms in shellfish. *J. Food Protect.* **55**: 609 (1992).
6. Ruple, A.D. and Cook, D.W.: *Vibrio vulnificus* and indicator bacteria in shellstock and commercially processed oysters from the Gulf coast. *J. Food Protect.* **55**: 667 (1992).
7. 장동석: 식품위생학적으로 본 어패류의 안전성. *한국 영양식량학회지* **19**: 530 (1990).
8. Vanderzant, C. and Thompson, C.A., Microbial flora and level of *Vibrio parahaemolyticus* of oyster

- (*Crassostrea virginica*), water and sediment from Galveston Bay. *J. Milk Food Technol.*, **36**: 447 (1973).
9. Colwell, R.R. and Liston, J.: Microbiology of shellfish. Bacteriological study of the natural flora of Pacific oysters (*Crassostrea gigas*). *Appl. Environ. Microbiol.*, **8**: 104 (1960).
  10. Vasconcelos, G.J. and Lee, J.S.: Microbial flora of Pacific Oysters (*Crassostrea gigas*) subjected to ultraviolet-irradiated seawater. *Appl. Microbiol.*, **23**: 11 (1972).
  11. Murchelano, R.A. and Brown, C.: Bacteriological study of the natural flora of the Eastern oyster, *Crassostrea virginica*. *J. Invert. Pathol.*, **11**: 519 (1968).
  12. Klontz, K.C., Williams, L., Baldy, L.M. and Campos, M.: Raw oyster-associated *Vibrio* infections: Linking epidemiologic data with laboratory testing of oysters obtained from a retail outlet. *J. Food Prot.*, **56**: 977 (1993).
  13. Trudi, N.G. and Oliver, J.D.: Interaction of *Vibrio vulnificus* and the eastern Oyster, *Crassostrea virginica*. *J. Food Prot.*, **57**: 224 (1994).
  14. Blake, P., Merson, M., Weaver, R., Hollis, D. and Heublein P.: Disease caused by a marine *Vibrio*. Clinical characteristics and epidemiology, *New Engl. J. Med.*, **300**: 1 (1979).
  15. 堀江進, 奥積昌世, 木村正幸, 赤堀正光, 川前政幸: 冷藏海産魚の腐敗細菌(第1報), 鮮魚の腐敗した場合のミクロフローラ. *食衛誌*, **13**: 410 (1972).
  16. 奥積昌世, 堀江進, 今井賢一, 松原清子, 冷凍魚類のミクロフローラ. *食衛誌*, **15**: 22 (1974).
  17. 奥積昌世, 清水達也, 松本明: Partial freezingによる貯蔵海産魚の細菌フローラ. *食衛誌*, **46**: 451 (1980).
  18. Okuzumi, M., and Awano, M.: Seasonal variations in numbers of Psychrophilic and halophilic histamine-forming bacteria(N-group bacteria) in seawater and on marine fishes. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, **49**: 1285 (1983).
  19. Okuzumi, M., Yamanaka, H. and Kubozuka, T.: Occurrence of various histamine-forming bacteria on/in fresh fishes. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, **50**: 161 (1984).
  20. Doyle, M.P.: Effect of environmental and processing conditions on *Listeria monocytogenes*. *Food. Technol.*, **42**: 169 (1988).
  21. Buchanan, R.L., Stahl, H.G., Bencivengo, M.M. and Corral, F.D.: Comparison of lithium chloride-phenylethanol-moxalactam and modified Vogel Johnson agars for detection of *Listeria* spp. in retail-level meats, poultry and seafood. *Appl. Environ. Microbiol.*, **55**: 599 (1989).
  22. Bracket, R.E.: Prevalence and persistence of *Listeria monocytogenes* in food and water. *Food Technol.*, **42**: 162 (1988).
  23. Motes, M.L., Jr.: Incidence of *Listeria* spp. in shrimp, oysters and estuarine waters. *J. Food Prot.*, **54**: 170 (1991).
  24. Ronda, M.D. and Patel, T.R.: *Listeria* in seafoods: A review. *J. Food Prot.*, **55**: 1009 (1992).
  25. Harrison M.A., Huang, Y.W., Chao, C.H. and Shinemann, T.: Fate of *Listeria monocytogenes* on packed, refrigerated, and frozen seafood. *J. Food Prot.*, **54**: 524 (1991).
  26. Stephen, D., 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).
  27. 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).
  28. Hackney, C.R. and Dicharry, A.: Seafood-borne bacterial pathogens of marine origin, *Food Technol.*, **42**: 104 (1988).
  29. Abott, S.L., Powers, C., Kaysner, C.A., Takeda, Y., Ishibashi, M., Joseph, S.W. and Janda, J.M.: Emergence of a restricted bio-serovar of *Vibrio parahaemolyticus* as the predominant cause of *Vibrio*-associated gastroenteritis on the west coast of the United States and Mexico, *J. Clin. Microbiol.*, **27**: 2891 (1989).
  30. Blake, P.: Diseases of humans (other than cholera) caused by *Vibrios*. *Ann. Rev. Microbiol.*, **34**: 341 (1980).
  31. Schlech, F.W., 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).
  32. Sallam, S.S. and Donnelly, C.W.: Destruction, injury, and repair of species exposed to sanitizing compounds. *J. Food Prot.*, **55**: 771 (1992).
  33. Schuchat, A., Swaminathan, B. and Broome, C.V.: Epidemiology of human listeriosis. *Clin. Microbiol. Rev.*, **4**: 169 (1991).
  34. Miescier, J.J., Hunt, D.A., Redman, J., Salinger, A. and Lucas, J.P.: Molluscan shellfish: Oysters, mussels, and clams. in "Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods" 3rd ed. American public health association. Washington, DC. pp. 897-918 (1992).
  35. Lyman, J. and Fleming, R.H.: Composition of sea water. *Marine Res.*, **3**: 134 (1940).
  36. Krieg, N.R., Murray, R.G.E., Brenner, D.J., Bryant,

- M.P., Holt J.G., Moulder, J.W., Pfennig, N., Sneath, P. H.A. and Staley, J.T.: Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. 9th ed., Vol. 1, Williams and Wilkins, Baltimore, Md. (1984).
37. Sneath, P.H.A., Mair, N.S., Sharpe, M.E. and Holt J. G.: "Bergey's Manual of Systematic Bacteriology." 9th ed., Vol. 2, Williams and Wilkins, Baltimore, Md. (1986).
38. Shewan, J.M., Hobbs, G. and Hodgkiss, W.: A determinative scheme for the identification of certain genera of Gram-negative bacteria, with special reference to the *Pseudomonadaceae*. *J. Appl. Bact.*, **23**: 379 (1960).
39. Bille, J., Catimel, B., Bannerman, E., Jacquet, C., Yersin, M.N., Caniaux, L., Monget, D. and Rocourt, J.: API *Listeria* a new and promising one-day system to identify *Listeria* isolates. *Appl. Environ. Microbiol.*, **58**: 1857 (1992).
40. Chun, D., Chung, J.K., Seol, S.Y. and Tak, R: *Vibrio parahaemolyticus* in the Republic of Korea. *Am. J. Trop. Med. and Hyg.*, **23**: 1125 (1974).
41. 奥積昌世, 中泉 洋, 小池宏幸: カキの細菌フローラ. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, **45**: 1189 (1979).
42. Zen-Yozi, H., Sakai, S., Terayama, T., Kudo, Y., Ito, T., Benoki, M. and Nagasaki, M.: Epidemiology, enteropathogenicity, and classification of *Vibrio parahaemolyticus*. *J. Infect. Dis.*, **115**: 436 (1965).
43. Weaver, R.A. and Shlef, L.A.: Antilisterial activity of sodium, potassium or calcium lactate in pork liver sausage. *J. Food Safety*, **13**: 133 (1993).
44. 박찬성, 김미림: 저농도의 Ethanol에 의한 *Listeria monocytogenes*의 증식억제, 한국조리과학회지, **11**: 379 (1995).
45. Murray, E.G.D., Webb, R.A. and Swann, M.B.R.: A disease of rabbits characterized by a large mononuclear leucotosis caused by a hitherto undescribed bacterium *Bacterium monocytogenes* (n.sp.). *J. Pathol. Bacteriol.*, **29**: 404 (1926).

---

(1996년 6월 26일 접수)