

Clove(*Eugenia Caryophyllata* Thumb)에 의한 *Escherichia coli* O157:H7의 증식과 생존억제

박 찬 성

경산대학교 생명자원과학부

Inhibition of *Escherichia coli* O157:H7 by Clove (*Eugenia Caryophyllata* Thumb)

Chap-Sung Park

Faculty of Life Resources Science, Kyungsan University, Kyungsan, Kyungbug, 712-240, Korea

Abstract

The inhibitory effect of clove (*Eugenia caryophyllata* Thumb) on the growth of *Escherichia coli* O157:H7 was determined. Tryptic soy broth (TSB) containing 0~0.5% (w/v) of clove was inoculated with $10^5\sim10^7$ CFU/ml of *E. coli* and incubated at 5 different temperature (35, 5, -20, 50 and 55°C). The growth of *E. coli* was not inhibited at 0.1% clove and growth occurred at 0.3% after a prolonged lag period while viable cells of *E. coli* decreased at 0.5% clove during storage at 35°C. During 32 days of refrigerated storage at 5°C, survivors of *E. coli* were decreased with the progress of time and increasing clove concentration. At the presence of 0.3 or 0.4% clove, bacterial cells were dead at the end of refrigerated storage. During frozen storage at -20°C, survivors of *E. coli* at the presence of 0~0.4% clove were decreased 2.9~4.07 log cycles for 4 days of early period and then decreased 1.0~2.1 log cycles through the frozen storage. There were small changes in populations of *E. coli* in TSB between different concentrations of clove during frozen storage. The D-values for *E. coli* at 50°C were 105.26, 22.47, 13.76, 11.14 and 10.17 min at clove 0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4%, respectively. The D-values for *E. coli* at 55°C were 10.75, 8.95, 7.40, 5.96 and 4.96 min at clove 0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4%, respectively. Antibacterial activity of clove against *E. coli* was more effective at 50°C than at 55°C.

Keywords: clove (*Eugenia caryophyllata* Thumb), *Escherichia coli* O157:H7, cold storage, antibacterial activity, D-value

I. 서 론

*Escherichia coli*는 사람과 동물의 장내에 정상적으로 서식하고 있는 세균의 일종으로서 혈청형은 다른 type의 *E. coli*와 여러가지 비슷한 특징이 있으나¹⁾ 그 중의 일부는 식중독세균으로 알려져 있다. 특히 *E. coli* O157:H7은 1983년 미국의 Oregon과 Michigan주에서 오염된 식품의 섭취 후에 설사를 일으킨 원인균으로 보고된²⁾ 이래 이 세균이 출혈성 장염을 일으키는 enterohemorrhagic *E. coli*(EHEC) group으로 확인되었으며^{3,4)} 대장에서 verotoxin을 생성하는 것으로 알려져 있다⁵⁾. *E. coli* O157:H7은 육류를 비롯하여 우유, 야채, 과일 등, 다양한 식품에서 식중독을 일으키는 원인이 되고 있으며^{3,6,7)} yoghurt⁸⁾, apple cider^{8,9)}, mayonnaise¹⁰⁾와 같이 pH가 낮은 식품에서도 분리되고 있

어 식중독사고의 위험성이 높아지고 있다.

E. coli O157:H7에 의한 식중독은 미국에서는 1993년 햄버거를 먹고 600여명의 환자가 발생하여 어린이 3명이 사망하였으며 1997년에도 살균하지 않은 사과주스 등의 과일음료를 마신 60여명의 환자중 1명이 사망하였다¹¹⁾. 한편, 일본에서는 1996년 1만명 이상의 환자가 발생하여 11명이 사망하는 사고가 발생하였고¹¹⁾ 그 원인식품은 무순으로 밝혀졌다⁶⁾. 이 세균은 다양한 식품을 통하여 대규모의 식중독사고를 일으키고 있으며 턱아소와 양노원에서 사람에서 사람으로 전파되는 성질을 가진 위험한 균주이다¹¹⁻¹³⁾. 이 세균은 가축의 분변에서 유래되어 식육에서 분리되어 미국에서 조사한 서북부의 3개주에서 36개의 복장 중 27곳에서 이 세균이 검출되었으며, 전체 분변 시료(12,664)에서는 1.41%의 검출율을 나타내었다¹⁴⁾. 우리

나라에서도 97년 9월, 미국산 수입쇠고기로부터 이 세균이 검출되어 *E. coli* O157:H7에 의한 식중독사고의 위험성이 높아지고 있다.

Mermelstein¹⁹과 Doyle¹⁹은 *E. coli* O157:H7에 의해 발생한 16건의 식중독사고에서 6건은 ground beef에 기인한 것으로 충분히 조리되지 않은 쇠고기와 가금류 등이 주된 원인식품인 것으로 보고하였다. 우리나라에서도 이러한 종류의 즉석식품을 판매하는 편의점이 날로 증가하고 있어 이 균에 의한 식중독사고의 위험이 점차 커지고 있는 실정이다. 한편, 이 세균은 산, 동결, 저온, 고온 등의 환경에 대해 상당한 내성을 가진 것으로 보고되고 있어^{16,17)} 이 세균을 효율적으로 제거하는데는 많은 어려움이 있을 것으로 예상된다. 이러한 식중독세균들의 증식을 억제시키기 위한 방법으로 소비자들은 합성첨가물 보다는 천연물의 사용을 희망하고 있다^{18,19)}. 천연물로서는 지금까지 섭취해온 식품을 이용하는 것이 안전성의 면에서 바람직한 것으로 생각되고 있어 천연물인 유기산^{20,21)}, 향신료²¹⁻²⁵⁾를 이용한 식중독세균의 억제에 관한 연구가 보고되고 있다. 본 연구는 천연물에 의한 효율적인 식중독세균의 제거방안을 모색하기 위하여 향신료 중 저농도의 clove(0~0.5%, w/v)를 액체배지에 첨가하여 *E. coli* O157:H7에 대한 증식과 생존억제 효과를 이 세균의 최적온도(35°C)와 저온(-20, 5°C) 및 고온(50, 55°C)에서 검토하였다.

II. 재료 및 방법

1. 시험균주

본 실험에 사용한 균주는 본 대학 식품미생물학 교실에 보관중인 *E. coli* O157:H7(ATCC 43895)을 실험에 사용하였다.

2. 배지의 조제

전배양 및 본배양을 위한 액체배지는 tryptic soy broth(TSB, Difco)에 분말상태의 clove(McCormick spice Co., Inc. Baltimore, Md. U.S.A.)를 배지의 0~0.5%(w/v) 되게 첨가한 후 121°C에서 15분간 멸균하여 사용하였다. 생균수의 측정을 위한 고체배지는 tryptic soy agar(TSA, Difco)를, 균액의 희석액으로는 0.1% peptone수를 사용하였다.

3. 증식 및 생존억제 실험

증식과 생존실험을 위하여 보존균주의 slant로부터 1백금이를 TSB 10 ml에 접종한 후 35°C에서 18~24시

간씩 액체배지에서 3회 계대배양하여 활성화시킨 균액을 적당한 농도로 희석하여 실험초기의 세균수가 $10^5\sim10^7$ cells/ml 되도록 각 농도의 clove를 함유한 TSB에 접종하였다. Clove를 함유한 10 ml의 TSB가 들어 있는 시험판을 미리 각 실험온도에 보존하였으며 -20°C의 경우에는 시험판을 얼음에 채워 두었다가 세균을 접종하였다. 증식실험은 35°C의 incubator에, 저온에서의 생존억제 실험은 가정용 냉장고의 냉장실 ($5\pm1.5^\circ\text{C}$)과 냉동실($-20\pm2^\circ\text{C}$)에 저장하였으며 고온에서의 생존억제 실험은 50와 55°C의 waterbath에 접종한 균액이 충분히 잠기도록 보존하였다.

4. 생균수 측정

각 온도에 저장중인 균액은 일정한 시간간격으로 생균수를 측정하였으며 -20°C의 경우에는 흐르는 수도물로 해동시킨 즉시 생균수를 측정하였다. 생균수의 측정은 세균의 배양액 또는 배양액의 희석액 0.1 ml를 고체배지(TSA)를 함유한 petri dish에 평판도 말한 후 35°C에서 3일간 배양한 colony수를 측정하여 배양액 ml당의 colony forming unit(CFU/ml)로 나타내었다. 실험은 2회 반복하였으며 생균수는 기하학적 평균치²⁶⁾로서 나타내었다.

5. Decimal reduction time(D-value) 측정

50, 55°C에서의 생존억제 실험에서 TSA에 평판도 말하여 얻은 생균수로부터 각 저장온도별로 clove의 농도에 따라 생균수가 90% 감소하는데 걸리는 시간을 회귀직선법²⁶⁾으로 계산하여 D-value를 구하였다. 각 시료간의 D-value 및 상관계수에 대한 유의성은 t-Test로서 검증하였다²⁶⁾.

III. 결과 및 고찰

1. Clove의 농도와 *E. coli*의 증식

Fig. 1은 배지에 첨가한 clove 농도에 따른 *E. coli* O157:H7의 증식곡선이다. 저장직전의 생균수는 3.2×10^5 CFU/ml였으며 control은 배양 12시간 후에 1.6×10^9 CFU/ml에 도달하여 약 3.7 log cycle 증가하였다. 배지에 첨가한 clove 농도의 증가와 더불어 *E. coli*의 증식은 억제되었으며 0.1%의 clove에서는 24시간 후에 7.8×10^8 CFU/ml로 증가하여 control의 최고치에 비하여 50%에 미달되는 효과를 나타내었다. Clove 0.3%에서는 저장초기의 6시간 동안 생균수가 감소한 후 증식이 시작되어 24시간 후에는 2.2×10^8 CFU/ml에 도달하여 control과는 약 1 log cycle의 차이를 나타

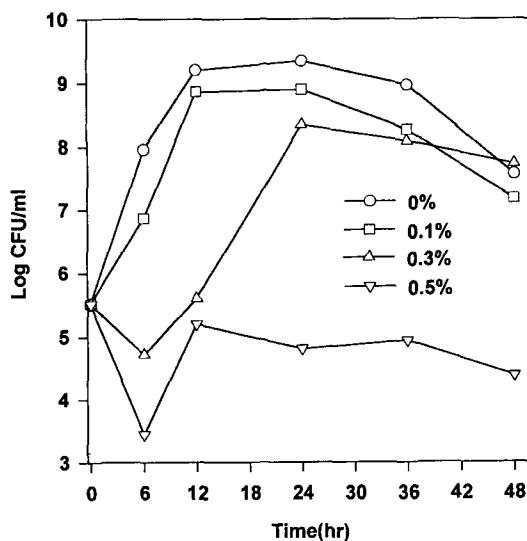


Fig. 1. Effect of clove on the growth of *Escherichia coli* O157:H7 incubated at 35°C.

내었다. 그러나 0.5% clove 존재하에서는 배양 6시간 동안 약 2 log cycle 감소한 후 약간의 생균수 증가가 있었으나 저장직전의 생균수에는 미달되었고 배양 48시간 후에는 2.4×10^4 CFU/ml로 감소되었다. 이 결과는 박^{25,27)}, allspice와 oregano로서 *E. coli* O157:H7에 대한 실험결과에서 이 향신료들이 증식억제효과가 거의 없었던 점으로 볼 때 clove는 0.3%의 농도에서도 control과 약 1 log cycle의 차이를 나타내어 타 향신료보다 우수한 항균활성을 나타내었다.

2. 저온에서 clove에 의한 생존억제효과

(1) 5°C에서 *E. coli*의 생존

Fig. 2는 *E. coli*를 5°C에 저장하였을 때 배지에 첨가한 clove가 세균의 생존에 미치는 영향을 나타낸 결과이다. 저장직전의 생균수는 1.4×10^6 CFU/ml였으며 32일간의 저장기간동안 control은 1.40 log cycle 감소하였다. Clove를 첨가한 경우에는 저장 32일 동안 clove의 농도에 비례하여 생균수가 감소하였으며 clove 0.1%에서는 2.77, 0.2%에서는 5.63 log cycle 감소하였다. 0.3%와 0.4%에서는 각각 저장 32일, 24일에 사멸하였다. 냉장한 *E. coli*의 생존에 대한 clove의 영향은 저장초기에 비하여 저장중기 이후부터 뚜렷해졌으며 특히 0.1%와 0.2%간의 차이가 두드러지게 커서 32일간 저장하는 동안 생균수의 감소정도는 약 2배의 차이를 나타내었다.

(2) -20°C에서 *E. coli*의 생존

Fig. 3은 -20°C에 저장한 clove 농도에 따른 *E. coli*

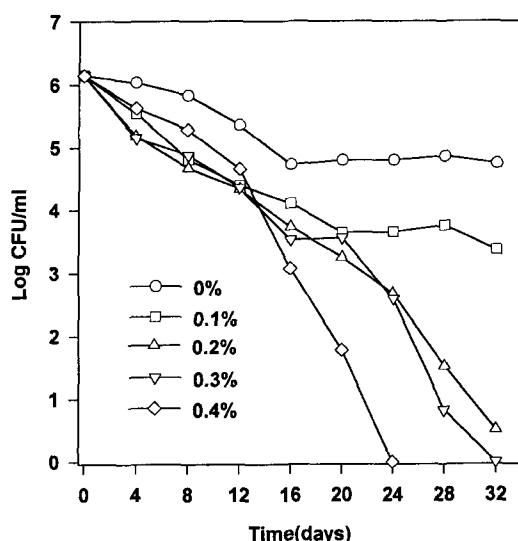


Fig. 2. Effect of clove on the survival of *Escherichia coli* O157:H7 incubated at 5°C.

의 생균수 변화이다. Clove를 첨가하지 않은 control의 경우에는 32일간의 저장기간 동안 0.48 log cycle의 감소에 불과하여 이 세균이 동결저장온도에서 대단히 강한 내성을 나타내었다. Clove를 첨가한 경우에는 저장초기의 4일간 2.9~4.1 log cycle의 급격한 감소를 나타내었으며, 첨가한 clove의 농도가 높을수록 생균수의 감소 역시 큰 편이었다. 저장 4일째부터 저장말기 까지는 생균수의 감소가 원만하여 큰 변화를 나타내지 않아서 clove 0.1%에서는 0.2 log cycle, 0.2%에서

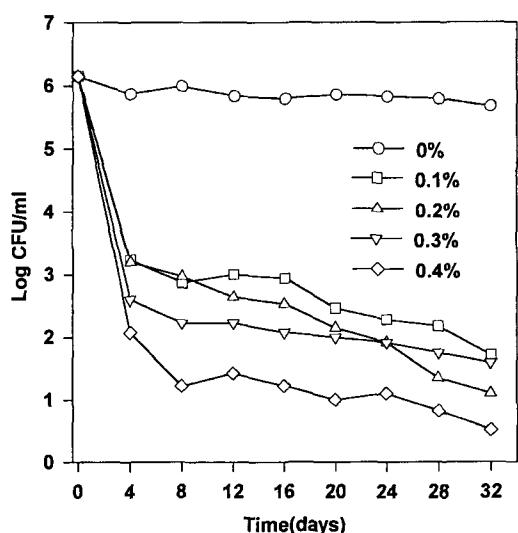


Fig. 3. Effect of clove on the survival of *Escherichia coli* O157:H7 incubated at -20°C.

는 2.1 log cycle, 0.3%에서는 1.0 log cycle, 0.4%에서는 1.6 log cycle 감소하였다. 동결저장에서 *E. coli* O157:H7에 대한 clove의 항균활성이 저장초기에 급격한 감소를 나타낸 점은 저장말기에 뚜렷한 항균활성을 나타낸 oregano의 경우와는 상반되는 결과였다²⁷⁾.

• 5°C와 -20°C에 *E. coli*를 저온저장한 이상의 결과(Fig. 2, Fig. 3)에서 이 균주는 냉장저장 보다 동결저장에서 더욱 강한 저온내성을 나타내었는데 Conner와 Hall¹⁶⁾도 동결저장한 닭고기에서 이 세균이 상당한 저온내성을 나타내었다고 보고한 바 있다. 이와같이 냉동시에 강한 저온 내성을 나타내는 *E. coli*에 대하여 clove에 의한 생존억제 효과(Fig. 3)는 0.1% 첨가로서 약 3 log cycle이 감소하는 우수한 항균활성을 나타내었다. 이러한 결과는 날로 증가하고 있는 냉동조리식품에서 향신료의 사용은 음식의 맛을 좋게 할 뿐만 아니라 세균의 증식을 억제하는 중요한 효과를 나타내어 식중독세균의 제거에 중요한 작용을 할 것으로 예상된다.

3. 고온에서 clove에 의한 생존억제효과

(1) 50°C에서 *E. coli*의 생존

*E. coli*를 50°C에 저장하였을 때 clove가 세균의 생존에 미치는 영향은 Fig. 4와 같다. 저장직전의 생균수는 1.8×10^6 CFU/ml로서 clove 농도에 따른 생균수 감소는 control과 0.1% clove에서 1시간 동안 저장하였을 때 각각 0.45, 2.7 log cycle 감소하여 clove의 첨가에 따라 생균수 변화는 큰 차이를 나타내었다. Clove

0.2%와 0.3%에서는 1시간동안의 저장에 의해 각각 4.15, 5.56 log cycle 감소하였으며 0.4%에서는 1시간 이내에 사멸하여 0.2% 이상의 clove 농도에서는 빠른 속도로 생균수가 감소하였다.

(2) 55°C에서 *E. coli*의 생존

Fig. 5는 55°C에서 배지에 첨가한 clove의 농도에 따른 *E. coli*의 생균수의 변화이다. 55°C에 저장한 *E. coli*는 저장직전의 생균수가 4.7×10^5 CFU/ml였으며 clove 농도의 증가에 따른 생균수의 변화는 저장 직후부터 상당한 차이를 나타내기 시작하였다. 저장 30분 동안 clove 농도에 따른 생균수 변화는 control에서 3.26, 0.1%에서 4.04 log cycle 감소하여 clove 첨가에 의한 생균수의 감소효과는 0.8 log cycle 정도의 차이를 나타내었으나 clove 0.2%, 0.3%와 0.4%에서는 각각 저장 40분, 30분, 20분 후에 사멸하여 clove의 농도에 따른 생존억제효과는 뚜렷한 차이를 나타내었다.

Table 1은 *E. coli*를 50, 55°C에 저장하였을 때의 생균수변화(Fig. 4, 5)로부터 D-value를 계산한 결과이다. Control의 경우, 50°C에서의 D-value는 105.26분이었으나 55°C에서는 10.75분이었다. Ahmed 등²⁸⁾은 *E. coli* O157:H7을 지방함량이 각각 다른 닭고기, 칠면조, 쇠고기와 돈육소세지에 접종하여 50, 55°C에 저장하면서 D-value를 측정한 결과, 50°C에서 D-value는 49.50~115.0분이었으며 55°C에서는 6.37~15.30분으로서 고기의 종류와 지방함량에 따라 큰 차이를 나타내었다. Orta-Ramirez 등²⁹⁾은 53°C, 58°C, 63°C에서 조사한 *E. coli* O157:H7의 D-value가 각각 46.10분,

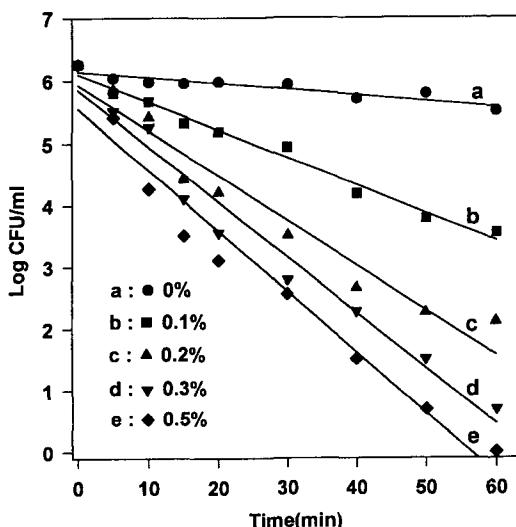


Fig. 4. Effect of clove on the survival of *Escherichia coli* O157:H7 incubated at 50°C.

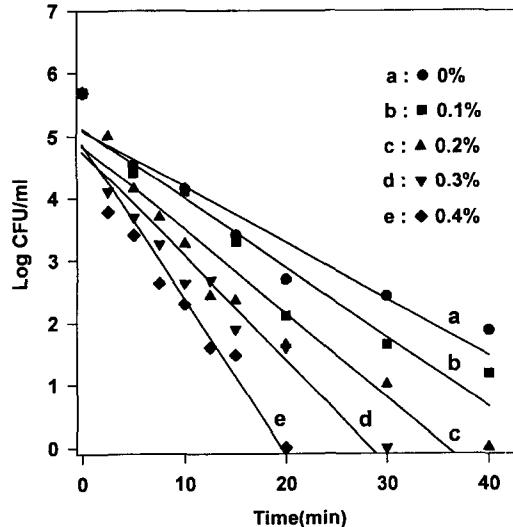


Fig. 5. Effect of clove on the survival of *Escherichia coli* O157:H7 incubated at 55°C.

Table 1. D-value and regression values for *E. coli* in tryptic soy broth containing clove incubated at 50 and 55°C

Temp. (°C)	Clove (%)	Regression parameters			D-Value* (min)
		Y-intercept	Slope	Determination coefficient (r^2)	
50	0	6.1148	-0.0095	0.8536**	105.26 ^a
	0.1	6.1025	-0.0445	0.9834**	22.47 ^b
	0.2	5.9315	-0.0727	0.9495**	13.76 ^c
	0.3	5.8487	-0.0898	0.9693**	11.14 ^d
	0.4	5.5488	-0.0983	0.9598**	10.17 ^e
55	0	5.0888	-0.0903	0.9077**	10.75 ^a
	0.1	5.1198	-0.1117	0.9208**	8.95 ^b
	0.2	4.8475	-0.1351	0.9172**	7.40 ^b
	0.3	4.7522	-0.1677	0.9312**	5.96 ^c
	0.4	4.8750	-0.2498	0.9403**	4.00 ^d

*For each temperature, values within column with the same superscripts are not significantly different ($p>0.05$).

** $p<0.01$

*D-values were derived from Fig. 4 and 5 by linear regression method. Calculated mean value from two experiments in which at least six dwell times were used for linear regression analysis. Two replicates were enumerated for each dwell time.

6.44분, 0.43분으로 보고하였는데, 식육의 가열조리시에 식중독세균에 대한 안전한 관리를 위하여 각 세균의 온도별 D-value의 측정은 대단히 중요한 의미를 가지고 있다. 50°C에서 0.1%와 0.2%의 clove를 첨가한 경우에는 D-value가 control에 비해서 약 1/5, 1/8로 감소하여 향신료에 의한 식중독세균의 억제효과가 큰 편이었다. 55°C에서는 control의 D-value가 50°C에서의 control에 비해서 약 1/10로 감소하여 가열온도 차이에 따른 변화가 큰 편이었고, 55°C에서 향신료에 의한 D-value의 감소효과는 50°C에 비하여 낮은 편이었다.

한편, *Clostridium perfringens*³⁰, *E. coli* O157:H731), *L. monocytogenes*³², *Salmonella typhimurium*³³ 등의 식중독세균은 열손상을 받은 영양세포와 포자의 열에 대한 내성이 증가되었다고 보고되고 있어 가열조리한 식품의 재가열시에는 일반 식중독세균들의 열에 대한 내성이 증가될 것으로 추정된다. Humphery 등³³은 균육에 부착된 *Salmonella typhimurium*을 58°C에서 3분간 저장했을 때의 D-value는 균육에 부착되지 않은 경우에 비해 1.5~7.6배 높은 값을 나타내었다고 보고하였다. 특히 *Escherichia coli* O157:H7은 육류조직의 collagen에 대단히 빠르게 부착되며 일단 이 세균이 육류조직에 부착된 후에는 acetic acid 등의 헹굼에 의해 제거되기 어렵기 때문에³⁴ 육류의 가열조리와 가열조리 후의 관리에 주의를 기울여야 할 것으로 생각된다. 아울러 조리

과정에서 사용되는 적절한 향신료와 식염 등의 병용을 통하여 식품의 세균학적 안전성을 높일 수 있는 효율적 방안을 강구하기 위한 연구가 계속되어야 할 것으로 판단된다.

IV. 요 약

저농도의 clove(0~0.5%, w/v)를 함유한 tryptic soy broth(TSB)에 *E. coli* O157:H7을 $10^5\sim10^7$ cells/ml 되게 접종하여 clove가 *E. coli*의 증식과 생존에 미치는 효과를 이 세균의 최적온도(35°C)와 저온(-20, 5°C) 및 고온(50, 55°C)에서 검토하였다. 35°C에서의 *E. coli*의 증식은 0.1%의 clove 농도에서 배양초기부터 빠른 속도로 증식하였으나 0.3%에서는 약간의 유도기를 거친 후에 증식이 시작되었고 0.5%에서는 저장기간 중 생균수가 감소하였다. Clove를 함유한 TSB에 $10^6\sim10^7$ cells/ml가 되게 *E. coli*를 접종하여 32일간 저온저장(-20, 5°C) 하였을 때 *E. coli*에 대한 생존억제는 냉장에서 clove의 농도가 높을수록, 저장기간이 길어질수록 뚜렷해졌으며 0.3%와 0.4%에서는 각각 저장 32일, 24일에 사멸하였다. -20°C에서 동결저장한 경우에는 저장초기의 4일간 2.9~4.07 log cycle의 급격한 감소를 나타내었으며 이후부터 32일간 저장하는 동안 1.0~2.1 log cycle 감소하였고 첨가한 clove의 농도 차이에 따른 생존억제효과는 약간의 차이에 불과하였다. 50°C에 저장한 *E. coli*는 clove 농도 0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4%에서 D-value는 각각 105.26, 22.47, 13.76, 11.14, 10.17분이었으며 55°C에서 D-value는 clove의 농도 0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4%에서 각각 10.75, 8.95, 7.40, 5.96, 4.00분이었다. Clove에 의한 생존억제작용은 55°C에 비하여 50°C에서 뚜렷한 효과를 나타내었다.

참고문헌

- Gibson, A.M. and Roberts, T.A., the effect of pH, water activity, sodium nitrite and storage temperature on the growth of enteropathogenic *Escherichia coli* and *Salmonella* in a laboratory medium *Int. J. Food Microbiol.* 3: 183-194 (1986).
- Riley, L.W., Remis, R.S., Helgerson, S.D., McGee, H. B., Wells, J.G., Davis, B.R., Herbert, R.J., Olcott, E.S., Johnson, L.M., Hargrett, N.T., Blake, P.A. and Cohen, M.L.: Hemorrhagic colitis associated with a rare *Escherichia coli* serotype. *N. Engl. J. Med.*, 308: 681-685 (1983).
- Padhye, N.V. and Doyle, M.P.: *Escherichia coli*

- O157:H7: epidemiology, pathogenesis, and methods for detection in food. *J. Food Protect.* **55**: 555-565 (1992).
4. Griffin, P.M. and Tauxw, R.V.: The epidemiology of infections caused by *Escherichia coli* O157:H7, other enterohemoragic *E. coli* and the associated hemolytic uremic syndrome. *Epidemiology Review*. **13**: 60-98 (1991).
 5. Morgan, D., Nawman, F.: Verotoxin-producing *Escherichia coli* O157:H7 infections associated with the consumption of yoghurt. *Epidemiology and Infection*. **111**: 181-187 (1993).
 6. 양재승: 미생물학적 안전성을 위한 식품조사. *식품과학과 산업*. **30**(1) : 31-136 (1997).
 7. Mermelstein, N.H.: Controlling *Escherichia coli* O157: H7 in meat. *Food Technol.*, **47**(4): 90-91 (1993).
 8. Miller, L.G. and Kaspar, C.W.: *Escherichia coli* O157: H7 acid tolerance and survival in apple cider. *J. Food Prot.* **57**: 460-464 (1994).
 9. Splittstoesser, D.E., McLellan, M.R. and Churey, J.J.: Heat resistance of *Escherichia coli* O157:H7 in apple juice. *J. Food Prot.* **59**: 226-229 (1996).
 10. Weagant, S.D., Bryant, M.L. and Park, D.H.: Survival of *Escherichia coli* O157:H7 in mayonnaise-based sauces at room and refrigerated temperatures. *J. Food Prot.* **57**: 629-631 (1994).
 11. 오덕환: 새로운 식중독세균 *Escherichia coli* O157:H7의 검출 및 억제. *식품과학과 산업*. **30**(3), 143-156 (1997).
 12. Ryan, C.A., Tauxe, R.V., Hosek, G.W., Wells, J.G., Stoesz, P.A., McFadden, H.W., Smith, P.W., Wright, G.F., and Blake, P.A., *Escherichia coli* O157:H7 diarrhea in a nursing home, clinical, epidemiological and pathological findings. *J. Infect. Dis.* **154**: 631-638 (1986).
 13. Carter, A.O., Borczyk, A.A., Carlson, J.A.K., Harvey, B., Hockin, J.C., Karmali, M.A., Kirishnan, C., Korn, D.A., and Lior, H., A severe outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 associated hemorrhagic colitis in a nursing home. *N. Engl. J. Med.* **317**: 1496-1500 (1987).
 14. Hancock, D.D., Rice, D.H., Herriott, D.E., Besser, T. E., Ebel, E.D., and Carpenter, L.V.: Effects of farm manure-handling practices on *Escherichia coli* O157: H7 prevalence in cattle. *J. Food Prot.* **60**: 363-366 (1997).
 15. Doyle, M.P. and Schoeni, J.L., Isolation of *Escherichia coli* O157:H7 from retail fresh meats and poultry. *Appl. Environ. Microbiol.* **53**: 2394-2396 (1987).
 16. Conner, D.E. and Hall, G.S. Efficacy of selected media for recovery of *Escherichia coli* O157:H7 from frozen chicken meat containing sodium chloride, so-
 - dium lactate or polyphosphate. *Food Microbiol.* **11**: 337-344 (1994).
 17. Conner, D.E. and Kotrola, J.S., Growth and survival of *Escherichia coli* O157:H7 under acidic conditions. *Appl. Environ. Microbiol.* **61**: 382-385 (1995).
 18. Brewer, M.S., Sprouls, G.K. and Russon, C.: Consumer attitudes toward food safety issues. *J. Food Safety*, **14**: 63-76 (1994).
 19. Gould, G.W.: Industry perspectives on the use of natural antimicrobials and inhibitors for food applications. *J. Food Prot. Suppl.*, 82-86 (1996).
 20. Podolak, R.K., Zayas, J.F., Kastner, C.L. and Fung, Y. C.: Inhibition of *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli* O157:H7 on beef by application of organic acids. *J. Food Prot.* **59**: 370-373 (1996).
 21. Ziauddin, K.S., Rao, H.S. and Fairoze, N.: Effect of organic acids and spices on quality and shelf-life of meats at ambient temperature. *J. Food Sci. Technol.*, **33**: 255-258 (1996).
 22. Shelef, L.A., Naglik, O.A. and Bogen, D.W.: Sensitivity of some common food-borne bacteria to the spices sage, rosemary, and allspice. *J. Food Sci.*, **45**: 1042-1044 (1980).
 23. Shelef, L.A.: Antimicrobial effects of spices, *J. Food Safety*, **6**: 29-44 (1983).
 24. Zaika, L.L.: Spices and herbs: Their antimicrobial activity and its determination. *J. Food Safety*, **9**: 97-118 (1988).
 25. 박찬성: 저온저장중 Allspice(*Pimenta dioica* L.)에 의한 *Escherichia coli* O157:H7과 *Staphylococcus aureus* 196E의 생존억제. *한국조리과학회지*, **13**: 106-112 (1997).
 26. 채영암, 구자옥, 서학수, 이영만: 기초생물통계학, 향문사, pp. 37-49, 177-212 (1991).
 27. 박찬성: 저온저장중 Oregano(*Origanum vulgare* L.)에 의한 *Escherichia coli* O157:H7과 *Staphylococcus aureus* 196E의 생존에 미치는 영향. *한국조리과학회지*, **13**: 440-447 (1997).
 28. Ahmed, N.M., Conner, D.E., and Huffman, D.L.: Heat-resistance of *Escherichia coli* O157:H7 in meat and poultry as affected by product composition. *J. Food Sci.*, **60**: 606-610 (1995).
 29. Orta-Ramirez, A., Price, J.F., Hsu, Y.C., Veeramuthu, G.J., Cherry-Merritt, J.S., and Smith, D.M.: Thermal inactivation of *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella senftenberg*, and enzymes with potential as time-temperature indicators in ground beef. *J. Food Prot.* **60**: 471-475 (1997).
 30. Heredia, N.L., Garcia, G.A., Luevanos, R., Labbe, R. G., and Garcia-Alvarado, R.G.: Elevation of heat resistance of vegetative cells and spores of *Clostridium perfringens* type A by sublethal heat shock. *J. Food*

- Prot.* **60**: 998-1000 (1997).
31. Murano, E.A., and Pierson, M.D.: Effect of heat shock and growth atmosphere on the heat resistance of *Escherichia coli* O157:H7. *J. Food Prot.* **55**: 171-175 (1992).
32. Lou, Y. and Yousef, A.E.: Resistance of *Listeria monocytogenes* to heat after adaption to environmental stresses. *J. Food Prot.* **59**: 465-471 (1996).
33. Humphrey, T.J., Wilde, S.J. and Rowbury, R.J.: Heat tolerance of *Salmonella typhimurium* DT104 isolates attached to muscle tissue. *Lett. Appl. Microbiol.*, **25**: 265-268 (1997).

(1997년 12월 1일 접수)