J. Fd Hyg. Safety 9(4), 191-198(1994)

농축수산물 식품원료 및 그 가공식품에 대한 *Listeria* 균주의 오염실태조사와 Listeriosis 발생억제방법

조성환 · 김기옥 · 정진환 · 류충호*
경상대학교 식품공학과, *대전전문대학 환경관리과

Outbreaks and Control of Listeriosis Attributed to Agricultural, Marine and Animal Husbandry Products

Sung-Hwan Cho, Ki-Ok Kim, Jin-Hwan Chung and Chung-Ho Ryu*
Department of Food Science and Technology, Gyeongsang National University, Chinju, 660-701, Korea and Taejon Junior College, Taejon 302-210, Korea

ABSTRACT—The major purpose of the present study is to survey vegetables, meats, seafoods, processed foods and imported foods for the presence of *Listeria* spp. and to prevent listeriosis caused by the contamination of *Listeria monocytogenes*. *Listeria* spp. was isolated from 6.0% of meats, 3.4% of seafoods, and 11.4% of imported foods but was not found in vegetables and processed foods. The optimum growth condition of isolates indentified as *Listeria monocytogenes* was pH 7.0 and 37℃. The antimicrobial effect of grapefruit seed extract (GFSE) was observed in the level of more than 100ppm by disk method. When 1ml(2.5×10^6 CFU/m*l*) of *Listeria monocytogenes* was inoculated and incubated for 3 days at 30℃, the total cell number of the organism was 4.5×10^9 in the control, 7.2×10^3 in 100 μg/m*l* of GFSE medium, and 3.5 μg/m*l* of GFSE medium. Direct visualization of microbial cells by using both transmission electron microscope and scanning electron microscope showed microbial cell membrane the function of which was destroyed by treating with the dilute solutions of GFSE. It could be confirmed that GFSE completely inhibited the growth of the test strain of *Listeria monocytogenes*.

Key words □ listeriosis, *Listeria monocytogenes*, antimicrobial effect, grapefruit seed extract

*Listeria*는 통성혐기성의 Gram 양성간균으로서 그 중에서도 *Listeria monocytogenes*균종은 옛날부터 가축의 병원균으로 알려져 있고 인간에게도 감염되는 것으로 보고되어 있다.[1] *Listeria monocytogenes*는 병원성 또는 독성인자로 작용하며, 이 균주들은 토양, 먼지, 하천, 해수, 폐수 등 자연계에 널리 분포되어 있는 미생물이기 때문에, 사람들은 손쉽게 이 병원성균주에 노출되어 있는 셈으로 특히, 당뇨병, 백혈병, AIDS환자, 조직이식환자, 태아, 신생아, 임신부 등에 발병하기 쉽고 치사율은 감염자의 30% 이상으로, 감염되면 폐혈병증세, 뇌막염 또는 뇌염을 일으킨다. *L. monocytogenes*에 오염된 식품에 의한 집단식중독 사건이 미국, 캐나다, 스위스, 멕시코 등의 나라에서 발생함에 따라 식품위생학분야에서 중요한 세균으로 주목을 받게 되었다.[2] 이 세균은 일반적으로 병원균의 증식이 억제되는 것으로 생각되는 4℃ 정도의 냉장온도에서도 증식하며[3,4] 수많은 농축수산물 식품원료 및 그 가공제품을 중간매개체로 하여 사람에게 listeriosis를 일으킬 수 있다. 현재까지, 부패한 채소,[5] 농작물,[6] silage,[7] 무우, 오이, 양배추 및 감자[8] 등에서 *L. monocytogenes*가 분리 · 검출되었으며 미국, 캐나다 등 북미지역에서는 양배추로 만든 샐러드가 listeriosis 발생원인매체로 판명되기도 하였고,[9] 우유에서도 *Listeria*균의 존재가 확인됨과 아울러,[10-13] 낙농가공제품인 치즈,[14] 아이스크림[15] 뿐 아니라, sausage 등을 비롯한 육가공제품[16]에서도 검출되었다. 이렇게 광범위하게 분포되어 있는 *Listeria*균주의 특성때문에 농축수산원료를 취급하는 식품공장에서 이 균주의 오

염을 근절시키는데는 어려운 점이 많다. 왜냐하면, 제품의 원료산물인 고기, 우유, 해산물 및 채소류등을 통하여 식품공장 고용인들에게 쉽게 오염될 수 있고, 고용인들의 손발이나 오물에 의한 2차오염이 가능할 수 있으며, 감염된 *Listeria monocytogenes*는 식품공장에서 쉽게 성장, 증식할 조건을 찾을 수 있기 때문이다. 따라서, 본 실험에서는, *Listeria* 균주오염에 의한 listeriosis 발생을 억제할 목적으로, 현재 우리나라에서 생산되거나, 외국에서 수입되어 판매되고 있는 농축수산물 및 그 가공제품에 대한 *Listeria* 균주의 오염실태를 조사하고, *Listeria monocytogenes*의 생리특성을 검토함과 동시에, 독성이 없고 우수한 항균력을 가지고 있는 grapefruit 종자추출물(Grapefruit seed extract: 이하 GFSE로 칭함)[17-21]을 조제하여 *Listeria* 균주에 대한 항균성 검사를 이행하고, *Listeria monocytogenes*에 대한 GFSE의 생육저해효과실험을 실시하고, 전자현미경을 이용하여 GFSE가 *Listeria monocytogenes*의 세포생리 및 형태변화에 미치는 항균효과를 검토하였다.

재료 및 방법

Grapefruit 종자추출물의 조제[17-18]

외국산 grapefruit(자몽)을 구입하여 그 과육부를 분리한 종자들을 수거하여 물로 세척한 다음, 적외선이 조사되는 60~70℃ 의 건조실에서 30~60분 동안 Drum-drying을 행하여 건조시킨 grapefruit 종자를 5℃ 이하의 온도가 유지되는 저온실에서 Milling system으로 80~230 mesh크기로 분쇄하여 건조분말 종자 20%와 추출용매인 glycerine 80%의 중량비율로 혼합한 후 수일간 연속 추출하고 층분리시켜 grapefruit 종자추출물을 수집하였다.

농축산물 및 그 가공식품의 *Listeria* 오염실태조사

채소류 등의 식물성 식품원료가 *Listeria*에 오염되어 있는 비율을 조사하기 위하여 경남지역에서 생산되거나 판매되고 있는 채소류를 구입하여 4℃ 에서 보관하고, 일주일이내에 Lovett[22]의 방법에 따라 시료를 처리하여 분석하였다. 즉, 각 시료 1 g을 멸균된 칼로 작게 절단하여 90 ml의 Nutrient broth에 넣고 stomacher로 균질화하여 4℃ 에서 한달동안 저온 증균하며, 7일 간격으로 시료 1 ml씩을 채취하여 Listeria enrichment broth(LEB: trypticase soy broth+ 0.6% yeast extract)에 접종하여 30℃, 48시간 동안 배양하였다. 이와같은 과정을 거쳐 얻어진 배양액을 Oxford agar plate에 도말하여 35℃, 48시간 배양한 다음, colony 주위가 암갈색을 띤 것을 *Listeria* 양성시료로 추정하였다. 이때 사용되는 LEB 배지는 배지 1 L당 30 g trypticase soy broth(BBL), 6 g yeast extract를 첨가하여 121℃, 15분간 고압살균한 후, 15 mg acryflavine·HCl, 40 mg nalidixic acid, 50 mg cycloheximide를 첨가하여 조제하였다. 또한, Oxford agar는 Oxford fomulation(Oxford 회사제품, UK)으로서 1 L당 39 g Columbia blood agar base, 1 g esculin, 0.5 g ferric ammonium citrate, 15 g $LiCl_2$를 함유한 배지이다. 한편, 육류 등 동물성 식품원료의 Listeria오염실태조사는 시료를 멸균된 칼로 0.5 cm 두께로 slice하여 225 ml의 LEB와 비닐백속에 같이 넣고 밀봉하여 전술한 식물성 식품원료의 처리방법과 같이 실험을 실시하였다. 아울러, 농축산가공식품은 모두 같은 날 supermarket으로부터 구입하여 4℃ 에서 저장하면서 *Listeria*균 오염판정시료로 각각 그 오염비율을 측정하였다. *Listeria*균 오염판정을 위한 시료의 전처리과정은 전술한 바와 같이, 식물성 가공식품은 Lovett의 방법[22]에 따라, 동물성 가공식품은 McClain 등의 방법[23]에 따라 실시하되, 선택배지는 최근 각광을 받고 있는 Oxford agar를 사용하여 *Listeria*균 양성시료의 비율을 측정하였다.

Listeria 균주의 동정

각 시료군에 오염된 *Listeria* 균주는 Muller의 방법[25]에 따라, colony 형태 및 배지상태에서의 이동양상을 비롯하여 catalase activity, β-hemolysis, nitrate reduction, dextrose, mannitol, rhamnose 및 xylose 발효능, urea hydrolysis 등의 biochemical characteristics과 CAMP test 등을 기초로 하여 동정하였다.

*Listeria monocytogenes*의 생리특성

농축산물 식품원료 및 그 가공식품에서 분리, 동정한 *Listeria monocytogenes* 균주의 생육조건을 조사하기 위하여 다음과 같은 실험을 실시하였다. 즉, *L. monocytogenes*는 tryptic soy agar(TSA)의 slant 배지상에서 4℃ 의 온도로 보관하고 생육최적 pH조건을 규명하기 위한 배지로는 yeast extract 6 g/L을 첨가한 LEB배지를 사용하였다. 미생물배지에는 HCl를 첨가하여 3.0~11.0 사이의 pH가 되도록 조정하고 membrane filter(pore diameter 0.22 μm: Millipore UK Ltd제품)를 통과시켜 제균하고 각 배지 10 ml에

TSB배지에서 30℃, 24시간 동안 배양한 *L. monocytogenes* 배양액 1 ml를 취해, 접종하여 30℃, 24시간 동안 배양하고 별도로, 전술한 TSB 배양액을 생육최적pH 배지 10 ml에 접종하여 5, 15, 25, 30, 37℃에서 각각 24시간 배양한 후, spectrophotometer를 사용하여 660 nm에서 그 흡광도를 측정·비교하여 *L. monocytogenes* 생육최적 pH 및 생육최적온도를 측정하였다.

GFSE의 항균성 검사

채소류, 육류, 기타 농축산물식품, 수산물 및 그 가공식품에 오염되어 있는 *Listeria* 균주에 대한 GFSE의 항균작용을 검토하기 위하여 다음과 같은 Disk method[26]에 준하여 항균력을 비교·측정하였다. 즉, 국립보건원에서 구입한 TSA의 slant media에 배양된 *L. monocytogenes* ATCC 15313 균주 1 백금이를 취하여 10 ml TSB에 접종하고 30℃에서 24시간 동안 배양한 후, *Listeria*균 용액 0.1 ml를 실온에서 하룻밤 건조한 두께가 5~8 mm인 Oxford agar plate상에 주입하고 구부린 유리막대로 균일하게 펼친 다음, 멸균된 6 mm filter paper disk(Whatman No. 2)를 phosphate buffer(pH 7.0)로 희석시킨 0(대조구), 50, 100, 250 ppm 및 500 ppm 농도의 GFSE 용액에 각각 침지·포화시켜 Oxford agar plate 표면에 놓고 30℃에서 48시간 동안 배양한 후, disk 주위의 clear zone의 직경을 측정하여 항균성을 비교하였다.

Listeria 균주의 생육에 미치는 GFSE의 영향

분리균주인 *Listeria monocytogenes*를 trypticase soy broth(TSB) 배지에 접종하고 37℃에서 24시간 동안 배양한 후, 생리식염수로 희석하여 접종균주로 사용하였다. 희석된 배양액 1 ml를 GFSE가 0(대조구), 50, 100, 250 및 500 μg/ml 농도로 함유되어 있는 LEB 배지 10 ml에 첨가하고 30℃에서 1일간 배양하였다. 각 시험구의 배양액을 4시간 간격으로 배양 20시간까지 무균적으로 채취하고, spectrophotometer를 사용하여 660 nm에서 흡광도를 측정·비교하였다. 이와는 별도로 상기한 LEB 배양액 1 ml씩을 채취하고 생리식염수를 이용하여 단계희석법으로 희석한 다음, 각각의 희석균용액을 LEA plate상에 평판도말하고 30℃에서 3일 동안 배양하여 총 균수를 측정하였다.

Transmission electron microscope(TEM)에 의한 미생물 세포조직의 변화[27]

*Listeria monocytogenes*에 대한 grapefruit 종자추출물의 항균작용을 조사하기 위하여 다음과 같이, 전자현미경(TEM) 촬영시료를 조제하여 GFSE 처리전후의 미생물의 세포내용물질 및 세포조직의 변화를 검토하였다. 즉, 식품원료 및 가공식품에 오염되어 Listeriosis를 유발하는 것으로 동정된 *Listeria monocytogenes*를 TSB 배지에서 일정시간 동안 배양한 다음, 배양균주의 일부를 GFSE 용액(250 ppm)에 30분간 침지처리하고 전보[28]에 준하여 전자현미경 촬영시료를 조제하여 투과전자현미경(Hitachi H-600 Transmission electon microscope)으로 검경하였다. 이 때, 일정한 농도로 희석한 GFSE 용액에 처리한 균체세포를 GFSE 용액에 처리하지 않은 대조구 균체세포와 그 조직변화를 비교하여, GFSE 용액이 *Listeria monocytogenes*의 생체기능변화에 미치는 영향을 중심으로 그 항균작용을 조사하였다.

Scanning electron microscope(SEM)에 의한 미생물 세포형태의 변화관찰

GFSE가 *Listeria monocytogenes*의 세포형태에 미치는 영향을 알아보기 위하여 SEM에 의한 GFSE 처리전후의 미생물 세포의 형태변화를 관찰하였다. 즉, *Listeria monocytogenes*를 GFSE 무처리구인 대조구와 함께, 250 ppm농도의 GFSE가 첨가된 각각의 Fraser base broth에서 36~48시간 동안 배양한 다음, 배양액 1 ml를 eppendorf tube에 옮긴 후 5,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 상등액을 제거하고 1 ml의 4% neutral buffered para-formaldehyde(NBP)를 가하여 다시 원심분리한 후 천천히 진탕하면서 2회 세척하였다. 여기에 1 ml의 NBP를 다시 가하여 4℃에서 48시간 동안 고정시키고 0.015 M phosphate buffer solution(pH 7.2)를 1 ml 가하고 진탕하면서 2회 세척한 후 무수 알콜로 진탕하여 탈수하고 임계점 건조기로 건조한 후, 대조구와 함께 미생물세포의 형태변화를 관찰하였다.

결과 및 고찰

분리균주의 생화학적 특성

농축수산물 식품원료 및 그 가공제품으로 분리한 균주 중, *Listeria* spp.로 추정되는 분리균주의 생화학적 특성을 조사한 결과, mobility, methyl red 반응 및 voges-proskauer 반응, catalase 작용은 양성반응을 보였으며, urease 활성은 약하고, glucose로부터 유기산을 생성하였으나, H_2S와 indole 화합물을 생성

Table 1. Incidence of *Listeria* in various food sources

Item	No. of samples	No. of sample in range positive for *Listeria* spp. (%)
Vegetables		
cabbage	20	0 (0)
Lehuce	25	0 (0)
celery	20	0 (0)
Garlic	30	0 (0)
onion	20	0 (0)
Meats		
beef	32	2 (6.3)
pork	24	1 (4.2)
chicken	28	2 (7.1)
Seafoods		
shrimp	40	1 (2.5)
eel	23	0 (0)
squid	38	1 (2.6)
shellfish	45	3 (6.7)
Processed food products		
Jam	12	0 (0)
Ham	18	0 (0)
cheese	25	0 (0)
Imported		
ground beef	24	3 (12.5)
sausage	20	2 (10.0)

하지 못하였고 citrate를 이용할 수 없었으며, dextrose, maltose 및 rhamnose는 양성을 보인 반면 mannitol과 xylose는 음성으로 나타났다. 분리균주 중 β-hemolysis와 CAMP 양성을 보인 5균주만이 *L. monocytogenes*에 속하는 것으로 분류할 수 있었다. 농축산물 및 그 가공식품의 *Listeria* 오염실태를 채소류 등 식물성 식품원료 115점, 육류 등 동물성 식품원료 84점 및 농축산 가공식품 146점, 수입가공식품 44점, 경남지역 생산단지 및 super market에서 random sampling하여 *Listeria* 균주의 오염여부를 조사한 결과는 Table 1과 같다. 즉, 경남지역에서 생산 판매되고 있는 배추, 상추, 샐러리, 마늘, 양파 등 농산물 식품원료에서는 *Listeria* 균주가 전혀 검출되지 않은 반면, 육류중 제조 판매되고 있는 동물성 식품원료 소고기 6.3%, 돼지고기 4.2%, 닭고기 근육 7.1%에서 *Listeria* spp.가 검출되었으며, 새우, 오징어, 조개류 등 수산물에서 각각 2.5, 2.6, 6.7%의 *Listeria* spp.가 분리

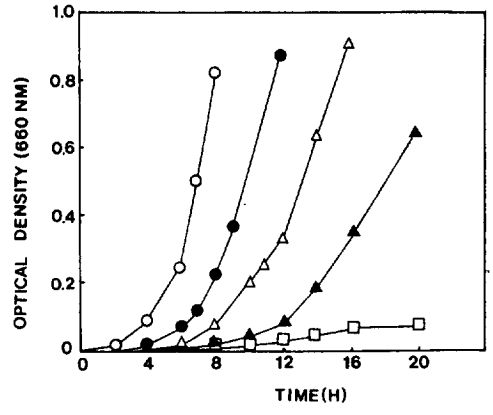

Fig. 1. Growth of *Listeria monocytogenes* incubated at 30°C in the various pH range of *Listeria* enrichment broth.

▲−▲: pH 3.0, △−△: pH 5.0, ○−○: pH 7.0 ●−●: pH 9.0, □−□: pH 11.0.

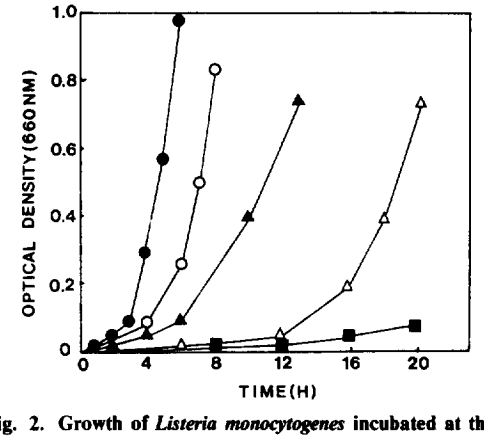

Fig. 2. Growth of *Listeria monocytogenes* incubated at the various temperature in pH 7.0 of *Listeia* enrichment broth.

■−■: 5℃, △−△: 15℃, ▲−▲: 25℃, ○−○: 30℃, ●−●: 37℃.

검출되었으나 장어류에서는 검출되지 않았다. 또한, 분석시료로 채취한 농축산 가공식품에서도 *Listeria* spp.가 검출되지 않아, 포장 살균하고 유효저장기간을 넘기진 않은 가공식품은 저장조건이 양호한 경우, 균주의 오염가능성이 적은 것을 알 수 있었다. 한편, 수입가공식품인 ground beef는 12.5%, ham은 10.0%에서 *Listeria* spp.의 양성반응이 나타나, 수입가공식품의 경우, 다양한 범위의 식품에 대해서 정

밀한 검사가 이루어질 필요가 있는 것으로 생각된다.

*Listeria monocytogenes*의 생리특성

농축산물 및 그 가공식품에서 분리 동정한 *Listeria monocytogenes*의 생육조건을 조사한 결과는 Fig. 1 및 Fig. 2와 같다. 즉, Fig. 1에서 보는 바와 같이 pH 3.0~11.0의 LEB 배지에서 생육한 *Listeria monocytogenes*의 pH별 성장곡선의 결과 pH 7.0 배지에서 성장도가 가장 큰 것으로 나타났으며 pH 3.0이하와 pH 11.0에서는 생육이 크게 억제됨을 알 수 있었다. 아울러, 생육온도별 성장곡선을 도식화한 결과는 Fig. 2로서 30~37℃ 온도범위에서 성장도가 크게 증가하였으며 5℃ 이하의 냉장온도에서는 그 생육도가 낮은 것으로 나타났다.

GFSE의 항균성

Listeria 균주에 대한 GFSE의 항균작용을 검토하기 위하여 Disk method에 의하여 *Listeria monocytogenes* ATCC 15313 배양액을 Oxford agar plate상에 균일하게 주입하고 일정한 농도의 GFSE용액에 침지한 paper disk가 일정한 간격으로 위치하도록 놓은 후 30℃에서 배양한 결과는 Fig. 3과 같다.

즉, GFSE 100ppm이상의 농도에 침지처리한 paper disk 주위에는 균의 증식이 억제되어 clear zone을 형성함으로써 GFSE의 뚜렷한 항균력을 관찰할 수 있었다.

GFSE의 생육억제효과

본실험의 채취시료 중에서 분리 동정한 *Listeria monocytogenes*에 대한 GFSE의 생육억제효과를 알아보기 위하여 대조구와 함께 GFSE가 50~500 μg/ml의 농도로 첨가된 시험구배지에 *Listeria monocytogenes* 배양액 1 ml(2.5×10⁶ CFU/ml)를 접종하여 30℃에서 24시간 배양한 결과는 Fig. 4와 같다.

대조구의 경우 시간이 경과함에 따라 생육증식곡선이 급한 증가를 보였으나, GFSE 첨가농도가 높아질수록 균주의 lag phase가 지연되고 균의 증식도 억제되는 것을 알 수 있었다. 특히, 250 μg/ml 농도 이상의 GFSE 첨가구의 경우 증식속도가 크게 감소되고 GFSE에 의한 균의 생육저해효과를 뚜렷하게 관찰할 수 있었다. 한편, 상기한 방법으로 대조구와 함께, GFSE가 100 μg/ml 및 250 μg/ml 농도로 첨가된 LEB 배지에서 24시간 동안 배양한 각각의 시험구 배양액 1 ml(2.5×10⁶ CFU/ml)를 희석 조제하여 LEA plate상에 평판도말하고 30℃에서 3일 동안 배양한 결과는 Fig. 5와 같다.

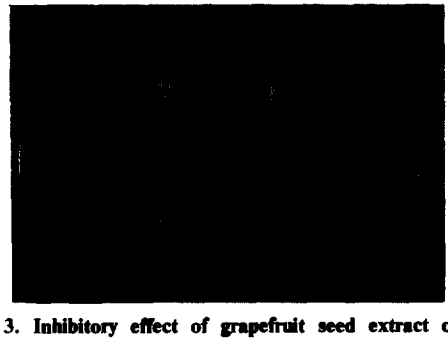

Fig. 3. Inhibitory effect of grapefruit seed extract on the growth of *Listeria monocytogenes*.
A: 0 ppm(control), B: 50 ppm, C: 100 ppm, D: 250 ppm of GFSE.

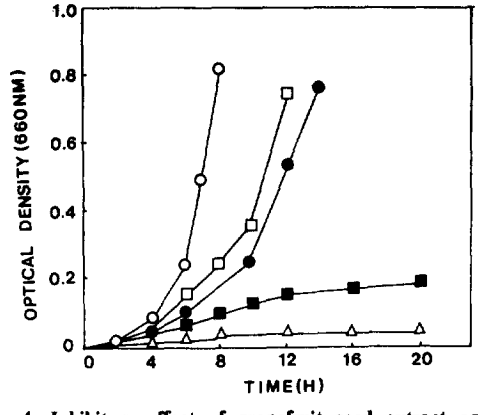

Fig. 4. Inhibitory effect of grapefruit seed extract on the growth of *Listeria monocytogenes* at 30°C.
○−○: control □−□: 50 μg/ml ●−●: 100 μg/ml ■−■: 250 μg/ml △−△: 500 μg/ml of GFSE.

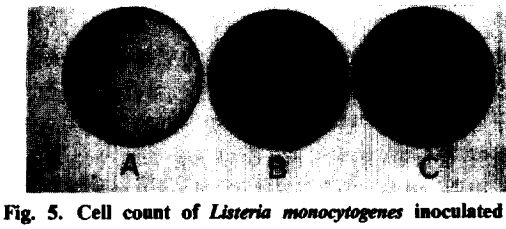

Fig. 5. Cell count of *Listeria monocytogenes* inoculated and incubated on the *Listeria* enrichment agar plate not-treated(A) and treated with 100 ppm(B) and 250 ppm(C) of GFSE.

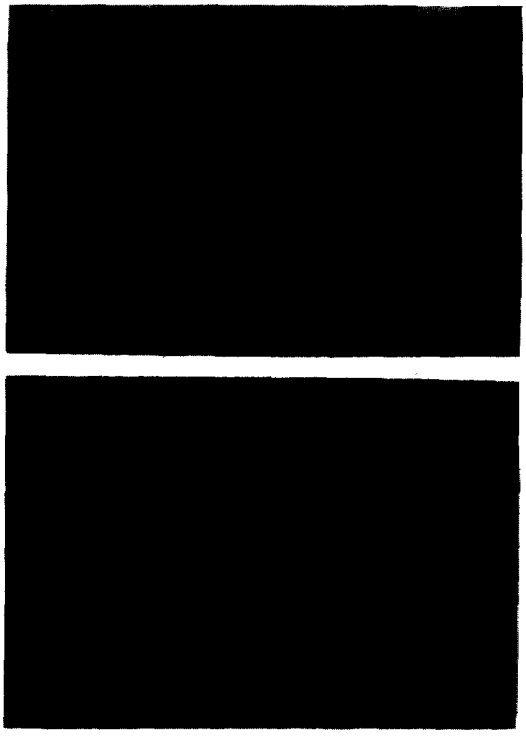

Fig. 6. Transmission electron micrographs of *Listeria monocytogenes* not-treated(A: control) and treated with grapefruit seed extract(B: 250ppm).
(Magnification : ×17,000).

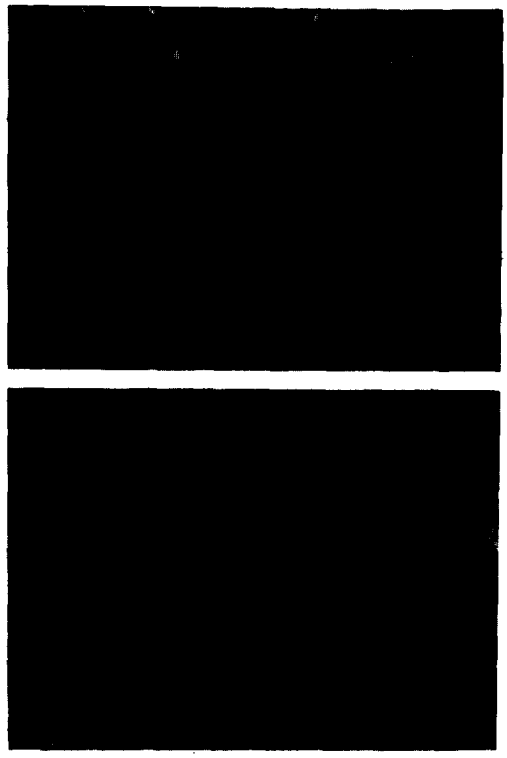

Fig. 7. Scanning electron micrographs of *Listeria monocytogenes* not-treated(A: control) and treated with grapefruit seed extracta(B: 250ppm).

대조구의 경우 4.5×10^9 CFU/m*l*로 균의 생육이 크게 촉진된 반면, GFSE 처리농도가 높아질수록 균의 생육이 더욱 억제되어, 100 μg/m*l* 및 250 μg/m*l* 처리구에서는 각각 7.2×10^3 CFU/m*l* 및 3.5×10^2 CFU/m*l*로 총 균수가 크게 감소함을 알 수 있었다.

전자현미경을 이용한 미생물의 세포조직 및 세포형태 변화

Listeria monocytogenes의 균체세포를 250 ppm의 GFSE용액으로 처리한 균체세포를 처리하지 않은 대조구와 함께 전자현미경(TEM 및 SEM) 검경시료로 조제하여 촬영한 결과는 Fig. 6 및 Fig. 7과 같다. Fig. 6에서 보는 바와 같이 TEM에 의한 시료촬영결과, GFSE용액에 처리한 *Listeria monocytogenes* 균체세포는 세포막의 기능이 파괴되어 세포내용물이 균체 외부로 유출되어 균체의 생육이 억제되며, 세포막의 삼투조절기능의 상실로 인하여 세포내용이 빈 ghost 형태의 균체수가 증가함을 알 수 있었다. 아울러, Fig. 7의 SEM에 의한 시료촬영결과에서도 GFSE 처리로 미생물 균체가 세포벽 또는 세포막의 기능파괴로 인하여 세포형태의 변화가 뚜렷하게 발생하고, 사멸하게 되어 *Listeria monocytogenes*에 대한 GFSE의 항균작용을 확인할 수 있었고 *Listeria monocytogenes*에 대한 *Listeria* 균주오염 가능성이 있는 식품을 GFSE로 예방처리함으로써 *Listeria* 균주에 의한 listeriosis 현상을 억제할 수 있을 것으로 생각된다.

감사의 글

본연구는 1994년도 한국과학재단의 연구비지원(과제번호: 941-0600-016-1)에 의하여 수행된 것으로, 이에 깊은 감사를 드립니다.

국문요약

본연구에서는 *Listeria* 균주오염에 의한 listeriosis 발생을 방지할 목적으로 먼저 채소류 115점, 육류 등 동물성 식품원료 84점, 수산식품 146점, 가공식품 55점 및 수입가공식품 44점을 대상으로 *Listeria* spp. 균주오염실태를 조사한 결과 채소류 및 가공식품에서는 검출되지 않았으나 육류, 수산물, 수입식품에서 각각 6.0%, 3.4% 및 11.4%의 비율로 분리되었다. 분리 동정된 *Listeria monocytogenes*의 최적생육조건은 pH 7.0, 37℃ 로서 나타났으며, 이 균주에 대한 Grapefruit seed extract(GFSE)의 항균성은 100 ppm 이상의 농도에서 뚜렷하게 나타났다. 아울러, GFSE가 첨가된 배지에 *Listeria monocytogenes*배양액 1 ml(2.5×10^6 CFU/ml)을 첨가하여 30℃ 에서 3일간 배양한 후 plate 배지상에 평판도말하고 총균수를 측정한 결과, 대조구 4.5×10^9 CFU/ml), 100 ug/ml GFSE첨가구 7.2×10^3 CFU/ml, 250 ug/ml GFSE 첨가구 3.5×10^2 CFU/ml로 나타나 GFSE의 첨가에 따라 *Listeria monocytogenes*의 생육이 크게 억제하였다. 한편, 전자현미경(TEM 및 SEM)을 이용한 실험결과에서도 GFSE처리에 의하여 세포막 또는 세포벽 기능파괴로 균체의 생육이 억제됨으로써, *Listeria monocytogenes*에 대한 GFSE의 뚜렷한 항균작용을 확인할 수 있었다.

참고문헌

1. Gellin, B.G. and C.V. Broome: Listeriosis. *J. Am. Med. Assoc.* **261**, 1313 (1989).
2. Shelef, L.: Listeriosis and its transmission by food. *Prog. in Food Nutrition Sci.* **13**, 363 (1989).
3. Donnelly, C.W. and E.H. Briggs: Psychrotropic growth and thermal inactivation of *Listeria monocytogenes* as a function of milk composition. *J. Food Prot.* **49**, 994-998 (1986).
4. Beuchat, L.R., R.E. Brackett, D.Y.Y. Hao and D.E. Conner: Growth and thermal inactivation of Listeria monocytogenes in cabbage and cabbage juice. *Can. J. Microbiol.* **32**, 791-795 (1986).
5. Welshimer, H.J.: Isolation of *Listeria monocytogenes* from vegetation. *J. Bacteriology.* **95**, 300-320 (1968).
6. Weiss, J. and H.P.R. Seeliger.: Incidence of *Listeria monocytogenes* in nature. *Appl. Environ. Microbiol.* **30**, 29-32 (1975).
7. Skovgaard, N. and C.A. Morgan: Detection of *Listeria* spp. in faeces from animals, in feeds, and in raw foods of animal origin. *Int. J. Food Microbiol.* **6**, 229-242 (1988).
8. Heisick, J.E., D.E. Wagner, M.L. Nierman and J.T. Peeler: *Listeria* spp. found on fresh market produce. *Appl. Environ. Microbiol.* **55**, 1925-1927 (1989).
9. Wehr, H.M.: *Listeria monocytogenes*－A current dilemma. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* **70**, 769 (1987).
10. Farber, J.M., G.W. Sanders, and S.A. Malcolm: The presence of *Listeria* spp. in raw milk in Ontario. *Can. J. Microbiol.* **34**, 95-100 (1987).
11. Hayes, P.S., J.C. Feeley, L.M. Graves, G.W. Ajello and D.W. Fleming: Isolation of *Listeria monocytogenes* from raw milk. *Appl. Environ. Microbiol.* **51**, 438-440 (1986).
12. Lovett, J., D.W. Francis and J.M. Hunt: *Listeria monocytogenes* in raw milk;detection, incidence, and pathogenicity. *J. Food Prot.* **50**, 188-192 (1986).
13. Liewen, M.B. and M.W. Plautz: Occurrence of *Listeria monocytogenes* in raw milk in Nebraska. *J. Food Prot.* **51**, 840-841 (1988).
14. James, S.M., S.L. Famin, B.A. Agee, B. Hall, E. Park, J. Vogt, G. Run, J. Williams, L. Lieb., T. Prendergast, S.B. Werner and J. Chin : Listeriosis outbreak associated with Mexican-style cheese. California. Morbid. Mort. Weekly Rep. **34**, 357-359 (1985).
15. Sharp, J.C.M.: Infections associated with milk and dairy products in Europe and North America, 1980-1985. World Health Organization **65**, 397-406 (1987).
16. Watkins, J. and K.P. Sleath: Isolation and enumeration of *Listeria monocytogenes* from sausage, sewage sludge and river water. *J. Appl. Bacteriol.*, **50**, 1-9 (1981).
17. 조성환, 서일원, 최종덕, 주인생: 자몽종자추출물이 *Pe-*

nicillium islandicum 생육 및 독소성분 skyrin생합성에 미치는 저해효과. 한국농화학회지 **33**, 169-173 (1990).
18. 조성환, 서일원, 최종덕, 주인생: 수산물에 대한 Grapefruit 종자추출물의 항균 및 항산화 효과. 한국수산학회지 **23**, 289-296 (1990).
19. 조성환, 이현철, 서일원, 김재욱: Grapefruit 종자추출물을 이용한 밀감의 저장효과. 한국식품과학회지 **23**(5), 614-618 (1991).
20. 조성환, 정덕화, 서일원, 이현숙, 황보혜, 박우포: Grapefruit 종자추출물을 이용한 *Aspergillus parasiticus*의 생육 및 Aflatoxin 생성억제 효과. 한국식품위생학회지 7(1), 15-22 (1992).
21. 조성환, 서일원, 최종덕, 전상수, 라택균, 정수근, 강동훈: 천연항균성 물질을 이용한 *Vibrio vulnificus*의 살균 및 독소생성 억제효과. 한국식품위생학회지 7(2,3), 99-106 (1992).
22. Lovett, J.: Isolation and identification of *Listeria monocytogenes* in dairy products. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* **71**, 658-660 (1988).
23. McClain, D. and W.H. Lee: Development of USDA-FSIS method for isolation of Listeria monocytogenes from raw meat and poultry. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* **71**, 660-664 (1988).
24. Müller, H.E.: Listeria isolations from feces of patients with diarrhea and from healthy food handlers. Infection **18**, 39-42 (1990).
25. George, S.M., B.M. Lund and T.F. Brocklehurst: The effect of pH and temperature on initiation of growth of *Listeria monocytogenes*. Letters in Applied Microbiology **6**, 153-156 (1988).
26. Beuchat, L.R. and R.E. Brackett: Inhibitory effects of raw carrots on *Listeria monocytogenes*. *Appl. Environ. Microbiol.* **53**, 198-201 (1990).
27. Bendayan M.: Protein-A-gold electron microscopic immunocytochemistry; methods, applications and limitations. *J. Elect. Microsc. Tech* **1**, 243-270 (1984).
28. 조성환, 류충호, 정진환: 천연항균제처리를 병용한 과채류의 자연저온저장 기술에 관한 연구. 한국영양식량학회지 **23**(2), 315-321 (1994).