J. Fd Hyg. Safety 10(1), 7-12(1995)

채소추출물이 *Listeria monocytogenes*의 생육에 미치는 영향

정종화 · 김동술* · 조태웅** · 강성조** · 김성영** · 정덕화**
경남보건환경연구원, *국립보건원, **경상대학교 식품공학과

The Effects of Vegetable Extracts on the Growth of *Listeria monocytogenes*

Jong-Hwa Chung, Dong-Sul Kim*, Tae-Woong Cho, Sung-Jo Kang**, Sung-Yeong Kim** and Duck-Hwa Chung****
*Gyeong Nam Istitute of Health and Environment, *National Institute Health*
***Department of Food Science & Technology, Geongsang National University*

ABSTRACT—The inhibitory effects of vegetables, collected from Jinju district, on the growth of *Listeria monocytogenes* were investigated. Among 12 vegetables, garlic, leek, onion and cabbage were remarkably effective to inhibit the growth of the strain. Especially with the addition of extract equivalent 0.25 g of raw garlic per m*l* broth, the population of the strain was decreased significantly, and completely inhibited with the addition of 0.625 g or more. During the incubation with the addition of extract equivalent 0.25 g of raw garlic per m*l* broth, the degree of inhibition was gradually increased with the lapse of time, and completely inhibited the growth of the strain after 48 hrs. While the pH value of treated broth remained unchanged almost, those of control were slightly reduced.

Key words □ *Listeria monocytogenes*, Vegetables, Garlic, Inhibitory effect

최근에 미국을 비롯한 세계 여러나라에서 식중독 원인균으로 큰 문제가 되고 있는 *Listeria monocytogenes*는 동물의 분변, 토양, 목초 등 자연계에 광범위하게 분포되어 있는데 이는 감염된 동물이나 우유 또는 분변 등으로부터 직접 또는 오염된 식품을 섭취하므로써 사람에게 감염될 수 있다.[1-3] 이 균은 1911년 토끼에서 처음 발견된 이후 양, 소, 말, 개 등 여러 동물에서 분리되었고 1929년 사람에게서도 분리되었다.

*L. monocytogenes*는 gram 양성인 단간균으로 편모를 가지고 있어 운동성이 활발하며 사람과 동물에게 유산, 패혈증 또는 화농성 뇌막염 등 listeriosis를 유발시키는 치명적인 병원성 세균이다.[4] Listeriosis는 1960년초 유럽에서 발생하여 점차 세계 여러나라에서도 발생되었으며, 최근의 발병사례를 보면 1981년 캐나다의 Vova scotia에서 41명의 Listeriosis 환자가 발생하여 17명이 사망하였는데 원인식품은 면양의 퇴비로 재배한 양배추 샐러드로 밝혀졌고,[5] 1983년 미국의 Massachusetts에서 살균시유를 먹고 49명이 사망하였으며,[6] 1985년 미국 California에서 적어도 86명의 Listeriosis 환자가 발생하여 최소한 29명이 사망한 것으로 보고되었는데 그 원인 식품은 Mexican-style cheese로 살균부족 혹은 제품이 오염되었을 것으로 추정되었다.[7] 또한 1987년에는 Switzerland[8]와 Philadephia[9]에서도 각각 Listeriosis 발생이 보고되었다. 이와 같이 *L. monocytogenes*는 다른 식중독균에 비해 치사율이 대단히 높아 식품위생적인 차원에서 외국 여러 나라에서 집중적인 조사연구가 진행되었다.

*L. monocytogenes*가 71℃에서 16.4초의 HTST 살균과정에서도 생존할 수 있다고 보고하였고,[10] pH가 5.4 이상에서 자랄 수 있다고 하였으며,[11] pH 4.8인 야채쥬스에서도 49일간 생존한다고 보고하였다.[12] 또한 *L. monocytogenes*가 4℃에서도 잘 자란다고 하였고,[13] 내염성균으로써 12% NaCl이 첨가된 skim milk에서 22℃로 배양하면 75일 동안 생존이 가능

하다고 보고하였으며,[14] trypticase soy broth에 25.5%의 NaCl을 첨가하였을 때 22℃에서 32일 동안 생존이 가능하다고 보고하였다.[15] 또한 *L. monocytogenes*의 생육 저해물질에 대한 많은 연구가 진행되어 acetic acid, citric acid와 lactic acid의 첨가에 따른 생육 저해 효과를 발표하였고,[16] sorbic acid, chlorine, sodium benzoate, sodium nitrate, sodium hypochlorite, hydrogen peroxide 등 일반적으로 세균을 저해시킬 수 있는 물질들에 의한 저해효과에 관한 많은 연구 보고가 발표되었다.[17-19]

한편 우리나라에서의 연구사례를 보면 정[20] 등이 재래산양에서 *L. monocytogenes*을 분리 보고한 바 있으며, 여[21] 등은 한국재래 산양에서의 Listeriosis 발생과 Listeria병에 관한 임상 및 병리조직학적 연구 보고가 있으나[22] 아직 미흡한 실정이다. 경제성장과 더불어 곡류위주의 탄수화물 식품에서 육류, 유제품 등 단백질 식품으로 점차 식단의 형태가 변화되는 현실을 감안해 볼 때 우리나라에서도 *L. monocytogenes*에 관한 연구가 절실히 요청되고 있다.

이러한 필요성에 따라 본 연구자는 최근 산양의 분변으로부터 분리한 *L. monocytogenes* F-79를 공시균으로 하여 *L. monocytogenes*에 의한 식중독예방 대책의 일환으로 우리가 흔히 섭취하고 있는 여러가지 채소로부터 추출물을 조제하여 공시균의 배양액에 첨가한 후 공시균의 생육 저해에 미치는 영향을 조사하여 몇 가지 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

재료 및 방법

공시균주 및 배지

채소추출물에 대한 *L. monocytogenes*의 생육 저해 효과를 조사하기 위한 공시균주는 한국의 재래 산양 분변으로부터 분리 동정하여 보관 중인 *L. monocytogenes* F-79를 사용하였고, 배지는 BBL사 제품의 trypticase soy broth(TSB)와 trypticase soy agar(TSA)로, 그 배지조성은 Table 1과 같으며 초기 pH는 7.3으로 조정하여 사용하였다.

실험재료

*L. monocytogenes*의 생육 저해에 대한 채소 추출물의 영향을 조사하기 위해 사용한 채소는 경남 진주 일원에서 1990년 1월부터 2월 사이에 수집한 것으로 케일(*Brassica oleracea L*), 파(*Allium fistulosum L*), 양배추(*Brassica oleracea var capitate L*), 쑥갓(Chrysanthemum coronarium L), 상치(*Lactuca sativa L*), 부추(*Allium odorum L*), 고추(*Capsicum annuum L*), 무(Raphanus sativus L), 마늘(*Allium sativum L*), 알로에(*Aloe vera L*), 깻잎(*Perilla ocimoides L*), 양파(*Allium cepa L*)였다.

채소추출물의 조제 방법

공시균의 생육 저해 효과를 조사하기 위해 사용한

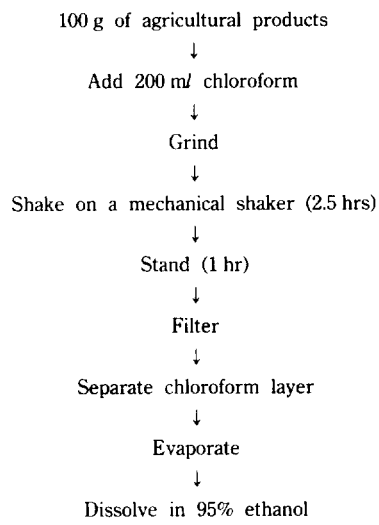

Fig. 1. Extraction procedure of agricultural products.

Table 1. Composition of basal medium

TSB		TSA	
Pancreatic digest of casein	17.0	Pancreatic digest of casein	15.0
Papaic digest of soybean meal	3.0	Papaic digest of soybean meal	5.0
Sodium chloride	5.0	Sodium chloride	5.0
Dipotassium phosphate	2.5	Agar	15.0
Dextrose	2.5		

채소추출물의 조제는 Fig. 1과 같이 각종 채소 100 g에 chloroform 200 ml를 첨가하여 마쇄한 후 500 ml 삼각 flask에 옮겨 진탕기에서 2.5시간 동안 진탕하고 추출액을 추출하여 여과한 다음 chloroform 층만 분리하여 감압농축시켜 95% ethanol에 녹여 4℃에 보관하면서 필요한 농도로 실험에 사용하였다.

공시균의 배양

순수 분리된 *L. monocytogenes* F-79를 4℃에 보관하면서 매 달마다 계대한 motility test medium에서 1백금이를 취해 121℃로 15분간 고압멸균된 TSB 5 ml에 접종한 후 35℃에서 24시간 동안 호기적으로 배양한 후 균의 활성도를 높이기 위해 다시 TSB에 접종해 35℃에서 24시간 배양하여 균수가 약 1×10^9 CFU/ml 정도 되도록 하였다.

균수 및 pH 측정

균수의 측정은 멸균된 TSB 5 ml에 *L. monocytogenes* F-79를 10^5~10^7 CFU/ml 접종한 후 채소추출물을 0.25~1.0 g/ml broth 농도로 첨가하여 35℃에서 24시간 호기적으로 배양하였다. 배양액은 0.85% 멸균생리식염수로 계단희석하여 배양액 및 희석액을 각 1 ml씩 2개의 petri dish에 취하고, 121℃에서 15분간 고압멸균한 후 45℃로 유지된 TSA 15~20 ml씩을 가하여 고루 혼합, 건조시켜 35℃에서 48시간 호기적으로 배양한 후 집락수를 측정하였다.

결과 및 고찰

생육저해 채소의 검색

*L. monocytogenes*의 생육저해에 어떤 채소가 효과적인가를 조사하기 위해 12종의 채소를 선정하여 TSB ml당 0.25 g 채소에 해당되는 채소추출물을 각각 첨가하고 2.5×10^6 CFU/ml의 공시균을 접종하여 35℃에서 24시간 호기적으로 배양한 후 TSA 평판배지에서 35℃에서 48시간 배양하여 균수를 측정하였다. 채소 종류별 생육 저해 효과는 Table 2에서 보는 바와 같이 채소 0.25 g에 해당되는 량의 ethanol이 첨가된 대조구의 균수 8.98 log CFU/ml과 비교해 마늘이 2.15 log CFU/ml로 가장 저해 효과가 좋은 채소로 확인되었고, 다음이 부추 6.81, 양파 6.90, 양배추 7.40 log CFU/ml로 저해효과를 나타내었고, 알로에, 고추, 케일은 균수가 각각 9.60, 9.11, 9.00 log CFU/ml로 채소 0.25 g에 해당되는 낮은 농도의 추출물 첨가시에는 오히려 *L. monocytogenes*의 생육을

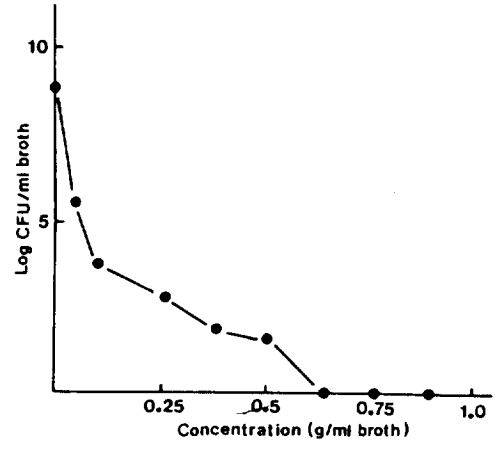

Fig. 2. Distribution of minimum inhibitory concentration of *Allium sativum L.* to *L. monocytogenes* F-79.

Table 2. Effect of various agricultural products on growth of *L. monocytogenes* F-79

Agricultural products	growth(log CFU/ml)	Agricultural products	growth(log CFU/ml)
Control	8.98	*Allium odorum L.*	6.81
Brassica oleracea L.	9.00	*Capsicum annuum L.*	9.11
Allium fistulosum L.	8.76	*Raphanus sativus L.*	8.32
Brassica oleracea var capitate	7.40	*Allium sativum L.*	2.15
Chrysanthemum coronarium L.	8.30	*Aloe vera L.*	9.60
Lacutuca sativa L.	8.38	*Perilla ocimoides L.*	8.58
		Allium cepa L.	6.90

2.5×10^6 CFU of *Listeria monocytogenes* F-79 was inoculated in 5 ml trypticase soy broth containing 0.25 g of each agricultural product per ml broth and incubated at 37℃ for 24 hrs.

활성화시킨 것으로 나타났다.

마늘 추출물의 농도별 첨가 효과

Table 2에서 가장 저해효과가 큰 마늘을 선택하여 TSB ml당 0.05~1.0 g에 해당되는 마늘 추출물을 첨가하여 공시균 6.9×10^5 CFU/ml을 접종한 후 농도별 저해효과 및 최소발육 저지농도를 조사해 본 결과 Fig. 2에서와 같이 0.05, 0.1, 0.25 g 첨가시 각각 5.34, 3.78, 2.83 log CFU/ml로 균수가 점차 감소하였고, 0.375 g 첨가시에서는 2.0 log CFU/ml, 0.5 g에서는 1.70 log CFU/ml로 대부분의 균 생육이 저해되었으며, 0.625 g 및 그 이상 농도에서는 공시균의 생육이 완전히 저해되어 *L. monocytogenes* F-79의 마늘에 대한 최소발육저지 농도가 0.625 g/ml broth인 것을 알 수 있다.

경시적·배양에 따른 균의 생육도 및 pH 변화

공시균의 생육은 계속되었지만 현저한 생육 저해 효과를 나타낸 마늘 0.25 g/ml broth에 해당되는 마늘 추출물을 첨가하여 2.5×10^6 CFU/ml의 공시균을 접종하여 35℃에서 12, 24, 36, 48시간으로 경시적으로 배양하면서 공시균의 생육도 및 pH 변화를 비교 관찰해 본 결과는 Table 3에서와 같다.

균의 생육도를 살펴보면 공시균만 첨가된 blank 및 0.25 g 추출물에 해당되는 양의 ethanol이 첨가된 대조구에서는 균수가 12시간 배양 후 8.79, 9.00, 24시간 배양 후 8.41, 9.04, 36시간 후 8.00, 8.86, 48시간 후 7.70, 8.89 log CFU/ml로 각각 나타났으며, 마늘처리

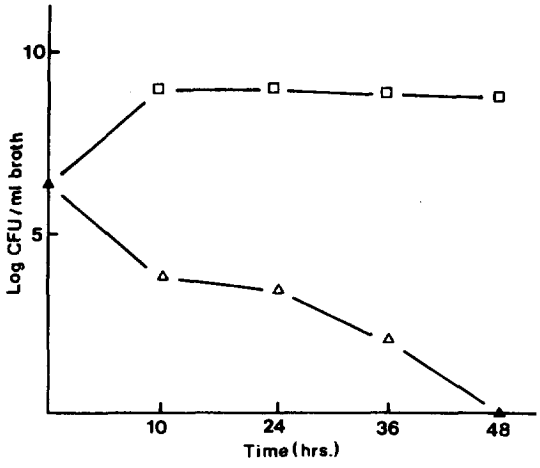

Fig. 3. Effect of *Allium sativum L.* on growth during cultivation of *L. monocytogenes* F-79.
□−□: control, △−△: treated broth.

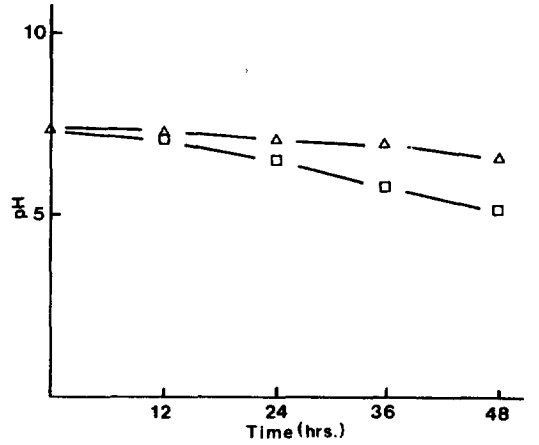

Fig. 4. Effect of *Allium sativum L.* on pH during cultivation of *L. monocytogenes* F-79.
□−□: control, △−△: treated broth.

Table 3. Effect of *Allium satium* L. on growth and pH during cultivation of *L. monocytogenes* F-79

Time (hr)	Blank		Control		*Allium Sativum L.*	
	Growth(logCFU/ml)	pH	Growth(logCFU/ml)	pH	Growth(logCFU/ml)	pH
12	8.79	6.66	9.00	7.36	3.81	7.36
24	8.41	5.27	9.04	6.49	3.30	7.34
36	8.00	5.56	8.86	5.74	2.00	7.25
48	7.70	5.27	8.89	5.27	0.00	6.86

6.40 log CFU/ml of *L. monocytogenes* F-79 was inoculated in 5 ml trypticase soy broth containing 0.25 g of *Allium sativum L.* per ml broth and incubated 35℃.

구에서는 3.81, 3.30, 2.00, 0.00 log CFU/ml로 나타났다. 이와 같이 blank 및 대조구에서는 Fig. 3에서 볼 수 있듯이 일반적인 세균들의 생육곡선과 유사한 생육 곡선을 나타내었으나 마늘처리구에서는 배양시간의 경과에 따라 공시균의 생육이 점차 저해되었고 48시간 후에는 완전히 저해되어 생균을 찾아 볼 수 없었다.

한편 경시적 배양에 따른 pH 변화를 보면 Table 3과 Fig. 4에서와 같이 blank 및 대조구에서는 7.36~5.27로 공시균의 증식에 따라 pH가 약간 감소한 반면, 마늘처리구에서는 거의 변화가 없었다.

이러한 마늘에 대한 *L. monocytogenes*의 저해효과는 마늘 속에 함유된 allicin과 같은 자극성분의 항균작용에 의한 것으로 추측된다.

Pearson과 Marth[23]는 cocoa에 의해 *L. monocytogenes*의 저해효과를 보고한 바 있으며, Beuchat와 Brackett[24]는 당근이 *L. monocytogenes*의 생육을 저해시킨다고 보고하였고, 마늘, 부추, 양파 등 우리나라 고유의 채소들도 역시 *L. monocytogenes*의 생육저해에 아주 효과적인 것을 알 수 있다.

이러한 결론을 미루어 볼 때 *L. monocytogenes*균이 식품에 오염되었을 경우에도 우리나라 고유의 양념과 혼합조리하여 섭취하므로써 *L. monocytogenes*에 의한 식중독 발생을 억제시킬 수 있으리라 사료되며 식품조리 및 가공과 관련하여 치사율이 매우 높은 *L. monocytogenes*에 대한 보다 체계적인 연구가 절실히 요청된다 할 것이다.

국문요약

L. monocytogenes F-79를 공시균으로 하여 진주일원에서 수집한 12종의 채소를 chloroform으로 추출하여 채소추출물에 대한 생육저해 효과를 조사해 본 결과 마늘이 가장 저해 효과가 큰 채소로 확인되었고, 다음이 부추, 양파, 양배추였다. 가장 큰 저해를 보인 마늘에 대한 최소발육저지농도를 구하기 위해 마늘 추출물을 0.05~1.0 g/ml broth 농도로 첨가하였을 때 첨가농도가 증가할수록 공시균의 생육이 점차 저해되어 0.25 g/ml broth에서는 현저한 생육 저해를 보였고, 0.625 g/ml broth 혹은 그 이상농도 첨가시에는 공시균의 생육이 완전히 저해되었다. 현저한 저해를 보인 0.25 g/ml broth 농도의 마늘추출물을 배지에 첨가하여 경시적으로 배양하면서 공시균의 생육도와 pH를 조사한 결과 배양시간이 경과함에 따라 공시균의 생육이 점차 감소하였고, 48시간 후에는 모든 균이 사멸되었다. pH의 경우 대조구에서는 *L. monocytogenes* 증식으로 인해 약간 감소한 반면 처리구에서는 변화가 거의 없었다.

참고문헌

1. Fenlon, D.R.: Wild birds and silage as reservoirs of *Listeria* in the agricultural environment. *J. Appl. Bacteriol.*, **59**, 537 (1985).
2. Gitter, M., Richardson, C. and Boughton, E.: Experimental infection of pregnant ewes with *Listeria monocytogenes*. *Vet. Record*, **124**, 575 (1986).
3. Detta, P.K. and Malik, B.S.: Isolation and characterization of *Listeria monocytogenes* from animal and human being Indian. *J. Anim. Sci.*, **51**, 1045 (1981).
4. Mikolajcik, E.M.: Listeriosis-A food hazard about which we know little. *J. Cult. Dairy Prod.*, **21**(4), 28 (1986).
5. Schlech, W.F., Lavigne, P.M., Hightower, R.A., Allen, A.C., Haldane, A.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 transmisson by food. *N. Engl. J. Med.*, **308**, 203 (1983).
6. Fleming, D.W., Cochi, S.L., Macdonald, K.L., Brondum, J., Hayes, P.S., Plikaytis, B.D., Holmes, M.B., Audurier, A., Broome, C.V. and Reingold, A.L.: Pasteurized milk as a vehicle of infection in on outbreak of listeriosis. *N. Engl. J. Med.*, **312**, 404 (1985).
7. James, S.M., Fannin, L., Agree, B.A., Hall, B., Parket, E., Vogt, J., Run, G., Williams, J., Lieb, L., Salminen,

C., Prendergast, T., Wemer, S.B. and Chin, J.: Listeriosis outbreak associated with Mexican-style cheese-California Morbid. Mortal. *Weekly Rep.*, **34**, 357 (1985).
8. Anon: Foodborne listeriosis-switzerland. Reports of outbreaks of food born illness. *J. Food port.*, **51**, 424 (1988).
9. Anon: FDA, CDC investigate ice cream link to listeriosis. *Food Chem. News*, **29**(8), 3 (1987).
10. Doyle, M.P., Glass, K.A., Beery, J.T., Garcia, G.A., Pollard, D.J. and Schultz, R.D.: Survival of *Listeria monocytogenes* in milk during high-temperature short-time pasteurization. *Appl. Environ. Microbiol.*, **53**, 1433 (1987).
11. Ryser, E.T. and Marth, E.H.: Growth of *Listeria monocytogenes* of different pH values in uncultured whey or whey cultured with penicillium camemberti. *Can. J. Microbiol.*, **34**, 730 (1988).
12. Conner, D.E., Brackett, R.E. and Beuchat, L.R.: Effect of temperature, sodium chloride, and pH on growth of *Listeria monocytogenes* in cabbage juice. *Appl. Environ. Microbiol.*, **52**, 59 (1986).
13. Rosenow, E.M. and Marth, E.H.: Growth of *Listeria monocytogenes* in skim, whole, and chocolate milk and in whipping cream during incubation at 4, 8, 13, 21 and 35℃. *J. Food Prot.*, **50**, 452 (1987).
14. Papageorgiou, D.K. and Marth, E.H.: Behavior of *Listeria monocytogenes* at 4 and 22℃ in whey and skim milk containing 6 or 12% sodium chloride. *J. Food Prot.*, **52**, 625 (1989).
15. Shahamat, M.A., Seaman, A. and Woodbine, M.: Survival of *Listeria monocytogenes* in high salt concentrations. *Zentralbl. Bakteriol. Hyg., I. Abt. Orig.* A. **256**, 506 (1980).
16. Hamad, N. and Marth, E.H.: Behavior of *Listeria monocytogenes* at 7, 13, 25 and 35℃ in trytose broth acidified with acetic, citric or lactic acid. *J. Food Prot.*, **52**, 688 (1989).
17. El-shenawy, M.A. and Marth, E.H.: Inhibition and inactivation of *Listeria monocytogenes* by sorbic acid. *J. Food Prot.*, **51**, 842 (1988).
18. Buchanan, R.L., Stahl, H.G. and Whiting, R.C.: Effects and interactions of temperature, pH, atmosphere, sodium chloride and sodium nitrate on the growth of *Listeria monocytogenes. J. Food prot.*, **52**, 844 (1989).
19. Dòminguez, L., Garayazabal, J.F., Ferri, E.R., Vazquez, J.A., Gomezlucia, E., Ambrosio, C. and Suarez, G.: Viability of *Listeria monocytogenes* in milk treated with hydrogen peroxide. *J. Food prot.*, **50**, 636 (1987).
20. 정윤섭, 김윤정, 김병수, 이귀녕, 이삼열: 뇌척수액에서의 *Listeria monocytogenes* 분리 그예 보고. 대한미생물학회지, **13**, 1 (1978).
21. 여상건, 김순복, 최상용: 재래산양에서 발생한 listeriosis. 대한수의학회지, **27**(2), 207 (1987).
22. 곽수동, 여상건: 한국재래 산양의 listeria 병에 관한 임상 및 병리조직학적 연구. 한국임상수의학회지, **5**(1), 43 (1988).
23. Pearson, L.J. and Marth, E.H.: Inhibition of *Listeria monocytogenes* by cocoa in a broth medium and neutralization of this effect by casein, *J. Food prot.*, **53**, 38 (1990).
24. Beuchat, L.R. and Brackett, R.E.: Inhibitory effects of raw carrots on *Listeria monocytogenes. Appl. Environ. Microbiol.*, **56**, 1734 (1990).