J. Fd Hyg. Safety 11(2), 107 - 114(1996)

일반식품에서 분리된 *Listeria* spp.의 지방산 조성에 관한연구

이명숙† · 김미은* · 이원재 · 김진상 · 이훈구 · 강지희
*부산수산대학교 미생물학과 · *부산대학교 구강생물공학 연구소*

A Study on the Cellular Fatty Acid Profiles of *Listeria* spp. Isolated from Foods

Myung-Suk Lee†, Mee-Eun Kim*, Won-Jae Lee, Jin-Sang Kim, Hun-Ku Lee and Ji-Hee Kang
Dept. of Microbiology, National Fisheries University of Pusan, 608-737 Pusan
**Institute for Oral Biotechnology, Pusan National University, 602-739 Pusan*

ABSTRACT — The distribution of *Listeria* spp. in various foods and its fatty acid composition were examined. A total 60 samples of dairy products(15), seafoods(20), meat products(18), factory wastes(2), and salades(5) were tested. *Listeria* spp. was found 10 samples, showing about 16.7% detection ratio; dairy products 0(0%), seafoods 1(5%), meat product 7(38.9%), factory wastes 2(100%) and salades 0(0%). *L. monocytogenes* was isolated from 6 samples(10%); seafood 1(5%), meat products 3(16.7%) and factory wastes 2(100%). *L. innocua* was isolated from meat products 7(38.9%) and factory wastes 2(100%). Whereas *L. welshimeri* was isolated from meat product 1(5.6%) and factory wastes 1(50%). The cellular fatty acid composition determined by gas chromatography was found not to differ among *L. monocytogenes* and *L. innocua*. Twenty three strains of *L. monocytogenes* and twenty two strains of *L. innocua* isolated from foods has similar fatty acid profiles when grown at 30°C, 24 hrs on the tryptic soy plate with C_{15} and C_{17} anteiso branched acids accounting for about 80% of total.

Key words □ *Listeria monocytogenes, L. innocua*, Cellular fatty acids.

*Listeria*속은 *Corynebacteriaceae*에 속하며 *L. monocytogenes* 등 8종으로 분류 보고[1]되었으나 그후 계속된 연구에 의한 결과, 세포벽의 peptidogylcan조성, cytochrome과 menaquinone함량에 따르면 *Bacillus, Erysipelothrix, Lactobacillus, Streptococcus*속과 가깝고[2,3] 지방산 조성에 의하면 *Brochothrix*속과 가까운 것으로 보고[4]하고 있다. 그리고 균체의 DNA구성과 DNA DNA hybridization연구에 의해 *L. denitrificans*분류에 문제점이 제기되어 이 균종을 새로운 *Jonesia*속, 즉 *J. denitrificans*로 분류되어 현재 *Listeria*속은 7종으로 분류되고 있는[5] 등 아직도 분류 체계가 완전하지 않아 이에 대한 연구가 꾸준히 요망되고 있다. 한편 세균의 세포막과 세포벽은 극성지질과 막단백질이 주성분으로 지질은 주요한 구성인자로 장쇄 지방산을 함유하고 있으며 그 조성은 각 세균 세포의 생합성계에 따라 달라, 어떤 경우에는 species level에서 특징이 확실한 분류군도 있으므로 균체의 지방산 조성을 조사하므로써 그 분류학상의 위치를 알 수 있다.[6] 그리고 세균의 지방산을 분석하는 방법중 gas chromatography를 이용하면 세균체의 지방산이 plasmid나 minor mutation에 영향을 받지않고 재현성이 높으며 지리적인 차이에 관계없이 독특하게 나타난다고 보고[7]되고 있다.

*Listeria*속 중에서 *L. monocytogenes*는 인간에게 감염되어 질병을 일으키며, 동물에게 질병을 일으키는 *L. ivanovii*도 때때로 인간에게 병원성을 나타낸다고 보고[8]되고 있다. 1980년대에 들어와 *L. monocytogenes*에 의한 집단 식중독이 유럽과 북아메리카 지역에서 발생하여 주목받기 시작한 저온성 식중독균으로 패혈증, 뇌막염, 중추신경 마비 등을 일으키고 사망율도 30%이상되는 것으로 주목받고 있는 균으로,[9,10] 우리나라에서도 수입 식품의 증가로 인해 최근 수산물과 식육 제품등에서도 검출되고 있어[11,12] 본균에 대한 연구가 꾸준히 요망되고 있다.

† Author to whom correspondence should be addressed.

따라서 본 실험은 1993년 3월부터 11월까지 유제품, 육제품, 수산물제품 등을 대상으로 *Listeria*속의 분포상태를 조사하여 위생대책 수립의 기초자료를 제공하고 동시에 여기서 분리된 *L. monocytogenes*와 *L. innocua*의 지방산 조성을 분석하여 분류 · 동정의 보조 자료로 제공하고자 행하였다.

재료 및 방법

시료

실험에 사용된 시료는 1993년 3월부터 11월까지 부산시내에 유통되는 유제품(15종), 어류 및 그 가공품(20종), 육류와 그 가공품(18종), 샐러드와 공장 폐수(7종)등 총 60종류의 시료를 시중에서 구입하여 4℃로 냉장 보관하여 실험실에 옮긴 즉시 시료로 사용하였다.

표준 균주

실험에 사용한 표준균주는 *L. monocytogenes* ATCC 15313, *L. innocua* ATCC 33090, *L. ivanovii* ATCC 19119이고, CAMP 시험에는 *Staphylococcus aureus* ATCC 6538과 *Rhodococcus equi* ATCC 25729를 사용하였다.

Listeria 분리 및 동정

*Listeria*속 분리 동정은 FDA(Food and Drug Administration) 방법[13]에 따랐고 이때 분리배지는 PALCAM (Polymyxin Acriflavine Lithium chloride Ceftazidime Aesculin Mannitol; Merck 11755, 12122)을 사용하였다.[14] 그리고 분리된 균주의 생화학 실험은 Bille 등[15]과 Pusch[13]의 방법에 따라 행하였다.

생균수 측정

시료중의 생균수는 A.O.A.C.방법[16]으로 행하였다.

지방산 조성

Abel 등(1963년)의 방법[17]으로 microbial identification system(MIS), Hewllet-Packard 5898A로 Hewllet-Packard capillary column(25×0.25 mm)이 부착된 gas liquid chromatography(GLC); air 40 psig, H_2 30 psig, N_2 20 psig, 평균속도 각각 400 ml/min, 30 ml/min, 30 ml/min의 조건으로 실험하였다. 즉, trypticase soy agar(DifCo) plate에서 30°C, 24시간 배양한 다음, 배양된 평판상의 third quadrant에서 40~50 mg의 colony를 따서 Fig. 1과 같이 조작하여 oven temperature 270°C, detection temperature 300°C, injection temperature 250°C에서 FID 검출기로 균체의 지방산을 검출하였다.

Cell culture

↓ TSA plate at 30℃, 24hr

Harvesting

↓

Saponification

↓ → NaOH in aqueous methanol 1㎖ at 100℃, 5 min
→ Cooling at 100℃, 25min

Methylation

↓ → 6N HCl in aqueous methanol 2㎖ at 80℃, 10 min
→ Cool rapidly

Extraction

↓ → Shake gently in Hexane/MTBE 1.25㎖ , 10min

(Save top phase)

↓

Washing

↓ → 0.3N NaOH 3㎖, 5min

(Save ⅔ top phase)

↓

GC analysis

Fig. 1. Sample processing procedure for analysis bacterial fatty acid by the method of Microbial Identification System.

결과 및 고찰

*Listeria*속의 생화학적 특성

본 실험에 사용한 총 60개 시료에서 분리된 균주의 생화학 시험 결과, *L. monocytogenes, L. innocua, L welshimeri* 3종으로 동정되었고, 각 시료에서 분리된 대표적인 균주의 생화학 시험 결과를 Table 1에 나타내었다. 분리된 균주는 모두 Gram 양성 무포자 단간균으로 catalase 양성, oxidase와 citrate 이용능은 음성이고, 운동성 시험은 23°C에서 2~3일 경과 후 배지 위 표면 5 mm 정도 아래에 펼쳐 놓은 우산 모양의 층이 생기는 것을 관찰할 수 있었고,[3] β-용혈성과 CAMP 시험시 *S. aureus*에 양성반응 xylose 이용능이 없는 것을 *L. monocytogenes*로 분류하였고, β-용혈성과 CAMP 시험 음성반응인 것을 *L. innocua*, 이 중 xylose 양성반응을 나타낸 것을 *L. welshimeri*로 분류하였다. 특히 *Listeria*속 중에서 병원성을 가지는 *L. monocytogenes*와 *L. ivanovii*를 구분할 수 있는 CAMP 시험의 결과, *S. aureus*쪽에만 용혈성을 나타내고 *R. equi*에는 용혈성을 나타내지 않는 것을 *L. monocytogenes*라고 동정하였지만, Smola[18]가 보

Table 1. Characteristic of biochemical tests for *Listeria* spp. isolated from various samples

Test \ Strain	*L. monocytogenes*			*L. innocua*		*L. welshimeri*		*L. ivanovii*
	ATCC 15313	M-7	P-3	ATCC 33090	B-2	B-56	L-50	*ATCC 19119*
Gram stain	+	+	+	+	+	+	+	+
Shape	short rod	short rod	short rod	short rod	short rod	short rod	short rod	short rod
Motility (20~25°C)	+	+	+	+	+	+	+	+
Catalase	+	+	+	+	+	+	+	+
Oxidase	-	-	-	-	-	-	-	-
Nitrate	-	-	-	-	-	-	-	-
Citrate	-	-	-	-	-	-	-	-
TSI	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A
H_2S gas	-	-	-	-	-	-	-	-
MR[1]	+	+	+	+	+	+	+	+
VP[2]	+	+	+	+	+	+	+	+
Indole	-	-	-	-	-	-	-	-
β-hemolysis	+	+	+	-	-	-	-	++
CAMP								
Staph.[3]	+	+	+	-	-	-	-	-
Rhod.[4]	-	w+	+	-	-	-	-	++
Urease	-	-	-	-	-	-	-	-
Hippurate	+	+	+	+	+			+
Acid from								
Glucose	+	+	+	+	+	+	+	+
Mannitol	-	-	-	-	-	-	-	-
Maltose	+	+	+	+	+	+	+	+
Rhamnose	+	+	+	+	+	+	-	-
Xylose	-	-	-	-	-	+	+	+
Gas	-	-	-	-	-	-	-	-
Sourse	Minced raw beef		Pork		Beef	Beef	FW[5]	

[1]Methyl-Red, [2]Voges Proskauer, [3]*Staphylococcus aureus*, [4]*Rhodococcus equi*, [5]Factory wastes.

고한 CAMP 시험 결과에 의하면 *L. monocytogenes*는 *S. aureus*와 *R. equi* 양쪽 모두에 대해 용혈성을 나타낸다고 하였는데, 본 실험 결과 위의 2 균주 모두에 용혈성을 나타내는 *L. monocytogenes* 균주도 검출되었다. 표준 균주인 *L. ivanovii* ATCC 19119 균주는 *R. equi*에 대해서 화살 모양의 선명한 용혈성을 나타냈지만, 분리 균주 중에서는 *R. equi*에 대해 양성을 나타내는 *L. ivanovii*는 검출되지 않았다.

*Listeria*속의 분포

총 60개 시료의 생균수와 *Listeria*속의 검출 정도를 Table 2에 나타내었다. 60개 시료 중 10개(16.7%) 시료에서 *Listeria*속이 검출되었고 그 중에서 *L. monocytogenes*는 6개(10%) 시료에서, *L. innocua*는 9개(15%) 시료에서 그리고 *L. welshimeri*는 2개(3.3%) 시료에서 검출되었다.

수산 가공품 20개 시료 중 홍합·바지락 에서는 *L. monocytogenes*는 검출되지 않았고, 냉동 튀김용 새우제품 1개 시료에서만 *L. monocytogenes*가 검출(5%)되었는데 Cho 등[11]의 국내에서 유통되는 새우, 장어, 오징어, 조개류 등 수산물의 *Listeria* 오염도 조사에서는 새우(2.5%), 오징어(2.6%), 조개류(6.7%)에서 *Listeria*속이 분리된다고 보고하였다. Weagant 등[19]은 뉴질랜드에서 수입되는 수산냉동품 57개 시료 중 35개 시료에서 *Listeria*속이 검출되었고 그 중 15개 시료에서 *L. monocytogenes*가 검출되었으며 그것의 원료로 새우, 게, 가재, 가리비, 오징어 등이었다고 보고하였다. 또한 Buchanan 등,[20] Farber,[21] 그리고 Hartemink과 Georgsson 등[22]의 보고에 의하면 *Listeria*속의 검출율이 새우류 9%, 해조류 32%, 생선류 50%였고, 검출전 시료의 50%정도에서 *L. monocytogenes*가 분리되었고, 그 외에도

Table 2. Viable cell counts and incidence of *Listeria* spp. in various samples

Sample	No. of samples	Viable cell counts(CFU/ml)		No.(%) of isolated samples for			
		Range	Average	*Listeria* spp.	*L. monocytogenes*	*L. innocua*	*L. welshimeri*
Dairy products	15	$<25\sim1.2\times10^{8}$	$<1.6\times10^{7}$	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
Seafoods	20	$2.5\times10^{2}\sim4.5\times10^{7}$	4.9×10^{6}	1(5)	1(5)	0(0)	0(0)
Meat products	18	$9.9\times10^{2}\sim1.6\times10^{6}$	2.1×10^{5}	7(38.9)	3(16.7)	7(38.9)	1(5.6)
Factorywastes	2	$1.2\times10^{7}\sim2.9\times10^{7}$	2.1×10^{7}	2(100)	2(100)	2(100)	1(50)
Salades	5	$1.2\times10^{4}\sim1.2\times10^{6}$	4.2×10^{5}	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
Total	60			10(16.7)	6(10)	9(15)	2(3.3)

Table 3. Fatty acid composition of *Listeria monocytogenes* isolated from foods

Strain	Fatty acid(%)												
	9:0	11:0 iso3OH	12:0	14:0	14:0 iso	15:0 iso	15:0 anteiso	16:0	16:0 iso	17:0 iso	17:0 anteiso	18:0	19:0 anteiso
1	-	2.44	-	0.80	0.55	6.42	41.89	2.94	2.09	3.07	37.43	1.79	0.52
2	2.04	2.56	-	0.71	0.51	7.11	40.14	2.65	2.17	3.21	38.11	0.79	-
3	1.73	2.02	-	0.76	0.55	4.35	42.17	4.14	2.05	2.63	36.89	2.74	-
4	1.90	2.25	-	0.47	0.50	6.15	40.11	2.22	2.42	2.59	40.71	0.70	-
5	-	1.15	0.18	0.68	0.49	6.03	38.84	2.81	2.67	3.30	42.97	0.88	0.86
6	-	-	-	0.86	-	7.91	43.99	2.40	2.53	3.31	39.00	-	-
7	-	1.45	-	0.69	0.43	8.72	42.90	2.48	2.24	3.54	37.04	0.51	-
8	-	1.03	0.23	0.85	0.42	7.25	43.68	3.62	1.95	2.65	36.75	1.31	0.26
9	-	-	-	0.68	0.46	6.50	44.28	2.17	2.10	2.80	41.01	-	-
10	-	0.54	-	0.63	0.39	6.50	40.23	3.94	2.25	2.81	40.49	2.22	-
11	-	1.17	-	0.70	0.40	6.64	39.18	2.93	2.07	3.54	42.08	0.62	0.67
12	-	1.28	0.19	0.71	0.44	7.50	39.73	2.66	2.24	4.00	40.19	0.47	0.60
13	-	1.42	0.25	0.79	0.44	6.96	41.78	2.86	1.96	3.22	39.42	0.45	0.45
14	-	-	0.19	0.61	0.36	6.26	40.09	2.17	2.05	3.48	43.67	0.35	0.77
15	-	1.93	-	1.00	-	7.05	44.25	4.60	1.64	2.58	34.16	2.80	-
16	1.97	2.48	-	0.84	0.41	7.44	42.36	3.51	1.67	2.99	35.47	0.85	-
17	-	1.10	0.16	0.62	0.30	6.18	37.10	3.18	1.96	4.04	43.76	1.05	0.56
18	-	1.63	-	0.65	0.31	6.17	37.55	3.59	1.96	3.45	42.19	2.16	0.35
19	-	-	-	0.59	0.39	7.38	40.63	2.09	2.25	3.79	42.43	-	0.44
20	-	-	0.25	0.95	0.45	7.14	44.77	2.74	2.13	3.10	38.04	-	0.44
21	0.82	1.29	0.20	0.63	0.34	5.81	36.75	2.61	1.93	3.88	44.25	0.53	0.96
22	0.25	-	0.18	0.65	0.38	7.04	38.74	2.55	2.09	4.05	42.55	0.47	1.05
23	-	3.46	-	0.98	-	6.75	43.02	4.06	1.58	2.61	35.09	2.45	-
Mini.	-	-	-	0.47	-	4.35	36.75	2.09	1.58	2.58	34.16	-	-
Maxi.	2.04	3.46	0.25	1.00	0.55	8.72	46.23	4.60	2.67	4.05	44.25	2.80	1.05
Ave.	0.38	1.27	0.07	0.73	0.37	6.75	41.01	3.00	2.09	3.25	39.73	1.01	0.35

*L. innocua*와 *L. seeligeri*가 10% 그리고 *L. welshimeri*도 약 2%정도이고 그 오염도는 대체로 10^{2}/g 정도로 보고 하였다. 하지만 수산물은 가열하지 않고 섭취하는 경우가 많고, 저온 저장을 주로 하므로 냉온성 부패성균인 *L. monocytogenes*에 대한 오염의 가능성이 높아 지속적인 조사가 필요한 것으로 사료된다.

쇠고기나 돼지고기 그리고 그 가공품 18개 시료를 대상으로 실험한 결과, *L. monocytogenes*는 잘게 썬 육회용 쇠고기 1개와 돼지고기 2개 시료에서 검출(16.7%)되었는데, 이는 같은 육류 제품에서 *L. monocytogenes*의 검출율이 높다고 보고[23,24]되고 있는 것과 어느 정도 일치 된다. 이렇게 갈거나 잘게 썬 육류 제품의 오염율이 높은 것은 *L. monocytogenes*에 오염된 기구와 접촉하기 때문인 것으로 사료되어 사용 기구나 취급자의 위생관리가 요망된다고 할 수 있다. *L. innocua*는 7개(38.9%) 시료에서 검출되었는데, Simon 등[25]도 육제품에서 *L. innocua*의 검출율(66.6%)이 야채류(5.8%)나 수산물(12.5%)보다 높다고 보고하고 있고, Ryu 등[23]도 분리된 *Listeria*속의 대부분이 *L. innocua*라고 보고하였다. 특히 쇠고기 1개(5.6%) 시료에서 *L. welshimeri*가 검출되었는데, Gu 등[12]이 국내 시판 쇠고기 206개 시료의 *Listeria*속 오염도 조사에서는 *L. innocua*가 검출된 49개(18.1%) 시료보다 *L. welshimeri*가 121개(44.8%) 시료에서 분리되어 높은 검출율을 나타낸다고 보고하였다.

지금까지 리스테리아증의 원인 식품으로서 유제품 특히 연성 치이즈제품에서 *L. monocytogenes*의 발생 보고는 미국, 캐나다, 유럽 등 나라별로 많았지만 검출율은 10%로 대체로 낮았다.[10] 본 실험에 사용된 치즈, 요쿠르트, 아이스크림 등의 유제품 시료 15개에서는 *Listeria*속이 검출되지 않았다. 식품 공장의 폐수인 원폐수와 NaOH나 응집제로 처리한 방류폐수 2개 시료에서 *L. monocytogenes*가 검출(100%)되었는데, 방류 폐수에서 *L. monocytogenes*가 검출된다는 것은 이와 접촉하는 자연 환경이나 여기서 얻어지는 식품에서 *L. monocytogenes*가 오염될 잠재성이 있다고 생각되어 공장 위생에 주의가 요망된다.

*L. monocytogenes*와 *L. innocua*의 지방산 조성

Table 4. Fatty acid composition of *Listeria innocua* isolated from foods

Strain	Fatty acid(%)												
	9:0	11:0 iso3OH	12:0	14:0	14:0 iso	15:0 iso	15:0 anteiso	16:0	16:0 iso	17:0 iso	17:0 anteiso	18:0	19:0 anteiso
1	-	2.10	-	0.84	0.54	8.32	41.09	2.91	2.35	3.89	37.42	0.55	-
2	-	5.85	-	-	-	5.55	47.82	2.91	1.53	1.37	34.97	-	-
3	-	4.91	-	0.85	-	6.85	46.84	4.03	1.45	2.06	31.21	1.79	-
4	-	-	-	0.75	0.46	7.05	41.81	2.72	2.30	3.44	40.98	-	0.50
5	-	1.85	0.26	0.94	0.50	7.58	45.04	3.37	2.23	2.72	34.90	0.61	-
6	-	-	0.41	1.12	-	8.20	42.78	3.66	2.19	3.51	37.14	1.00	-
7	0.13	0.82	0.11	0.69	0.63	8.30	45.10	2.21	2.95	3.25	35.10	0.17	0.54
8	-	3.32	-	0.68	-	7.60	42.02	2.94	2.37	3.14	37.10	0.83	-
9	0.80	2.55	-	0.90	0.44	6.48	44.07	3.26	2.21	2.74	36.56	-	-
10	-	-	-	0.67	-	7.68	43.20	2.55	2.91	3.20	39.77	-	-
11	1.13	1.68	0.25	0.81	0.46	6.44	42.63	2.88	2.15	2.86	38.40	0.33	-
12	0.38	0.49	0.08	0.60	-	8.06	45.44	2.04	2.76	3.35	35.69	0.86	0.25
13	-	-	-	0.79	0.48	6.54	42.81	2.94	2.09	3.22	41.12	0.64	-
14	-	2.58	-	0.80	-	7.08	42.44	3.35	2.00	3.02	37.07	1.66	-
15	-	0.72	-	0.55	0.57	8.37	43.45	2.00	3.15	3.70	36.97	0.37	0.15
16	-	1.04	0.17	0.70	0.47	6.63	42.14	2.47	2.11	3.08	40.51	0.37	0.32
17	1.25	1.41	-	0.45	0.36	5.77	39.45	2.04	2.22	2.89	43.33	0.51	0.31
18	-	1.75	0.24	0.84	0.48	6.84	42.37	3.35	2.15	2.92	37.70	0.93	0.42
19	-	1.88	-	0.76	0.46	6.91	40.50	2.69	2.21	3.31	40.14	0.73	0.41
20	-	-	0.23	0.78	0.46	6.83	42.13	2.71	2.18	3.30	40.16	0.48	0.84
21	-	1.42	0.32	0.81	0.58	6.95	42.50	2.66	2.89	3.07	38.44	0.37	-
22	0.77	1.13	0.26	0.75	0.47	6.97	42.33	2.60	2.20	3.09	39.11	0.00	0.34
Mini.	-	-	-	-	-	5.55	39.45	2.00	1.45	1.37	31.21	-	-
Maxi	1.25	5.85	0.41	1.12	0.63	8.37	47.82	4.03	3.15	3.89	43.33	1.79	0.54
AVe.	0.20	1.61	0.11	0.73	0.34	7.14	43.07	2.83	2.30	3.05	37.90	0.55	0.18

Table 5. Comparison of fatty acid composition(%) of *Listeria* spp.

Strain		Saturated chain												
		Branched chain								Straight chain				
		Anteiso			Odd-iso			Even-iso		Normal				
		C_{15}	C_{17}	C_{19}	C_{11}	C_{15}	C_{17}	C_{14}	C_{16}	C_{9}	C_{12}	C_{14}	C_{16}	C_{18}
L.monocytogenes	A	44.82	35.53	-	1.33	7.62	2.45	0.43	2.32	1.57	-	0.91	2.65	0.39
	B	41.02	39.73	0.35	1.27	6.75	3.25	0.37	2.09	0.38	0.07	0.73	3.00	1.01
L. innocua	C	44.72	32.21	0.12	1.75	8.84	2.76	0.60	2.35	1.56	0.10	1.06	3.18	0.73
	D	43.07	37.90	0.18	1.61	7.14	3.05	0.34	2.30	0.20	0.11	0.73	2.83	0.55

Arithmetic average value of *L. monocytogenes* ATCC 15313 tested 3 times(A), 23 strains of *L. monocytogenes* isolated from foods (B), *L. innocua* ATCC 33090 tested 3 times(C), and 22 strains of *L. innocua* isolated from foods(D).

식품에서 분리한 *Listeria*균 중에서 다수를 차지하는 *L. monocytogenes*와 *L. innocua*를 각각 23종과 22종을 대상으로 지방산 조성을 실험한 결과는 Table 3과 Table 4에 각각 나타내었다.

*Listeria*균의 지방산은 대부분 포화지방산 이었고 불포화 지방산은 검출되지 않았다. 포화지방산 중에서는 branched chain인 anteiso-Cn이 약 80%정도 검출되었고 그다음이 iso-Cn이 대부분으로 Gram 양성균의 특성을 나타내었다. Anteiso-Cn중에서도 C_{15}가 41-45%정도로 가장 많았고 그다음이 C_{17}로 32~40%정도이었다. 그리고 *L. monocytogenes*와 *L. innocua*의 분리균주와 표준균주의 지방산 조성을 비교한 결과(Table 5) 표준균주와 분리 균주 사이에도 뚜렷한 차이점을 발견할 수 없었으나 *L. monocytogenes* ATCC 15313의 경우 분리균주와 비교하여 anteiso-C_{19}와 $C_{12:0}$가 검출되지 않았을 뿐, 거의 유사한 양상을 나타내었다.

L. monocytogenes MacGill 42XXVIII의 경우 TSB에서 37°C배양한 경우 C_{15}와 C_{17}의 anteiso-saturated가 약 80%정도 검출되었고,[26] *L.monocytogenes* NCDC strains 32균주를 TSB에서 35°C, 24시간 배양한 경우 불포화지방산은 검출되지 않았고 포화지방산중 branched $C_{15:0}$가 28~55%와 branched $C_{17:0}$가 4~30%로 우점종으로 보고하였다.[27] 그리고 *L.monocytogenes*를 beaulieu's medium에서 37°C, 24시간 배양한 결과 C_{15}와 C_{17} saturated-branched chain이 가장 많았고 이중에서 C_{17} branched chain의 양은 배양온도에 따라 그 양이 변하여 37°C에서 4°C로 내려갈수록 감소하였다고 보고[28]되고 있다. 그리고 *Listeria*균종에 따른 지방산의 조성은 *L. monocytogenes, L. innocua, L. ivanovii,* 그리고 *L. seeligerie*는 상호 유사하였으며 *L. murrayi*와 *L. grayi*가 서로 유사한 양상을 나타내었으며 나머지 *L. welshmeri*는 독자적인 양상을 나타내고 있다고 보고[29-31]되고 있다.

이상의 결과로 미루어 *Listeria*균은 포화지방산의 함량이 대부분이고 그 중에서도 anteiso C_{15}와 C_{17}의 함량이 가장많은 것으로 나타났고 *L. monocytogenes*와 *L. innocua*사이에는 특이한 지방산 함량의 차이를 발견하지 못하여 이들 분류, 동정에는 보조적인 수단으로밖에 이용되지 못할 것으로 추정되어 지며 균종간의 지방산 함량은 배양조건, 배양 방법, 그리고 분석 방법에 따라서도 다소 차이가 날 수 있으므로 이에대한 꾸준한 연구가 계속되어야 할 것으로 사료되어진다.

감사의 말씀

본 연구는 1995년도 청민 문화재단 연구비 지원에 의하여 수행되었으며 이에 감사드립니다.

국문요약

일반 식품에서의 *Listeria* spp.의 분포상태와 분리된 균종의 지방산 조성을 비교하였다. 총 60종의 시료〔유제품(15), 수산물(20), 육류(18), 공장 폐수(2), 그리고 샐러드(5)〕를 대상으로 실험한 결과 10개의 시료에서 *Listeria* spp.가 검출되어 16.7%의 검출율을 나타내었다. 즉 수산물(1), 육류(7), 그리고 공장폐수(2)에서 검출되었고 유제품과 샐러드에서는 검출되지 않았다. *L. monocytogenes*는 6개 시료(1종의 수산물, 3종의 육류, 그리

고 2종의 폐수)에서 검출되었고 *L. innocua*는 9개의 시료(7종의 육류와 2종의 폐수), 그리고 2개시료(1종의 육류와 1종의 폐수)에서 *L. welshimerii*가 검출되었다. 위에서 분리한 *Listeria*균 중에서 다수를 차지하는 *L. monocytogenes*와 *L. innocua*를 각각 23종과 22종을 대상으로 지방산 조성을 실험한 결과, 대부분 포화 지방산이었고 불포화 지방산은 검출되지 않았다. 포화지방산 중에서는 branched chaina인 anteiso-Cn이 약 80%정도 검출되었고 그다음이 iso-Cn이 대부분으로 Gram 양성균의 특성을 나타내었다. Anteiso-Cn중에서도 C_{15}가 41~45% 정도로 가장 많았고 그다음이 C_{17}로 32~40%정도이었다.

참고문헌

1. Breed, R. S., Murray, E. G. D. and N. R. Smith.: Bergey's manual of determinative bacteriology, 7th Ed., Williams & Wilkins Co., Baltimore(1957).
2. Sneath, P. H. A., Mair, N. S., Sharpe, M. E., Holt, J. G.: Bergey's manual of systematic bacteriology, 8th Ed., Williams & Wilkins Co., Baltimore(1986).
3. Balows, A., Trüper, H. G., Dworkin, M., Harder, W. and Schleifer, K. H.: Thegenus *Listeria*. The Prokaryotes 2nd Ed., Vol. II, Spring-Verlag, pp.1595-1616(1992).
4. Bernard, K. A., Bellefeuille, M. and Ewan, E. P.: Cellular fatty acid composition as an adjust to the identification of asporogenous, aerobic gram-positive rods. *J. of Clinical Microbiol.*, **29**, 83-89(1991).
5. Rocourt, J., Wehmeyer, U. and Stackebrant. E.: Transfer of *Listeria denitrificans* to a new genus *Jonesia* gen. nov. as *Jonesia denitrificans* comb. nov., Inter. *J. of System. Bacteriol.*, **37**, 266-270(1987).
6. Shaw, N.: Lipid composition as a guide to the classification of bacteria, *Adv. Appl. Microbiol.*, **17**, 63-108(1974).
7. Drucker, D. B.: Gas-Liquid Chromatographic Chemotaxonomy, *Methods in Microbiology*, **9**, 52-61(1977).
8. Schönberg, A.: Method to determine virulence of *Listeria* strains. *Inter. J. Food Microbiol.*, **8**, 281-284(1989).
9. Johnson, J. L., Doyle, M. P. and Cassens, R. G.: *Listeria monocytogenes* and other Listeria spp. in meat and meat products. A review. *J. Food Protection*, **53**, 81-91(1990).
10. Farber, J. M. and Peterkin, P. I.: *Listeria monocytogenes*, a food-borne pathogen. *Microbiological Review*, **55**, 476-511(1991).
11. Cho, S. H., Kim, K. O., Chung, J. H. and Ryu, C. H.: Outbreaks and control of Listeriosis attributed to agricultural, marine and animal husbandry products, *J. of Food Hyg. Safety*, **9**, 191-198 (1994).
12. Gu, D. W., Chung, C. I., Jeong, D. K. and Nam, E. S.: Contamination of *Listeria* spp. market beef. *J. of Food Hyg. Safety*, **10**, 89-95 (1995).
13. Pusch, D. J.: A review of current methods used in the United States for isolating *Listeria* from food. Inter. *J. Food Microbiol.*, **8**, 197-204(1989).
14. Van Netten, P., Perales, I. Van de Moosdijk, A., Curtis, G. D. W. and Mossel, D. A. A.: Liquid and selective differential media for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes* and other spp. Inter. *J. Food Microbiol.*, **8**, 299-316(1989).
15. Bille, J. and Doyle, M. P.: *Listeria* and *Erysipelothrix*. Manual of Clinical Microbiology, 5th Ed., American Society for Microbiology, pp. 287-295(1991).
16. Peeler, J. T. and Maturin, L. J.: FDA Bacteriological Analytical Manual, 7th ed., A.O.A.C. international, pp.17-21(1992).
17. Abel, K., De Schmertzing, H. and Peterson, J. I.: Clssification of microorganisms by analysis of chemical composition. I. Feasibility of utilizing gas chromatography, *J. Bacteriol.*, **85**, 1039-1044(1963).
18. Smola, J.: Possibilities of differentiation of listerial hemolysins by synergisted hemolytic reactions(CAMP reactions). Inter. *J. Food Microbiol.*, **8**, 265-267(1989).
19. 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 Protection*, **51**, 655-657(1988).
20. Buchanan, R. L., Stahl, H. G., Bencivengo, M. M. and Corral, F. D.: Comparison of Lithium chloride phenylethanol moxalactam and modifide Vogel Johnson agars for detection of *Listeria* spp. in retail level meats, poultry, and seafood. *Appl. Environ. Microbiol.*, **55**, 599-603(1989).
21. Farber, J. M.: *Listeria monocytogenes* in fish products. *J. Food Protection*, **54**, 922-924, (1991).
22. Hartemink, R. and Georgsson, F.: Incidence of *Listeria* species in seafood and seafood salads, Inter. *J. of Food*

Microbiol., **12**, 189-196(1991).

23. Ryu, C. H., Igimi, S., Inoue, S. and Kumagai, S.: The incidence of *Listeria* species in retail foods in Japan. Inter. *J. Food Microbiol.*, **16**, 157-160(1992).
24. Farber, J. M., Sanders, G. W. and Johnston, M. A.: A survey of various foods for the presence of *Listeria* species. *J. Food Protection*, **52**, 456-458(1989).
25. Simon M., Tarrago, C. and Ferrer, M. D.: Incidence of *Listeria monocytogenes* in fresh foods in Barcelona (Spain). Inter. *J. Food Microbiol.*, **16**, 153-156(1992).
26. Carroll, K. K., Cutts, J. H. and Murray, E. G. D.: The lipids of *Listeria monocytogenes, Can. J. Biochem.*, **46**, 899-904(1968).
27. Raines, L. J., Moss, C. W., Farshtchi, D. and Pittman, B.: Fatty acids of *Listeria monocytogenes, J. Bacteriol.*, **96**, 2175-2177(1968).
28. Tadayon, R. A., and Carroll, K. K.: Effect of Growth Conditions on the Fatty acid Composition of *Listeria monocytogenes* and Comparison with the Fatty acids of *Erysipelothrix* and *Corynebacterium. Lipids*, **6**, 820-825(1971).
29. Ruhland, G. J. and Fiedler, F.: Occurrence and Biochemistry of Lipoteichoic acids in the Genus *Listeria*, System. *Appl. Microbiol.*, **9**, 40-46(1987).
30. Sara, B. F. and Jones, D.: Taxonomic Studies on Brochothrix, *Listeria* and atypical *Lactobacilli, J. General Microbiol.*, **134**, 1165-1183(1988).
31. Julak, J., Ryska, M., Koruna, I. and Mencikova, E.: Cellular Fatty acids and Fatty aldehydes of *Listeria* and *Erysipelothrix. Zbl. Bakt.*, **272**, 171-180(1989).