

生鮮膾에 汚染된 腸炎비브리오菌에 미치는 貯藏溫度의 影響

金 榮 萬 · 李 明 淑 · 張 東 錫*

東義工業専門大學, *釜山水產大學 微生物學科
(1986년 2월 5일 수리)

The Storage Temperature Effect on *Vibrio parahaemolyticus* in Fish Homogenates

Young-Man KIM, Myoung-Suk LEE

Dong Eui Technical Junior College
and

Dong-Suck CHANG

Department of Microbiology, National Fisheries University of Pusan. Pusan 603, Korea
(Received February 5, 1986)

The change of cell counts of *Vibrio parahaemolyticus* in fish muscle by the storage time and temperature was examined to get basic informations for precautionary steps against food poisoning of slices of raw fish (sashimi). Therefore, we inoculated fish homogenate of oceanic bonito (*Katsuwonus pelamis*), yellow tail (*Seriola quinqueradiata*) with Kanagawa positive *Vibrio parahaemolyticus* and stored it at 30°C, 18°C, 4°C and -20°C for 24 hours.

The number of the *Vibrio parahaemolyticus* upon fish homogenate stored at 30°C and 18°C decreased for the first two hours and increased thereafter. When the fish homogenates inoculated with *Vibrio parahaemolyticus* at about 10³ per gram were stored at 18°C and 30°C for 10 hours, the cell numbers increased about 10 times and 1,000 times initial cell numbers, respectively.

The survival rate of *Vibrio parahaemolyticus* was about 20%, when the inoculated fish homogenates were stored at -20°C for 24 hours. *Vibrio parahaemolyticus* inoculated in fish homogenates was decreased by about 10% of initial cell numbers by the storage at 4°C for 4 hours and it was decreased by about 50% after 24 hours storage of the samples at the same temperature.

The decreasing rate of inoculated *Vibrio parahaemolyticus* in fresh fish muscle homogenate was higher than that in frozen fish muscle homogenate during the storage time at a refrigerator.

緒論

腸炎 비브리오菌은 생선회를 즐겨 먹는 韓國, 日本을 비롯한 東南亞各國에서 여름철에 빈번히 發生하는 細菌性 食中毒의 重要한 原因菌의 하나라는 것은 잘 알려져 있다(孫 등, 1971; 薛 등, 1972; 日本厚生省, 1976)

우리나라에서는 Chun 등(1967)이 浦項地方의 海水 및 魚類에서 이 菌을 처음 分離한 후 朱(1975), 金과 張(1977), 張과 金(1977) 등에 의하여 우리나라 沿岸에 넓게 分布되어 있음이 밝혀졌고, 특히 어패

류가 집결되는 魚市場에 많이 分布되어 있다고 알려져 있다(張과 金, 1977). 新鮮한 海產物에서도 이 菌이 넓게 分布되어 있으며, 여름철에는 檢出率 및 檢出菌數가 높다(金과 張, 1977; 張과 金, 1977). 이와같이 많은 사람이 즐겨 먹는 生선회에 腸炎비브리오菌이 많이 分布되어 있다고 한다면 취급방법에 따라서 菌數의 변화가 있을 것으로 예상되는 바 이에 맞는 적절한 위생대책이 마련되어야 할 것으로 생각된다.

일반적으로 생선회에 사용되는 鮮魚를 가정용 冷장고의 동결실 및 냉장실에 보관하였을 때 鮮魚에

生鮮魚에 汚染된 腸炎비브리오菌에 미치는 貯藏溫度의 影響

污染된 腸炎비브리오菌數의 變化와 여름철과 가을 철에 냉장고 밖에 방치된 생선회에 汚染된 腸炎비브리오菌의 증가상태를 조사하여 생선회 식중독 예방책의 기초자료를 얻고자 가다랭이와 방어의 鱈碎肉에 腸炎비브리오菌을 접종하여 30°C, 18°C, 4°C, -20°C에서 저장하면서 시간 별로 군수의 變化를 시험한結果를 報告하는 바이다.

試料 및 方法

1. 使用 菌株

釜山水產大學 微生物實驗室에 保管中인 용혈성이 있는 *Vibrio parahaemolyticus*를 nutrient agar에 수회 계대배양하여 使用하였다.

2. 試料肉 調製

원양어선에서 어획 즉시 동결된 가다랭이와 자갈치 시장에서 살아 있는 상태로 구입된 방어육을 무균적으로 채취하여 옥 1과 3% 식염수 4의 비율로 均質화한 것을 試料肉으로 사용하였다.

3. 實驗 方法

貯藏溫度에 따른 腸炎비브리오菌數의 變化를 알아보기 위하여 -20°C, 4°C, 18°C, 30°C로 区分 저장하면서 貯藏時間別菌數變化를 測定하였다.

-20°C 貯藏時의菌數變化를 보기 위하여 試料肉에 최초군수 $1.1 \times 10^6/g$ 로 접종하여 미리 멸균된 aluminum can($\phi 0.5mm$, h. 5cm)에 試料肉 50g씩을 분주하여 -20°C로 조정된 냉장고의 동결실에 저장하면서 每 2시간 간격으로 시료를 취하여 실온에서 20분 동안 해동시켰다. 해동된 시료 10g을 취하여

3% 식염수로 희석한 후 혼합평판법으로 실험하였다. 군수측정에 사용된 배지는 TCBS(thiosulfate citrate bile salts sucrose) agar였다.

4°C, 18°C, 30°C에 저장한 경우도 같은 方法으로 貯藏溫度에 따른菌數의 變化를 관찰하였는데 試料別最初菌數는 4°C 貯藏試料의 경우는 $1.1 \times 10^6/g$ 18°C와 30°C 貯藏試料의 경우는 $6.5 \times 10^3/g$ 으로 調整하여 實驗하였다.

結果 및 考察

1. -20°C에 貯藏했을 때의 菌數變化

여섯개의 試料肉에 각각 最初菌數가 9.4×10^4 ~ $1.3 \times 10^5/g$ 되게 腸炎비브리오菌을 接種하여 每 2時間마다 測定한 生殘菌數는 Table 1과 같다.

凍結된 상태의 가다랭이肉에 平均 $1.1 \times 10^5/g$ 되게 接種했을 때 貯藏 4時間後에 50% 以上의菌數減少가 있었으며 그 後에는 徐徐히 減少하여 貯藏 10時間後에는 70%, 24時間後에는 78%가 減少되었다. 그리고 Vandelzand 와 Nickelson(1972)는 -18°C에 새우마صة육을 12시간 貯藏하였을 때 腸炎비브리오菌은 最初菌의 約 90% 程度가 減少하였고 貯藏 8일後에도 이菌이 檢出되었다고 報告한 바 있는데 이는 本 實驗結果와 비슷한 傾向이었다. 같은 方法으로 방어肉 試料의 경우에서는 最初菌數 $1.1 \times 10^6/g$ 이면 것이 貯藏 2時間째에 14%, 4時間後에는 50%로 減少한 後에는 가다랭이肉에서와 같이 徐徐히 減少하여 貯藏 24時間後에는 生殘率은 14%에 不過하였다.

한편 가다랭이肉 試料와 방어肉試料에서의菌數 減少傾向을 보면 貯藏 4時間까지는 비슷하였으나 貯

Table 1. Change of viable cell count of *Vibrio parahaemolyticus* inoculated in homogenated fish meat during the storage period at -20°C

Storage time (hr)	No. of samples	Oceanic bonito			Yellowtail		
		Range/g	Ave. /g	Decrease ratio	Range/g	Ave. /g	Decrease ratio
0	6	9.2×10^4 ~ 1.3×10^5	1.1×10^5	0	9.2×10^4 ~ 1.3×10^5	1.1×10^5	0
2	6	8.9×10^4 ~ 1.2×10^5	1.0×10^5	0.09	8.8×10^4 ~ 1.0×10^5	9.4×10^4	0.14
4	6	3.8×10^4 ~ 6.3×10^4	5.4×10^4	0.51	4.0×10^4 ~ 6.5×10^4	0.0×10^4	0.50
6	6	3.3×10^4 ~ 6.0×10^4	4.1×10^4	0.63	3.1×10^4 ~ 5.8×10^4	3.7×10^4	0.66
8	6	3.0×10^4 ~ 5.6×10^4	3.6×10^4	0.67	2.7×10^4 ~ 4.2×10^4	2.9×10^4	0.74
10	6	2.9×10^4 ~ 3.9×10^4	3.3×10^4	0.70	2.1×10^4 ~ 3.0×10^4	2.3×10^4	0.79
12	6	2.5×10^4 ~ 3.3×10^4	3.1×10^4	0.72	1.8×10^4 ~ 2.7×10^4	2.0×10^4	0.82
16	6	2.3×10^4 ~ 3.0×10^4	2.7×10^4	0.75	1.6×10^4 ~ 2.5×10^4	1.9×10^4	0.83
20	6	2.0×10^4 ~ 2.9×10^4	2.5×10^4	0.77	1.5×10^4 ~ 2.1×10^4	1.7×10^4	0.85
24	6	1.9×10^4 ~ 2.7×10^4	2.4×10^4	0.78	1.3×10^4 ~ 1.9×10^4	1.6×10^4	0.86

藏 10 時間 이 후부터는 방어肉 試料의 경우가 가다
랭이肉 試料에서보다 菌減少率이 10%정도 높았다.

2. 4°C에 貯藏했을 때의 菌數變化

일반 家庭用 冷藏庫의 冷藏室 溫度와 비슷한 4°C에 貯藏하면서 測定한 菌數變化는 Table 2와 같다. 가다랭이肉 試料의 경우 貯藏 2時間 까지의 菌數의變化가 거의 없었으며 그 이후부터 徐徐히 菌數減少 현상이 나타났는데 貯藏 8時間後에 約 20% 減少하였고 24時間後에도 約 60%程度의 菌이 生殘해 있었는데 -20°C의 경우 生殘率 22%에 비하면 훨씬 낮은 減少率을 나타내었다.

방어肉試料의 경우도 처음 2시간까지는 菌數變化가 없었으나 貯藏 4時間後에는 가다랭이肉에서와 비슷한 11%의 減菌率을 나타내었고 10時間後에는 43%였다. 또 貯藏 24時間後에도 菌減少率은 55%로 가다랭이肉에서 보다 細菌 減少率은 다소 높았으나 4°C에 貯藏했을 경우에는 24時間이 경과하여도 汚染된 菌數의 約半이 生殘하여 있음을 알 수 있었다. 冷藏은 물론이거니와 凍結에 대해서도 腸炎비브리오菌의 抵抗性이 상당히 크다는 事實은 生鮮膾를 즐겨 먹는 우리의 食生活習慣에서는 注意를 환기시킬 수 있는 일이다. 그리고 凍結解凍한 가다랭이肉에서 보다 凍結하지 않은 신선한 방어肉에 接種된 腸炎비브리오菌의 減少率이 平均 10~15% 程度 높았는데 그 理由는 두 魚種筋肉成分의 差異에 依한 것인지, 凍結에 依한 組織內 抗菌因子의 損傷에 依한 것인지 또는 복합적인 것인가는 알 수 없었다. Jackson(1973)은 腸炎비브리오菌株들을 trypticase soy broth를 使用하여 7°C에서 培養하였을 때 24時間後에 菌數의 增加가 없거나 약간 減少하는 傾向을 나타내었다고 報

告한바 있으며, Johnson과 Liston(1973)은 글, 어류, 계를 1°C에 48時間 貯藏했을 경우 腸炎비브리오菌의 減少率은 각각 85%, 89%, 65%였다고 하였으며, Vandelzant과 Nickelson(1972)은 새우肉을 3°C에 48時間 貯藏하였을 때 腸炎비브리오菌이 90% 減少하였다고 報告한 바 있다. 이상의 結果들을 감안할 때 生鮮膾에 汚染된 最初菌數가 적을 때는 5°C以下의 冷藏庫에 貯藏하는 것이 効果의이지만 最初菌數가 많을 때는 冷藏保管이 食中毒 防止에 큰 도움이 되지 않음을 알 수 있었다.

3. 18°C에 貯藏했을 때의 菌數變化

가다랭이와 방어의 마쇄육에 腸炎비브리오菌을 $6.5 \times 10^3/g$ 되게 接種하여 봄이나 가을철의 氣溫과 비슷한 18°C에 貯藏해 두고 菌數變化를 測定한 結果는 Table 3과 같다.

가다랭이肉 試料의 경우 貯藏 2時間째에는 最初菌數의 約 1/10로 減少하였고 그 以後부터 增加하기 始作하여 貯藏 8時間後에 最初菌數와 비슷한 수준으로 增加하여 24時間後에는 最初菌數의 100倍程度로 增加하였다. 방어肉試料의 경우도 가다랭이肉에서와 마찬가지로 貯藏初期에 急激한 菌의 減少를 나타내었다가 貯藏 4시간경부터 增加하기 始作하여 貯藏 9시간경에 最初菌數와 비슷하였으며 貯藏 20時間 以後에는 約 100倍程度 增加하는 傾向을 나타내었는데 貯藏初期의 急激한 菌數減少原因을 規明을 위한 研究가 要望되는 바이다. 그리고 두 魚種사이에는 큰 差異는 찾을 수 없었다.

Table 2. Change of viable cell counts of *Vibrio parahaemolyticus* inoculated in homogenated fish meat during the storage period at 4°C

Storage time (hr)	No. of samples	Oceanic bonito			Yellowtail		
		Range/g	Ave./g	Decrease ratio	Range/g	Ave./g	Decrease ratio
0	6	$9.2 \times 10^4 \sim 1.3 \times 10^5$	1.1×10^5	0	$9.2 \times 10^4 \sim 1.3 \times 10^5$	1.1×10^5	0
2	6	$9.2 \times 10^4 \sim 1.4 \times 10^5$	1.1×10^5	0	$9.3 \times 10^4 \sim 1.4 \times 10^5$	1.1×10^5	0
4	6	$9.0 \times 10^4 \sim 1.3 \times 10^5$	1.0×10^5	0.09	$9.1 \times 10^4 \sim 1.0 \times 10^5$	9.8×10^4	0.11
6	6	$9.3 \times 10^4 \sim 1.0 \times 10^5$	9.8×10^4	0.11	$7.6 \times 10^4 \sim 8.7 \times 10^4$	8.1×10^4	0.26
8	6	$8.4 \times 10^4 \sim 9.5 \times 10^4$	9.0×10^4	0.18	$6.8 \times 10^4 \sim 7.4 \times 10^4$	7.0×10^4	0.36
10	6	$8.1 \times 10^4 \sim 9.1 \times 10^4$	8.4×10^4	0.24	$6.0 \times 10^4 \sim 7.1 \times 10^4$	6.3×10^4	0.43
12	6	$7.3 \times 10^4 \sim 8.4 \times 10^4$	7.9×10^4	0.28	$5.3 \times 10^4 \sim 6.4 \times 10^4$	5.8×10^4	0.47
16	6	$6.8 \times 10^4 \sim 7.7 \times 10^4$	7.2×10^4	0.35	$5.0 \times 10^4 \sim 5.9 \times 10^4$	5.4×10^4	0.51
20	6	$6.1 \times 10^4 \sim 7.2 \times 10^4$	6.8×10^4	0.38	$4.8 \times 10^4 \sim 5.7 \times 10^4$	5.2×10^4	0.53
24	6	$5.9 \times 10^4 \sim 7.0 \times 10^4$	6.5×10^4	0.41	$4.3 \times 10^4 \sim 5.5 \times 10^4$	5.0×10^4	0.55

生鮮脂에 染污된 腸炎비브리오菌에 미치는 貯藏溫度의 影響

Table 3. Change of viable cell counts of *Vibrio parahaemolyticus* inoculated in homogenized fish meat during the storage period at 18°C

Storage time (hr)	No. of samples	Oceanic bonito		Yellowtail	
		Range/g	Ave./g	Range/g	Ave./g
0	6	$6.1 \times 10^3 \sim 7.2 \times 10^3$	6.5×10^3	$6.1 \times 10^3 \sim 7.2 \times 10^3$	6.5×10^3
2	6	$5.7 \times 10^2 \sim 6.9 \times 10^2$	6.2×10^2	$2.2 \times 10^2 \sim 4.3 \times 10^2$	3.6×10^2
4	6	$9.3 \times 10^2 \sim 1.5 \times 10^3$	1.0×10^3	$3.6 \times 10^2 \sim 7.1 \times 10^2$	4.9×10^2
6	6	$1.9 \times 10^3 \sim 3.0 \times 10^3$	2.4×10^3	$7.4 \times 10^2 \sim 1.9 \times 10^3$	9.4×10^2
8	6	$5.9 \times 10^3 \sim 8.6 \times 10^3$	7.7×10^3	$1.1 \times 10^3 \sim 4.0 \times 10^3$	2.8×10^3
10	6	$1.5 \times 10^4 \sim 3.1 \times 10^4$	2.3×10^4	$8.9 \times 10^3 \sim 2.3 \times 10^4$	1.1×10^4
12	6	$4.1 \times 10^4 \sim 5.8 \times 10^4$	5.2×10^4	$2.3 \times 10^4 \sim 5.1 \times 10^4$	3.9×10^4
16	6	$9.9 \times 10^4 \sim 2.1 \times 10^5$	1.8×10^5	$1.2 \times 10^5 \sim 3.6 \times 10^5$	2.3×10^5
20	6	$2.1 \times 10^5 \sim 4.2 \times 10^5$	3.6×10^5	$3.4 \times 10^5 \sim 7.0 \times 10^5$	5.5×10^5
24	6	$3.9 \times 10^5 \sim 5.8 \times 10^5$	4.3×10^5	$5.8 \times 10^5 \sim 8.2 \times 10^5$	7.1×10^5

4. 30°C에 貯藏했을 때의 菌數變化

가다랭이肉 試料의 경우 18°C에 貯藏했을 때와 마찬가지로 貯藏初期에는 急激한 菌數減少 현상이 나타났으며 그 이후부터 增加하기 始始하여 貯藏 10 時間後에는 最初菌數의 約 1,000 倍로 增加하였으며 貯藏 16 時間頃에 約 10,000 倍로 增加하였다. 방어肉 試料의 경우도 비슷한 傾向을 나타내었는데 여름철 生鮮脂은 外氣에 8 時間이상 保管하였을 때에는 食中毒 우려가 있음을 알 수 있었다.

그리고 貯藏溫度別 腸炎비브리오의 菌數變化를 圖示하면 Fig. 1, 2 와 같다.

가다랭이肉이나 방어肉에서 다같이 18°C나 30°C에 保管하였을 때에 처음 2 時間까지는 莖한 減少를 나타내었다가 다시 增殖이 빨라져서 約 20 時間後에 最高增殖에 達하였다. 18°C 때보다 30°C 保管이 最大增殖值도 월등히 높았다. 4°C 貯藏이나 冷凍貯藏에 대해서는 腸炎비브리오菌의 저항력이 상당히 크다는 사실을 감안하여 生鮮脂의 初期污染度를 출

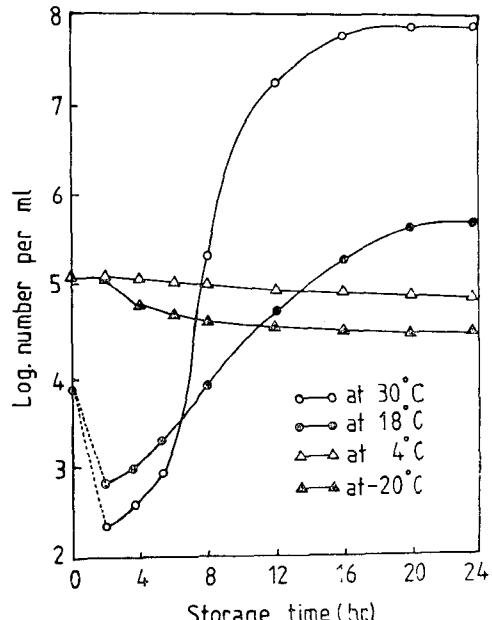


Fig. 1. Variation of *Vibrio parahaemolyticus* inoculated in Oceanic bonito muscle homogenate by the storage temperature.

Table 4. Change of viable cell counts of *Vibrio parahaemolyticus* inoculated in homogenized fish meat during the storage period at 30°C

Storage time (hr)	No. of Samples	Oceanic bonito		Yellowtail	
		Range/g	Ave./g	Range/g	Ave./g
0	6	$6.1 \times 10^3 \sim 702 \times 10^3$	6.5×10^3	$6.1 \times 10^3 \sim 7.2 \times 10^3$	6.5×10^3
2	6	$2.0 \times 10^2 \sim 4.1 \times 10^2$	2.6×10^2	$9.8 \times 10^1 \sim 3.0 \times 10^2$	1.7×10^2
4	6	$2.7 \times 10^2 \sim 6.1 \times 10^2$	4.1×10^2	$1.2 \times 10^2 \sim 3.7 \times 10^2$	2.5×10^2
6	6	$8.4 \times 10^2 \sim 2.5 \times 10^3$	1.6×10^3	$3.4 \times 10^2 \sim 6.9 \times 10^2$	5.3×10^2
8	6	$9.8 \times 10^4 \sim 4.0 \times 10^5$	1.8×10^5	$3.9 \times 10^4 \sim 8.1 \times 10^4$	4.6×10^4
10	6	$2.6 \times 10^6 \sim 7.2 \times 10^6$	5.0×10^6	$4.1 \times 10^5 \sim 9.0 \times 10^5$	6.8×10^5
12	6	$8.2 \times 10^6 \sim 2.9 \times 10^7$	1.5×10^7	$3.8 \times 10^6 \sim 8.8 \times 10^6$	4.4×10^6
16	6	$2.7 \times 10^7 \sim 8.1 \times 10^7$	5.0×10^7	$1.1 \times 10^7 \sim 5.0 \times 10^7$	3.5×10^7
20	6	$3.0 \times 10^7 \sim 8.2 \times 10^7$	5.2×10^7	$2.9 \times 10^7 \sim 9.1 \times 10^7$	6.9×10^7
24	6	$2.9 \times 10^7 \sim 7.9 \times 10^7$	5.0×10^7	$6.0 \times 10^7 \sim 191 \times 10^7$	8.0×10^7

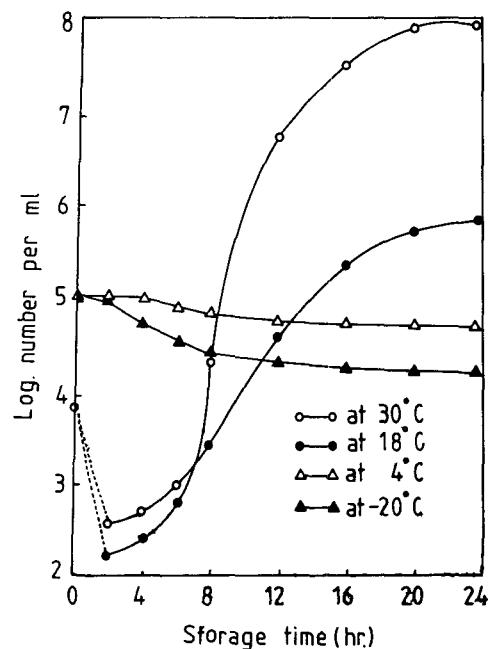


Fig. 2. Variation of *Vibrio parahaemolyticus* inoculated in yellowtail muscle homogenate by the storage temperature.

이는 것이 제일重要함을 알 수 있었다.

要 約

生鮮膾에 使用되는 鮮魚肉中에 汚染된 腸炎비브리오菌이 貯藏溫度와 時間에 따른 菌의 增減程度를 把握하여 食中毒豫防對策에 必要한 基礎資料를 얻고자 가다랭이와 방어의 마쇄육에 Kanagawa 현상陽性인 肠炎비브리오菌을 接種하여 30°C, 18°C, 4°C 및 -20°C에서 24時間 貯藏하면서 每 2時間마다 菌數의 變化를 實驗한 結果는 다음과 같다.

1. 가다랭이나 방어의 마쇄육에 肠炎비브리오菌을 接種하여 常溫에 放置하여 두었을 때 처음 2時間까지는 菌數減少 傾向을 나타내었으며 그 以後부터 急激한 菌의 增殖現象이 나타났다.

2. 生鮮 마쇄육에 肠炎비브리오菌을 $10^3/g$ 程度 汚染시켜 18°C에 10時間程度 保管하여 두었을 때 $10^4/g$ 程度로 增加하는데 反하여 30°C에 같은 時間 保管하였을 경우에는 $10^6/g$ 으로 增加하였다.

3. 肠炎비브리오菌을 生鮮마쇄육에 汚染시켜 -20°C에서 24시간 貯藏했을 때에 約 20%의 生殘率를 나타내었다.

4. 生鮮膾를 4°C 冷藏庫에 保管했을 때 4時間後에는 約 10% 減少하였고, 24時間後에는 約 50% 減少하였다.

5. 用鮮膾를 4°C에 冷藏保管할 때 新鮮한 방어肉에 汚染된 肠炎비브리오菌이 凍結解凍한 가다랭이肉에 汚染된 경우 보다 菌 減少率이 10~15%程度 높았다.

文 獻

- 張東錫·金成俊. 1977. 肠炎 *Vibrio* 菌의 分布 및 生理的 特性에 關한 研究. 國립수산진흥원 연구 보고 19, 7-52.
- Chun, D. K., J. K. Lee, D. H. Shin and S. K. Moon. 1967. Isolation of *Vibrio parahaemolyticus* in Korea. J. Korean Mod. Med., 6, 105-109.
- Jackson, H. 1974. Temperature relationship of *V. parahaemolyticus*. International Symposium on *V. parahaemolyticus*. Saikou Publishing Co., LTD. Tokyo, pp. 139-144.
- Johnson, H. C. and J. Liston. 1973. Sensitivity of *Vibrio parahaemolyticus* to cold in oysters, fish fillets and crabmeat. J. Food Sci. 38, 437~441.
- 金榮萬·張東錫. 1977. 釜山沿岸의 *Vibrio parahaemolyticus* 分布에 關한 研究. 釜山水大研報 17 (1, 2), 45-54.
- Liston. 1974. International symposium on *Vibrio Parahaemolyticus*. Saikou publishing Co., LTD Tokyo pp. 123-128.
- 日本厚生省. 1976. 昭和50年 食中毒 發生狀況. 食品衛生研究 26(10), 12-25.
- 孫準鏞·柳在根·金永翰·金培源·閔昌泓. 1971. 食中毒患者에서 分離한 肠炎비브리오菌에 關한 研究, 國립보건원 보 8, 95-70.
- 薛盛用·朴潤玉·卓鍊斌·鄭在奎. 1972. *Vibrio parahaemolyticus*에 依한 集團食中毒例. 대한미생물학회지, 7(1), 72-75.
- Vanderzant, C. and R. Nickelson. 1972. Procedure for isolation and enumeration of *Vibrio parahaemolyticus*. Appl. Microbiol., 23(1), 26-33.