

魚貝肉에서의 *Vibrio vulnificus*의 增殖에 關한 研究

金 榮 萬 · 許 盛 皓* · 張 東 錫**

東義大學校 食品科學研究所

The Growth of *Vibrio vulnificus* in Meat Homogenates of Fish and Shellfish

Young-Man KIM, Sung-Ho HUR*, and Dong-Suck CHANG**

Institute of Food Science, Donggeui University, Pusan 614-010, Korea

The change of cell counts of *Vibrio vulnificus* in meat homogenates of fish and shellfish by the storage time and temperature was examined to get basic information for precautionary steps against septicemia from slices of raw fish (sashimi). Therefore, we inoculated raw and cooked meat homogenates of fish and shellfish with *Vibrio vulnificus* M-8 (isolated from shellfish) and stored them at -20°C , 4°C and 30°C for 72 hours.

Vibrio vulnificus M-8 was not detected in 32 hours when it was frozen and stored at -20°C after inoculating them into phosphate buffer solution at concentration of 10^5 cell/ml, while the existence of *Vibrio vulnificus* was identified after 72 hours of storage at the same temperature in case of inoculation into the meat homogenate of yellow tail. The cell count of *Vibrio vulnificus* was decreased as about 20% of initial count after 2 hours storage at 4°C in phosphate buffer solution with fish and shellfish homogenates. From the experimental results it was recognized that *Vibrio vulnificus* was labile to the cold stress.

In comparison to the growth of *Vibrio vulnificus* M-8 at 30°C in the raw and cooked meat of the yellow tail (*Seriola lalandi*), snapper (*Chrysophrys major*), ark shell (*Anadra brouhgtonii*), and oyster (*Crassostrea gigas*), the raw meat homogenates were more excellent than the cooked ones though all fish and shellfish meat homogenates were proved to be good for the growth of the microbe.

緒 論

해양에 분포하는 敗血症發病菌인 *Vibrio vulnifi-*

*cus*가 정식 명명된 (Farmer, 1979, 1980; Baumann et al., 1980) 이후로 이 菌의 분포 및 세균학적인 특성에 관한 많은 연구가 진행되어 왔다. (Kelly, 1980, 1982; Oliver, 1982, 1983; Schandevyl et al.,

* 東義工業專門大學 食品工業科

(Department of Food Technology, Donggeui Technical Junior College, Pusan, 614-050, Korea)

** 釜山水產大學 微生物學科

(Department of Microbiology, National Fisheries University of Pusan, 608-737, Korea)

1984 ; 金 등, 1987 ; 宋 등 ; 1985).

우리나라 사람들은 해산물을 생선회로 즐기고 있으나 해산물에 오염된 *Vibrio* 敗血病菌이 해산물의 저장조건에 따른 균수변화에 대한 연구가 없는 실정이다.

本研究에서는 일반적으로 생선회에 사용되는 신선한 해산물을 가정용 냉장고의 동결실 및 냉장실에 보관하였을 때, 그리고 여름철 실내에 방치하였을 때 오염된 *V. vulnificus*의 低温抵抗성과 증식상태를 조사하여 *Vibrio* 敗血病 예방대책의 기초자료를 얻고자 생선회로 사용되는 대표적인 魚貝類 4種을 택하여 이들 魚貝類의 生肉과 加熱處理肉을 均質化한 基質에 *V. vulnificus*를 접종하여 -20℃, 4℃ 및 30℃에서 저장하면서 시간 경과 별로 균수의 변화를 시험한 결과를 보고하는 바이다.

試料 및 方法

1. 使用菌株

海水 및 해산물에서 분리, 동정된 *V. vulnificus* 중 용혈성과 치사독성이 확실한 菌을 선정하여 *V. vulnificus* M-8이라 하고 이 균주를 실험에 사용하였다.

2. 實驗方法

1) 低温抵抗性

냉장 및 동결에 대한 저항성을 보기 위한 시험은 1.5%의 식염을 가한 인산완충희석수와 방어肉 均質液(肉1:2% 식염수 4)에 *V. vulnificus* M-8을 10⁵/ml 정도 접종하여 4℃와 -20℃에서 각각 보관하면서 72시간 동안 균수변화를 조사하였다. 균수측정은 TCBS 한천평판배지상에 멸균된 유리봉으로 도달하여 35±2℃에서 18시간 배양후 集落數를 헤아렸다.

2) 魚貝肉에서 *V. vulnificus* M-8의 成長

基質로 사용한 魚貝類는 생선회로 사용되는 것 중 대표적인 방어 (yellow tail, *Seriola quinqueradita*), 참돔(snapper, *Chrysophrys major*), 피조개(ark shell, *Anadara broughtonii*), 굴(oyster, *Crassostrea gigas*) 4種을 택하여 生肉과 加熱處理肉 50g씩을 2% 식염을 가한 인산완충희석수 200ml로 均質化시켜 基質로 사용하였다.

시험에 사용한 魚貝類는 모두 活魚로서, 방어와 참돔의 肉質은 無菌的으로 채취하였으며 피조개는 脫殼하여 내장을 제거하고 肉質만 취하여 30ppm 차아염소산소오다로 소독처리한 후 멸균식염수로 3회 씻는 것을, 굴은 천연산을 채취하여 無菌的으로 脫殼하여 몸통 전체를 사용하였다. 加熱處理肉은

121℃에서 12분간 가열한 것을 사용하였다. 이렇게 조제한 基質液에 *V. vulnificus* M-8의 최초균수가 약 10³/ml 되도록 접종하여 30℃의 항온기에 보관하면서 2~4시간 간격으로 24시간 동안 균수변화를 측정하였다.

結果 및 考察

1. *V. vulnificus*의 低温抵抗性

방어肉 均質液과 1.5% 식염-인산완충희석수에 *V. vulnificus* M-8을 각각 1.9×10⁵/ml와 4.0×10⁵/ml 되게 접종하여 -20℃ 동결고에 보관하면서 경과시간에 따른 균수변화를 조사한 결과는 Fig. 1과 같다.

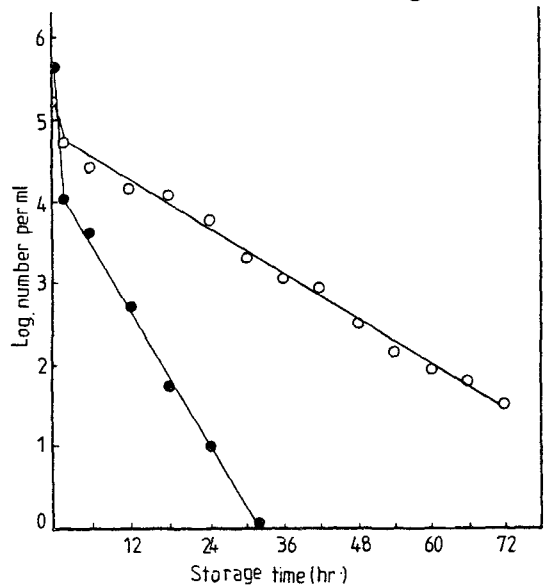


Fig. 1. Changes of viable cell count of *V. vulnificus* M-8 inoculated in phosphate buffer saline(●) and yellow tail meat homogenate(○) during storage at -20℃.

인산완충희석수에서는 동결 2시간 만에 10⁴/ml가 生殘하여 그 生殘率이 2.5%로 현저하게 감소하였으며 24시간 후에는 균수가 10/ml로 대부분의 菌이 사멸하였고 저장 32시간 후에는 菌이 검출되지 않았는데 이와같은 菌의 감소는 他研究에서도 밝혀진 바 있다(金·金, 1985; 張 등, 1986). 그러나 방어肉 均質液에서는 저장 2시간만에 4.6×10⁴/ml로 감소하여 그 生殘率은 26.3%였으며 그 후 계속 감소하여 저장 72시간에서는 30/ml에 불과하였다. 이런 결과로 볼 때 *V. vulnificus* M-8은 -20℃의 인산완충희석수에서는 2일 이내에 사멸함을 알 수 있었고, 같은 온도의 방어肉 均質液에서는 인산완충희석수에서

보다 감소가 완만하였고 72시간 후에도 菌이 生殘하였던 것으로 볼 때 유기물질과 섞여 있을 때는 감소효과가 적은 것을 알 수 있었다. 이상으로 미루어 이 菌이 魚貝類에 오염되었을 경우 단기간의 동결저장으로 완전한 사멸이 어렵다는 것을 알 수 있었다.

한편 1.5% 식염-인산완충회석수와 방어肉 均質液에 각각 *V. vulnificus* M-8을 $4.0 \times 10^5/ml$ 와 $1.9 \times 10^5/ml$ 되게 접종하여 4°C에 저장하면서 균수의 감소를 2~6시간 간격으로 72시간 동안 조사한 결과는 Fig. 2와 같다.

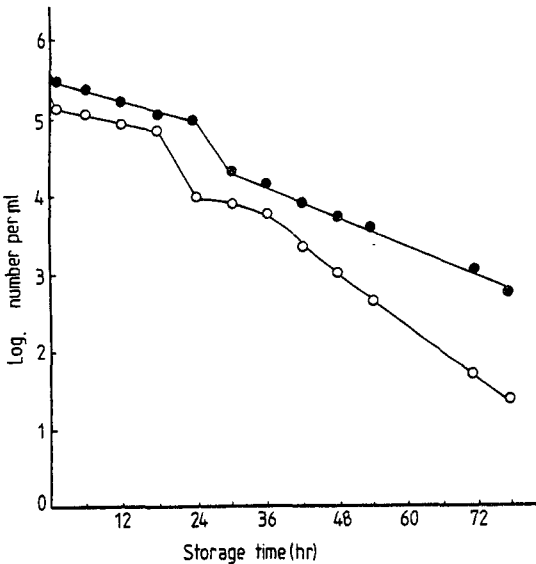


Fig. 2. Changes of viable cell count of *V. vulnificus* M-8 inoculated in phosphate buffer saline(●) and yellow tail meat homogenate(○) during storage at 4°C.

인산완충회석수에서는 저장 2시간에 최초균수의 25%가 감소하였으며 以後 서서히 감소하여 72시간 후에는 $5.5 \times 10^2/ml$ 로 약 0.14%가 生殘하였다. 방어肉 均質液에서는 저장 2시간에 최초균수의 21%가 감소하였으며 저장 18시간에서 24시간 사이에 약 90%가 감소하여 인산완충회석수에서보다 菌의 감소가 다소 빠른 경향이였다.

本 研究結果와 마찬가지로 굴 均質液에 *V. vulnificus*를 접종하여 냉장(4°C) 시켰을 때 菌의 생존력이 빠르게 감소하였다고 하였던 바(Oliver, 1981) 냉장에 대한 *V. vulnificus*의 생존력은 일반세균보다 매우 약하나 단시간내에 사멸되는 것은 아니었다. 또한 *V. parahaemolyticus*를 魚肉均質液에 접종하여 -20°C에서 24시간 냉동하였을 때 약 20%, 4°C에서

24시간 냉장하였을 때 약 50%가 生殘하였다는 결과로(金 등, 1986) 미루어 *V. vulnificus*는 *V. parahaemolyticus*보다 低温抵抗성이 약한 것을 알 수 있었다.

2. 魚貝肉에서 *V. vulnificus*의 成長

참돔, 방어, 피조개 및 굴의 生肉과 加熱處理肉을 2% 식염-인산완충회석수로 均質化한 基質(肉1: 식염수4)에 *V. vulnificus* M-8을 접종하여 30°C에 저장하면서 2~4시간마다 균수를 측정한 결과는 Fig. 3~6과 같다.

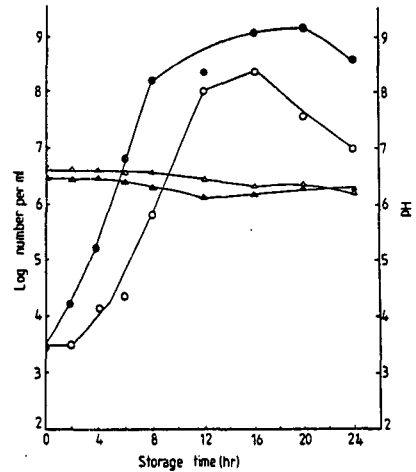


Fig. 3. Changes of viable cell count of *V. vulnificus* M-8 inoculated in snapper meat homogenate during storage at 30°C. ●, cell number in fresh meat; ○, cell number in cooked meat; ▲, pH of fresh meat; △, pH of cooked meat.

참돔의 경우 生肉基質에 최초균수를 $2.7 \times 10^3/ml$ 되게 접종하였을 때 저장 8시간 후에 $1.8 \times 10^8/ml$ 로 증가하였고 저장 16시간 경에 $1.4 \times 10^9/ml$ 로 최대균수에 달하였다. 加熱處理肉에 있어서도 최초 $2.8 \times 10^3/ml$ 의 균수가 저장 16시간경 $2.4 \times 10^8/ml$ 로 최고에 달하였으며 菌의 증가는 生肉과 비슷한 경향이 있으나 生肉에서 다소 높은 균수를 나타내었다. 그리고 pH는 거의 변화가 없었다(Fig. 3).

방어의 生肉에 있어서는 최초균수를 $4.6 \times 10^3/ml$ 되게 접종하였을 때 저장 2시간경에 $1.0 \times 10^3/ml$ 로 다소 감소하였다가 저장 4시간에 $6.0 \times 10^3/ml$ 로 증가하기 시작하여 25시간 경에 $7.2 \times 10^6/ml$ 로 최대균수에 이르렀다. 加熱處理肉에 있어서도 生肉에서와 마찬가지로 접종 2시간까지는 균수가 다소 감소하

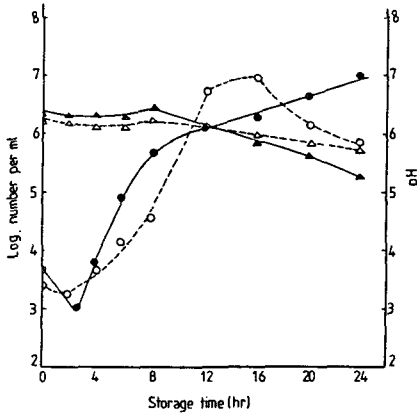


Fig. 4. Changes of viable cell count of *V. vulnificus* M-8 inoculated in yellow tail meat homogenate during storage at 30°C. ●, cell number in fresh meat; ○, cell number in cooked meat; ▲, pH of fresh meat; △, pH of cooked meat.

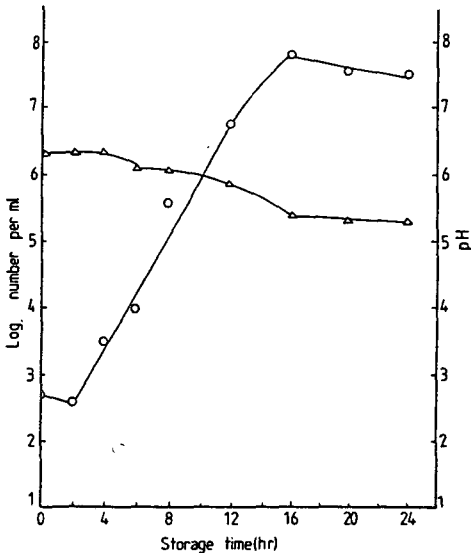


Fig. 5. Changes of viable cell count of *V. vulnificus* M-8 inoculated in cooked oyster meat homogenate during storage at 30°C. ○, cell count; △, pH.

였다가 그 이후 빠르게 증식하여 생육과 달리 저장 16시간에 최대균수에 달하였다(Fig. 4). 以上에서 보는 바와같이 방어의 생육과 加熱處理肉에 있어서는

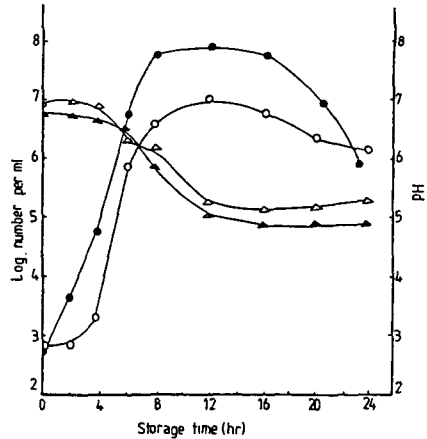


Fig. 6. Changes of viable cell count of *V. vulnificus* M-8 inoculated in ark shell meat homogenate during storage at 30°C. ●, cell number in fresh meat; ○, cell number in cooked meat; ▲, pH of fresh meat; △, pH of cooked meat.

접종 후 2시간까지는 오히려 균수가 감소하였다가 다시 증식이 시작되었고 특히 생육에서는 24시간이 경과하여도 계속 증식하는데 반하여 참돔의 경우는 초기 감소현상이 없었으며 저장 16시간경에 최고에 달하였다가 이후 감소하였으므로 魚種肉에 따라 다른 현상을 발견할 수 있었다. 이는 *V. vulnificus*가 魚肉의 특성에 따라 증식상태가 다를 것을 나타내는 것이라고 하겠다. 방어肉에 접종하였을 때 菌의 초기감소 현상은 *V. parahaemolyticus*에서도 밝혀진 바 있다(金 등, 1986).

한편 貝肉에서의 *V. vulnificus*의 成長을 보면, 굴의 加熱處理肉에서는 최초균수가 $5.0 \times 10^2/ml$ 에서 저장 16시간에 $7.8 \times 10^7/ml$ 로 최대에 달하였다(Fig. 5).

피조개의 생육에 $5.0 \times 10^2/ml$ 되게 접종하였을 때 저장 8시간에 $6.0 \times 10^7/ml$ 로 증가하였고 저장 12시간에 최대균수인 $7.8 \times 10^7/ml$ 에 달하였다. 그리고 균수가 최대로 증가된 저장 12시간에서의 pH는 6.8에서 5.2로 저하되었으며 pH의 저하에 따라 균수도 감소하였다. 加熱處理肉의 菌數變化狀은 생육과 비슷한 경향을 보였으나 균수는 생육에서보다 적었다(Fig. 6). 이상의 결과에서 볼 때 魚肉이나 貝肉 모두 加熱處理肉보다 생육에서 증식이 좋았고, 魚肉과 貝肉 사이에는 큰 차이가 없었다.

要 約

방어, 참돔, 피조개, 굴 4種의 魚貝肉에 *V. vulnificus* M-8을 접종하여 저장온도와 시간에 따른 균수의 변화를 시험한 결과는 다음과 같다.

1. *V. vulnificus*의 저온저항성은 -20℃의 1.5% 식염-인산완충회석수에서는 32시간에 거의 사멸하였으며, 방어肉 均質液에서는 인산완충회석수에서 보다 감소가 완만하였고 72시간 이후에도 균이 검출되었다. 그리고 4℃ 저장에서도 균의 감소가 현저하였다. 따라서 이 균의 저온저항성은 약하지만 단시간 냉동 및 냉장에 의한 균의 사멸은 어렵다는 것을 알 수 있었다.

2. 魚貝肉에 접종하여 30℃에 저장한 시료중의 *V. vulnificus*의 증식은 일반적으로 16시간만에 최대균수에 달하였으나 피조개의 경우는 12시간으로 약간 빨랐으며 특히 방어肉에 있어서는 초기에 감소하는 특징과 더불어 균의 증식속도가 완만하였다. 그리고加熱處理肉보다 生肉에서의 균의 증식이 빠르게 나타났다.

參 考 文 獻

Baumann, P., L. Baumann, S. S. Bang and M. J. Woolklis. 1980. Reevaluation of the taxonomy of *Vibrio*, *Beneckeia* and *Photobacterium* (Abolition of the genus *Beneckeia*). *Curr. Microbiol.* 4, 127~132.

Farmer, J. J. III. 1979. *Vibrio (Beneckeia) vulnificus*, the bacterium associated with sepsis, septicemia and the sea. *Lancet* 2., p. 903.

Farmer, J. J. III. 1980. Revival of Name *Vibrio vulnificus*. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 30(4), 656.

Kelly, M. T. and D. M. Avery. 1980. Lactose-positive *Vibrio* in Sea water (A cause of pneumonia and septicemia in a drowning victim). *J. Clin. Microbiol.* 11, 278~280.

Kelly, M. T. 1982. Effect of temperature and salinity on *Vibrio (Beneckeia) vulnificus* occurrence in a Gulf coast environment. *Appl. Environ. Microbiol.* 44, 820~824.

Oliver, J. D. 1981. Lethal cold stress of *Vibrio vulnificus* in oysters. *Appl. Environ. Microbiol.* 41, 710~717.

Oliver, J. D., R. A. Warner and D. R. Cleland. 1982. Distribution and ecology of *Vibrio vulnificus* and other lactose-fermenting marine *Vibrio* in coastal waters of the southeastern United States. *Appl. Environ. Microbiol.* 44, 1404~1414.

Oliver, J. D., R. A. Warner and D. R. Cleland. 1983. Distribution of *Vibrio vulnificus* and other lactose-fermenting *Vibrios* in the marine environment. *Appl. Environ. Microbiol.* 45, 985~998.

Schandevyl, P., E. V. Dyck and P. Piot. 1984. Halophilic *Vibrio* sp. from sea fish in Senegal. *Appl. Environ. Microbiol.* 48, 236~238.

金臣武 · 金賢淑. 1985. 魚貝類에서 *Vibrio vulnificus*의分離. *대한임상병리학회지* 17(1), 78~84.

金榮萬 · 李明淑 · 張東錫. 1986. 生鮮膾에 汚染된 腸炎 비브리오菌에 미치는 貯藏溫도의 影響. *韓水誌* 19(2), 136~140.

金榮萬 · 申逸湜 · 張東錫. 1987. 韓國沿岸의 *Vibrio vulnificus*의 分布에 관한 研究. *韓水誌* 20(6), 591~600.

宋哲 · 金鎬熏 · 姜鍊浩 · 李光植 · 田賢秀 · 李載寬 · 吳海誠 · 徐俊錫. 1985. 비브리오 불니피쿠스 균의 分布 및 病原性에 關한 研究. *국립보건원보* 22, 79~91.

張東錫 · 申逸湜 · 崔承泰 · 金榮萬. 1986. *Vibrio vulnificus*의 分布 및 細菌學的 特性. *韓水誌* 19(2), 118~126.

1988년 2월 5일 접수

1988년 2월 9일 수리