

저장온도에 따른 생참치회 (*Thunnus Orientalis*) 의 *Vibrio Parahaemolyticus* 생육예측모델 개발 및 검증

김지윤 · 송민규 · 전은비 · 김소희 · 박신영[†]
경상국립대학교(학생) · [†]경상국립대학교(교수)

Predictive Growth Modeling of *Vibrio Parahaemolyticus* in Raw Tuna Fillet (*Thunnus orientalis*) as a Function of Storage Temperatures

Ji Yoon KIM · Min Gyu SONG · Eun Bi JEON · So Hee KIM · Shin Young PARK[†]
Gyeongsang National University(student) · [†]Gyeongsang National University(professor)

Abstract

This study developed predictive growth models for *V. parahaemolyticus* in raw tuna as a function of cold storage temperatures (T; 2, 5, 8, 11 and 15°C). At these storage temperature, Baranyi model, a primary model fit well to obtain lag time (LT) and specific growth rate (SGR) (R^2 : 0.97). As the temperature increased, the growth of *V. parahaemolyticus* tend to increase. At 2, 5 and 8°C, no significant growth was observed for 7 days (168 hours). As a result of the primary model using the Baranyi model, the LT values at 11°C and 15°C were 16.01 and 9.04 h, and the SGR values were 0.02 and 0.04 log CFU/h, respectively (R^2 ; 0.98 for LT, 0.97 for SGR). The secondary model was determined to be; $LT=35.767 - 1.784 \times T + 0.069 \times T^2$ ($R^2=0.99$), $SGR=-0.002+0.002 \times T+0.000 \times T^2$ ($R^2=0.99$). The suitability of LT and SGR was verified using MSE (<0.1: Internal, <0.01: External), B_f (1.000~1.003: Internal, 0.884~0.987: External) and A_f (1.000~1.006: Internal, 1.047~1.124: External). Therefore, these predictive models could be supported and useful for predicting the growth of *V. parahaemolyticus* in raw tuna at various temperature. Ultimately, the developed models can contribute to reducing *V. parahaemolyticus* levels in the production, distribution and storage of seafood.

Key words : Food safety, Predictive growth model, Raw tuna, Storage temperature, *Vibrio parahaemolyticus*

I. 서론

예측식품미생물학 (predictive food microbiology, PFM)은 식품의 안전성 확보를 위한 목적으로 연구되어 왔으며 특정 병원성 또는 부패 미생물에 대한 생육 패턴 예측을 위해 미생물학적, 통계적 및 수학적 방식을 활용하여 확립되었다(Park et al., 2019a). 특히 최근 PFM 분야와 더불어 영양 공급, 수분활성도 (Aw), pH, 저장온도 및 산소가

용성과 같은 특정한 환경 조건에 의한 미생물의 생육을 수학적으로 기술하는 예측모델 개발에 대한 중요성이 강조되고 있다(Enkhjargal et al., 2013). 예측모델의 개발은 원료부터 생산, 유통, 소비 및 보관의 전 과정에 적용할 수 있으며 식품의 고유 기질인 내인성 요인 (intrinsic factor; 수분활성도, pH, 영양성분 등)과 미생물의 성장에 직접적으로 영향을 끼치는 외인성 요인 (extrinsic factor; 저장 온도, 습도, 화학처리 등)에 따른 다

[†] Corresponding author : 055-772-9143 sypark@gun.ac.kr

* 이 논문은 2021년도 교육부의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행되었음(2021R111A3A4037468).

양한 수식으로 표현된다(Cho et al., 2011; Jo et al., 2012). 예측미생물학은 broth를 기반으로 연구되어 왔으며 현재 상용화 중인 pathogen modeling program (PMP)등 대부분의 소프트웨어 프로그램 또한 broth 상 데이터를 반영하여 개발되었다(Whiting and Golden. 2002; Koseki and Isobe. 2005). 그러나 현재의 예측미생물학 연구는 broth를 넘어서 실제 식품에 병원성 세균을 직접 적용하는 방식으로 발전하고 있다. 수산식품의 경우 연어(Yang et al., 2009), 굴(Parveen et al., 2013), 새우(Liao et al., 2014) 등 일부 수산물에 대한 *Vibrio parahaemolyticus*의 예측모델 연구가 진행되었으나, 신선어류를 포함한 수산물·수산가공식품의 주요식중독세균을 대상으로 하는 생육예측모델 연구는 여전히 미비하여 이와 관련된 연구의 확대가 요구되는 상황이다.

참치회는 고급 횡감으로 인식되며 우리나라에서 가장 인기 있는 횡감 중 하나로 자리잡고 있다(Kang et al., 2000). 그러나 가공 및 가열조리 없이 생으로 섭취하는 생선회의 경우 부적절한 세척 시 사람의 손, 도마, 칼 등의 조리 도구로 인한 미생물의 2차오염의 우려가 있다(Cho et al., 2009). Cho et al.(2009)의 연구에 의하면 초밥용 생선회에서 일반세균수가 4.44~5.49 log CFU/g, 대장균군 2.65~3.90 log CFU/g 및 *Salmonella spp.*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*가 검출된 바 있다. 또한 Choi et al.(2012)는 어류에 자연적으로 존재하며 사람에게 식중독을 일으킬 수 있는 병원성 세균으로써 *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus* 및 *V. cholerae*를 제시하였다.

장염비브리오(*Vibrio parahaemolyticus*) 수산물 섭취와 관련된 세균성 식중독의 중요한 원인세균 중 하나이며, 전세계적으로 연안의 해수나 수산물에서 검출되는 해양상재세균이다(Yu et al., 2014). 주로 기온이 상승하는 여름철에(7~9월) 오염된 수산물의 섭취나 불충분한 가열에 의해 발생하며, 감염 시 급성위장염을 유발하는 등 수산물의 소비에도 큰 영향을 끼치고 있는 실정이다

(Kim et al., 2021). 따라서 *V. parahaemolyticus*군에 의한 식중독을 방지할 수 있는 철저한 위생관리 및 안전성 확보에 대한 다양한 기술적 시도가 요구된다.

따라서 본 연구에서는 참치회에 오염될 위험성이 높은 식중독균 *V. parahaemolyticus*의 저장 온도별(2~15°C) 생육특성을 조사하고, 1차 및 2차 모델을 사용하여 성장예측모델을 개발하고자 하였다. 본 모델은 추후 참치회를 포함한 다양한 수산물의 미생물학적 식품안전관리를 위한 기초 자료로 사용될 수 있을 것으로 사료된다.

II. 연구 방법

1. 균주 준비

저장온도에 따른 참치회의 생육특성을 확인하기 위하여 한국미생물보존센터 (KCCM, Korean Culture Center of Microorganisms)에서 분양받은 *V. parahaemolyticus* 균주 3종 (KCTC 2471, KCTC 2729, and ATCC 27969)을 사용하였다. 세균 스탁(stock)은 30% glycerol이 포함된 tryptic soy broth (TSB; Difco Laboratories, Detroit, MI, USA) 용액에 보존되었으며, -80의 냉동고에 보관하였다. 세 균주(10 µL)는 각각 5 mL의 2.5% NaCl이 포함된 TSB에 접종한 후 35±1°C에서 24시간 증균 배양하는 과정을 2회 반복하여 실시하였고, 배양된 균주용액은 4,695 ×g에서 10분간 원심분리 (SUPRA22K, Hanil Science Industrial Co., Daejeon, Korea)하였다. 이 과정을 통해 얻어진 각각의 침강된 pellet을 0.85% 멸균생리식염수 10 mL에 재현탁하여 혼합 (cocktail) 용액을 제조하였으며, 3~3.5 log colony-forming unit (CFU)/g의 농도로 단계희석한 후 이를 접종균주로 사용하였다.

2. 시료 준비 및 세균 접종

본 연구에 사용된 참치회는 온라인 마켓을 통해 구입하였으며, 여러 개의 아이스팩이 동봉된

아이스박스에 포장되어 배달되었다. 수령 즉시 냉동고(-18℃)로 이동시켜 24시간 이내에 실험에 사용하였다. 실험을 위한 참치 시료는 멸균된 가위로 3f3 cm가 되도록 절단한 후 참치 표면의 잔존미생물을 제거하기 위해 70% 에탄올을 사용해 참치 표면을 살균하였다. 참치 시료에 *V. parahaemolyticus*를 오염시키기 위해 100 μL의 균주를 각각의 일정한 위치(10 spot)에 점접종 (spot-inoculation) 하였다. 접종 후 세균이 시료에 안정적으로 부착될 수 있도록 biological safety cabinet (CHC Lab Co. Ltd., Daejeon, Korea)에서 1 시간 동안 방치한 후 각 온도별로 보관하였다.

3. 저장 조건 및 세균 계수

참치회의 생산 및 유통과정 중 *V. parahaemolyticus*의 성장과 관련한 중요한 인자로서 저장온도를 선택하고 2, 5, 8, 11 및 15℃에 각각의 참치 시료를 보관하며 실험을 진행하였다. 세균의 각 저장 온도별 성장특성을 확인하기 위해 참치 시료를 냉장실 (SHC 5000, Sehanscimed Corp., Daejeon, Korea)에 보관하며 설정한 각 시간대마다(2-168시간) 시료를 취하여 분석하였다. 본 실험은 2회 반복하였으며, 실험당 3개의 시료를 분석하였다. 냉장고의 온도는 내·외부의 온도계를 이용하여 주기적으로 온도를 조절하고 모니터링하였다.

각 보관온도별로 배양된 참치 시료는 멸균백 (Labplus Inc., Sainte-Julie, Quebec, Canada)에 넣고 0.85% 멸균생리식염수로 10배 희석하여 균질화 (Easy Mix, AES Chemunex, Rennes, France)하였다. 희석된 샘플 (1 mL)은 petri dish에 분주 후 2.5% NaCl이 포함된 tryptic soy agar (TSA, Difco Laboratories, Detroit, MI, USA)를 주입하여, 35±1℃에서 24~48시간 배양하였다. 미생물의 계수는 배지 위에 형성된 colony를 계수하여 log number of CFU/g으로 기록하였다.

4. 1차 예측모델의 개발

참치회의 저장온도에 따른 *V. parahaemolyticus*의 1차 예측모델은 유도기 (lag time, LT) 및 최대증식속도 (specific growth rate, SGR)를 산출하기 위해 Baranyi model을 사용하여 개발하였다 (Baranyi and Roberts., 1994). 사용한 프로그램은 DMFit version 3.5 였으며, 계산에 사용된 공식은 <Table 1>에 나타내었다(ComBase, Dresden, Germany, <https://www.combase.cc/index.php/en/>).

5. 2차 예측모델의 개발

2차 예측모델은 1차 모델링을 통해 산출된 저장온도에 따른 *V. parahaemolyticus*의 LT 및 SGR 값을 기반으로 하여, SAS version 9.4 (Statistical Analysis Systems Institute, NC, USA) 프로그램의 다항방정식 (polynomial equation)과 최소제곱법 (least squares analysis)을 사용하여 개발하였다. 모델 개발에 사용된 다항방정식은 다음과 같다 (Yang et al., 2016).

$$Y = b_0 + b_1T + b_2T^2 + \epsilon \dots\dots\dots (1)$$

Y = the predicted value (LT or SGR)
 b₀, b₁, b₂ = the regression coefficients
 T = the storage temperature
 ε = the random error

6. 수학적/통계적 기표에 의한 적합성 검증

1차 및 2차 모델링을 통해 개발된 모델의 내·외부 적합성 검증은 결정 계수 (coefficient of determination, R²), 평균제곱오차 (mean square error, MSE), bias factor (B_f) 및 accuracy factor (A_f)의 통계지표를 사용하여 평가하였다. R²는 일반적으로 회귀선을 기준으로 예측값에 대한 전반적인 분산 설명력을 의미하며 0~1 사이의 값으로 나타낸다(Park et al. 2012).

<Table 1> Primary growth model equation used for predictive modeling of *V. parahaemolyticus* in raw tuna as a function of storage temperatures

Model	Equation
Baranyi	$y = y_0 + \mu A(t) - \frac{1}{\exp(\lambda)} \left(1 + \frac{\exp[\mu A(t)] - 1}{\exp(\lambda)(y_{max} - y_0)} \right)$ $A(t) = t + \frac{1}{\mu} \ln \left(\exp(\mu t) + \exp(-\mu\lambda) - \exp(-\mu(t+\lambda)) \right)$

y=cell number (log CFU/g), y0=log initial number of cells (log CFU/g), A=difference between initial and final cell numbers (CFU/g), t=time, λ=lag time, μ=maximum growth rate (log CFU/g).

$$R^2 = 1 - \frac{\sum e_i^2}{\sum (\text{predicted values} - \text{average of the predicted values})^2} \dots\dots\dots (2)$$

MSE는 미생물의 최대증식속도에 대한 실험값과 예측값의 차이를 이용하여 개발된 예측모델의 적합도를 평가하는 지표로서 다음과 같은 공식을 통해 계산되었다(Giffel and Zwietering,1999).

$$MSE = \frac{\sum (\text{observed values} - \text{predicted values})^2}{n} \dots\dots\dots (3)$$

B_f는 실험을 통해 얻은 실험값과 모델링을 통한 예측값 사이의 상대적인 편차를 측정하는 지표이며 B_f를 계산하는 데 사용된 공식은 다음과 같다(Khaled et al., 2009).

$$B_f = 10^{\frac{\sum \log(\text{observed values}/\text{predicted values})}{n}} \dots\dots\dots (4)$$

A_f는 실험값과 예측값의 평균 차이의 절대값, 즉 예측된 값이 실험값과 얼마나 일치하는지 정도를 나타내는 지표이며, 사용된 공식은 다음과 같다(Khaled et al., 2009).

$$A_f = 10^{\frac{\sum \log(|\text{predicted values}/\text{observed values}|)}{n}} \dots\dots\dots (5)$$

또한, 개발된 모델의 범위 내에서 실험에서 사용하지 않은 온도(7, 10 및 14℃)를 선택하여 위와 동일한 방법으로 실험 후 외부검증을 진행하였다.

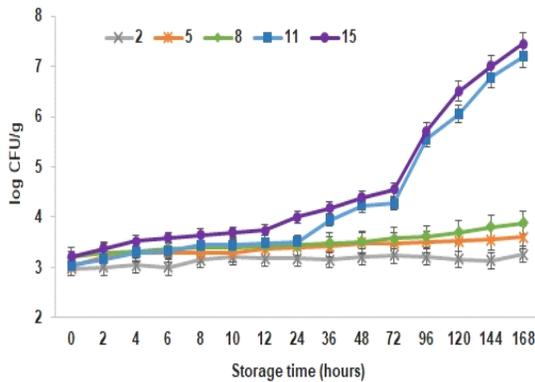
7. 통계처리

1차 모델링과 2차 모델링에 의해 계산된 매개변수 간의 유의차는 통계분석으로 확인하였다. 모든 실험은 시료당 3회 반복 분석하여 데이터를 얻은 후 통계적 유의성을 평가하였으며, 평균±표준편차로 표시하였다. 통계처리는 SPSS software (version 12.0; SPSS Inc., Chicago, IL, USA)를 사용하였으며, 일원배치 분산분석 (one-way analysis of variance) 중 Duncan's 다중범위검정 (multi-range test)을 선택하여 유의차를 5% 수준에서 검증하였다(P<0.05).

III. 연구 결과

1. 저장온도에 따른 *V. parahaemolyticus*의 생육특성 및 1차 예측모델의 개발

생 참치회 중 *V. parahaemolyticus*의 각 저장온도(2, 5, 8, 11 및 15℃)에 따른 성장곡선은 [Fig. 1]에 나타내었다. *V. parahaemolyticus*의 초기 농도는 2.9-3.2 log CFU/g이었고, 대체적으로 저장온도가 높아질수록 세균의 수가 유의적으로 증가하는 경향을 보였다. 그러나 2℃, 5℃ 및 8℃에서 저장한 참치회의 *V. parahaemolyticus*의 경우에는 세균수가 증가와 감소를 반복하며 뚜렷한 성장이 관찰되지 않았으며, 168 시간(7일) 후 각각 약 0.3, 0.6 및 0.7 log 증가하여 균의 성장속도가 매우 느리게 나타났다. 11℃ 및 15℃ 저장한 참치회는 저장시간의 증가에 따라 세균수가 비례적



[Fig 1] Growth curves of *Vibrio parahaemolyticus* in raw tuna at 2, 5, 8, 11 and 15°C. Error bars indicate the standard deviations for the mean of two replicates of three samples at storage temperature and time.

으로 증가하였으며, 72시간(3일) 이후 급격하게 성장하는 모습을 보였다. 저장 168시간 후에는 11°C에서 7.20 log CFU/g 및 15°C에서 7.45 log CFU/g으로 측정되었으며, 이는 초기 농도에 비해 각각 4.1 및 4.2 log 이상 증가한 결과였다.

온도별로 저장된 참치회의 *V. parahaemolyticus*의 생육결과를 바탕으로 하여, 1차 모델링으로써 Baranyi model을 적용하여 LT 및 SGR 값을 도출하였다(<Table 2>). 2°C, 5°C 및 8°C의 경우 maximum population density (MPD)에 도달하지 않

았기 때문에 LT 및 SGR 값이 도출되지 않았다. 11°C 및 15°C에서 LT 값은 각각 16.01 및 9.04 h 였으며, SGR 값은 각각 0.02 및 0.04 log CFU/h 였다. 저장온도가 증가함에 따른 LT값은 유의하게 감소하며, SGR값은 증가하는 결과를 보였다 ($P<0.05$). R^2 값은 11°C 및 15°C에서 각각 0.98 및 0.97로 개발된 1차 예측모델에 대한 높은 적합성이 확인되었다.

Lim et al.(2019)의 연구에서는 4°C와 7°C에서 저장한 굴의 *V. parahaemolyticus*의 1차 모델링 결과에서 LT와 SGR 값이 모두 계산되지 않아 본 연구와 유사하였다. Parveen et al.(2013)는 굴 중 *V. parahaemolyticus*의 성장예측 연구를 진행하였으며, 5°C 및 10°C 저장실험에서 LT 값이 도출되지 않았고 SGR 값은 1차 모델링 결과 15°C에서 0.05 CFU/g로 나타나 본 연구와 유사하였다. 간장게장 중 *V. parahaemolyticus*의 예측모델 연구에서는 15°C 보관 시 LT 값은 9.90 h였으며, SGR 값은 0.14 CFU/g/h로 측정되었다(Chung et al., 2019). 해당 연구(Chung et al., 2019)의 SGR은 본 연구결과보다 높게 나타났는데 *V. parahaemolyticus*가 일반적으로 호염성의 특징을 가지며 (1~5%) 간장게장의 염도는 3~5%이므로 *V. parahaemolyticus*의 최적 생육 환경이 형성되었기 때문으로 판단된다.

<Table 2> Result of growth parameters of *Vibrio parahaemolyticus* in raw tuna obtained from the Baranyi model for the primary modeling

Temperature (°C)	LT (h)	SGR (log CFU/h)	R ²
2	NG	NG	NA
5	NG	NG	NA
8	NG	NG	NA
11	16.01±0.12 ^a	0.02±0.01 ^b	0.98
15	9.04±0.11 ^b	0.04±0.01 ^a	0.97

LT, lag time; SGR, (maximum) specific growth rate; R², correlation coefficient, a higher R² value indicates a better fit to the data; NG, No Growth; NA, No Application. Values are mean±standard deviations of triplicate determination. Different superscript in a column are significant differences by Duncan's multiple range test with 5% probability.

일반적으로 미생물 성장곡선 연구에 많이 사용되는 모델은 modified Gompertz 모델(Zwietering et al., 1990; McMeekin et al., 1993), pathogen modeling program (PMP) 및 logistic 모델(Peleg, 1997)이며, 이는 현재 상용화된 모델의 개발시에도 적용되었다. 그러나 이러한 모델들은 인간의 노화시점, 인구통계 등 전형적인 선형 및 S자형 (sigmoid curve) 경향에 적합한 경험적 모델이며(Jo et al., 2020; Huang, 2008), 본래 미생물의 성장예측 모델링을 목적으로 한 프로그램이 아니므로 미생물 성장의 매개변수와 관련된 데이터를 적용하기에는 어려움이 있다(Baranyi et al., 1993). 이러한 이유로 Baranyi 등은 미생물의 물리적 및 생물학적 특성과 관련하여 다양한 조건(온도, 습도, A_w 등)을 대입하여 처리할 수 있는 기능모델을 개발하였다(Baranyi et al., 1993; Baranyi and Roberts 1994, 1995). Xiong et al.(1999) 및 Pal et al.(2008)은 modified Gompertz 및 logistic 선형모델을 포함한 여러 모델 중 Baranyi 모델이 tailing phase 및 S자형 곡선과 같은 곡선모델에 가장 잘 맞는다고 보고한 바 있다. 또한 Baranyi 예측모델은 온도, pH, broth 및 수분활성도 등 다양한 변수에 따른 결과에도 쉽게 적용할 수 있으며(Baranyi et al., 2004), 최근에는 이 모델이 modified Gompertz 모델보다 생육예측 연구에 더 빈번하게 사용됨이 보고되고 있다(McClure et al., 1997; Sutherland et al., 1997). 따라서 본 연구에서는 Baranyi 모델 공

식을 사용하여 성장예측 모델링을 수행하였다.

2. 2차 예측모델의 개발 및 적합성 검증

2차 예측모델은 1차 모델링에 의해 계산된 LT 및 SGR 값이 다른 온도 변수에서는 어떻게 적용되어 예측되는지를 결정하기 위해 개발되었다. 2차 모델에 대한 신뢰성은 실제 적용 전에 수학적 인 도출단계 및 평가가 필요하며, 이에 적용된 다항방정식은 다음과 같다.

$$LT; y = 35.767 - 1.784 \times T + 0.000 \times T^2 \quad (R^2=0.96) \dots (6)$$

$$SGR; y = -0.002 + 0.002 \times T + 0.000 \times T^2 \quad (R^2=0.98) \dots (7)$$

(T; the storage temperature)

이들 다항식으로부터 산출된 *V. parahaemolyticus* 의 11 및 15°C에서의 LT 값은 각각 16.15 및 9.01 시간(h)이었으며, SGR 값은 각각 0.02 및 0.03 log CFU/h였다. 2차 모델링 결과에 따른 LT 및 SGR의 R^2 값은 각각 0.98과 0.99로써 개발된 모델에 대한 적합성이 매우 높음을 확인하였다 (<Table 3>). Yang et al.(2016) 및 Park et al.(2019b)의 연구에서 또한 본 연구와 동일한 SAS program을 이용하여 2차 모델링을 수행하였으며, 관찰 및 예측된 SGR 값의 차이는 0.05 log 이내, LT 값의 차이는 1분 미만으로 평가되어 2차 모델링에 대한 적합도를 확인한 바 있다.

<Table 3> Result of growth parameters of *Vibrio parahaemolyticus* in raw tuna obtained from the polynomial equation for the secondary modeling

Temperature (°C)	LT (h)	SGR (log CFU/h)
2	NG	NG
5	NG	NG
8	NG	NG
11	16.15	0.02
15	9.01	0.03

LT, lag time; SGR, (maximum) specific growth rate; NG, No Growth

2차 모델링을 통해 예측된 값의 타당성을 확보하기 위해 참치회 저장온도에 따른 *V. parahaemolyticus*의 내부검증을 진행하였으며, 이에 대한 결과를 <Table 4>에 나타내었다. MSE는 일반적으로 0~1의 값으로 나타내며, 0에 가까울수록 개발된 모델의 적합도가 높음을 의미한다 (Park et al., 2019). *V. parahaemolyticus*의 경우 LT (0.075) 및 SGR (0.001)의 MSE가 모두 0 (0.1 미만)에 근접했으므로 모델이 잘 개발된 것으로 판단된다.

LT 및 SGR에 대한 B_f 값은 각각 1.003 및 1.000 이었으며, LT 및 SGR에 대한 A_f 값은 각각 1.006과 1.000이었다.

B_f 는 관찰 및 예측값의 상대편차를 측정하는 척도이며, A_f 는 관찰 및 예측값의 일치정도를 나타낸다 (Jo et al., 2012). 일반적으로 $A_f = B_f = 1$ 이면 모델이 이상적이며 (Lebert et al., 2000), B_f 및 A_f 값이 0.9~1.05일 때 "적합 (good)", 0.7~0.9 또는 1.06~1.15는 "허용가능 (acceptable)" 및 <0.7 또

는 >1.5는 "허용되지 않음(acceptable)"으로 간주한다 (Ross et al., 2000; Carrasco et al., 2006). 일반적으로 A_f 값이 1에 가까울수록 모델의 정확도가 높고 이 간격이 클수록 부정확하며, 계산된 A_f 값이 0.9~1.1 이면 모델이 10% 과소 또는 과대에 측정된 것으로 판단한다. 이러한 통계적 지표 (MSE, B_f , A_f 값)의 수치들로 미루어 보아 본 모델은 높은 안전성과 정확도를 나타냈으며, 이는 곧 개발된 모델이 미생물 성장예측에 있어 우수한 성능의 도구가 될 수 있음을 의미한다.

본 연구에서 개발된 모델을 외부적으로 검증하기 위해 모델 개발 시 설정하지 않은 다른 온도 (7, 10, 14°C)에서 실험을 수행하였다. 개발된 모델의 관찰값과 예측값을 비교한 결과는 <Table 5>에 나타내었다. 실험 결과 LT의 경우 10°C에서 관찰값과 예측값 사이에 유의차가 나타났으나 ($P < 0.05$), 이를 제외한 다른 저장온도 및 SGR에서는 유의한 차이가 없었다 ($P > 0.05$). 외부검증 결과에 대한 MSE, B_f 및 A_f 값은 LT의 경우 각각

<Table 4> Internal and external validation using statistical indices for growth parameters of *Vibrio parahaemolyticus* in raw tuna

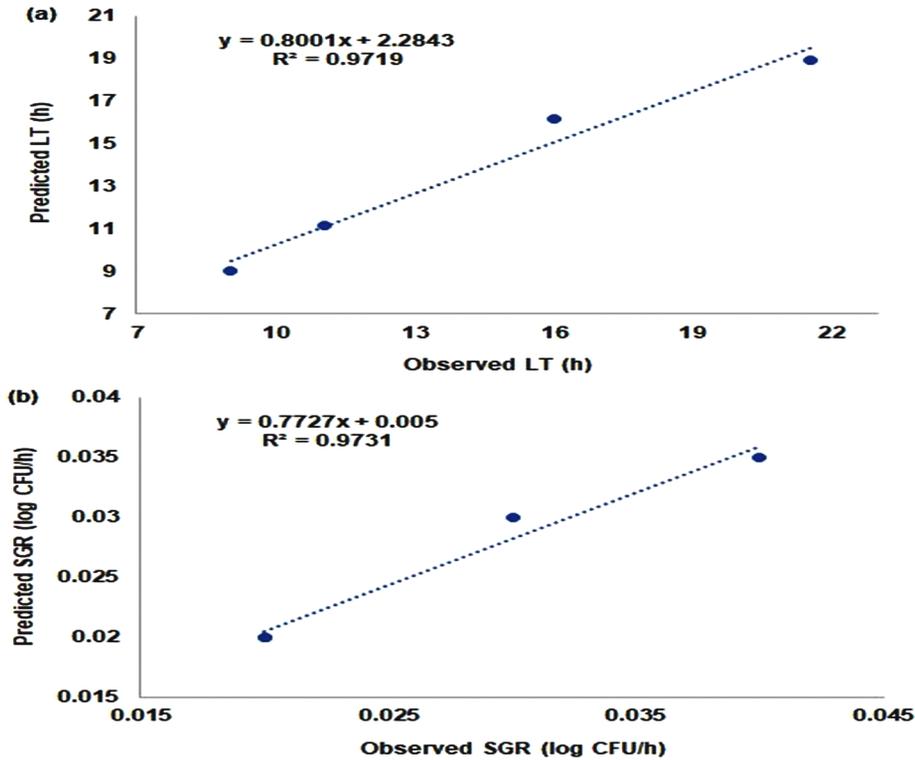
		MSE	B_f	A_f
Internal validation	LT (h)	0.075	1.003	1.006
	SGR (log CFU/h)	0.001	1.000	1.000
External validation	LT (h)	0.001	0.987	1.047
	SGR (log CFU/h)	0.010	0.884	1.124

MSE, Mean square error; A_f , Accuracy factor; B_f , Bias factor; LT, lag time; SGR, (maximum) specific growth rate.

<Table 5> Comparison of the observed and predicted LT and SGT values of *Vibrio parahaemolyticus* in raw tuna in external validation

Temperature (°C)	LT (h)		SGR (log CFU/h)	
	Observed	Predicted	Observed	Predicted
7	NG	-	NG	-
10	21.55±0.09	18.93*	0.02±0.01	0.02
14	11.06±0.08	11.18	0.03±0.02	0.02

LT, lag time; SGR, (maximum) specific growth rate; NG, No Growth; Values are mean±standard deviations of triplicate determination. Asterisk (*) indicates a significant difference between observed and predicted value by paired t-test



[Fig 2] Comparative plots of internal and external validation of observed and predicted LT (a), SGR (b) for *Vibrio parahaemolyticus* in raw tuna.

0.001, 0.987 및 0.884였으며, SGR의 경우 0.010, 0.884 및 1.124로 나타났다.

이러한 결과를 바탕으로 외부검증 또한 내부검증 결과와 마찬가지로 신뢰성을 확보할 수 있는 적합한 모델임을 확인하였다. 내부 및 외부검증 결과에 따른 LT 및 SGR 값의 전반적인 비교를 산점도 (scatter plots)를 통해 나타내었다([Fig. 2]). 그래프에 표시된 대부분의 점은 100% 상관선 ($y=x$)에 비교적 근접하여 정확성을 나타내었으며, 이에 대한 LT와 SGR의 R^2 값은 모두 0.97로 높은 적합도를 보였다.

IV. 결론

본 연구는 저장온도와 시간의 측면에서 참치회

의 생산, 유통, 소비 및 저장의 전 과정에서 증식할 수 있는 *V. parahaemolyticus*의 성장예측모델을 제시하였다. 수산생물과 수산가공품에 대한 예측 미생물학 연구는 아직 활발하게 진행되고 있지 않으나, 최근 성장예측모델 개발은 과거 broth 상의 기초연구를 상향하며 실제 식품에 위해요소인 식중독균을 직접 적용하여 모델을 개발하는 방향으로 전환되고 있다(Juneja et al., 2019). 다양한 온도 변수에서의 1,2차 모델링 및 내·외부의 검증과정을 통해 본 연구에서 개발한 모델의 적합성은 우수한 것으로 최종 판단되었으며, 적합성 지표를 통한 검증 결과 또한 MSE가 0.001~0.075, B_0 가 0.884~1.003 및 A_0 가 1.000~1.124로 높은 정확도를 보였다. 다양한 적합성 지표들을 기반으로 한 본 성장예측모델은 생참치를 활용한 제품 개

발 및 HACCP 시스템 적용시 critical control point 및 한계기준 설정에 활용될 수 있으며, 또한 미생물위해평가의 노출평가를 위한 simulation model에 접목될 수 있을 것이다. 궁극적으로 본 모델은 생 수산물의 생산, 가공 및 유통 과정에서 온도 관리를 통한 *V. parahaemolyticus*의 정량적인 위해를 감소시키며 이와 동시에 수산물의 안전성을 향상시킬 수 있는 중요한 도구가 될 것으로 사료된다.

References

- Baranyi J, Roberts TA and McClure P(1993). A non-autonomous differential equation to model bacterial growth. *Food Microbiol* 10(1), 43~59.
- Baranyi J and Roberts TA(1994). A dynamic approach to predicting microbial growth in food. *Int J Food Microbiol* 23(3-4), 277~294.
- Baranyi J and Roberts, TA. 1995. Mathematics of predictive food microbiology. *Int J Food Microbiol* 26, 199~218.
[https://doi.org/10.1016/0168-1605\(94\)90157-0](https://doi.org/10.1016/0168-1605(94)90157-0)
- Baranyi J and Tamplin ML. 2004. ComBase: A common database on microbial responses to food environments. *J Food Protect* 67(9), 1967~1971.
<http://doi.org/10.4315/0362-028X-67.9.1967>.
- Carrasco E, Garcia-Gimeno R, Seselovsky R, Valero A, Perez F, Zurera G and Todd E. 2006. Predictive model of *Listeria monocytogenes* growth rate under different temperatures and acids. *Food Sci Technol Int* 12(1), 47~56.
<http://doi.org/10.1177/1082013206062234>.
- Cho SK, Moon BY and Park JH(2009). Microbial contamination analysis to assess the safety of marketplace sushi. *Korean J Food Sci Technol* 41(3), 334~338.
- Cho JI, Lee SH, Lim JS, Kwak HS and Hwang IG(2011). Development of predictive model describing the growth of *Listeria monocytogenes* in fresh cut vegetable. *J Fd Hyg Saf* 26(1), 25~30.
- Choi ES, Kim NH, Lee SH and Rhee MS(2012). Seafood and Bacteria. *Safe Food* 7, 3~13.
- Chung KH, Park MS, Kim HY and Bahk GJ(2019). Growth prediction and time - temperature criteria model of *Vibrio parahaemolyticus* on traditional Korean raw crab marinated in soy sauce (*ganjang-gejang*) at different storage temperatures. *Food Control* 98, 187~193.
<https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2018.11.021>.
- Enkhjargal L, Min KJ and Yoon KS(2013). Development and validation of predictive model for foodborne pathogens in preprocessed namuls and wild root vegetables. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 42(10), 1690~1700.
<https://doi.org/10.3746/jkfn.2013.42.10.1690>.
- Giffel MC and Zwietering MH(1999). Validation of predictive models describing the growth of *Listeria monocytogenes*. *Int J Food Microbiol* 46(2), 135~149.
[https://doi.org/10.1016/s0168-1605\(98\)00189-5](https://doi.org/10.1016/s0168-1605(98)00189-5).
- Huang L(2008). Growth Kinetics of *Listeria monocytogenes* in Broth and Beef Frankfurters – Determination of Lag Phase Duration and Exponential Growth Rate under Isothermal Conditions. *J Food Sci* 73(5), 235~242.
<https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2008.00785.x>.
- Jeong MC, Kang MG, Jang YM, Lee DH, Park SK, Shin IS and Kim YM(2018). Hazard analysis of food safety in processing process of simple-processed fishery products. *Korean J Fish Aquat Sci* 51(5), 518~523.
<https://doi.org/10.5657/KFAS.2018.0518>.
- Jo GG, Ha TH, Yoon SH, Jang YN and Jung MW(2020). Comparison of regression models for estimating ventilation rate of mechanically ventilated swine farm. *J Korean Soc Agri Eng* 62(1), 61~70.
<https://doi.org/10.5389/KSAE.2020.62.1.061>.
- Jo HJ, Hong SH, Kim YG, Shin DB, Oh MH, Hwang JH, Enkhjargal L and Yoon KS(2012). Validation of Broth Model for Growth of *Bacillus cereus* in Blanched Vegetables. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 22(4), 558~565.
<http://dx.doi.org/10.3746/jkfn.2013.42.10.1690>.
- Juneja VK, Golden CE, Mishra A, Harrison MA, Mohr T and Silverman M(2019). Predictive model for growth of *Bacillus cereus* during cooling of cooked rice. *Int J Food Microbiol* 290(2), 49~58.
<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2018.09.023>.
- Kang CH, Jung HY, Lee DH, Park JK, Ha JU, Lee

- SC and Hwang YI(2000). Analysis of chemical compounds on tuna processing by-products. J Korean Soc Food Sci Nutr 42, 1690~1700.
- Khaled AZ, Oscar TP, Schwarz JG, Hanhem FM, Whiting RC and Yoon KS(2009). Development and validation of a predictive model for *Listeria monocytogenes* scott A as a function of temperature, pH, and commercial mixture of potassium lactate and sodium diacetate. J Microbiol Biotechnol 19(7), 718~726.
- Kim JY, Song MG, Jeon EB, Kim JS, Lee JS, Choi EH, Lim JS, Choi JS and Park SY(2021). Antibacterial effects of non-thermal dielectric barrier discharge plasma against *Escherichia coli* and *Vibrio parahaemolyticus* on the surface of wooden chopping board. Innov Food Sci Emerg Technol 73, 102784.
<https://doi.org/10.1016/j.ifset.2021.10278>.
- Kim JU, Park JH and Kang HS(2019). A study on the comparison of flatfish and salmon consumption patterns in twenties -focus Group study-. J Fish Bus Adm 50(3), 1~15.
<http://dx.doi.org/10.12939/FBA.2019.50.3.001>.
- Koseki S and Isobe S(2005). Prediction of pathogen growth on iceberg lettuce under real temperature history during distribution from farm to table. Int J Food Microbiol 104(3), 239~248.
<http://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2005.02.012>.
- Lebert I, Robeles-Olvera V and Lebert A(2000). Application of polynomial models to predict growth of mixed cultures of *Pseudomonas* spp. and *Listeria* in meat. Int J Food Microbiol 61(1), 27~39.
[https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(00\)00359-7](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(00)00359-7).
- Liao C, Peng ZY, Li JB, Cui XW, Zhang ZH, Malakar PK, Zhang WJ, Pan YJ and Zhao Y(2014). Simultaneous construction of PCR-DGGE-based predictive models of *Listeria monocytogenes* and *Vibrio parahaemolyticus* on cooked shrimps. Lett Appl Microbiol 60(3), 210~216.
<https://doi.org/10.1111/lam.12376>.
- Lim JY, Jo HY, Moon HJ, Lee JK and Yoon KS(2019). Development of predictive models and comparison of pathogenic and non-pathogenic *Vibrio parahaemolyticus* behavior in Korean oysters. J Korean Soc Food Sci Nutr 48(12), 1412~1420.
- McClure PJ, Beaumont AL, Sutherland JP and Roberts TA(1997). Predictive modelling of growth of *Listeria monocytogenes*. The effects on growth of NaCl, pH, storage temperature and NaNO₂. Int J Food Microbiol 34(3), 221~232.
[https://doi.org/10.1016/s0168-1605\(96\)01193-2](https://doi.org/10.1016/s0168-1605(96)01193-2).
- McMeekin TA, Olley J, Ross T and Ratkowsky DA(1993). Predictive microbiology: Theory and application. NewYork: JohnWiley & Sons.
- Pal A, Labuza TP and Diez-Gonzalez, F(2008). Comparison of primary predictive models to study the growth of *Listeria monocytogenes* at low temperatures in liquid cultures and selection of fastest growing ribotypes in meat and Turkey product slurries. Food Microbiol 25(3), 460~470.
<https://doi.org/10.1016/j.fm.2008.01.009>.
- Park SY, Kim BY, Song HH and Ha SD(2012). The synergistic effects of combined NaOCl, gamma irradiation and vitamin B1 on populations of *Aeromonas hydrophila* in squid. Food Control 27(1), 194~199.
<http://doi:10.1016/j.foodcont.2012.03.015>.
- Park SY, Choi SY and Ha SD(2019a). Predictive modeling for the growth of *Aeromonas hydrophila* on lettuce as a function of combined storage temperature and relative humidity. Foodborne Pathog Dis 16(6), 376~383.
<http://doi.org/10.1089/fpd.2018.2590>.
- Park SY, Zhang CY and Ha SD(2019b). Predictive modeling for the growth of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium on lettuce washed with combined chlorine and ultrasound during storage. J Food Hyg Saf 34(4), 374~379.
<https://doi.org/10.13103/JFHS.2019.34.4.374>.
- Parveen S, DaSilva L, DePaola A, Bowers J, White C, Munasinghe KA, Brohawn K, Mudoh M and Tamplin M(2013). Development and validation of a predictive model for the growth of *Vibrio parahaemolyticus* in post-harvest shellstock oysters. Int J Food Microbiol 161(1), 1~6.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2012.11.010>.
- Peleg M(1997). Modelling microbial populations with the original and modified versions of the continuous and discrete logistic equations. Crit Rev Food Sci Nutr 37(5), 471~490.
<https://doi.org/10.1080/10408399709527785>

- Ross T, Dalgaard P and Tienungoon S(2000). Predictive modelling of the growth and survival of *Listeria* in fishery products. *Int J Food Microbiol* 62(3), 231~245. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(00\)00340-8](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(00)00340-8).
- Ryu SH, Hwang YO, Park SG and Lee YK(2010). Antibiotic susceptibility of *Vibrio parahaemolyticus* isolated from commercial marine products. *Korean J Food Sci Technol* 42(4), 508~513.
- Sutherland JP, Bayliss AJ, Braxton DS and Beaumont AL(1997). Predictive modelling of *Escherichia coli* O157:H7: Inclusion of carbon dioxide as a fourth factor in a pre-existing model. *Int J Food Microbiol* 37(2-3), 113~120. [https://doi.org/10.1016/s0168-1605\(97\)00056-1](https://doi.org/10.1016/s0168-1605(97)00056-1).
- Whiting RC and Golden MH(2002). Variation among *Escherichia coli* O157:H7 strains relative to their growth, survival, thermal inactivation, and toxin production in broth. *Int J Food Microbiol* 75(1-2), 127~133. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(02\)00003-X](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(02)00003-X).
- Xiong R, Xie G, Edmondson AS, Linton RH and Sheard MA(1999). Comparison of the Baranyi model with the modified Gompertz equation for modelling thermal inactivation of *Listeria monocytogenes* Scott A. *Food Microbiol* 16(3), 269~279. <https://doi.org/10.1006/fmic.1998.0243>.
- Yang ZQ, Jiao XA, Li P, Pan ZM, Huang JL, Gu RX, Fang WM and Chao GX(2009). Predictive model of *Vibrio parahaemolyticus* growth and survival on salmon meat as a function of temperature. *Food Microbiol* 26(6), 606~614. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2009.04.004>.
- Yang S, Park SY and Ha SD(2016). A predictive growth model of *Aeromonas hydrophila* on chicken breasts under various storage temperatures. *LWT Food Sci Technol* 69, 98~103. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.01.016>.
- Yu HS, Oh EG, Shin SB, Park YS, Lee HJ, Kim JH and Song KC(2014). Distribution and antimicrobial resistance of *Vibrio parahaemolyticus* isolated from Korean shellfish. *Korean J Fish Aquat Sci*, 47(5), 508~515. <https://doi.org/10.5657/KFAS.2014.0508>.
- Zwietering MH, Jongenburger I, Rombouts FM and van't Riet K(1990). Modeling the bacterial growth curve. *Appl Environ Microbiol* 56(6), 1875~1881. <https://doi.org/10.1128/aem.56.6.1875-1881.1990>
-
- Received : 01 September, 2022
 - Revised : 29 September, 2022
 - Accepted : 06 October, 2022