pISSN 1229-1153 / eISSN 2465-9223 *J. Food Hyg. Saf.*
Vol. 32, No. 2, pp. 163~169 (2017)
https://doi.org/10.13103/JFHS.2017.32.2.163

Journal of Food Hygiene and Safety
Available online at http://www.foodhygiene.or.kr

비브리오 패혈증균에 대한 매실 추출물의 항균활성

하태만[1] · 전두영[1] · 임현철[1] · 윤연희[1] · 신미영[1] · 윤기복[1] · 김중범[2]*
[1]전라남도보건환경연구원 미생물과, [2]순천대학교 식품공학과

Antimicrobial Activity of Maesil (*Prunus mume*) Extract against *Vibrio vulnificus*

Tea-Man Ha[1], Doo-Young Jeon[1], Hyun-Chul Im[1], Yeon-Hee Yoon[1],
Mi-Yeong Shin[1], Ki-Bok Yoon[1], and Jung-Beom Kim[2]*
[1]*Division of Microbiology, Jeollanam-do Institute of Health and Environment, Muan, Korea*
[2]*Department of Food Science and Technology, SunChon National University, Suncheon, Korea*
(Received February 22, 2017/Revised March 6, 2017/Accepted March 21, 2017)

ABSTRACT - The purpose of this study was to estimate the antimicrobial activity of Maesil (Japanese apricot, *Prunus mume*) extract against *Vibrio vulnificus*. The strains tested in the study were 28 *V. vulnificus* isolates originated from fish, seawater, mud flat and seawater in fish restaurant. The *vvhA* gene was detected using real-time PCR and biochemical identification expressed above good identification in 28 isolates of *V. vulnificus*. All of *V. vulnificus* used in this study was susceptible to tetracycline and chloramphenicol antibiotics. These two antibiotics were considered to be useful for the treatment of patients. Maesil extracts 2.5% and 5% showed antimicrobial activity against *V. cholerae* NCCP 13589 and *V. parahemolyticus* NCCP 11143. *V. vulnificus* isolate and *V. vulnificus* NCCP 11135 showed growth inhibition at 1.25%, 2.5% and 5% of Maesil extract, respectively. Compared with *V. cholerae* and *V. parahemolyticus*, the antibacterial activity of Maesil extract against *V. vulnificus* was high. The minimum bactericidal concentration of Maesil extract for *V. vulnificus* was 1.6%. These results revealed that Maesil extract was found to be very useful for inhibiting the growth of *V. vulnificus* and can be expected to prevent food poisoning caused by *V. vulnificus*.

Key words : *Vibrio vulnificus*, Maesil (Japanese apricot), *Prunus mume*, Antimicrobial activity

2015년 수산물 생산액이 7조원 이상을 기록하는 등 축산물 보다 수산물을 통한 단백질 섭취가 증가하고 있으며 수산물의 영양학적 가치로 수산식품은 건강식품으로 인식되고 있다[1,2]. 수산물은 미생물에 의한 변패가 용이하여 식중독 원인식품으로 작용할 수 있으며, 주요 병원성세균으로 비브리오균이 보고[1]되고 있다. 특히 우리나라의 경우 해산물 섭취가 많고 어패류를 생식하는 식습관 상 비브리오균에 의한 감염 위험이 높게 보고[3]되고 있다. 병원성 비브리오균에는 *Vibrio parahemolyticus, Vibrio cholerae, Vibrio vulnificus* 등이 대표적이며, 수산물 섭취와 관련된 사망사고의 95% 이상이 *V. vulnificus*와 연관된 것으로 보고[4]되고 있다. *V. vulnificus*는 비브리오 패혈증의 원인균으로 알려져 있으며, 간 기능 저하 등 면역력이 약화된 사람에게 심각한 패혈증을 일으킨다[5]. *V. vulnificus* 감염은 오염된 수산물을 섭취하거나 해수에 상처가 노출되었을 때 발생하며 발열, 오한, 복통, 설사 등의 증상과 피부 병변이 나타난다[5]. 질병관리본부 보고[6]에 의하면 2011부터 2015년까지 5년간 전국에서 발생한 비브리오 패혈증 환자 269명 중 147명(54.6%)이 사망하는 등 비브리오 패혈증은 높은 치사율을 나타내고 있다. 이러한 원인은 비브리오 패혈증의 진행 속도가 매우 빠르고, ampicilin, moxalactam, cefoperazone, cefomandole 등의 항생제에 내성을 나타내며 신속한 치료가 이루어지지 않기 때문인 것으로 보고[7]되고 있다. 따라서 수산물 섭취로 인한 *V. vulnificus* 식중독을 예방하기 위하여 항생제 내성 *V. vulnificus*에 대한 항균활성 연구가 필요하다 하겠다.

매실(*Prunus mume*)은 장미과에 속하는 식물로 중국 동남부지방이 원산지로 한국, 중국, 일본에 분포하고 꽃을 볼 때는 매화나무, 열매를 수확 할 때는 매실나무라 지칭[8]되고 있다. 역사적 기록을 살펴보면 삼국유사와 삼국사기에 꽃에 대한 기록만 있어 삼국시대에는 정원수로 사용된 것으로 추정되며, 고려시대부터 약용으로 사용되기 시작하여 조선중기 이후 식품으로 이용[9]되고 있다. 매실에는 citric

*Correspondence to: Jung-Beom Kim, Department of Food Science and Technology, SunChon National University, 255 Jungang-ro, Suncheon, Jeonnam 57933, Korea
Tel: 82-61-750-3259, Fax: 82-61-750-3208
E-mail: okjbkim@sunchon.ac.kr

acid, malic acid 등 유기산이 다른 과일에 비해 풍부하며 rutin, syringaresinol, β-sitosterol 등 다양한 생리활성 물질을 함유하고 있으며, Ca, K 등 무기질 함량이 많아 매실주, 매실차, 매실엑기스, 매실음료 등 다양한 형태의 식품으로 가공되고 있다[5,8,10,11]. 한방에서 매실은 만성설사, 혈변, 구충 등의 약제로 이용되고 있으며, 특히 말린 매실을 오매라 하여 약제로 사용하고 있다[12]. 최근 연구에서는 당뇨병과 간 기능 개선, 항암 및 항산화 작용 등 다양한 생리활성 효과가 있는 것으로 보고[13,14]되고 있으며, 특히 식중독세균에 대한 매실 농축액과 매실 추출액의 항균효과 연구가 보고[8,11,12]되고 있다. 그러나 현재까지의 연구는 식중독세균 중 *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus*, *V. parahemolyticus*, *Escherichia coli* 등에 한정되어 있고, 수산물 섭취를 통해 매년 지속적으로 감염자가 발생하고 있는 *V. vulnificus*에 대한 연구는 전무한 실정이다.

따라서 본 연구에서는 수산물 섭취와 연관되어 가장 높은 사망률을 나타내는 *V. vulnificus*에 대한 매실 추출액의 항균활성을 측정함으로서 다소비 식품인 수산물의 미생물학적 안전성 확보에 기여하고자 하였다.

Materials and Methods

매실 추출물

실험에 사용한 매실 추출물은 매실즙을 착즙한 후 가열농축한 광양시 청매실농원의 고형분 함량 70% 이상인 매실농축액을 사용하였다. 매실 농축액을 동량의 멸균증류수로 용해하여 4,000 rpm에서 5분간 원심분리 한 후 상층액을 0.45 μm pore membrane filter (Toyo Roshi Kaisha Ltd., Tokyo, Japan)로 여과하여 매실 추출물 실험원액(100%)으로 하였다.

사용균주

실험에서 사용한 균주는 2014년부터 2015년 까지 수산물, 수족관수, 해수, 갯벌에서 분리되어 전라남도보건환경연구원에 보관된 *V. vulnificus* 28주를 대상으로 하였다. 양성, 음성 대조를 위한 표준균주는 *V. vulnificus* NCCP 11135, *V. parahemolyticus* NCCP 11143, *V. cholerae* NCCP 13589를 사용하였다.

V. vulnificus 확인동정

실험에 사용한 균주가 *V. vulnificus*임을 재확인하기 위하여 확인동정실험을 실시하였다. 보관균주를 thiosulfate citrate bile-salt sucrose agar (TCBS; Oxoid, Hampshire, England)에 도말하여 37°C에서 20시간 배양한 후 녹색집락을 선택하여 tryptone soy agar (TSA; Oxoid)에 계대 배양하였다. *V. vulnificus* 특이 유전자인 *vvhA* 유전자[15]를 분석하기 위하여 배양된 균주 한 백금이를 멸균 증류수 200 μL에 현탁한 후 100°C에서 15분간 가열하였다. 가열된 배양액을 14,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 상층액을 주형 DNA로 사용하였다. *V. vulnificus*의 *vvhA* 유전자 검출을 위한 real-time PCR은 Vibrio triplex real-time PCR kit (KogeneBiotech Co., Ltd., Seoul, Korea)와 real-time PCR (7500 Fast real-time PCR, Applied Biosystems, Singapore)을 사용 제조사의 실험조건에 따라 실시하였다. real-time PCR 결과 *vvhA* 유전자가 확인된 균주는 Vitek 2 system (Biomerieux, Durham, NC, USA)를 이용 생화학적 동정을 실시하여 최종 *V. vulnificus*를 확인하였다.

항생제 내성 검사

본 실험에 사용된 *V. vulnificus*의 항생제 내성 현황을 파악하기 위해 Vitek 2 system을 이용하여 항생제 내성을 실험하였다. 실험에 사용된 항생제 카드는 AST-N169 card (biomerieux)로 구성 항생제 종류는 ampicillin (AMP), amoxicillin/clavulanic acid (AMC), ampicilln/sulbactam (SAM), cefazolin (CFZ), cefotetan (CTT), cefoxitin (FOX), ceftriaxone (CRO), imipenem (IPM), amikacin (AMK), gentamicin (GEN), nalidixic acid (NAL), ciprofloxacin (CIP), tetracycline (TET), chloramphenicol (CHL), trimethoprim/sulfamethoxazole (SXT) 등 총 15종을 사용하였다. 각각 항생제에 대한 내성(Resistant; R), 중등도 내성(Intermediate; I), 감수성(Susceptible; S) 판정은 Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)의 항생제 내성기준[16]에 따라 판정하였다.

항균활성 측정

매실 추출물의 항균활성을 탐색하기 위해 *V. vulnificus* 분리균주 1주와 *V. vulnificus* NCCP 11135, *V. parahemolyticus* NCCP 11143, *V. cholerae* NCCP 13589 표준균주 각각 1주에 대하여 paper disc diffusion법[17]을 이용하여 실험하였다. 각각의 균주를 Mueller-Hinton broth (MHB; Oxoid)에 접종하여 37°C에서 18시간 배양한 후 멸균생리식염수를 이용 0.8 McFarland의 탁도를 나타내는 균액을 조제하였다. 조제된 균액을 Mueller-Hinton agar (MHA; Oxoid)에 균일하게 도말하였다. 멸균된 10 mm paper disc (Toyo Roshi Kaisha Ltd.)에 각각 농도의(5%, 2.5%, 1.25%, 0.625%) 추출물 50 μL를 흡수시켜 MHA 위에 놓고 37°C에서 18시간 배양하여 생육저해대의 지름(mm)을 측정하였다.

최소살균농도 측정

매실 추출물의 최소살균농도(MBC, minimum bactericidal concentration)는 액체배지희석법[17]에 따라 실험하였다. *V. vulnificus* 실험균주 28주와 *V. vulnificus* 표준균주 1주, 총

29주를 MHB (Oxoid)에 접종하여 항균활성 실험과 동일하게 0.8~0.9 McFarland의 탁도를 가진 균액을 조제하였다. 조제된 균액을 다시 멸균생리식염수로 100배 희석하여 접종 균액으로 하였다. 매실 추출액과 MHB (Oxoid)를 혼합한 후 MHB를 이용 계단 희석하여 매실 추출액-MHB 배지를 제조하였다. 제조된 매실 추출액-MHB 배지를 시험관에 1 mL씩 분주한 후 접종 균액 1 mL 넣어 최종 매실 추출액의 농도가 0.1%부터 6.4%까지 되도록 하였다. 균액이 접종된 시험관을 37°C에서 20시간 배양한 후 각각 시험관의 배양액 0.1 mL를 TSA에 spreading 하여 37°C에서 20시간 배양하였다. 배양결과 매실 추출액을 첨가하지 않은 시험관의 집락수를 기준으로 0.1% 이하 집락수를 나타낸 시험관의 매실 추출액 농도를 최소살균농도(MBC)로 하였다.

Results and Discussion

V. vulnificus 확인동정 및 항생제 내성

실험에 사용된 *V. vulnificus* 균주의 확인동정을 위하여 real-time PCR을 이용한 유전자 검출과 vitek 2 system을 이용한 생화학 동정을 실시하였다(Table 1). *vvhA* 유전자는 *V. vulnificus*의 병원성을 확인할 수 있는 용혈 유전자로서 real-time PCR을 이용한 *V. vulnificus* 동정 실험의 목적 유전자로 사용되고 있다[15]. Vitek 2 system 실험결과

Table 1. Real-time PCR and biochemical profiles for identification of *Vibrio vulnificus* strains

Strains	Source	Real-time PCR	Vitek 2 system		
		vvhA gene	Profiles	% ID	ID level
2014 R-1	Seawater in fish restaurant	Detected	5625711140461200	95%	Very good
2014 F-1	Fish	Detected	5621613140041001	99%	Excellent
2014 S-1	Seawater	Detected	5625713140421201	95%	Very good
2014 S-2	Seawater	Detected	1621611140440201	99%	Excellent
2014 S-3	Seawater	Detected	5625713540401221	96%	Excellent
2014 S-4	Seawater	Detected	5621713140421201	95%	Very good
2014 S-5	Seawater	Detected	5625711140540200	98%	Excellent
2014 S-6	Seawater	Detected	5621713140461220	93%	Very good
2014 S-7	Seawater	Detected	5625711140561201	95%	Very good
2015 S-1	Seawater	Detected	5621711540521201	92%	Very good
2015 S-2	Seawater	Detected	5625711140571221	93%	Very good
2015 S-3	Seawater	Detected	5625711140531221	93%	Very good
2015 M-1	Mud flat	Detected	5021713040200221	97%	Excellent
2015 M-2	Mud flat	Detected	5625713140621201	93%	Very good
2015 S-4	Seawater	Detected	5625711140531231	90%	Good
2015 S-5	Seawater	Detected	5625713540521220	93%	Very good
2015 S-6	Seawater	Detected	5625711140601201	98%	Excellent
2015 S-7	Seawater	Detected	5625713140541221	98%	Excellent
2015 S-8	Seawater	Detected	5625311140521201	95%	Very good
2015 S-9	Seawater	Detected	5625311140501201	99%	Excellent
2015 S-10	Seawater	Detected	5625711140511221	98%	Excellent
2015 M-3	Mud flat	Detected	5621713140461221	94%	Very good
2015 S-11	Seawater	Detected	5625711140421201	95%	Very good
2015 S-12	Seawater	Detected	1625713140511221	94%	Very good
2015 S-13	Seawater	Detected	5625713140001221	99%	Excellent
2015 S-14	Seawater	Detected	5625711140501223	99%	Excellent
2015 S-15	Seawater	Detected	1621211040001200	98%	Excellent
2015 S-16	Seawater	Detected	5625713140461020	93%	Very good

Table 2. Antibiotic resistance profiles of 28 *Vibrio vulnificus* strains

Strains	Source	Antibiotics[1,2)]														
		AMP	AMC	SAM	CFZ	CTT	FOX	CRO	IPM	NAL	AMK	GEN	CIP	TET	CHL	SXT
2014 F-1	Fish	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S
2015 M-1	Mud flat	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
2015 M-2	Mud flat	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
2015 M-3	Mud flat	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S
2014 S-1	Seawater	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S
2014 S-2	Seawater	S	S	S	S	I	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S
2014 S-3	Seawater	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S
2014 S-4	Seawater	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S
2014 S-5	Seawater	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S
2014 S-6	Seawater	S	S	S	S	I	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S
2014 S-7	Seawater	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S
2015 S-1	Seawater	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S
2015 S-2	Seawater	I	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S
2015 S-3	Seawater	S	S	S	S	I	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S
2015 S-4	Seawater	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S
2015 S-5	Seawater	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S
2015 S-6	Seawater	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S
2015 S-7	Seawater	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S
2015 S-8	Seawater	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S
2015 S-9	Seawater	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S
2015 S-10	Seawater	S	S	S	S	I	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S
2015 S-11	Seawater	S	S	S	S	I	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S
2015 S-12	Seawater	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
2015 S-13	Seawater	R	S	S	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S
2015 S-14	Seawater	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S
2015 S-15	Seawater	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S
2015 S-16	Seawater	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S
2014 R-1	Seawater in fish restaurant	R	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Resistance rate (%)		14.3	0	0	0	0	85.7	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Intermediate rate (%)		7.1	0	0	0	17.9	3.6	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Susceptible rate (%)		78.6	100	100	100	82.1	10.7	100	100	100	100	100	100	100	100	100

[1)]ampicillin (AMP), amoxicillin/Clavulanic acid (AMC), ampicilln/sulbactam (SAM), cefazolin (CFZ), cefotetan (CTT), cefoxitin (FOX), ceftriaxone (CRO), imipenem (IPM), nalidixic acid (NAL), amikacin (AMK), gentamicin (GEN), ciprofloxacin (CIP), tetracycline (TET), chloramphenicol (CHL), trimethoprim/sulfamethoxazole (SXT).
[2)]R: resistant, I: intermediate, S: susceptible

good identification, very good identification, excellent로 동정될 경우 분리 균주가 정확하게 동정되었음을 의미한다. real-time PCR 실험결과 28주 모두에서 *V. vulnificus*의 특이 유전자인 *vvhA* 유전자가 검출되었으며, 생화학 동정에서도 28주 모두 good identification 이상의 결과를 나타내어 본 실험에 사용된 분리균주는 모두 *V. vulnificus*임이 확인되었다.

*V. vulnificus*에 대한 항생제 내성 실험결과는 Table 2에 나타내었다. 실험결과 가장 높은 내성을 나타낸 항생제는 cefoxitin으로 24균주 (85.7%)에서 내성을 나타내었으며, ampicilln는 4균주 (14.3%)에서 내성을 나타내었다. 중등도 내성(intermediate)은 cefotetan에서 5균주 (17.9%), ampicillin

에서 2균주 (7.1%), cefoxitin에서 1균주 (3.6%)로 나타났다. 실험에 사용된 *V. vulnificus* 28균주 모두는 tetracycline과 chloramphenicol 등 11종의 항생제에 감수성을 나타내었다. 이러한 결과는 2001년 국내에서 분리된 *V. vulnificus*에 대한 항생제 내성 실험결과 chloramphenicol, tetracycline, nalidixic acid, ciprofloxacin, trimethoprim/sulfamethoxazole 항생제에 대해 87.6%에서 92.4%까지 감수성을 나타내었다는 보고[18]와 유사한 결과를 나타내었다. 비브리오 패혈증 치료에는 tetracycline과 chloramphenicol 항생제가 권장된다는 보고[5,7]와 비교 시 28균주 모두 tetracycline과 chloramphenicol 항생제에 감수성을 나타내어 환자 발생 시 이 두 종류의 항생제가 치료에 용이할 것으로 판단되었다. 그러나 2004년부터 2006년까지 인천지역 해양에서 분리한 *V. vulnificus*에 대한 항생제 실험결과 cefoxitin 내성 6.7%, ampicilln 내성 3.3%를 나타내었다는 보고[5]와 비교 할 때 cefoxitin 내성은 79%, ampicilln 내성 11% 증가한 경향을 나타내었다. 이러한 결과는 *V. vulnificus*의 항생제 내성이 증가할 위험성을 내포하고 있어 지속적 연구가 필요한 것으로 판단되었다.

*V. vulnificus*에 대한 매실 추출물의 항균활성

Vibrio spp.에 대한 매실 추출물의 항균활성 실험결과는 Table 3과 Fig. 1에 나타내었다. *V. cholerae* NCCP 13589와 *V. parahemolyticus* NCCP 11143 표준균주 모두 매실 추출물 0.625%와 1.25%에서 생육 저지환을 나타내지 않고, 2.5%와 5%에서 생육 저지환을 나타내었다. 또한 *V. vulnificus* 분리균주와 *V. vulnificus* NCCP 11135 표준균주 모두 매실 추출물 1.25%, 2.5%, 5%에서 생육 저지환을 나타내었고, 0.625%에서는 생육 저지환을 나타내지 않았다. *V. cholerae*와 *V. parahemolyticus*에 비해 *V. vulnificus*에 대한 매실 추출물의 항균활성이 높게 나타났다.

*V. vulnificus*에 대한 매실 추출물의 항균활성 연구가 전무하여 직접적인 비교는 어려우나 매실 착즙액의 식중독균에 대한 항균작용 실험결과 *Staph. aureus*, *B. cereus*, *E. coli*, *L. monocytogenes*, *S.* Typhimurium에 항균활성을 나타내었고[19], 매실 에탄올 추출물의 *V. parahemolyticus* 생육 억제 작용이 보고[20]되었다. 또한 매실 당침출액을 이용한 식중독균 생육저지 실험결과 *L. monocytogenes*, *E. coli*, *Staph. aureus*, *S.* Typhimurium, *B. cereus*, *V. parahemolyticus* 순으로 매실 당침출액의 항균활성이 크게 나타난 것으로 보고[8]되었다. *V. parahemolyticus*에 대한 매실 당침출액의 항균활성이 다른 식중독균에 비해 크다는 보고와 매실 추출액에 대한 항균활성은 *V. parahemolyticus* 보다 *V. vulnificus*에서 더 크다는 본 연구의 실험결과를 종합해 볼 때 수산물 중 *V. vulnificus* 생육억제에 매실 추출물이 매우 유용할 것으로 판단된다.

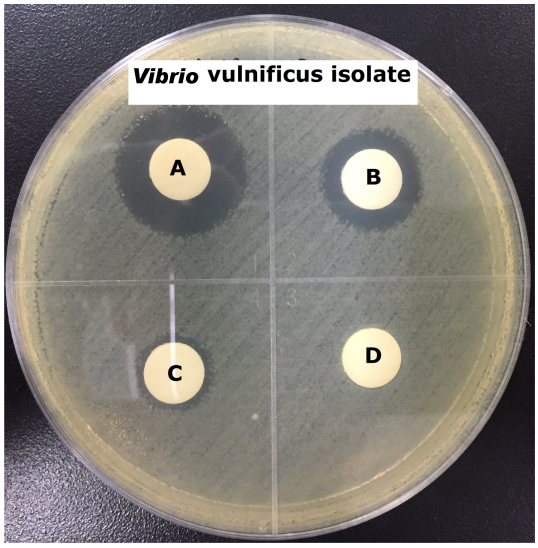

Fig. 1. Inhibition zone of Maesil (*Prunus mume*) extract against *Vibrio vulnificus* isolated in this study. A (5%), B (2.5%), C (1.25%), and D (0.625%) of Maesil extract.

*V. vulnificus*에 대한 매실 추출물의 최소살균농도

매실 추출액의 최소살균농도(MBC) 실험결과 *V. vulnificus* NCCP 11135 표준균주와 *V. vulnificus* 분리균주 28주 모두 매실 추출액 0.8% 농도의 시험관에서 혼탁이 관찰되고, 1.6% 농도의 시험관에서 혼탁이 관찰되지 않았다. 또한 0.8%, 1.6%, 3.2%의 시험액을 취하여 배양한 결과 0.8%에서는 *V. vulnificus* 집락이 형성되었고 1.6%와 3.2% 두 농도의 배양액에서는 *V. vulnificus* 집락이 형성되지 않아

Table 3. Antimicrobial activity of Maesil (*Prunus mume*) extract against *Vibrio* spp.

Strains	Diameter of clear zone (mm)[1]			
	0.625%	1.25%	2.5%	5%
Vibrio cholerae NCCP 13589	-[2]	-	11	14
Vibrio parahaemolyticus NCCP 11143	-	-	14	18
Vibrio vulnificus NCCP 11135	-	13	18	23
Vibrio vulnificus isolated in this study	-	13	18	22

[1] Concentration of Maesil (*Prunus mume*) extract loaded on paper disk was 50 μL/ 10 mm paper disc.
[2] No inhibition

매실 추출액의 최소살균농도는 1.6%로 나타냈다. 최소살균농도를 포함한 0.8%, 1.6%, 3.2% 매실 추출액-MHB의 pH는 각각 4.68, 3.91, 3.39로 측정되었다.

*V. vulnificus*에 대한 매실 추출물의 최소살균농도 연구가 전무하여 직접적인 비교는 어려우나 매실 당침출액 2% 농도에서 *Staph. aureus*와 *B. cereus*의 생육이 완전히 억제되었고, 1% 농도에서 *V. parahemolyticus*의 생육이 완전히 억제되었다는 보고[8]와 비교 시 매실 추출액 1.6%에서 *V. vulnificus* 생육이 완전히 억제된 것은 다소 높은 농도로 나타났다. 이러한 결과는 각각 실험에 사용된 매실 추출물과 당침출액의 항균물질과 유기산 함량의 차이에 기인하는 것으로 판단된다. 본 실험에 사용된 농축액과 동일한 방법으로 제조한 매실 농축액의 유기산 함량은 citric acid 1.5 g/100 g, malic acid는 12.1 g/100 g 으로 보고되고[21] 있다. 매실의 미생물 생육 억제작용은 isoeugenol, nomilin, β-sitosterol 등 항균물질과 함께 citric acid, malic acid 등의 유기산 작용에 의한 것으로 보고[8,11]되고 있다. 특히 유기산은 세포 내 pH와 세포막의 기질 투과성을 저하시켜 항균작용을 나타는 것으로 보고[22,23,24]되고 있다. 또한 매실 추출물의 친수성 분획이 미생물 대사관련 효소 중 glucose-6-phosphate dehydrogenase, succinate dehydrogenase, malate dehydrogenase, hexokinase 등 에너지대사 관여 효소 작용을 억제하는 것으로 보고[25]되고 있다. 이러한 보고를 종합해 볼 때 매실 추출물에 포함되어 있는 isoeugenol 등의 항균물질과 citric acid 등의 유기산이 미생물의 에너지대사 효소를 억제하고 세포막의 기질 투과성을 억제하여 항균활성을 나타내는 것으로 판단된다. 수산물과 관련된 비브리오균 중 발열, 설사, 복통과 함께 패혈증을 일으키는 *V. vulnificus*균은 국내에서 매년 환자를 발생시키고[5,6] 있으며 특히 최근 5년간 147명의 사망자를 발생시켰다[6]. 본 연구결과 *V. vulnificus*균에 대한 매실 추출물의 항균활성을 확인하였으며 수산물에 의한 식중독을 예방하기 위한 매실 추출물 활용연구가 필요한 것으로 판단된다.

Acknowledgement

본 연구는 전라남도보건환경연구원 지원에 의해 수행되었으며 이에 감사드립니다.

국문요약

*V. vulnificus*에 대한 매실 추출액의 항균활성을 측정함으로서 다소비 식품인 수산물의 미생물학적 안전성 확보에 기여하고자 하였다. 실험에서 사용한 균주는 수산물, 수족관수, 해수, 갯벌에서 분리된 *V. vulnificus* 28주를 대상으로 하였다. *V. vulnificus* 28주 모두에서 *vvhA* 유전자가 검출되고 good identification 이상의 생화학 동정 결과를 나타내어 *V. vulnificus*임이 확인되었다. 실험에 사용된 *V. vulnificus*는 tetracycline과 chloramphenicol 항생제에 감수성을 나타내어 환자 발생 시 이 두 종류의 항생제가 치료에 용이할 것으로 판단되었다. *V. cholerae* NCCP 13589와 *V. parahemolyticus* NCCP 11143 표준균주 모두 매실 추출물 2.5%와 5%에서 생육 저지환을 나타내었다. 또한 *V. vulnificus* 분리균주와 *V. vulnificus* NCCP 11135 표준균주 모두 매실 추출물 1.25%, 2.5%, 5%에서 생육 저지환을 나타내어 *V. cholerae*와 *V. parahemolyticus*에 비해 *V. vulnificus*에 대한 매실 추출물의 항균활성이 높게 나타났다. *V. vulnificus*에 대한 매실 추출액 최소살균농도가 1.6%로 나타나 수산물 중 *V. vulnificus* 생육억제에 매실 추출물이 매우 유용할 것으로 판단되었다. 수산물과 관련된 비브리오균 중 패혈증을 일으키는 *V. vulnificus*균은 국내에서 매년 지속적으로 환자와 사망자를 발생시키고 있다. 수산물 생식 시 발생할 수 있는 식중독을 예방하기 위한 매실 추출물 활용연구가 필요한 것으로 판단된다.

References

1. Yoon, J.H., Bae, Y.M., Oh, S.W., Lee, S.Y.: Current microbiological safety of sliced raw fish. *Safe Food*, **11**(3), 3-9 (2016).
2. Mok, J.S., Shim, K.B., Cho, M.R., Lee, T.S., Kim, J.H.: Contents of heavy metals in fishes from the Korean coasts. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **38**(4), 517-524 (2009).
3. Kim, J.H., Park, J.H., Lee, T.S., Lee, H.J., Kim, S.J.: Distribution of pathogenic Vibrios and environmental factors affecting their occurrence in the seawater of live fish tank. *J. Food Hyg. Saf.*, **16**(3), 241-246 (2001).
4. Hoi, L., Dalsgaard, A., Larsen, J.L., Warner, J.M., Oliver, JD.: Comparison of ribotyping and randomly amplified polymorphic DNA polymerase chain reaction (RAPD-PCR) for characterization of *Vibrio vulnificus*. Appl. Environ. Microbiol., **63**, 1674-1678 (1997).
5. Hwang, K.W, Oh, B.Y., Gong, Y.W., Lee, J.H., Go, J.M., Kim, Y.H.: Distribution and antibiotic resistance of *Vibrio vulnificus* isolated in Incheon coastal area, *Korea J. Sanitation*, **22**(4), 55-63 (2007).
6. Korea Center for Diseases and Control. Disease web statistics system. Available at: https://is.cdc.go.kr/dstat/jsp/stat/stat0001.jsp (Accessed date February 15th 2017).
7. Kim, D.M., Hong S.J.: *Vibrio vulnificus* sepsis. *The Korean J. Medicine*. **82**(6), 671-670 (2012).
8. Ko, S.M., Yang, J.B.: Antimicrobial activity of extracts of *Prunus mume* by sugar. *Korean J. Food Precerv.*, **16**(5), 759-764 (2009).
9. Jun, J.H., Yoon, I.K., Yun, S.K., Nam, E.Y., Kwon, J.H., Chung, K.H.: The story of small stone fruits. *RDA Interrobang.*, **127**, 1-20 (2014).
10. Mitsuo, M., Hirotoshi, U., Ken-ichi, I., Tomoki, Y., Yoshiharu, O., Harunari, T., Masae, T.: Inhibition of *Helicobacter pylori* motility by (+)-syringaresinol from unripe Japanese

apricot, *Bio. Pharm. Bull*., **29**(1), 17-173 (2006).
11. Park, W.P., Lee, S.C., Kim, S.Y., Choi, S.G., Heo, H.J., Cho, S.H.: Separation and identification of antimicrobial substances from *Prunus mume* extract. *Korean J. Food Preserv*., **15**(6), 878-883 (2008).
12. Bae, J.H., Kim, S.M., Lee, W.J., Lee, S.J.: Development of the functional beverage containing the *Prunus mume* extract. *Korean J. Food Sci. Technol*., **32**(3), 713-719 (2000).
13. Sheo, H.J., Ko, E.Y., Lee, M.Y.: Effects of *Prunus mume* extract on experimentally alloxan induced diabetes in rabbits, *Korean Soc. Food Nutr*., **16**(3), 41-47 (1987).
14. Sheo, H.J., Lee, M.Y., Chung, D.L.: Effect of *Prunus mume* extract on gastric secretion in rats and carbon tetrachloride induced liver damage of rabbits, *J. Korean Soc. Food Nutr*., **19**(1) 21-26 (1990).
15. WU, Z.H., LOU, Y.L., LU, Y.Y., YAN, J.: Development of quantitative real-time polymerase chain reaction for the detection of *Vibrio vulnificus* based on hemolysin (*vvhA*) coding system. *Biomed. Environ. Sci.*, **21**(4), 296-301 (2008).
16. Clinical and Laboratory Standards Institute: Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; 20th informational supplement. M100-S20-U. Wayne, PA, USA (2010).
17. Ko, M.S., Yang, J.B.: Effect of heating temperature on antimicrobial activities of garlic juice. *Korean J. Food Preserv*., **15**, 568-575 (2008).
18. Hwang, K.J., Young, I.J., Young, H.L., Kwang, J.L., Song, M.B., Ki, S.K.: Biochemical characteristics and antimicrobial susceptibility patterns of *vibrio vulnificus* isolated from the environment of Korea in 2001. *J. Bacterilogy Virology*, **33**(4), 285-291 (2003).
19. Lee, H.A., Nam, E.S., Park, S.I.: Antimicrobial activity of Maesil (*Prunus mume*) juice against selected pathogenic microorganisms. *Korean J. Food Nutr*., **16**(1), 29-34 (2003).
20. Lee, Y.G., Choi, Y.W., Joo, W.H.: Extraction process optimization of *Poncirus trifoliata* and *Prunus mume* for antibacterial activity against *Vibrio parahaemolyticus. J. Life Sci.*, **16**(4), 640-646 (2006).
21. Lee, A.N.: Physiochemical Evaluation for *Prunus mume* Products in Kwangyang area. Master Dissertation. Chonnam national university, Gwangju, Korea. (2016).
22. Beuchat, L.R., Golden, D.A.: Antimicrobials occurring naturally in foods. *Food Technol.*, **43**, 134-142 (1989).
23. Freese, E., Sheu, C.W., Galliers, E.: Function of lipophilic acids as antimicrobials food additives. *Nature*, **241**, 321-325 (1973).
24. Kim, B.R., Yoo, J.H., Jung, K.S., Heu, S.G, Lee, S.Y.: Inhibitory effect of organic acids and natural occurring antimicrobials against S*taphylococcus aureus* isolates from various origins. *J. Food Hyg. Saf*., **27**(4), 449-455 (2012).
25. Ha, M.H., Park, W.P., Lee, S.C., Heo, H.J.: Inhibition effect of *Prunus mume* extracts on physicological funtion of food spoilage microorganisms. *Korean J. Food Preserv*., **14**(3), 323-327 (2007).