Kor. J. Food Hygiene 7 (2, 3), 99-106 (1992)

천연항균성 물질을 이용한 *Vibrio vulnificus*의 살균 및 독소생성 억제효과

조성환 · 서일원** · 최종덕** · 전상수*** · 라택균*** · 정수근*** · 강동훈***
경상대학교 식품공학과, *㈜아비콘 케미
**통영수산전문대학, ***경상남도 보건환경연구원

Disinfectant and Inhibitory Effect of Natural Antimicrobial Agent on *Vibrio vulnificus* in Fish

Sung-Hwan Cho, Il-Won Seo*, Jong-Duck Choi, Sang-Soo Chun***, Taek-Kyun Na***, Soo-Keun Chung*** and Dong-Hoon Kang*****
Department of Food Science and Technology, Gyeongsang National University, Chinju 660-701, Korea
**ABCON Chemie Co. Ltd., Seoul 150-010, Korea*
***National Tongyong Fisheries Technical College, Choongmu 650-160, Korea*
****Kyong Sang Nam Do provincial Government Institute of Republic Health and Environment, Masan 630-500, Korea*

ABSTRACT—**To prevent food-poisoning outbreaks by *Vibrio vulnificus* the antimicrobial efficacy of grapefruit seed extract (GFSE) was examined. Minimal inhibitory concentration (*in vitro*) for the microorganism was found to be 50~100 ppm. Transmission electron micrographs of *Vibrio vulnificus* showed the biocidal action of this natural antimicrobial agent would be related to specific respiratory effect coupled with the destruction of permeable function of microbial cell membrane. After *Anguilla japonica* GFSE-injected to the body was incubated in the seawater contaminated by *Vibrio vulnificus* the fish meats were taken up, mixed with control diet and used as a diet in the feeding experiment. In this experiment the effect of GFSE treated with fish muscle on body weight, protein efficiency ratio, serum enzymes and serum blood components of broiler chicks was investigated. It is proved from this study that there is neither Vibriosis nor toxicity associated with GFSE itself and fish meats treated with it when it is injected to the fish body at a level of 250 ppm or less.**

Keywords□**Minimal inhibitory concentration, *Vibrio vulnificus*, Natural antimicrobial agent, Vibriosis, Feeding experiment**

해마다 6월~10월 사이에 생선회를 즐겨먹는 우리나라 사람들간에 빈번히 발생하는 세균성 식중독의 중요한 원인균의 하나가 장염 *Vivrio*균이다. 특히, *Vibrio vulnificus*는 이 균에 오염된 해산물의 섭취로 일어나는 패혈증 발병균으로 알려져 있다.[1] 이 균은 Farmer[2]에 의하여 *Vibrio vulnificus*로 명명되었고, Bauman[3]에 의하여 재확인되었다. 우리나라에서는 1979년에 처음으로 패혈증환자의 발생이 알려졌으나 정확한 원인을 구명하지 못하였고 1982년에 가서야 *Vibrio vulnificus*가 원인균임을 밝히게 되었다.[4] 이후 군산지역 어패류에 대한 분포 및 특성에 관한 연구[5]가 있으며 한국연안의 *Vibrio vulnificus*의 분포에 관한 연구[6-8]가 발표되면서 우리나라의 지역별 해양환경 및 서식생물에 대한 분포사항을 체계적으로 확인할 수 있었다.[8] 이와 같이 우리나라 서해안

Received for publication 30 June 1992
Reprint request: Dr. S.H. Cho at the above address

및 남해안 지역에서 여름철에 정기적으로 출현하는 *Vibrio vulnificus*는 식중독 뿐만 아니라 피부장해 증세를 일으키고[9] 다른 장염 *Vibrio*균 증세와는 달리 사망율이 높은 패혈증의 원인균으로 보고 있다. 최근 생선회를 먹은 사람들 중, *Vibrio* 패혈증으로 사망하는 경우가 늘어나면서, 여름철에 생선회 및 신선 어패류를 식용하는 수요가 극도로 감소하게 되어 바다 뱀장어, 광어, 흑돔, 방어, 가다랭이 등 생선회용 바닷고기를 어획하고 판매하여 수익을 올리고 있는 부산, 거제, 마산, 충무, 남해 등 경상남도 해안지역 일대의 주민들에게 막대한 양의 수입감소를 초래하고 있는 실정이며 *Vibrio* 패혈증균주의 균학적 특성규명과 사멸방법에 대한 연구가 필수적인 입장이다. 즉, *Vibrio* 패혈병균에 대한 강력한 살균력을 가진 보존제의 개발이 절실한 형편이다. 현재, 차아염소산나트륨 등의 염소계 살균제 또는 이산화염소 등의 산소계 살균제를 이용하여 양식장에서 치어 및 성어의 생육을 도모하고 있으나 이러한 화학방부제의 사용은 잔류독성을 유발할 가능성을 배제할 수 없다. 이와 같은 상황에서 독성이 없으면서 살균력이 있는 살균보존제의 사용은 필수적인 것이며 이러한 취지에서 개발과 더불어, 그 적용분야 및 사용방법을 검토하고 있는 천연추출물 중의 하나가 grapefruit 종자추출물(Grapefruit seed extract ; 이하 GFSE)이다. GFSE는 부패성 및 병원성 미생물의 세포벽 및 세포막의 기능을 약화시키고, 미생물 생리기능 작용을 하는 효소의 활성을 저해하고 DNA/RNA에서 비롯되는 세포증식기작을 방지하여 세균 및 곰팡이의 살균효과를 가지고 있는 천연항균제이다. 해마다 여름철이 되면 *Vibrio*균종에 오염된 생선회를 생식하여 발생되는 패혈병증세로 목숨을 잃는 사례가 빈번한 상황에서 GFSE와 같은 무독성 천연항균제에 의한 *Vibrio vulnificus*의 생육억제 및 독소생성억제 효과를 검토하는 동시에, GFSE 용액을 처리한 해산물이 실험동물의 생체기능에 미치는 영향에 관한 혈청학적 및 생화학적 실험을 실시하여, GFSE의 패혈병 발생 *Vibrio* 병균에 대한 살균효과 및 안전성을 조사함으로써 여름철에도 신선도가 높은 생선회 및 어패류의 이용을 유도할 수 있는 기초자료를 얻는데 본 연구의 목적이 있다.

재료 및 방법

Grapefruit 종자추출물의 조제

GFSE는 전보[10-12]에서 상술한 방법에 준하여 추출·조제하고 사용목적에 알맞도록 2차증류수로 희석하여 실험용 시료용액으로 사용하였다.

사용균주와 배양조건

본 실험에서는 해수 및 해산물에서 분리·동정된 *Vibrio vulnificus* strain 304를 기증받아서 본 실험실에서 분리·동정한 *Vibrio vulnificus* T-100와 함께 본 연구의 실험균주로 사용하였다. 실험배양균주는 3% NaCl을 함유한 BBL 미생물배지 trypticase soy agar에 매달 계대배양하여 3~7℃로 유지되는 저온실에 보관하고 필요에 따라 3% NaCl을 함유하고 있는 BBL 미생물 배지 Brain Heart Infusion(BHI-salt; pH 8.5)에 접종하고 25℃에서 16시간 동안 20 rpm으로 진탕배양함으로써 본 실험이 시작되기 직전에 분리하여 이용하였다. 본 실험에 사용된 균주의 최적배양조건을 알기 위하여 BHI-salt 배지에 균주를 접종하여 정치배양하였다. 정치배양은 5, 15, 25 및 35℃로 조절된 정온기에 각각 배양하여 Spectorophotometer로 540 nm에서 흡광도를 측정하여 최적생육온도 및 pH 조건을 결정하였다. 이때 최적생육온도는 pH 8.5에서, 최적생육 pH는 35℃에서 각각 48시간 동안 배양한 후, 측정하였다.

Vibrio 균주에 대한 GFSE의 항균효과 실험

GFSE 항균력 실험은 멸균된 BHI-salt 배지 8 ml을 함유하고 있는 Cryotubes속에 동일한 배지로 25℃에서 16시간 동안 20 rpm으로 진탕, 배양한 공시균 1 ml, 일정농도로 희석 조제된 GFSE 용액 1 ml을 각각 첨가하여 총량이 10 ml가 되게 한 다음, 생육최적온도에서 배양하여 BHI-salt agar 배지에 도말하고 시험균주의 감수성 및 GFSE의 최소저해농도(Minimal Inhibition Concentration : MIC)을 측정해서 판정하였다. 이때 사용한 GFSE 희석용액은 전술한 방법에 의하여 추출·조제한 GFSE 10g에 멸균한 생리식염수 90g을 가하고 혼합하고 이것을 다시 단계희석법으로 GFSE 농도가 0(대조구), 10, 30, 50, 100 및 1,000 ppm이 되도록 멸균수로 희석하여 사용하였다.

GFSE 처리에 의한 해산물의 안전성 검사

GFSE 용액을 처리한 생선회용 해산물의 안전성

을 확인하기 위하여 사양해수의 온도 및 공기공급 조건이 정확하게 조절되는 수조내에서 다음과 같은 실험을 실시하였다. 즉, 실험용 해산물(뱀장어; *Anguilla japonica*)에 일정농도의 GFSE 용액(50, 100, 250, 500 ppm)을 근육주사하고, 앞에서 배양한 공시균 1 ml를 접종한 사양수조내에서 2일간 사양한 후, 각 GFSE 농도처리구간별로 해산물의 육질부를 채취하여 안전성 검사용 실험재료로 하였다. 이때, 대조구는 GFSE 용액처리과정을 제외한 동일조건에서 사양하여 비교실험을 실시하였다. 먼저, 채취한 해산물의 육질부에 오염되어 있는 *Vibrio vulnificus* 균수를 조사하였으며, 균수측정은 TCBS(Thiosulfate citrate bile salts sucrose) 한천평판배지상에 멸균된 유리봉으로 어육부의 일정량을 도말하여 35℃에서 24시간 배양한 후, colony수를 확인하여 실시하였다. 아울러, GFSE 용액을 근육주사하고 수조내에서 일정기간 사육하여 수거한 생선회용 해산물의 안전성을 확인하기 위하여, 채취한 각 처리구의 어육부를 마쇄하여 냉장보관하면서 일정량(20g)씩을 표준사료(Table 1)에 첨가하여 생후 2주일된 병아리를 실험동물로 5주간 사양시켜 체중 증가율(Body weight gain/day), 단백질이용효율(Protein efficiency ratio ; PER), 혈청내 효소활성 및 혈청성분의 조성을 측정해서 GFSE 무처리구인 대조구와 비교·검토하였다. 즉, 200마리의 숫병아리를 부화장에서 구입하여 체중을 측정하고 사료와 물이 준비되어 있으며, 이러한 형광시설을 갖추고 있고, 보온시설이 있는 병아리 보육우리속에 넣어 사육하였다. 5주동안 사육시키면서 각 처리시험구의 우리속에서 각각 10마리씩 선발하여 각 주말마다 체중을 측정하였다. 또한 우리속에서 선발한 병아리를 대상으로 일정사육기간별로 단백질 초자관에 넣고 30℃에서 보관하여 응집된 덩어리가 형성되고 수축현상이 일어난 후 혈청내의 효소활성 및 혈청성분의 조성을 측정하였다. 이때, 혈청중 γ-Glutamyl transpeptidase 활성은 Orlowski변법[13,14]을 이용하였으며, Alkaline phosphatase는 Kind-king변법[15]을 사용하였고 혈청 Transaminase는 Reitman-Frankel법[16]을 이용하여 측정하였다. 아울러, 혈청중 Na, K, Ca은 HNO_3-$HClO_4$ 산화법[17]으로 분해하여 조제한 무기질시료용액을 채취하여 Atomic adsorption spectrophotometer(IL-151, U.S.A.)를 사용해서 별도로 작성한 standard curve로부터 함량을 측정하였고, phosphorus는 Vanado molybdate법,[18] cholrine은 AOAC법,[19] glucose는 Folin-Wu법,[20] cholesterol은 Bloor법,[21] creatinine은 일본 榮研화학주식회사의 creatinine 분석 시약을 이용하였으며,[22] phospholipid는 Marenai법,[23] urea-N는 Urease-indophenol법[24]에 의하여 분석하였다. 한편, 모든 실험결과에 대한 통계학적 분석은 LSD 검정방법[25]에 의해서 처리되었다.

미생물의 형태변화 검사

생선회용 수산물에 오염되어 독성물질을 생성하는 *Vibrio*에 대한 GFSE의 항균작용을 조사하기 위하여 다음과 같은 전자현미경적 방법을 이용하였다.[26] 즉, *Vibrio* 균주를 Brain heart infusion agar 배지에서 48시간 동안 배양한 다음, 배양균주의 일부를 GFSE 100 ppm 용액에 30분간 침지처리하고 원심분리하여 GFSE를 처리하지 않은 대조구와 함께 비교적 순수한 공시균주로 분리한 후 2.5% glutaldehyde 용액(1~4℃, pH 7~7.4)에서 2~4시간 동안 진탕·고정하고 1~2% osmium tetroxide 용액(1~4℃, pH 7~7.4)에서 30분에 한번씩 흔들어 주며 균주를 고정시켰다. 이어서 phosphate buffer(0.2 M, pH 7.0)로 진탕·수세하여 고정을 마무리한 다음, 50% ethanol과 무수 ethanol로 실온에서 20분씩 진탕하여 탈수하였다. 다시 propylene oxide로 30분간 2회 처리하여 치환하는 작업을 한 후, Epon 화합물(포매제 : Epon 812, 경화제 : DDSA, MNA, 가속제 : DMP-30)과 acetone과의 혼합비를 3 : 7, 5 : 5, 7 : 3 또는 100% Epon 화합물로 각각 1시간씩 처리하여 포매시켰다. 포매된 재료는 37℃ Electron Microscope(EM) oven에서 12시간, 45℃ EM oven에서 48시간, 총 72시간 열중합하고 LKB-V형 ultramicrotome으로 0.5~2.0 μm 두께의 Semithin section을 제작한 후, toluidine blue로 단염색하고 염색된 균사체 중 곰팡이포자(conidiospore)만을 다시, Ultrathin Section(60~90 nm)으로 박절한 다음, 광학현미경으로 관찰 대상부위를 확인하였다. 동일한 부위에서 은색절편을 제작하여 copper grid(200 mesh)에 부착시킨 다음, 1% uranyle acetate와 lead citrate를 사용하여 double stain으로 염색하고 투과전자현미경(Hitachi H-600 Transmission Electron Microscope)으로 검경하였다. 이때 100 ppm 농도로

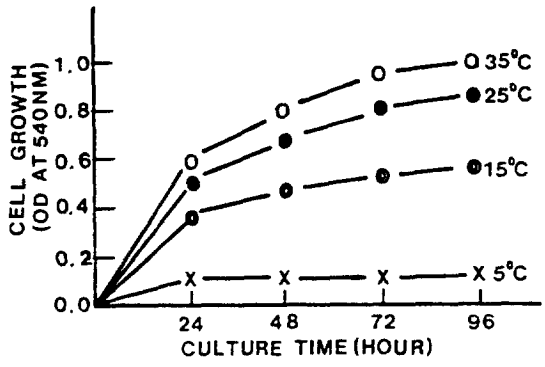

Fig. 1. Effect of incubation temperature on the growth of *Vibrio vulnificus* in BHI broth with 3% NaCl.

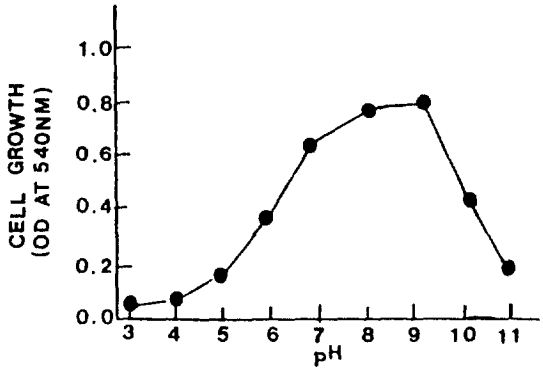

Fig. 2. Effect of pH on the growth of *Vibrio vulnificus* in BHI broth with 3% NaCl.

희석한 GFSE 용액에 처리한 세균세포를, GFSE 용액에 처리하지 않은 대조구 세균세포와 비교·검정하여 GFSE 용액이 미생물 세포벽 구조 및 생리기능에 미치는 영향을 중심으로 그 항균효과를 조사하였다.

결과 및 고찰

사용균주의 배양특성

BHI-salt 배지에 배양한 *Vibrio vulnificus*의 배양온도 및 pH별 배양특성은 각각 Fig. 1 및 Fig. 2와 같다. 즉, 배양 후, 4일 동안 어느 온도 조건에서나 기간이 경과할수록 생육이 증가하였으며, 배양 후 24시간 이내에 급격한 증가곡선을 보이다가 그 이후 성장속도가 감소하였다. 배양온도별로 볼 때, 5℃

Table 1. Composition of control diet

Compoent	Quantity
Wheat flour (30~40 mesh)	15.0g
Soybean flour (100 mesh)	25.0g
Dextrose	15.0g
DL-methionine	0.5g
Cow's milk	25.0 ml
Vitamin mixture*	7.0 ml
Fish meat	20.0g

*A 7.0-ml amount of vitamin mixture contained nicotinic acid (16.5 mg), nicotinamide (16.5 mg), pyridoxine·HCl (0.5 mg), riboflavine (2.5 mg) and sodium glycerophosphate (0.15g).

Table 2. Effect of GFSE on the growth of *Vibrio vulnificus* in the BHI broth with 3% NaCl

Test organisms	Concentration of GFSE (ppm)					
	0	10	30	50	100	1,000
Vibrio vulnificus 304	+	+	+	−	−	−
Vibrio vulnificus T-100	+	+	+	+	−	−

+: Growth −: No growth

에서는 전배양기간 동안 거의 생육하지 못하였고, 15℃에서는 35℃에서보다 반에도 미치지 못하는 성장증가율을 보였으나, 25℃에서 배양한 경우, 35℃에서 배양한 균주와 비슷한 성장증가율 및 생육속도를 나타내었다.

또한, *Vibrio vulnificus*의 pH별 생육조건을 검토한 결과, Fig. 2에서 보는 바와 같이 pH 7~9에서 성장율이 가장 높은 것으로 나타났다.

최소저해농도 측정

*Vibrio vulnificus*에 대한 GFSE의 생육최소저해농도를 조사하기 위하여, BHI-salt 배지내의 GFSE 농도가 각각 0(대조구), 10, 30, 50, 100 및 1,000 ppm이 되도록 조정하고, 25℃에서 16시간 예비배양한 균배양액 1 ml를 접종하여, 25℃에서 48시간 동안 배양한 후 균의 증식유무를 육안으로 확인한 결과는 Table 2와 같았다. 즉, *Vibrio vulnificus* 304는 50 ppm, *Vibrio vulnificus* T-100는 100 ppm 이상의 GFSE 농도에서 균의 증식의 억제로 보아,

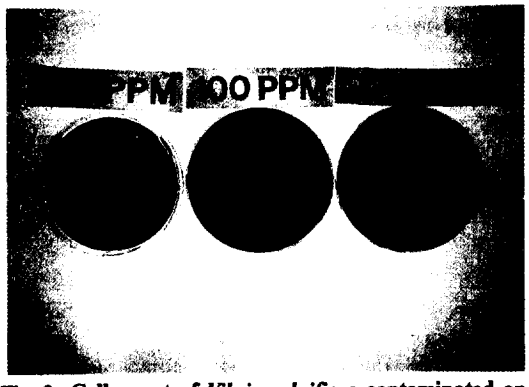

Fig. 3. Cell count of *Vibrio vulnificus* contaminated on fish meat not treated (control) and treated with 100 ppm or 250 ppm of GFSE.

Table 3. Effect of dietary GFSE on body weight gain of broiler chicks

GFSE concentration (ppm)	Body weight gain (g)			
	Week			
	1	2	3	5
0(Conrol)	48	83	145	260
100	48	88	148	256
250	49	80	147	264
500	50	85	152	263
1,000	46	78	136	251

Table 4. Effect of dietary GFSE on protein efficiency ratio of broiler chicks

GFSE concentration (ppm)	Protein efficiency ratio		
	Week		
	1	2	3
0(Conrol)	0.72	1.02	1.27
100	0.74	1.11	1.35
250	0.84	1.24	1.44
500	0.68	1.10	1.40
1,000	0.76	1.20	1.37

Table 5. Effect of dietary GFSE on serum enzymes of broiler chicks

GFSE concentration (ppm)	Serum enzyme activity (units/liter)		
	γ-Glutamyl transpeptidase	Glutamic oxaloacetic transaminase	Alkaline phosphatase
0(Conrol)	129	415	13,140
100	148	452	13,500
250	155	424	12.940
500	143	441	13,250
1,000	134	418	12,870

GFSE의 *Vibrio vulnificus*에 대한 항균력을 확인할 수 있었으며, 이 균주에 대한 GFSE의 최소저해농도(MIC)는 50~100 ppm 정도로 나타났다.

GFSE를 처리한 해산물의 안전성 검사

GFSE 용액을 근육주사하고 처리한 수조내에서 사양하여 수거한 생선회용 해산물의 어육부에 오염되어 있는 *Vibrio vulnificus*의 균수를 측정한 결과, Fig. 3에서 보는 바와 같이, 대조구에서는 2.8×10^3/g, 100 ppm 처리구에서는 4.5×10/g로 나타난 반면, 250 ppm 처리구에서는 *Vibrio*균이 전혀 검출되지 않았다.

한편, 수조내에서 사양, 채취한 해산물의 독성을 나타내는지 여부를 판정하기 위하여 마쇄한 어육부를 냉장보관하면서 Table 1에서 보는 바와 같이, 각 처리구의 어육부 20g씩을 표준사료에 첨가해서 생후 2주일된 병아리를 실험동물로 하여 5주간 사육시켜, 체중증가율, 단백질이용율, 혈청내 효소활성 및 혈청성분의 조성을 측정해서 표준사료만을 식이시킨 대조구와 비교·검토하여 GFSE 처리한 해산물의 안전성을 조사한 결과는 Table 3~5 및 6과 같다. 이 실험에서 측정된 모든 결과는 실험평균치이며, 각 식이처리구마다 각 처리기간별로 우리에서 무작위로 선발한 10마리씩의 닭을 실험용 시료로 하여 반복실험을 실시하여 측정치를 얻고, 그 산술평균치를 측정결과로 하였다. 즉, Table 3과 Table 4에서 보는 바와 같이, 체중증가율 및 단백질이용효율은 처리시험 구별 뿐만 아니라, GFSE 처리 농도별로 뚜렷한 경향성을 보이지 않고 있으며 이 결과치에 대한 LSD 통계처리결과의 F값이 0.3~1.4로서, 95% 신뢰도 수준에서, 측정된 어떠한 결과에서도 유의성있는 차이를 보이지 않아, GFSE를 처리한 해산물이 전혀 실험동물의 체중증가 및 사료이용에 부작용을 유발하지 않음을 확인할 수 있었다. 아울러,

Table 6. Effect of dietary GFSE on serum blood components of broiler chicks

GFSE (ppm)	Glucose (mg%)	Choleterol (mg%)	Creatinine (mg%)	Uric acid (mg%)	Calcium (mg%)	Potassium (meq/l)	Sodium (meq/l)	Phosphorus (mg%)
0	143	115	0.31	4.9	13.2	2.2	24.4	1.2
100	148	130	0.30	6.1	11.8	2.9	30.6	1.3
250	157	124	0.42	4.3	12.5	2.9	22.7	1.9
500	139	128	0.35	5.4	13.7	2.1	21.5	1.2
1,000	144	120	0.33	5.0	13.4	1.6	17.8	1.2

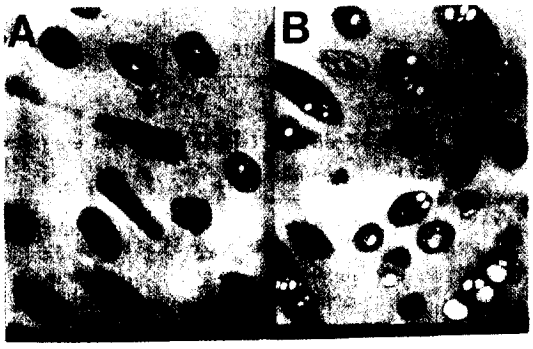

Fig. 4. Transmission electron micrographs of *Vibrio vulnificus*.
A: Control, B: Treated with GFSE) (magnification: ×17,000).

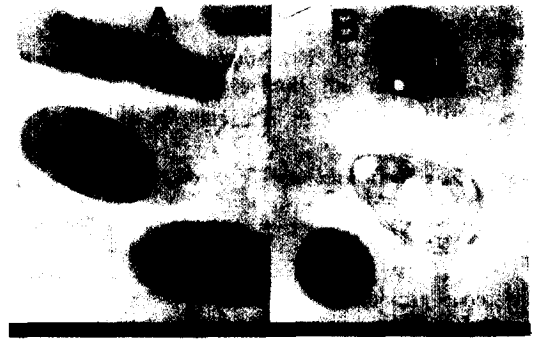

Fig. 5. Transmission electron micrographs of *Vibrio vulnificus*.
A: Control, B: Treated with GFSE) (magnification: ×42,500).

Table 5 및 Table 6에서 나타난 결과에서 보듯이, GFSE 처리구의 경우, 대조구사료처리구와 비교하여 혈청내 주요 효소활성 및 혈청성분 함량에 뚜렷한 감소를 목격할 수 없었다. 이와 같은 결과로 미루어, GFSE를 1,000 ppm 이하 수준으로 해산물에 처리하였을 때, GFSE는 *Vibrio* 균주의 사멸을 유도할 수 있을 뿐, GFSE 첨가에 따른 실험동물의 성장저해 또는 독성현상을 유발하지 않음을 알 수 있었다. 물론, 1,000 ppm 이상의 농도로 처리하여 5주 이상의 장기간에 걸친 식이실험결과를 보완해야, GFSE의 안전성을 확신할 수 있겠으나, 식품첨가물의 독성작용을 판정하는 기존의 여러 측정변수값을 기초로 하여 볼 때, 이 실험에서 사용된 농도수준의 GFSE는 결코 독성작용을 일으킬 가능성이 없으며, GFSE 처리의 안전성을 확인할 수 있었다고 생각된다.

균체세포의 전자현미경학적 형태변화

해산물에서 분리한 *Vibrio vulnificus* 균체세포를 100 ppm 농도의 GFSE 용액으로 처리한 것을 처리하지 않은 대조구 균주와 함께 전자현미경 촬영 시료로 조제하여 촬영한 결과는 Fig. 4(배율 : 17,000배) 및 Fig. 5(배율 : 42,500배)와 같다. Fig. 4 및 Fig. 5에서 보는 바와 같이 GFSE를 처리한 *Vibrio vulnificus* 균체세포는 세포막의 기능이 파괴되어 세포내 용물이 균체외부로 유출되어 균체의 생육이 억제되며, 균체내부가 빈 ghost 형태의 균체수가 증대함을 알 수 있었다. 이것은 GFSE가 미생물의 세포내 생리활성효소의 기능을 약화시키고, DNA/RNA 유전정보기작을 방해한다는 기존의 연구보고로 미루어 포자의 세포벽 및 세포막의 기능이 상실되어 포자내 용물의 소실 등으로 인한 GFSE의 항균작용에 기인하는 것으로 생각된다. 현재까지 GFSE의 항균성분으로는 2,4,4′-trichloro-2′-hydroxydiphenyl ether 및 methyl-p-hydroxy-benzoate 등이 HPLC법에 의하여 분리되고, MS, NMR 등의 기기분석법에 의하여 동정·발표된 바 있으며,[27] 이 분석결과는 일부 가공조제된 GFSE 특정제품의 성분검출내용으로, 이와 같은 화학합성물질이 천연추출물에서 과연 검

출될 수 있는 것인지 의문점을 제기시키고 있으며, GFSE의 항균활성물질 및 그 작용기작을 확립하기 위하여서는 먼저, 항균작용에 관여하는 GFSE의 유효활성물질을 추출, 규명하고, 이들의 복합적인 작용기작을 조사하는 기초연구가 선행되어야 하며, 항균성분의 미생물 세포에 대한 작용 부위 및 작용억제기작 등 GFSE의 미생물억제 작용에 대한 다각적인 실험이 더 많이 진행되어야 할 것으로 사료된다.

감사의 글

이 논문은 1991년도 교육부지원 한국학술진흥재단의 자유공모과제 학술연구조성비에 의하여 연구되었으며 이에 깊은 감사를 드립니다.

국문요약

생선회용 해산물에 오염되어, 생식한 경우 발생되는 패혈병의 원인균주인 *Vibrio vulnificus*의 생육 및 독성생성을 억제할 목적으로 천연 항균제인 Grapefruit 종자추출물(GFSE)을 이용하여 그 항균효과를 검토하였다. *In vitro* 시험결과, *Vibrio vulnificus*에 대한 GFSE의 생육최소저해농도는 50~100 ppm 정도이었으며, *Vibrio vulnificus* 균체세포를 100 ppm 농도의 GFSE 용액으로 처리하고 전자현미경 촬영시료로 조제하여 촬영한 후, 미생물형태를 무처리대조구와 비교, 검토한 결과, GFSE 처리로 세포막 기능이 파괴되어 세포내용물이 균체외부로 유출되어 균체의 생육이 억제되고 균체내부가 빈 ghost 형태의 균체수가 증대되어 GFSE의 항균효과를 확인할 수 있었다. 한편, 생선회용 해산물에 GFSE를 근육주사하고 *Vibrio vulnificus*를 접종한 수조내에서 사육하여 채취한 어육부를 마쇄하여 일정량씩을 표준사료에 첨가해서 통닭용 병아리를 실험동물로 하여 사양실험을 실시한 결과, 체중증가율, 단백질이용효율, 혈청내 효소활성, 혈청의 주요성분함량 등에 있어서, GFSE 처리수조내에서 사육한 해산물을 첨가한 시료시험구의 경우, 무첨가사료처리구와 비교할 때 뚜렷한 차이를 목격할 수 없었으며, GFSE 첨가에 따른 실험동물의 성장저해 또는 독성현상을 유발하지 않음을 알 수 있었다. 아울러, 각 처리구에서 사양한 해산물의 어육부에 오염된 *Vibrio vulnificus*의 균수를 측정한 결과, 250 ppm 이상의 GFSE 처리구에서는 *Vibrio vulnificus*를 전혀 검출할 수 없었다.

참고문헌

1. Tilson, D.L. and Kelly, M.T.: Vibrio species of medical importance. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.*, **2**, 263-276 (1984).
2. Farmer, J.J.III.: Revival of Name *Vibrio vulnificus*. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, **30**(4), 656 (1980).
3. Bauman, P.L., Bang, S.S., Woolklis, M.J.: Revaluation of the taxonomy of *Vibrio, Beneckea, and Photobacterium* (Abolition of the genus *Beneckea*). *Curr. Microbiol.*, **4**, 127-132 (1890).
4. 구정순, 김대원, 한규섭, 석정성, 박명희, 김상인: Lactose fermentation *Vibrio*(*Vibrio vulnificus*) 패혈증 5예. 대한병리학회지, **16**(3), 463-469 (1982).
5. 김신무, 김현숙: 어패류에서 *Vibrio vulnificus*의 분리. 대한임상병리학회지, **17**(1), 78-84 (1985).
6. 장동석, 신일식, 최승태, 김영만: *Vibrio vulnificus*의 분포 및 세균학적 특성. 한국수산학회지, **19**(2), 118-126 (1986).
7. 김영만, 신일식, 장동석: 한국 연안 *Vibrio vulnificus*의 분포 및 세균학적 특성. 한국수산학회지, **20**(6), 591 (1987).
8. 김영만: 한국 연안의 *Vibrio vulnificus*의 분포 및 독소에 관한 연구. 부산수산대학교 대학원 박사학위논문 (1987).
9. Blake, P.A., Merson, M.H., Weaver, R.E., Hollis, D.G. and Heublein, P.C.: Disease caused by a marine Vibrio clinical characteristics and epidemiology. *N. Engl. J. Med.*, **360**, 1-5 (1979).
10. 최종덕, 서일원, 조성환: Grapefruit 종자추출물의 항균 및 식품보장효과. 한국수산학회지, **23**(4), 297-302 (1990).
11. 조성환, 서일원, 최종덕, 주인생: 자몽종자추출물이 Penicillium islandicum의 생육 및 독성성분 skyrin 생합성에 미치는 저해효과. 한국농화학회지, **33**(2), 169-173 (1990).
12. Harich, J.: DF-100. U.S. Patent 1,354,818 FDA No. R-0013982 (1982).
13. Szewozuk, a., Orlowski, M.: *Clin. Chim. Acta.*, **5**, 680 (1960).
14. 金井 泉 等: 臨床檢査法提要, 改訂 第29版, p.532, p. 534 (1983).

15. 北村元仕 等: 實踐臨床化學 (增補板, p. 343 (1982).
16. Reitman, S. and Frankel, S.: A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxaloacetic and glutamic pyruvic transaminases. *J. A. Clin. Pathol.*, **28**, 56-63 (1957).
17. Rebert, B. and Dorothy, D.B.: Methods in Enzymology III, 1002-1004 (1971).
18. Snell, F.D. and Snell, C.T.: Colorimetric method of analysis 3th Ed. p.3-p.7.
19. A.O.A.C.: Official method of analysis of the assockiation of official analytical chimists, 12th Ed. (1980).
20. Metcalf, L.D., Schmitz, A.P.: *Anal. Chem.*, **38**, 54 (1966).
21. Bloor, W.R.: *J. Biol. Chem.*, **190**, 513 (1951).
22. 日本臨床: 黃節園 血液·尿化學檢查, 免疫學的 檢查, 上卷 p.258 (1985).
23. Marenzi, A.D. and Cardini, C.E.: *J. Biol. Chem.*, **147**, 363 (1943).
24. Chaney, A.L. and Marbach, E.P.: Modified reagents for the determination of urea and ammonia. *Clin. Chem.*, **8**: 130 (1962).
25. 김병수, 안윤기, 윤기중, 윤상운: SPSS를 이용한 통계자료분석. 박영사, p. 298-369 (1987).
26. Pyliotis, N.A., Withecross, M.J. and Jacobsen, J.V.: Localization of gibberlic acid-induced acid phosphorylase acitivity in the edodplasmic reticulum of barley aleurone cells with the eledtron microscope. *Planta*, **147**, 134 (1979).
27. Nishiina, A., Kiraha, H., Uchibori, T. and Oi, T.: Antimicrobial substances in DF-100, Extract of Grapefruit Seeds. *Journal of antibacteral and Antifungal Agents* **19**(8), 401-404 (1991).