

천연식물성 항균제처리에 의한 과채류의 선도유지 및 병해방지

경상대학교 식품공학과 조성환

1. 서 론

대부분의 농산물은 1년간 계속해서 수확되는 것이 아니라 기후의 제약을 받아 그 생산량도 매년 변동하고 있으며 수요와 공급이 불균형일 때는 가격진폭이 커서 생산된 농산물을 소비자에게 적기에 공급하기 위해서는 저장을 하여야만 한다. 그러나, 현재 농촌실정을 볼때, 대부분의 농가가 저장기술이 부족하여 농산물 수급 및 가격안정에 큰 문제가 되고 있다. 따라서, 어떻게 저장을 해야 농산물이 원래 갖고 있던 영양분을 잃지 않고 생산되었을 당시의 형태와 신선도를 유지할수 있는가 하는 것이 저장의 중요한 과제이다. 농산물 특히, 과채류는 수확후 저장중에 호흡작용, 증산작용등의 생리작용 뿐만아니라, 곰팡이를 비롯한 식물병리미생물의 오염 및 성장으로 부패현상을 일으키고 과채류 자체의 경도가 저하되며, 수분, 비타민, 유기산, 당분, 색소함량등이 떨어져서 부패되지는 않는 것이라도 외관, 맛, 신선도등이 떨어져서 재값을 받을 수 없게된다. 일반적으로 현재까지 사용하고 있는 과채류의 저장방법으로는 저온저장¹⁾, CA(Controlled Atmosphere)저장²⁻¹⁴⁾, Film포장^{15,16)}, 방사선조사¹⁷⁻²⁰⁾, 감압처리, 대체가스치환, 피막제처리, gas조절제(탈탄소제, 탄산가스조절제, 질소혼입방법등), 에틸렌등 노화촉진 gas제거제, 습도조절제처리 등이 있으나, 저온저장, CA저장, 방사선조사는 고가의 시설비 및 경영비가 소요되고 수준높은 기술로만이 정상적인 관리가 이루어질수 있는 저장시설로서 산지농가에서는 그 이용이 불가능한 처리기술이다. 최근, 과채류의 소비가 계속적으로 증대하고 있고, 시설원예의 발달로 생산량이 늘어나고 있는 상황에서 저온저장시설이 제대로 갖추어져 있지 않은 농촌실정 때문에 매년 수확기에 일시적으로 홍수출하하는 많은 양의 과채류를 병충해로 폐기처분하게 되고 번패되기 전에 낮은 가격으로나마 수확 즉시 신속하게 판매처리해야할 어려움에 직면하고 있다. 상기한 처리방법에 예시되어 있는 바와 같이, 종래에는 과채류의 선도유지는 농작물의 생리기능의 억제를 최대의 주안점으로 하여 검토되어 왔으나, 최근에는 과채류의 생리활성을 적극적으로 지속시키면서 선도를 유지시키는 방향으로 연구가 꾸준히 진행되고 있으며, 이와 같은 취지의 선도유지제의 개발이 시급한 실정이다.

따라서, 저렴하고 단순한 처리저장기술을 개발하여 산지농가에 보급, 활용계함으로써

과채류의 수확시기나 횡수에 상관없이 년중내내 신선도를 유지한 과채류를 공급할수 있는 상황이 시급히 도래할 필요성이 요구되고 있다. 앞서 제시한 저온저장 및 CA저장은 현재 알려진 저장시설 중에는 가장 이상적이라고 볼수 있겠으나 시설 및 관리유지 비용 등이 많이 소요되므로, 냉장 또는 냉동시설을 설치할 수 없는 농가의 입장에서 그 이용은 실현성이 없는 일이다. 이와 같은 실정을 고려하여, 저렴한 가격으로 설치 가능한 농가용 간이저장고를 조립하고, 저장고내의 온도 및 습도가 적정수준으로 유지 되도록 한 다음, 과채류의 저장중, 식물병리미생물의 오염 및 성장을 억제할 수 있는 강력한 천연항균제이며 보존제인 grapefruit종자추출물(Grapefruit seed extract:이하 GFSE라 칭함)^{21,22)}을 처리하고, CA저장효과를 유도할 수 있는 polyethylene film내에 포장하여 자연저온(10-15℃) 또는 냉장저온(5-10℃)이 유지되는 간이저장소에 저장함으로써 과채류의 선도유지 및 병해방지에 충분한 대체효과를 기대할수 있을 것이다.

2. GFSE의 물리·화학적 특성²³⁻²⁷⁾

GFSE는 grapefruit종자와 과육의 건조혼합물(중량비 4:1)을, glycerine을 용매로 하여 일정한 system의 연속추출장치에서 추출하여 제조한 것으로 주요활성물질로 naringin 2.8%(Fig.1), ascorbic acid 9.5%(Fig.2)가 함유되어 있으며, 이외에도 hesperidin 0.46%, citric acid 0.35%, caffeic acid 10mg/l, chlorogenic acid 5mg/l, p-coumaric acid 5mg/l, phloroglucinol 20mg/l 및 malic acid, fumaric acid, oxalic acid등의 유기산과 β -limonene등이 소량 혼합물로 구성되어 있다. 일정한 연속추출과정과 장치에 의하여 추출·조제된 GFSE는 레몬빛 점도 높은 액체물질로서 약간 쓴맛이 나며, 레몬향의 산성용액으로 물, 알콜, 유기산등에 잘 용해되고 582nm에서 최대흡광도를 보인다(Fig.3).

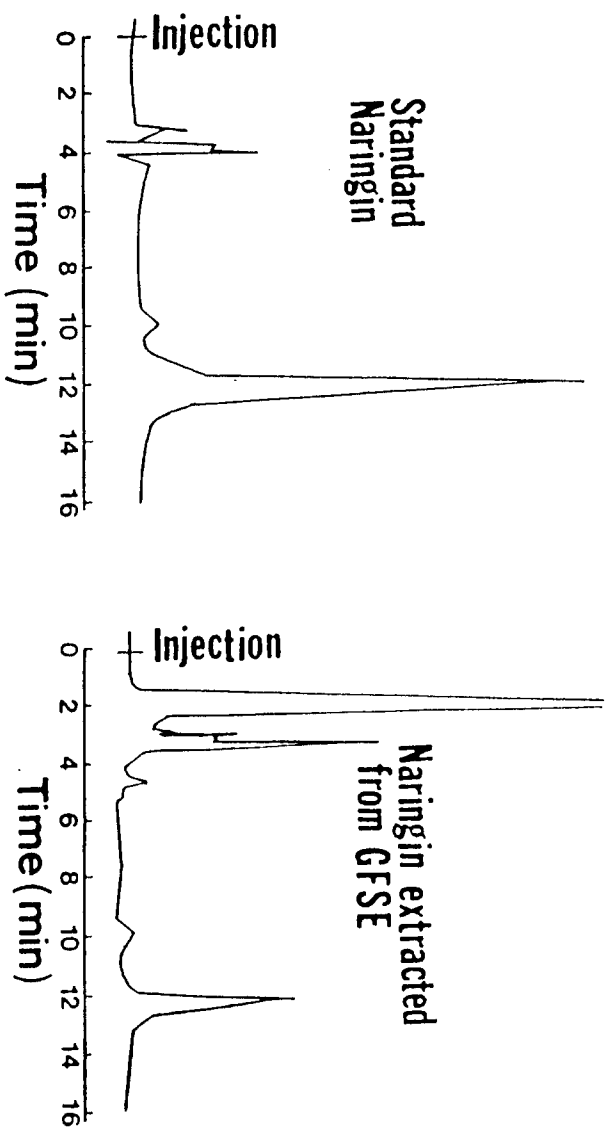


Fig. 1. The HPLC chromatogram of naringin in GFSE.

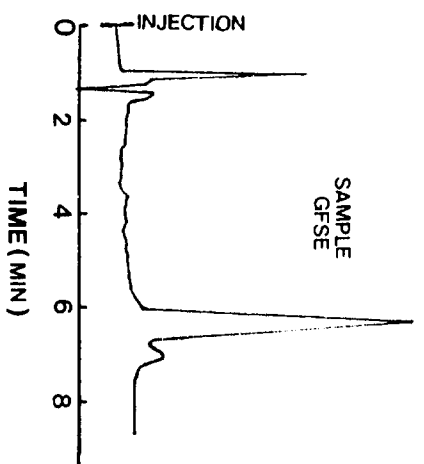
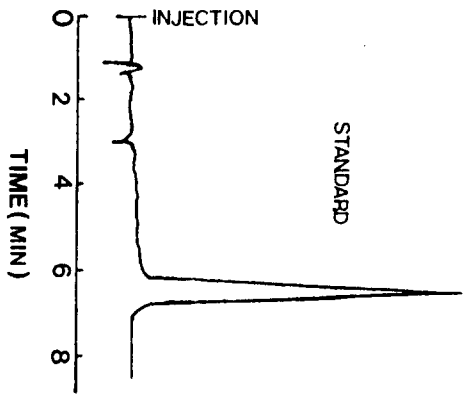


Fig. 2. The HPLC chromatogram of ascorbic acid in GFSE.

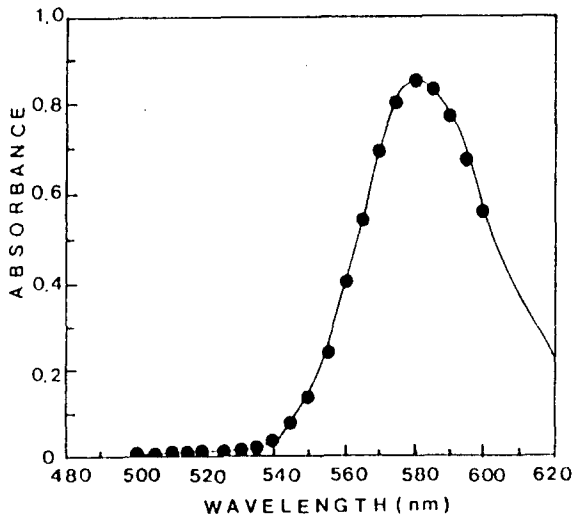


Fig.3. Absorption spectra of GFSE.

Perkin-Elmer Model 1330 Infrared Spectrophotometer를 이용하여 4,000-400 CM^{-1} Frequency에서 얻어진 Infrared spectrum 결과, 3600 CM^{-1} 에서 carboxyl acid의 OH stretch, 3500-3200 CM^{-1} 에서 물분자의 OH, 3080 및 3050 CM^{-1} 에서 terminal unsaturated carbon의 CH, 3000 CM^{-1} 에서 trans C=C의 CH stretch, 2980-2880 CM^{-1} 에서 methyl groups의 CH, 1770 CM^{-1} 에서 unsaturated ester의 C=O, 1700 CM^{-1} 에서 unsaturated carboxylic acid의 C=O stretch, 1610 및 1580 CM^{-1} 에서 방향족 화합물의 C=C stretch 또는 carboxylic acid의 OH deformation, 1520 CM^{-1} 에서 방향족 화합물의 skeletal ring stretch, 1470 CM^{-1} 에서 CH_2 의 CH deformation, 1370 CM^{-1} 에서 CH_3 의 CH deformation, 1300 CM^{-1} 에서 carboxylic acid의 OH deformation, 1250 CM^{-1} 에서 carboxyl의 C-O stretch, 1150 및 1050 CM^{-1} 에서 carboxylic acid의 OH deformation와 carboxylic의 C-O, 또한 1급 amine의 C-N, 870-720 CM^{-1} 에서 방향족 화합물의 CH out-of-plane deformation와 같은 functional group의 존재를 확인할 수 있다

(Fig.4).

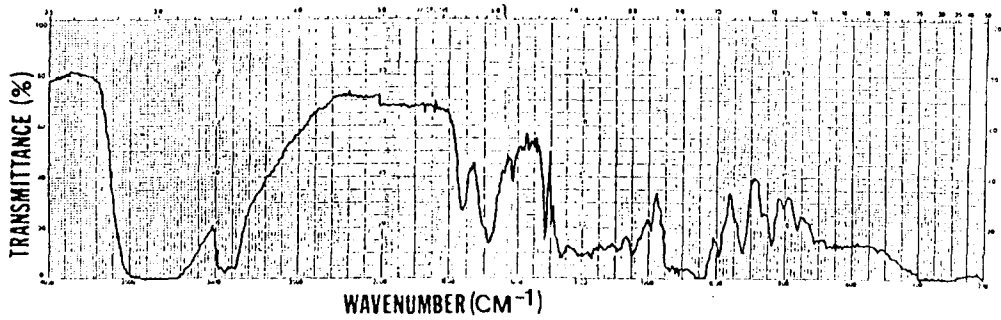


Fig.4. The infrared spectral interpretation of GFSE.

한편, GFSE용액의 성상 및 물리적 특성은 Table 1과 같다.

Table 1. Physical properties of Grapefruit seed extract

Appearance	Liquid/Heavy Viscous
Colour(Gardner)	2(lemmon yellow)
Specific gravity(25°C)	1.110
Density(lbs/gal)	9.37
pH(25°C)	2.5 - 3.0
Flash point(°F)	292
Viscosity(centistokes)	134.91
Viscosity index	-23.2
Surface tension - average of 5 readings(dynes/cm)	40.0
Apparent interfacial tension(dynes/cm)	5.0
True corrected interfacial tension(dynes/cm)	4.5
Flavour(taste)	lightly bitter
Smell	fragrance lemmon agreeable
Solubility 100% in	water, alcohol, organic acids
Stability and knock down better in	acid pH
Corrosivity	similar potable water

3. GFSE의 항균활성²¹⁾

GFSE는 세균, 곰팡이, 효모 및 바이러스등 광범위한 병원성 및 부패성 미생물에 대하여 강력한 항균작용을 소유하고 있으며, 다음 Table 2와 같이 각 미생물에 대한 최소저해농도(Minimum Inhibitory Concentration : MIC)를 나타내고 있다.

Table 2. Antimicrobial activity of grapefruit seed extract

Bacteria	MIC*(ppm)
<u>Escherichia coli</u>	25
<u>Staphylococcus aureus</u>	3.1
<u>Bacillus subtilis</u>	3.1
<u>Pseudomonas aeruginosa</u>	1000
<u>Salmonella typhimurium</u>	6.3
<u>Klebsiella pneumoniae</u>	6.3
<u>Proteus sp.</u>	50
<u>Staphylococcus aureus</u> (multi-resistant)	3.15
<u>Staphylococcus aureus</u>	4-10
<u>Streptococcus</u> (beta hemolytic)	5-10
<u>Streptococcus faecalis</u>	14-100
<u>Streptococcus pyogenes</u>	2-5
<u>Diplococcus pneumoniae</u>	10
<u>Klebsiella sp.</u>	7-10
<u>Proteus sp.</u>	1-3
<u>Pseudomonas sp.</u>	100-250
<u>Salmonella sp.</u>	3-9
<u>Escherichia coli</u>	4-7
<u>Brucella abortus</u>	4
<u>Mycobacterium sp.</u>	100
<u>Corynebacterium equi</u>	6
<u>Shigella dysenteriae</u>	7
Molds	MIC(ppm)
<u>Trichopyton sp.</u>	4.9
<u>Epidermophyton floccosum</u>	7
<u>Aspergillus sp.</u>	50-100
<u>Penicillium sp.</u>	20-50
<u>Aspergillus niger</u>	1000
<u>Aureobasidium pullulans</u>	125
<u>Gliocladium virens</u>	1000
<u>Fusarium moniliforme</u>	1000
<u>Alternaria alternata</u>	500
<u>Trichophyton mentagrophytes</u>	500
Yeasts	
<u>Candida sp.</u>	9-10
<u>Saccharomyces sp.</u>	100
Viruses	
Avian influenza virus	1000
Foot and mouth disease virus	4000
African swine fever virus	4000
Vesicular stomatitis virus	4000

Note : The above research was conducted by Wells Laboratory and Southern Research Laboratory in the U.S.A. with the exception of the viruses, which were researched by the United States Department of Agriculture.

GFSE와 일반과채류의 살균소독제인 sodium hypochlorite의 처리농도별 미생물의 생육관계를 표시한 것은 Table 3과 같다.

Table 3. Effects of GFSE and sodium hypochlorite on the growth of bacteria and molds in the nutrient broth and in the potato dextrose broth, respectively

TEST ORGANISMS	CONCENTRATION OF GFSE AND SODIUM HYPOCHLORITE (ppm)					
	2000	1000	500	250	100	0
<i>Vibrio vulnificus</i>	-(-)*	-(-)	+(-)	+(+)	+(+)	+(+)
<i>Vivrio fluvialis</i>	-(-)	-(-)	-(-)	+(+)	+(+)	+(+)
<i>Bacillus cereus</i>	-(-)	-(-)	-(-)	-(-)	+(+)	+(+)
<i>Staphylococcus aureus</i>	-(-)	-(-)	-(-)	-(+)	+(+)	+(+)
<i>Serratia sp.</i>	-(-)	-(-)	-(-)	-(-)	-(-)	+(+)
<i>Aspergillus parasiticus</i>	-(-)	-(-)	+(-)	+(-)	+(+)	+(+)
<i>Aspergillus versicolor</i>	-(-)	-(-)	-(-)	+(+)	+(+)	+(+)
<i>Penicillium funiculosum</i>	-(-)	-(-)	+(-)	+(+)	+(+)	+(+)
<i>Pyrenochaeta terrestris</i>	-(-)	-(-)	-(-)	-(-)	-(+)	+(+)
<i>Trichoderma viride</i>	-(-)	-(-)	-(-)	-(-)	+(+)	+(+)
<i>Krebsiella pneumoniae</i>	-(-)	-(-)	-(-)	-(+)	+(+)	+(+)
<i>Escherichia coli</i>	-(-)	-(-)	-(+)	+(+)	+(+)	+(+)

+ : Growth - : No growth

* The inhibitory effect of sodium hypochlorite for bacteria and molds is expressed in the parenthesis.

즉, 상기한 균주에 대한 GFSE의 항균활성은 sodium hypochlorite에 비하여 뒤떨어지지 않으며, 강력한 항균제로서 광범위한 범위에서 그 사용을 인정할 있다.

4. GFSE의 미생물 효소활성 및 성장억제 효과

(1) *Aspergillus parasiticus*에 의한 aflatoxin 생합성²⁸⁾

GFSE의 *Aspergillus parasiticus*의 생육 및 aflatoxin생성에 미치는 저해효과를 Table 4와 같다.

Table 4. Inhibitory effects of GFSE on growth and aflatoxin production in the medium containing tritium labeled sodium acetate by *Aspergillus parasiticus* after 7days at 30°C

Conc. with treatment(ppm)	Mycelial weight		Aflatoxin production	
	Weight(g)	Inhibitory(%)	Radioactivity(dpm)	Inhibition(%)
0	12.5	0	7.5×10^4	0
500	8.7	30.4	6.8×10^4	9.3
1,000	6.6	47.2	3.9×10^4	48.0
2,000	3.8	69.6	4.4×10^3	94.1
3,000	2.9	76.8	2.0×10^3	97.3
4,000	1.0	92.0	7.2×10^2	99.0
5,000	0	100.0	0	100.0

즉, GFSE은 4,000ppm 농도로 *Aspergillus parasiticus*의 생육을 92% 저해하였으며, 5,000ppm 농도에서는 곰팡이 생육을 완전히 저해하였다. 또한, 2,000ppm 농도에서 aflatoxin의 생성이 94.1% 저해되었고, 4,000ppm 농도에서는 99.0%, 5,000ppm 농도에서는 aflatoxin의 생성이 완전히 저해되었다. 따라서, GFSE는 일정수준 이상의 농도에서 *Aspergillus parasiticus* 생육 및 독소성분 aflatoxin의 생성을 효과적으로 저해함을 알 수 있었다. 한편, ^{14}C -labeled precursor가 aflatoxin으로 전환되는 기작에 미치는 GFSE의 저해효과 실험은 GFSE 농도 2,000ppm에서 전술한 바와 같은 조건으로 반응시켜 Table 5와 같은 결과를 얻었다.

Table 5의 결과는 2,000ppm의 GFSE이 sodium acetate, averufin, versiconal acetate 및 sterigmatocystin이 aflatoxin으로 주입되는데 미치는 저해효과를 보여주고 있다. GFSE이 처리되지 않은 배양액속에서의 tritium labeled precursor 모두가 aflatoxin으로 주입되는 결과를 보여주었으며, 이것은 본 실험에서 사용한 균주가 정

상적인 aflatoxin생합성 능력을 가지고 있음을 지적해주고 있다. GFSE는 tritium labeled sodium acetate, averufin 및 versiconal acetate의 aflatoxin으로의 전환반응을 완전히 저해하였으나 sterigmatocystin의 aflatoxin으로의 전환 기작에는 전혀 영향을 미치지 못하는 것으로 나타났다. 따라서, GFSE는 aflatoxin생합성 경로 중 sterigmatocystin 생합성 이전단계인 versiconal acetate 중간대사산물 이전까지의 효소반응계를 저해함을 지적해 주고 있으며, 곰팡이 생육 및 mycotoxin생합성 저해효과가 뚜렷함을 보여 주고 있다.

Table 5. Incorporation of tritium labeled sodium acetate, averufin, versiconal acetate, and sterigmatocystin into aflatoxin by *Aspergillus parasiticus* in the level of 2,000ppm of GFSE.

Precursor ^{a)}	Aflatoxin	
	Radioactivity (x10 ⁴ dpm)	Incorporation efficiency ^{c)} (%)
Sodium acetate	24.0	1.2
Sodium acetate + GFSE	NR ^{b)}	0
Averufin	9.0	25.0
Averufin + GFSE	NR	0
Versiconal acetate	14.4	57.6
Versiconal acetate + GFSE	NR	0
Sterigmatocystin	18.2	72.8
Sterigmatocystin + GFSE	15.9	70.5

a) Amount of tritium labeled precursors added: Sodium acetate 20 μ mol(1.0x10⁶dpm/ μ mol), Averufin 1.5 μ mol(2.4x10⁵dpm/ μ mol), Versiconal acetate 1.25 μ mol(2.0x10⁵dpm/ μ mol), Sterigmatocystin 0.5 μ mol(4.5x10⁵dpm/ μ mol)

b) NR : No radioactivity

c) Incorporation efficiency(%)

$$= \frac{\text{Amount of incorporated aflatoxin}}{\text{Amount of tritium labeled precursors added}} \times 100$$

(2) *Penicillium islandicum*에 의한 skyrin 생합성²³⁾

GFSE의 *Penicillium islandicum*의 생육 및 skyrin생성에 미치는 저해효과는 Table 6과 같다. 즉, GFSE는 500ppm농도로 *Penicillium islandicum*의 생육을 91% 저해하였으며, 750ppm농도로 곰팡이생육을 완전히 저해하였다. 또한, 250ppm농도에서 skyrin의 생성이 83% 저해되었고 500ppm농도에서는 skyrin의 생성이 완전히 저해되었다. 따라서, GFSE는 500-750ppm의 농도로 *Penicillium islandicum*의 생육 및 독소성분 skyrin생성을 효과적으로 저해함을 알 수 있다. Table 7의 결과는 500ppm의 GFSE가 acetate, emodinanthrone, emodin 및 skyrinanthrone이 skyrin으로 주입되는데 미치는 영향을 보여 주고 있다. Grapefruit종자추출물이 처리되지 않은 배양액속에서의 $[^3\text{H}]$ -labeled acetate가 skyrin으로 주입되는 현상은 사용된 균주가 정상적인 skyrin생합성 능력을 가지고 있음을 지적해 주고 있다. 이 실험결과로 미루어 GFSE는 $[^3\text{H}]$ -labeled acetate, emodinanthrone 및 emodin의 skyrin으로의 전환을 완전히 저해하였으나, $[^3\text{H}]$ -labeled skyrinanthrone의 skyrin으로의 전환기작에는 전혀 영향을 미치지 못하는 것으로 나타났다. 그러므로, GFSE는 skyrin 생합성경로중, emodinanthrone→emodin→skyrin으로 진행되는 효소반응계를 저해하며, emodinanthrone→skyrinanthrone→skyrin으로 전환되는 경로에서는 emodinanthrone을 거쳐 skyrinanthrone으로 진행되는 과정중에 저해단계가 존재함을 지적해 주고 있다.

Table 6. Inhibitory effects of GFSE on growth and skyrin production in Czapek-Dox broth containing tritium labeled sodium acetate by *Penicillium islandicum* NRRL 1175 after 10 days at 30°C

Treatment (ppm)	Mycelial weight		Skyrin	
	Weight (g)	Inhibition (%)	Radioactivity (10 ⁴ dpm)	Inhibition (%)
0	2.97	0	13.27	0
100	2.21	26	3.57	74
250	1.53	48	2.26	83
500	0.26	91	NR	100
750	0	100	NR	100
1,000	0	100	NR	100

NR : No radioactivity

Table 7. Incorporation of [³H]-labeled sodium acetate, emodinanthrone, emodin, and skyrinanthrone into skyrin by *Penicillium islandicum* treated with 500ppm of GFSE

Precursor ^{a)}	Skyrin	
	Radioactivity (10 ⁴ dpm)	Incorporation efficiency ^{b)} (%)
Sodium acetate	7.25	0.36
Sodium acetate + DF-100	NR	-
Emodinanthrone	10.42	50.10
Emodinanthrone + DF-100	NR	-
Emodin	13.54	54.20
Emodin+DF-100	NR	-
Skyrinanthrone	16.33	77.30
Skyrinanthrone	16.48	78.00

a) Amount of [³H]-labeled precursors added :

Sodium acetate 20 μmol (1.0 × 10⁶ dpm/μmol),
 Emodinanthrone 1.3 μmol (1.6 × 10⁶ dpm/μmol),
 Emodin 1.25 μmol (2.0 × 10⁶ dpm/μmol) and
 Skyrinanthrone 0.44 μmol (4.8 × 10⁶ dpm/μmol)

b) NR : No radioactivity

c) Incorporation efficiency (%) = $\frac{\text{Amount of incorporated skyrin}}{\text{Amount of } [^3\text{H}]\text{-labeled precursors added}} \times 100$

5. GFSE처리에 의한 식물병리미생물의 형태변화²⁵⁾

변패된 과채류에서 분리한 *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* 등을 50ppm, 100ppm, 또는 250ppm 농도의 GFSE용액으로 처리한 것을 처리하지 않은 대조구 균주와 함께 전자현미경 촬영시료로 조제하여 촬영한 결과는 Fig.5 및 Fig.6 그리고 Fig.7와 같다. Fig.5에서 보는 바와 같이 GFSE를 처리한 *E. coli* 균체세포는 세포막의 기능이 파괴되어 세포내용물이 균체외부로 유출되어 균체의 생육이 억제되며, 이러한 현상은 처리한 GFSE농도가 짙어질수록 심화되어 100ppm 이상의 농도로 처리한 *E. coli* 세포는 세포막의 투과기능이 깨어져 속이 빈 ghost 형태의 균체수가 증대함을 알 수 있었다. 이와 같은 현상은 *Staphylococcus aureus*(Fig.6) 및 *Bacillus cereus*(Fig.7)에서도 뚜렷하게 나타났으며, *Bacillus cereus*의 세포내에 형성되어 있는 내생포자 또한 형태변화를 초래하여 미생물세포의 생리기능이 억제될 뿐만 아니라 포자로서의 증식기능마저 상실되어 GFSE의 뚜렷한 항균효과를 보여 주었다.

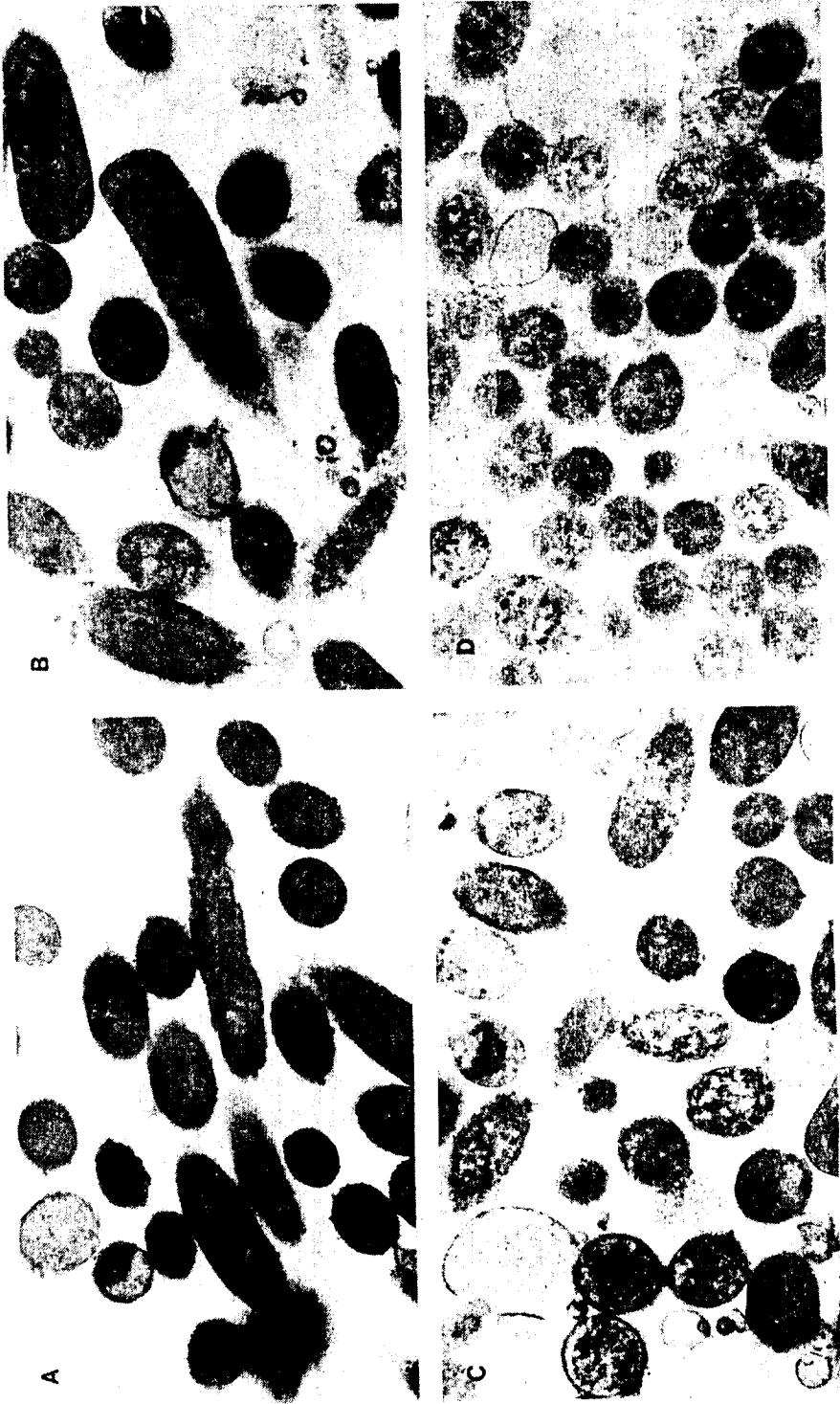


Fig. 5. Transmission electron micrographs of *Escherichia coli* contaminated on vegetables(A:Control) and *E. coli* treated with grapefruit seed extract(B: 50ppm, C:100ppm, D:250ppm). (magnification: x 25,000)

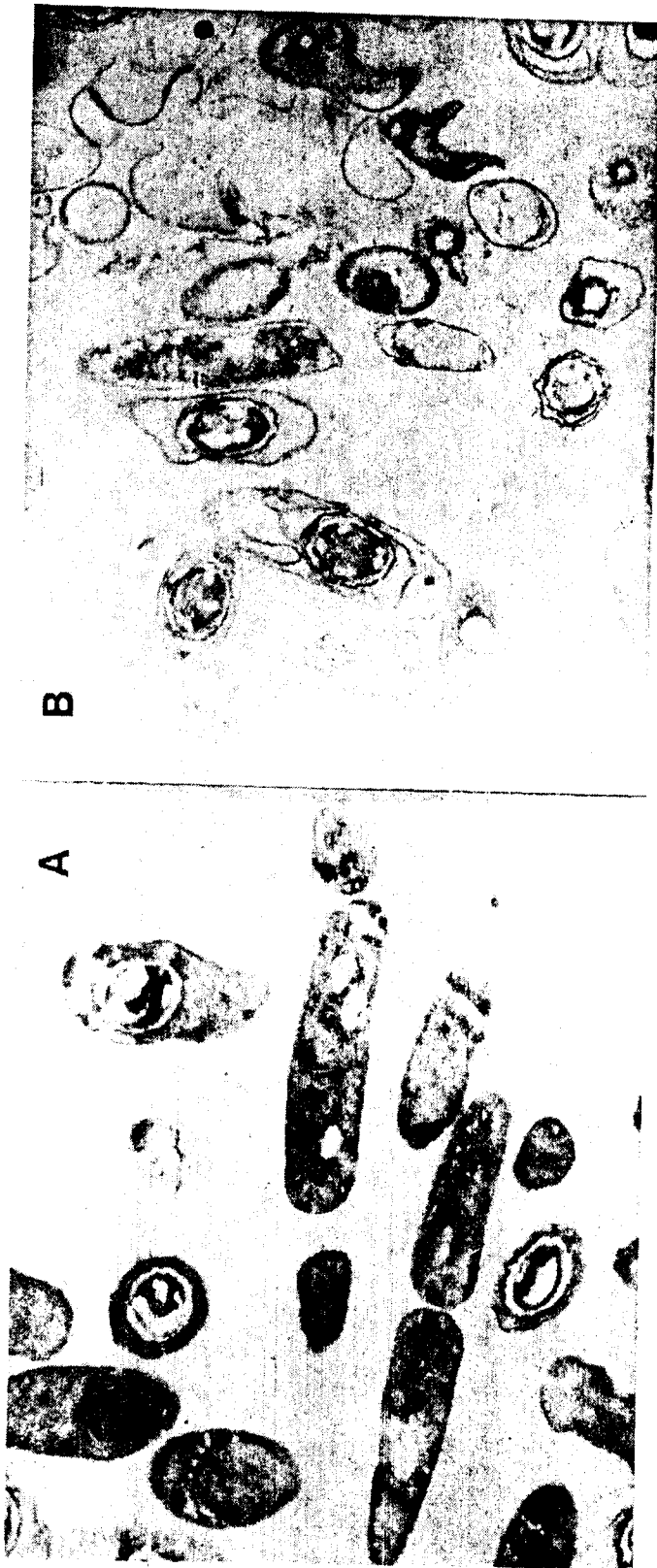


Fig. 6. Transmission electron micrographs of *Bacillus cereus* contaminated on vegetables (A: Control) and *B. cereus* treated with grapefruit seed extract (B: 100ppm). (magnification: x 17,000)



Fig.7. Transmission electron micrographs of *Staphylococcus aureus* contaminated on vegetables(A:Control) and *Staphylococcus aureus* treated with grapefruit seed extract(B:100ppm). (magnification: x 17,000)

한편, 밀감과피에 오염되어 과피의 파손 및 과육조직의 연화현상을 일으키는 *Penicillium sp.*의 생육포자인 conidia 세포구조가 GFSE처리에 의하여 포자 형태뿐 아니라 포자구조 내용물의 유실로 정상적인 발아능이 어려워지고 생식수단으로의 포자 구실이 파괴되어 떨어져 나가고, 포자내용물도 소멸되어 가고 있는 현상을 보여 주고 있다(Fig.8). 이것은 GFSE가 미생물의 세포내 생리활성효소의 기능을 약화시키고, DNA/RNA 유전정보기작을 방해한다는 연구보고로 미루어 포자의 세포벽 및 세포막의 기능이 상실되어 포자내용물의 소실 등으로 인한 GFSE의 항균작용에 기인하는 것으로 생각된다.

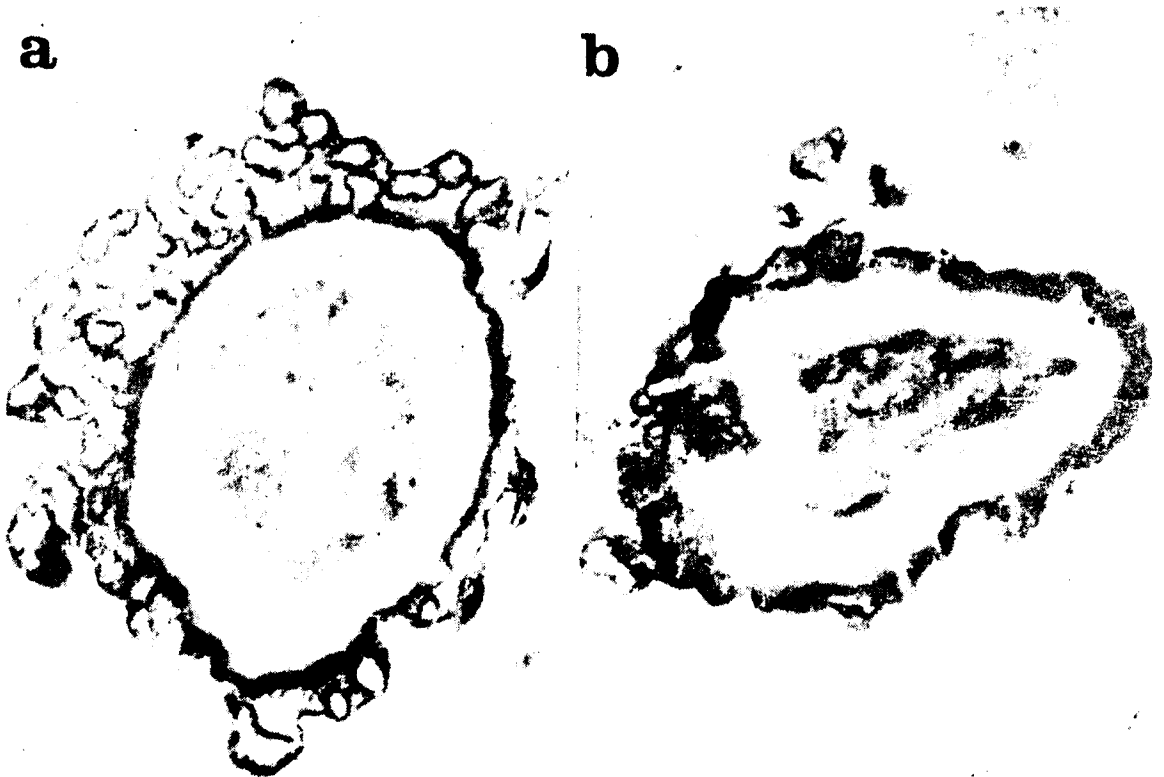


Fig.8. Transmission electron micrographs of conidiospore of *Penicillium sp.* contaminated on *Satsuma mandarin*(a) and a conidiospore of *Penicillium sp.* treated with GFSE(b).

아울러, 과채류에서 분리한 *Fusarium* sp.를 GFSE로 처리한 곰팡이균체의 전자현미경 사진은 Fig.9와 같다. 앞서 예시한 세균에서와 같이, 곰팡이 균사체의 세포막기능이 파괴되어 균사체 내용물의 유실현상이 뚜렷하게 나타났다.



Fig.9. Mycelial morphology of *Fusarium* sp. contaminated on fruits (A:Control) and *Fusarium* sp. treated with grapefruit seed extract.

6. Grapefruit종자추출물이 생체기능에 미치는 효과^{21,29)}

생체기능에 미치는 GFSE의 영향을 검토하기 위하여 통닭용 닭을 실험동물로 하여 GFSE를 농도별로 표준식이 사료중에 첨가하고 3주간 사양시켜 체중 증가율 및 사료전환율(소비된 사료중량당 증가한 체중의 비율)을 산출하였다. 즉, 실험재료인 GFSE를 100ppm, 300ppm, 500ppm 및 1,000ppm의 농도가 되도록 표준닭 사료에 섞어 식이사료로 하고 GFSE를 첨가하지 않은 기준표준 사료를 대조구 사료로 하였다. 100마리의 숫병아리를 부화장에서 구입하여 체중을 측정하고 사료와 물이 준비되어 있으며, 일정한 환경시설을 갖추고 있고 전기가열되는 병아리 보육 우리속에 넣어 사육하였다. 3개의 우리속에서 각각 10마리씩 선발하여 3주 동안 각각의 실험사료를 식이시켜 각 주마다 주초와 주말의 체중을 측정하였다. 사료소비량은 각 우리속에서 선발한 닭을 대상으로 매주 반복된 실험측정치로부터 사료전환율을 산출하였다. 통닭용 닭을 3주간 사양시켜 얻어진 체중증가율 및 사료전환율은 각각 Table 8 및 Table 9와 같이 GFSE를 첨가한 식이사료로 사양한 시험구와 유의성있는 차이를 보이지 않았다. 또한, 3주간의 실험말기에 혈청시료를 닭의 심장에서 채취하여 깨끗한 초자관에 넣고 30℃에서 6시간 하였다. 응집된 덩어리가 형성되고 수축현상이 일어난 후, 혈청용액을 혈청효소활성 및 혈청내 생리성분을 측정된 결과는 각각 Table 10 및 Table 11과 같다. 이 결과에서도 F 값이 보여주는 바와 같이, GFSE첨가가 혈청내 효소활성 및 생리활성 물질의 조성에 뚜렷한 감소현상을 유발하지 않았다. 즉, GFSE가 식이사료중에 첨가되었을 때, 실험동물의 생체기능에 미치는 독성 및 생육저해 인자로서 작용하지 않음을 확인할 수 있다.

Table 8. Effect of dietary GFSE on body weight gain of broiler chicks

GFSE concentration (ppm)	Body weight gain (g)			
	Week			
	0	1	2	3
0 (Control)	43	120	323	576
100	44	140	351	572
300	44	122	311	562
500	42	130	336	566
1,000	44	134	341	573
F-ratio	0.01	0.70	1.12	0.70
	NS	NS	NS	NS

* NS : not significant

Table 9. Effect of dietary GFSE on weekly feed conversion ratio of broiler chicks

GFSE concentration (ppm)	Feed conversion ratio (g feed concentrations/g weight gain)		
	Interval (days)		
	0 - 7	8 - 14	15 - 21
0 (Control)	1.34	1.41	1.75
100	1.16	1.44	1.93
300	1.35	1.47	1.78
500	1.21	1.47	1.86
1,000	1.18	1.45	1.76
F-ratio	1.55	0.30	1.16
	NS	NS	NS

* NS : not significant

Table 10. Effect of dietary GFSE on serum enzymes of broiler chicks

GFSE concentration (ppm)	Serum enzyme activity (units/liter)		
	Lactic dehydrogenase	Glutamic oxaloacetic transaminase	Alkaline phosphatase
0 (Control)	1004	236	33,290
100	973	256	31,618
300	1030	232	32,123
500	921	248	35,110
1,000	1129	245	29,175
F-ratio	0.92	0.64	1.00
	NS	NS	NS

* NS : not significant

Table 11. Effect of dietary GFSE on serum blood components of broiler chicks

GFSE (ppm)	Glucose (mg/dl)	Cholesterol (mg/dl)	Creatinine (mg/dl)	Uric acid (mg/dl)	Calcium (mg/dl)	Potassium (meq/l)	Sodium (meq/l)	Phosphorus (mg/dl)
0	278	140	0.40	5.7	11.2	4.8	149	7.0
100	270	152	0.45	4.8	11.2	4.6	150	8.0
300	282	154	0.43	6.6	11.4	5.2	150	8.1
500	269	151	0.40	5.1	11.1	4.3	149	7.9
1,000	277	146	0.45	5.1	11.3	4.6	150	8.0
F-ratio	0.90	0.46	1.39	0.78	0.81	1.44	0.38	0.40
	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS

* NS : not significant

한편, GFSE에 대한 구강급성독성, 피부독성, 공기흡입독성 및 안구자극실험결과 그 안전성이 입증되었으며, LD₅₀값이 일련의 동물사육실험을 통하여 Table 12에서 보는 바와 같이 2,900mg/kg으로, 일반합성화학방부제인 안식향산나트륨의 600mg/kg, 솔빈산 칼륨의 1,000mg/kg에 비하여 그 안전성이 크게 높음을 인정할 수 있어 천연식품살균보존제로서 활용범위를 확대해 나갈 것이다.

Table 12. Various Dose levels of GFSE was injected in R.I. chicken eggs to determine the toxicity and hatchability. Each group consisted of 10 control eggs. The dose level consisted of 1 active test material.

No. of Eggs	Dose level	No Embryo Clean eggs	No. Chicks Hatched	No. Chicks Surv. 3days	No. chicks Surv. 7days	No. chicks Surv. 14days	No. chicks Surv. 30days	No. chicks Dead
10	8,000mg/kg	0	0	0	0	0	0	10
10	6,000mg/kg	1	0	0	0	0	0	0
10	3,000mg/kg		9	9	9	7	7	3
10	1,500mg/kg	0	10	9	9	9	9	1
10	Control	0	10	10	10	10	10	0

LD₅₀ 2,900 mg/kg

* All deaths reported are exclusive of traumatic death at the 90-120 hour period. All embryo which died during the first 3-4 day period were considered to be due to a variety of causes, and not specifically to the administration of GFSE. All deaths following the first 3-4 day trauma death were considered to be due to the activity of GFSE.

7. GFSE의 과채류 처리효과

(1) 대파, 양파 및 고추²⁵⁾

경남지역에서 생산되고 있는 대파, 양파 및 고추등을 구입하여 GFSE처리하고 냉동건조한 후, 25-30°C 사이의 온도범위와 70-90% 상대습도 조건하에서 이들 원예작물의 저장효과실험을 실시하였다. 실험작물들은 구멍이 나있는 polyethylene film bag에 GFSE를 1,000ppm 이하 농도수준으로 처리한 후 포장하고 30일 동안 저장하면서 실험재료로 사용하였다. 이때 대조구로서 GFSE 무처리시험구와 작물별 부패방지용 GFSE처리시험구(250ppm, 500ppm, 1,000ppm)를 병행하여 실험을 실시하여 각각 Fig.10과 같은 결과를 얻었다.

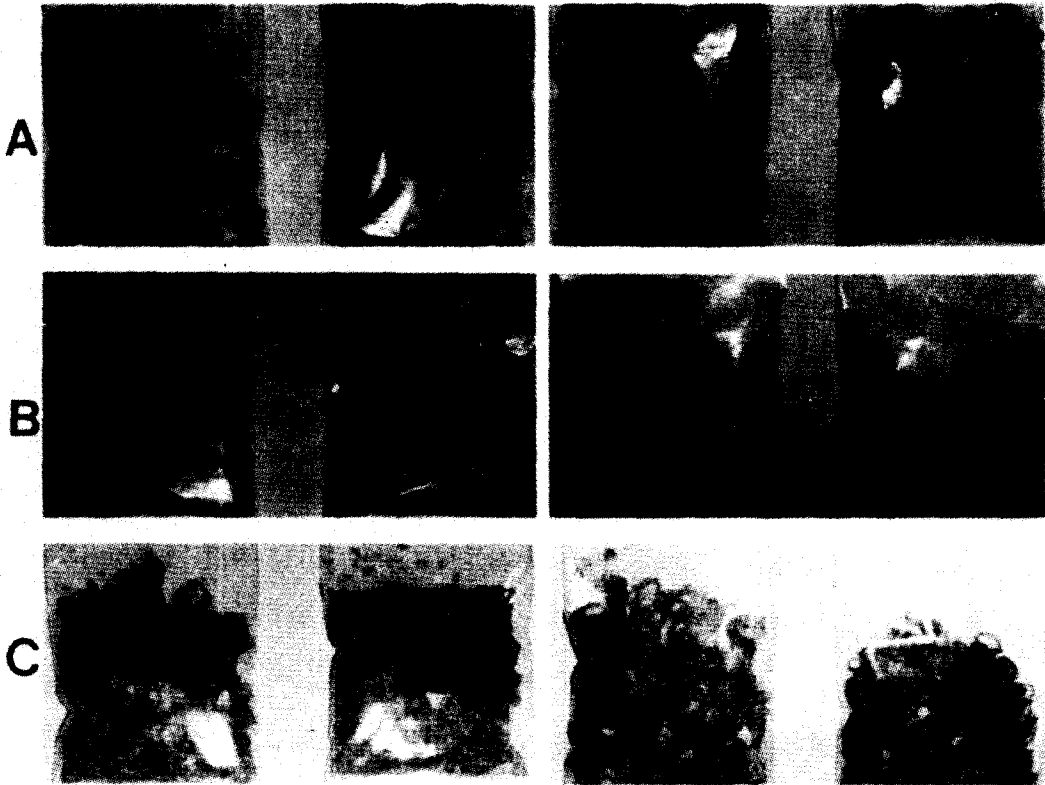


Fig.10. Photograph of *Allium fistulosum* L., *Allium cepa* L. and *Capsicum annuum* washed only in tap water(control) and steeped in 250ppm, 500ppm, 1,000ppm of GFSE, respectively, freeze-dried and stored for 30days in the temperature range of 25°C-30°C.

즉, 처리시료별 자체 수분함량의 차이 때문에 건조속도에 많은 차이가 있어 양파의 경우, 자체 수분함량이 많은 관계로 많은 시간을 지체하였고 GFSE의 처리농도가 높아 질수록 건조시간이 다소 단축되는 경향도 발견되었다. 동결건조처리한 각 농산물의 경우 건조속도 및 외관면에서 확실한 효과의 차이를 볼수 있었으며, 대조구의 경우 냉동실내의 결빙 및 급격한 탈수로 인한 표면조직의 손상이 많은 것으로 보였다.

GFSE 250, 500, 1,000ppm 용액에 침지한 대파, 양파, 고추등의 자체내 탈수작용이 어느 정도 수반되기 때문에 표면조직의 손상이 대조구에 비하여 작은 것으로 사료되며 조직의 건실도 및 색택이 비교적 양호하게 보존되는 것으로 나타났다. 한편, 대조구와 함께 GFSE처리후 30일간 저장한 대파, 양파, 고추에 오염된 대장균수를 측정된 결과는 Table 13과 같다.

Table 13. Effect of various dilutions of grapefruit seed extract in reducing *Escherichia coli* on vegetables stored for 30 days at 25°C-30°C(Unit:CFU)*

Vegetables**	Concentration of GFSE in water(ppm)				
	0	100	250	500	1,000
Welch onion	60	41	24	5	0
Onion	97	84	30	13	0
Red pepper	48	27	6	0	0

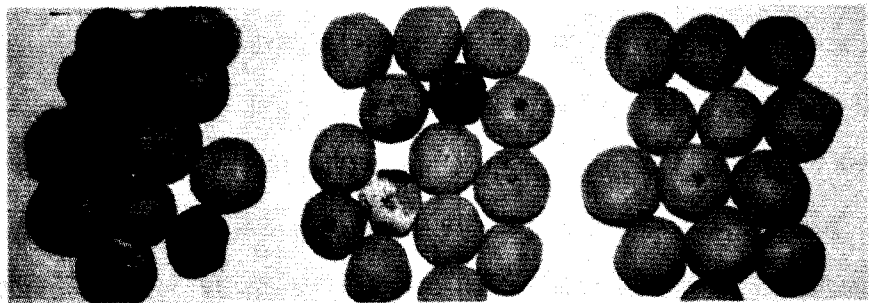
* CFU:Colony-Forming Unit(#/g)

** Sliced vegetables were dipped into various dilutions of GFSE solution, respectively, drained, freeze-dried and stored for 30 days at 25°C-30°C

즉, 저장 30일 후 대조구의 경우 대파, 양파 및 고추에 오염되어 있는 대장균수는 각각 60 CFU/g, 97 CFU/g 및 48 CFU/g으로 오염정도가 크게 나타난 반면 GFSE처리구의 경우, 100ppm 처리농도에서는 각각 41 CFU/g, 84 CFU/g 및 27 CFU/g로 대조구에 비하여 31.6%, 13.0% 및 43.8% 정도 감소하였으며 500ppm 처리 농도에서는 대파 5 CFU/g, 양파 13 CFU/g로 대조구에 비하여 91.6%와 86.5%로 크게 감소하였고 고추의 경우에는 대장균이 전혀 검출되지 않았다. 아울러, 1,000ppm 농도 이상의 GFSE용액에서는 어느 종류의 농작물에도 대장균의 생육이 억제됨을 알 수 있었다.

(2) 밀감²⁴⁾

15°C-20°C에서 8주 동안 polyethylene film bag에 저장된 대조구와 GFSE를 처리한 밀감의 외관상 변화는 Fig.11과 같다.



. Photograph of *Satsuma mandarin* washed only in tap water(Control) and steeped in 100ppm & 250ppm of GFSE, respectively, dried and stored for 8 weeks at 15°C-20°C.

즉, GFSE를 처리하지 않은 밀감시료를 대조구로 하고 시료밀감을 GFSE 100ppm 및 250ppm에서 30분간 침지시켜 15°C-20°C에서 저장하면서 외관상의 변화를 관찰한 결과, 1주일 이 경과하기까지 GFSE처리시험구의 경우에는 별다른 외관상의 차이를 볼 수 없었으나, 대조구의 경우, 약간의 밀감과피에 곰팡이가 오염되어 있는 것을 확인할 수 있었으며, 외피조직의 연화현상이 발생하기 시작하였으며, Table 6에서 보는 바와 같이 저장기간이 경과할수록 변패정도가 두드러지게 나타났다.

Table 14 Effect of grapefruit seed extract on fungal contamination and rind breakdown of *Satsuma mandarin* stored for 8 weeks at 15°C-20°C

Treatments	% Fungal contamination				% Rind breakdown			
	2	4	6	8(weeks)	2	4	6	8(weeks)
Control	20	53	68	80	7	24	49	74
GFSE(100ppm)	0	6	15	27	0	2	7	14
GFSE(250ppm)	0	0	5	13	0	0	1	5

즉, 2주일 경과후 대조구의 경우, 대부분의 외피조직이 물러지고 일부의 밀감은 심하게 부패하였으며, 실험시료 중 20%정도가 곰팡이에 오염되어 외피가 균열하기 시작하였다. 이에 반하여 GFSE 100ppm 및 250ppm처리구의 경우, 과피의 연화 및 파손등 뚜렷한 변패현상을 찾아 볼수 없었다. 4주 경과후 대조구의 경우 53%가 부패곰팡이에 의하여 외피가 분해되고 내부의 과육도 연화되었으며 내피도 붕괴되어 삼출용액이 많아졌고 나머지 20% 정도도 곰팡이가 오염되어 변패가 시작되는 양상을 나타내었다. 반면, GFSE를 처리한 시험구의 경우 100ppm 처리구는 6% 정도만의 시료밀감에 미생물이 오염되었음을 확인할 수 있었으며, 250ppm 처리구의 경우 전혀 부패미생물의 오염 및 밀감조직의 결손을 관찰할 수 없었다. 8주 경과 후 대조구의 경우, 80%정도의 밀감과피가 심하게 푸른곰팡이로 오염되었고 내부과육조직이 연화되었으며 그중 93%정도가 폐기되는 현상을 보인반면, 100ppm GFSE를 처리한 시험구의 경우 27%정도가 곰팡이에 오염되어 그 중 반수의 밀감이 과피가 분해.파손되었을 뿐이었으며, 250ppm GFSE처리 시험구의 경우, 단지 13%의 밀감과피에서만 오염된 곰팡이를 확인할 수 있었으며, 과육의 조직감이 좋고 과즙액의 용출이 거의 일어나지 않아 GFSE처리에 의한 밀감의 상품적 가치가 크게 감소하지 않았음을 알 수 있었다. 즉, 밀감에는 각종 유기산이 함유되어 있어 pH가 낮고 표피가 wax화 되어 있으므로 세균의 침해는 적었으나 곰팡이의 피해는 큰 것으로 나타났다.

(3) 감자

경남 산청군 단성면에서 재배하여 1992년 6월에 수확한 감자를 구입해서 외피가 손상되었거나 병충해를 입은 것은 제거하고 50개씩 2군으로 나누어 대조구는 특별한 처리없이 저장하는 한편, GFSE처리구는 500ppm농도의 GFSE용액에 10-20분 동안 침지하였다가 꺼내서 상온에서 증건시켜 외피에 묻은 물기를 없앤 다음, 대조구와 별도의 종이 상자에 담아 공기의 유통이 자유롭게 보관한 상태에서 50일간 저장하였다. 대조구 감자는 저장 23일째부터 싹이 나기 시작하였으며, 저장 35일째에는 저장된 모든 감자에서 싹이 돋았다. 반면에, GFSE용액에 침지처리한 감자는 저장 50일째 50개중 6개만 발아흔적을 포출하였을 뿐 싹의 성장이나 병해상태를 도출하지 않았다.

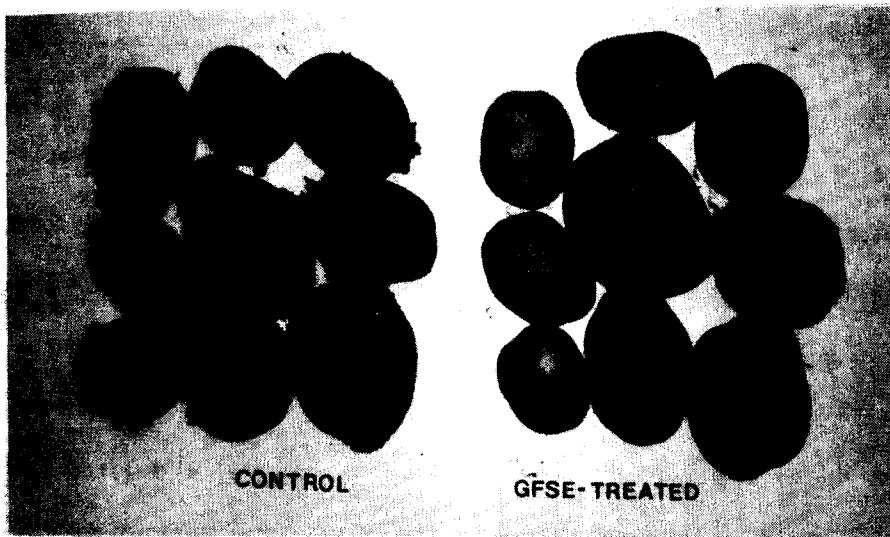


Fig.12. Inhibitory effect of GFSE on the germination of potatoes.

한편, 수확한 감자에 GFSE용액(500ppm, 1,000ppm)을 압축 gas atomizer로 분무하여 발생하는 CO₂를 포집할 수 있도록 고안된 용기를 30℃의 실내에서 보관하면서, 호흡작용 결과 생성된 CO₂의 용적을 측정하였다. CO₂의 생성속도와 생성량은 500ppm 및 1,000ppm의 GFSE용액을 처리한 경우, 저장 10일후 각각 대조구의 61.5% 및 45.7%로 크게 감소하였다. 이 결과는 GFSE의 활성물질이 작물의 호흡작용 및 오염된 부패미생물의 성장을 억제하는 기능을 소유하고 있다는 것을 설명해 주고 있다(Table 15).

Table 15. Cumulative CO₂ production in potatoes treated with grapefruit seed extract. (Unit: ml)

GFSE concentration (ppm)	Incubation time (days)				
	2	4	6	8	10
0 (Control)	7.8	13.7	22.3	46.5	79.2
500	3.7	7.2	16.1	29.6	48.7
1,000	1.3	4.4	12.4	20.5	36.2

* The values, average of 3 replicate flasks/treatment, are significantly different ($p < 0.05$).

(4) 포도³⁰⁾

수출용포도에 기생하여 병폐를 유도하는 *Botrytis cinerea*의 성장억제를 도모하기 위하여 GFSE용액처리한 (100-300ppm)시험구와 SO₂처리시험구를 무처리한 대조구와 실험 결과를 비교 검토하였다. 처리후 41일째 무처리구에서는 3.25%가 *Botrytis cinerea*의 오염에 의해서 부패되었고, SO₂처리구는 2.28%, GFSE(300ppm)용액처리구는 1.66%로 그 부패율이 GFSE처리구는 무처리구의 50%정도로 감소하였으며, 기존 포도살균처리방법인 SO₂가스처리방법보다도 더 효과적으로 포도의 부패를 방지할 수 있었다.

Table 16. Effect of GFSE treatment on the export table grapes for the control of *Botrytis cinerea*

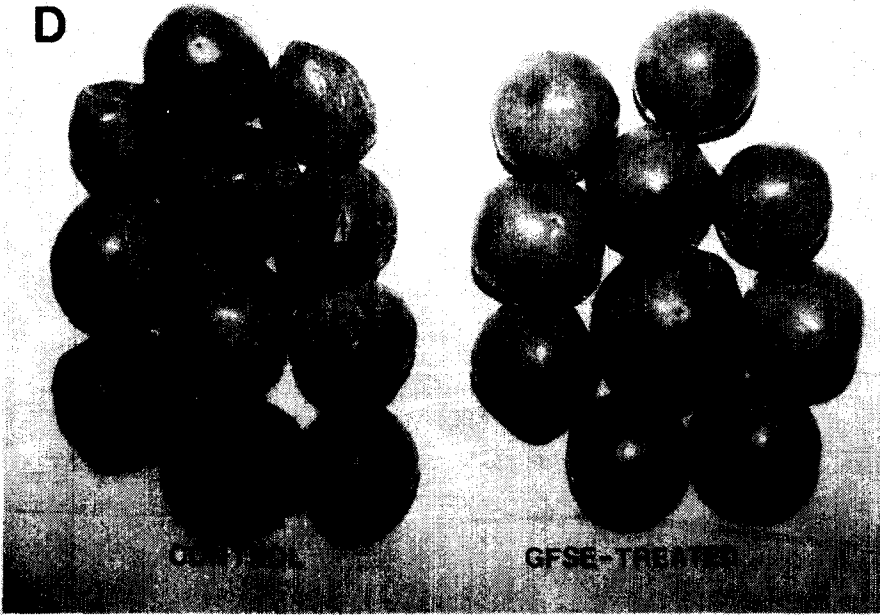
Treatment	% of grapes damaged by <i>Botrytis cinerea</i> warehousing time in days						
	0	7	14	21	27	34	41
Thompson seedless variety							
A (Control)	0.00	0.00	0.70	0.83	1.00	1.78	3.25
B (SO ₂)	0.00	0.00	0.57	0.60	0.64	1.00	2.28
C-1(GFSE)	0.00	0.00	1.10	2.51	3.89	5.10	6.78
C-2(GFSE)	0.00	0.00	0.34	0.52	1.00	1.36	2.93
C-3(GFSE)	0.00	0.00	0.22	0.39	0.43	0.80	1.66
Red seedless variety							
A (Control)	0.00	0.00	0.12	0.19	0.31	0.43	0.49
B (SO ₂)	0.00	0.00	0.05	0.08	0.14	0.23	0.33
C-1(GFSE)	0.00	0.00	0.28	0.41	0.57	0.63	0.86
C-2(GFSE)	0.00	0.00	0.11	0.13	0.22	0.33	0.44
C-3(GFSE)	0.00	0.00	0.00	0.05	0.09	0.21	0.27

* C-1 : GFSE(100ppm), C-2 : GFSE(200ppm), C-3 : GFSE(300ppm)

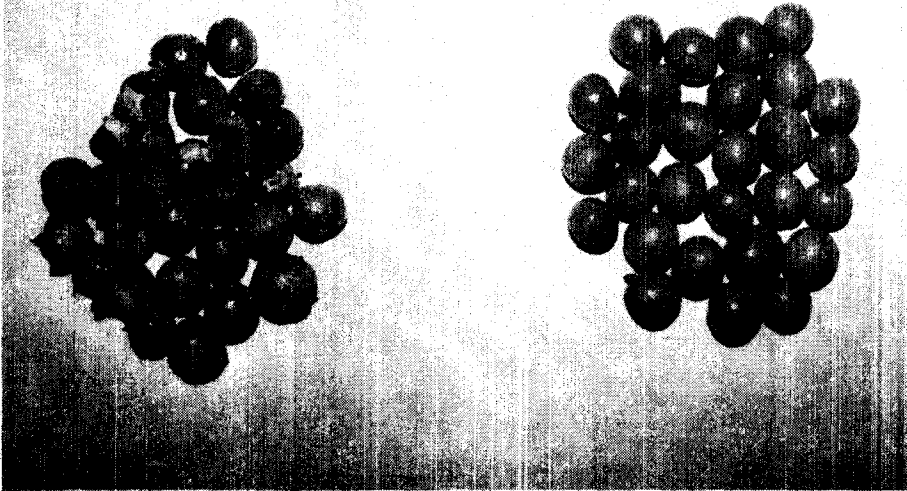
(5) 기타 과채류

농가에서 수확한 과채류(호박, 가지, 오이, 토마토, 금굴, 산나물)를 GFSE 용액(100ppm-250ppm)으로 침지 또는 분무하고 풍건한 다음, 0.05-0.1mm의 polyethylene film내에 포장하고 자연저온(10-15°C)을 유지하는 간이저장고에 보관함으로써, 무처리구인 대조구 실험과채류에 비하여 병해발생율을 크게 감소시킬 수 있었으며, 작물의 종류에 따라 다소 차이를 보이고 있으나, 대체적으로 상당기간동안 선도를 유지하고 조직감이 뒤떨어지지 않아 상품가치를 부여할 수 있게 하였다(Fig.13).

D



E



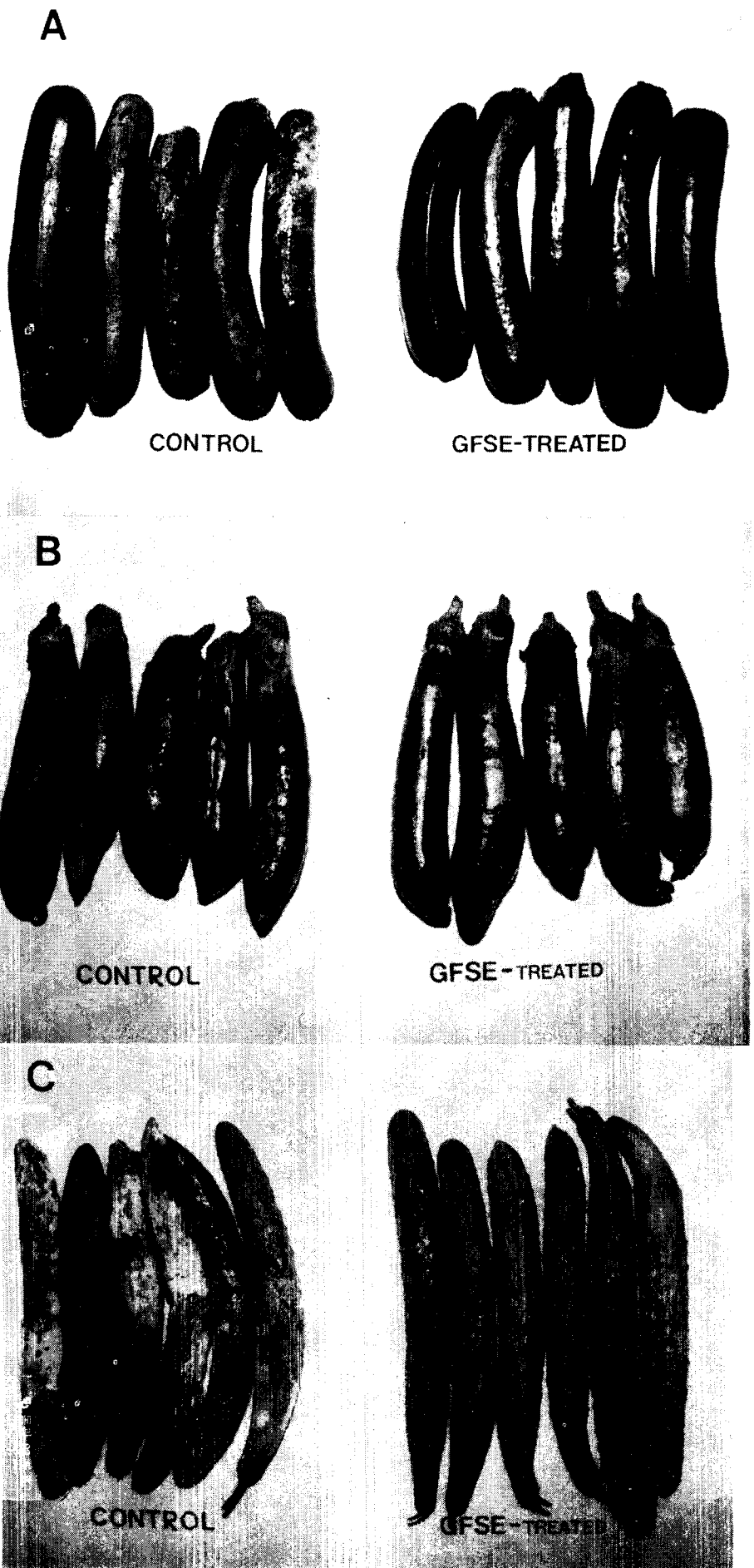


Fig. 13. Photographs of pumpkin(A), eggplant(B), cucumber(C), tomato(D), kumquat(E) and wild edible greens(F) treated with grapefruit seed extract.

8. 기대효과 및 활용방안

GFSE는 광범위한 병원성 또는 부패성 미생물의 세포막관련효소의 작용을 저해시키고, 세포막의 투과기능을 변화시킴으로써 낮은 농도의 *in vitro* 처리에 의하여 미생물세포의 호흡작용을 억제하고, 짧은 시간내에 강력한 살균력을 소유하고 있다. 이와 같은 GFSE의 탁월한 항균작용은 GFSE중에 함유되어 있는 활성물질들의 복합적인 작용에 기인하는 것으로 추정되나, 특히, ascorbic acid 및 naringin 등의 bioflavonoid계 화합물의 함량이 높아 뚜렷한 정균 또는 항생작용을 기대할 수 있으며, 발암물질에 의한 정상세포의 파괴를 방지할 수 있는 생화학적 보호기능을 소유하고 있다. 또한, grapefruit juice에는 높은 함량과 활성을 가진 chitinase이 내재하고 있어, 이와 같은 chitinase작용으로 과채류 주위에 존재하는 많은 fungal pathogens 이나 plant parasitic nematodes 등의 세포벽 구성물질인 chitin과 glucan을 분해시킴으로써, 과채류 질병의 발생을 감소시킬 수 있으며, 이러한 효과는 토양에 chitin이나 glucan의 source에 따라 chitinolytic 및 glucanolytic bacteria 특히, actinomyces 등의 population을 증가시키고 이런 환경속에서 pathogenic fungi나 nematodes 등의 감소 또는 사멸을 유도하여 과채류에 damage를 주는 infectivity를 현저히 줄일 수 있다. 아울러, GFSE는 항산화 기능을 가지고 있어 과채류의 영양소파괴를 최소화할 수 있다.

따라서, 산지농가에서 수확과 동시에 과채류를 GFSE로 처리한 후, 적정CA저장조건에 해당하는 공기조성의 film포장상태로 자연저온저장(10-15℃)함으로써 호흡량을 감소시키고, 과채류 표면에 식물병리미생물의 생육을 억제하며 식물자체의 효소활성을 제한하여, 상당기간동안 과채류의 신선도를 유지시킬 수 있을 것이다. 이와 같은 GFSE의 처리효과는 전구의 농가에서 생산되어 출하되고 있는 양파, 마늘, 대파, 고추, 피망, 당근, 호박, 감자, 고구마 등의 채소작물과 단감, 포도, 딸기, 양다래, 바나나, 멜론, 수박, 파인애플 등의 과일류에서 기대될 수 있다. 저온저장실을 제대로 설치하고 있지 못한 농촌실정때문에, 산지농가에서는 수확과 동시에 중간상인에게 낮은 가격으로 판매해야 할 입장에 처해 있으며, 저온저장실에서 저장되었다가 출하되는 농작물은 여러단계의 도매 또는 소매과정을 거쳐 높은 가격으로 소비자에게 판매되고 있는 실정이

며 이와 같은 상황에서 농산물부패균주의 오염으로 인한 저장성결핍현상을 산지능가차원에서 최소화하기 위하여 항균력이 우수한 GFSE의 활용이 추천될 수 있다. 앞으로 계속해서 진행될 연구결과를 토대로, 과채류의 선도유지에 뚜렷한 GFSE효과를 확인할 수 있고 그 항균기작을 검토할 수 있다면, 각종농산물의 저장특성을 고려하여 GFSE의 적합한 사용농도 및 처리방법에 대한 충분한 연구와 검토과정을 거쳐 GFSE의 탁월한 항균 및 항산화작용을 이용하여 일반적인 농작물의 변패를 방지하고 저장기간을 연장함으로써 농산물보존대책을 마련하는 좋은 계기를 마련할 수 있을 것이다.

9. 결 언

앞에서 언급한 바와 같이 현재까지의 실험결과로, GFSE는 농산물 특히, 과채류의 선도유지 및 병해방지에 탁월한 효능을 소유하고 있다. 이와 같은 항균능력은 실제, 병원성 미생물과의 상호작용에 의한 실험결과로 실증되었으나, 문제는 이러한 방부, 살균효과에 대한 효능을 나타내는 물질의 분리나 동정등이 이루어지지 않음으로써, GFSE의 추출물중 어떤 성분이 이처럼 뛰어난 항균능력을 나타내는지 알지 못하고 있다는 것이다. 그러므로, 이러한 항균물질의 분리 및 동정등과 항균물질에 대한 연구는 중요한 당면과제이다. 천연물에는 우리가 아직 확인하지 못한 여러 성분들이 존재하고, 또한 이미 알고는 있으나, 그 물질의 효용을 제대로 파악치 못하여, 산업화, 실용화가 완전하게 이루어져 있지 못하고 있다. GFSE도 예외는 아니어서 적어도 수십가지 이상의 여러 성분들이 복합적으로 이루어져 있으리라고 예상은 되지만, 미량 존재하는 여러가지 성분들의 분리나 효능은 알려진 바 없다. 따라서 앞으로 진행될 연구에서는, GFSE의 방부제로서의 역할과 살균제로서의 탁월한 효능을 분자적인 수준에서 이해하려 함에 그 목표를 두어야할 것이다. GFSE의 방부제, 살균제로서의 효용은 이미 그 기초적 연구 결과가 있으나, 1) 어떠한 mechanism에 의해서 2) GFSE의 어떤 성분에 의해서 이러한 효능을 보이는 지는 풀어야할 숙제이다. 앞으로 진행될 연구에서는 이 두가지 의문점을 해결하기 위해, 다음과 같은 순서에 의하여 항균물질의 분리 및 기능을 연구할 필요가 있을 것이다.

첫째는, GFSE의 효능성분을 찾는 일이다. 살균, 방부의 효력은 미생물의 대사과정 중 어느 한곳, 혹은 여러곳을 동시에 억제함으로써 발생할 수 있다. 먼저 효능 성분이 효소에 의한것인지 아니면, 효소이외의 다른 factor에 의한 것인지를 살펴보기 위해 GFSE의 (1) 친수성 물질과 (2)소수성 물질 (3) 투석 가능한 물질 혹은 (4) 산이나 알칼리 등 물리적 변화에 강한 물질로 대별하여, 효능성분을 찾는 기본적 실험을 다발적 수행하고 얻은 결과를 토대로 HPLC 법으로 순수정제물의 발전 단계 실험을 전개한다.

둘째로, GFSE의 살균 효능은 미생물 대사의 어느곳을 억제하기 때문인가를 밝히는 일이다. 미생물 대사의 각 단계에 관여하는 효소에 미치는 영향을 조사하는 한편, 세포 전체적으로 일어나는 합성 대사를 살펴봄으로써 그 살균 mechanism을 이해할 수 있으리라 본다. 이러한 연구가 성공적으로 수행되었을 때에는, 이는 미생물 대사와 살균 효능 효과를 과학적으로 입증시키는 중요한 자료로 앞으로의 신약 개발에 기본토대를 마련하게 될것으로 전망된다. 셋째로, 궁극적으로 이들 항균물질을 coding하는 유전자를 분리하고, cloning하여, 유효한 농작물에 transformation 함으로서, 내병성, 내균성, 내재해성의 새로운 식물체인 transgenic plant를 생산할 수 있을 것이다. 넷째로, GFSE의 급성구강독성, 피부독성, 공기흡입독성 등에 대한 안전성검사를 철저히 실시하여 그 활용범위를 확대하여야 할 것이다.

참고문헌

1. Harris, S.: The refrigerated export chain of Kiwi (*Actinidia chinensis*) from New Zealand, *annexe Bull, Inst, Int, Froid*, 1976-1, 157 (1976)
2. 윤인화, 손형구, 조광동, 정대성, 박남규, 송정춘, 한판주: 채소, 과실류의 신선도 보전연구. 시험연구보고서 448-477 (1987)
3. Mitchell, F.G: Modified-atmosphere storage of kiwifruits (*Actinidia chinensis*) *Symposium Series*, Oregon State University, School of Agriculture 1, 235 (1982)
4. 이세은, 김동만, 김길환, 이철: 한국산 양다래 (*Actinidia Chinensis* Planch.)의 CA저장성에 관한 연구. *한국식품과학회지* 21(6): 869-875 (1989)
5. 정대성, 손영구, 조광동, 윤인화, 한판주: 양다래 (*Actinidia Chinensis*)의 저장에 관한 연구. *농사시험연구논문집* 33(1): 39-45 (1991)
6. 손태화, 최종욱, 김성달: 청과물저장에 관한 연구(제1보). 통기량조절에 따른 저장실내 기체조성 및 생리화학적 변화에 대하여. *한국식품과학회지* 4(1): 13-17 (1972)
7. 김성달, 최종욱, 손태화: 청과물저장에 관한 연구(제3보). 환경압력변화가 tomato과실의 저장에 미치는 영향에 대하여. *한국농화학회지* 16(2): 94-98 (1972)
8. Porritt, S.W.: The effect of oxygen and low concentrations of carbon dioxide on the quality of apples stored in controlled atmosphere. *Can. J. Plant Sci.* 46: 317-321 (1966)
9. Anderson, R.E.: Experimental storage of eastern grown 'Delicious' apples in various controlled atmosphere. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 91: 810-820 (1967)
10. 박원기, 유명희: 감의 저장에 있어서 가스농도의 영향. *한국영양식량학회지* 5(1): 11-17 (1976)
11. Lidster, P. D., McRae, K. B. and Sanford, K. A.: *J. Amer. Hort. Sci.*, 106(2): 159 (1981)
12. Goodenough, P. W. and Tucker, G. A.: *Phytochemistry*, 21(2): 281 (1982)
13. 김동만, 강훈승, 김길환: 공기중에 혼합한 탄산가스 농도에 따른 딸기의 저장성에 관하여. *한국식품과학회지* 18(1): 66-70 (1986)
14. Kim, D. M. and Shin, H. K.: Changes in firmness of apples during exposure to room temperature after C.A. Storage. *J. Korean Soc. Food Nutr.*, 15(1): 9-14 (1986)
15. 이병영, 윤인화, 김영배, 한판주, 이정명: 밤의 polyethylene film 밀봉저장효과. *한국식품과학회지* 17(5): 331-335 (1985)
16. 박남규, 송정춘, 윤인화, 조광동: 배추, 무우 저장시험. 시험연구보고서 490 (1987)

17. 조한옥, 변명우, 권중호, 양호숙: 감자수확후 방사선 조사시기 및 조사선량이 그 저장성에 미치는 영향. 한국영양식량학회지 11(4):53-59(1982)
18. 조한옥, 권중호, 변명우, 윤형식: 방사선조사와 자연저온에 의한 마늘의 저장. 한국식품과학회지 16(1):66-70(1984)
19. 조한옥, 변명우, 권중호: 방사선조사와 자연저온에 의한 송이저장. 한국식품과학회지 16(2):182-184(1984)
20. Kwon, J.H., Yoon, H.S., Byun, M.W. and Cho, H.O.: Chemical changes in garlic bulbs resulting from ionizing energy treatment at sprout-inhibition dose. J.Korean Agric.Chem.Soc., 31(2):147-153(1988)
21. Harich, J.: DF-100. U.S. Patent 1, 354, 818(1982)
22. Valerde, E. and Vargas, E.: Response of onion "Yellow granex" hybrid, to the treatment with powdered grapefruit seed extract after 30 weeks of cold storage. Reports performed in the University of Costa Rica(1986)
23. 조성환, 서일원, 최종덕, 주인생: Grapefruit종자추출물이 Penicillium islandicum 생육 및 독소성분 skyrin생합성에 미치는 저해효과. 한국농화학회지. 33(2):169-173(1990)
24. 조성환, 이현철, 서일원, 김재욱, 장영상, 신재익: Grapefruit종자추출물을 이용한 밀감의 저장효과. 한국식품과학회지. 23(5):614-618(1991)
25. 이현철: Grapefruit종자추출물을 이용한 농작물의 저장효과. 경상대학교 석사학위논문 (1992)
26. 조성환, 서일원, 최종덕, 주인생: 수산물에 대한 Grapefruit종자추출물의 항균 및 항산화 효과. 한국수산학회지. 23: 289(1990)
27. 최종덕, 서일원, 조성환: Grapefruit종자추출물의 항균성에 관한 연구. 한국수산학회지. 23: 297(1990)
28. 조성환, 정덕화, 서일원, 이현숙, 황보혜: Grapefruit 종자추출물을 이용한 Aspergillus parasiticus의 생육 및 aflatoxin 생성억제효과. 한국식품위생학회지 7(1): 15-22(1992)
29. 주인생, 이현철, 조성환: Efficacy of grapefruit seed extract as a disinfectant and its dietary effect. 한국영양식량학회 제 27회 학술발표회 발표논문내용(1990)
30. Chile, F.: Test on the application of Grapefruit seed extract on the export grapes for the control of Botrytis cinerea Letter and tests performed by Chile F.(1988)