

감귤저장시 부패균 증식억제를 위한 식물유래 천연항균제 탐색

하철균, 이동규*, 강선철

대구대학교 공과대학 생물공학과, 동국대학교 한의과대학 생화학교실*

전화 : 053-850-6553, Fax : 053-850-6509

Abstract

Antifungal activities of domestic plants were examined to develop natural antimicrobial agents, able to protect citrus fruits from spoiling microorganism during their storage. A fungus was isolated from citrus fruits' storage and identified to *Penicillium* sp. CF-301, based on the morphological characteristics of conidiophore and conidia; flask shape of phialide, simple branching type of conidiophore, and columnar shape of conidial head, in malt extract agar and potato dextrose agar media. Chloroform extracts of *Juniperus chinensis* Linnaeus, *J. chinensis* var. *horizontalis* showed remarkable antifungal activities against *Penicillium* sp. CF-301.

서론

노지 감귤의 수확은 10월부터 12월에 걸쳐 이루어지는데 이때 출하량의 과다는 수급의 불균형을 가져와 적정가격 형성이 어렵다. 따라서 적합한 환경에서 감귤을 저장하여 출하량을 조절하게 되면 소비자가 원하는 신선한 과실을 공급하여 가격 안정과 소득증대를 가져올 수 있다. 그러나 일반적인 저장법은 온도에만 의존하는 저온저장이 대부분이므로, 이미 오염된 저온성 미생물로 인하여 감귤의 품질저하 및 부패 등의 심각한 문제가 발생되고 있다. 따라서 감귤의 저온저장시 부패를 일으키는 균을 동정하고, 이 균을 방제하기 위한 항균제 개발은 시급하게 요구되는 과제라 하겠다. 한편 미생물에 대한 항균제 개발은 주로 동식물에 대한 병원성 미생물을 중심으로 연구되어 왔고, 이런 용도로 개발된 항균제는 대부분 화학합성품을 사용하고 있으므로 감귤류의 저장에 적용하기에는 부적합하다. 천연항균제로는 식물추출물, 특정 단백질 및 효소류, 유기산류, bacteriocin 등이 있다. 특히 식물은 매우 다양한 유용성분을 함유하고 있으며 이러한 식물자원에서 항미생물 활성물질을 찾으려는 시도가 계속되어 왔으나 식품 저장이나 과채류 저장에 적용할 수 있는 항균제는 거의 없다. 따라서 본 연구에서는 감귤의 저온저장 시 부패를 일으키는 균을 분리, 동정하고 그러한 균들에 특이적으로 항균활성을 가지는 식용식물을 수집하여 부패 미생물에 대한 항균력을 검정하여, 궁극적으로는 감귤류의 저장기간 연장을 위한 천연항균제 개발의 기반을 마련하고자 한다.

재료 및 방법

실험에 사용한 균주는 감귤의 저온저장중 과육으로부터 분리한 곰팡이를 사용하였고, 균생육 배지로는 PDA 배지와 MEA 배지를 사용하였다. 이 균의 동정은 형태학적인 특징을 광학현미경과 육안으로 관찰하면서 Ainsworth & Bisby's Dictionary of the Fungi(7th ed.)의 분류체계에 따라 동정하였다. 그리고 본 실험에 사용한 식물재료는 경북 일대의 자생지에서 채취하여 녹즙기로 마쇄한 후 실험재료로 사용하였다. 이들 각각에 100ml의 n-hexane, ethyl-acetate, chloroform을 순차적으로 분획한 후 유기용매를 증발시켜서 추출물을 얻었으며, 남은 분획을 물분획으로 하였다. 각 추출물은 분획 용매에 100 mg/ml의 농도로 녹인 후 항균력 측정에 사용하였다. 항균활성 검사를 위해 감귤부패균을 PDB 배지에서 20℃에서 48시간 동안 진탕 배양하여 종균으로 사용하였다. 항균성 시험용 평판배지의 조제는 액상 배지에 agar를 0.8% 첨가하여 멸균한 후, 배지가 응고되기 전에 종균을 접종한 다음, petri dish에 10ml 씩 분주하였다. 이 평판배지가 응고된 후 지름 4mm의 구멍을 뚫고, 각각의 시료를 5 μ l씩 넣은 뒤 20℃로 48시간 배양한 후 생성되는 투명환의 크기로써 항균력을 측정하였다.

결과 및 고찰

제주도산 감귤로부터 분리한 균주를 동정하기 위하여 MEA배지 및 PDA배지에서 균체를 배양하면서 육안과 광학현미경을 이용하여 형태관찰을 수행한 결과 선발 균주는 위의 두 배지에서 빠른 성장을 보였으며, colony 표면의 색은 녹색을 띠었다(Table 1). 이 균주는 광학현미경 상에서 빗자루 모양의 전형적인 *Penicillium* sp.의 분생포자 형태를 나타내었다. 즉 conidial head의 형태는 칼럼형이었으며, 분생자의 직경은 2.5 μ m이었다. 경자의 형태는 플라스크형이었으며, 분생자병의 hyalide는 평활하였으며, 분절형태는 simple type이었다. 이상의 결과들로부터 분리균주는 *Penicillium* sp. CF-301 균주로 동정되었다. 한편 10여종의 국내 자생식물의 잎이나 종자를 마쇄한 즙으로 *Penicillium* sp. CF-301에 대한 항균활성을 조사한 결과를 Table 2에 요약하였다. 측백나무 열매와 주목나무를 제외한 8종은 이 균주에 대하여 항균활성을 보였고, 특히 측백나무 즙액에서 8mm의 투명대를 보임으로써 가장 높은 항균활성을 나타내었다. 또한 식물체 즙으로부터 활성을 나타내는 8종의 식물을 유기용매로 분획한 분획물의 항균활성은 Table 3에 요약하였다. 그 결과 정향나무와 쪽향나무의 잎은 chloroform 분액에서 가장 높은 활성을 나타내었고, 연필향나무와 측백나무의 잎은 n-hexane 분액에서 비교적 높은 항균활성을 나타내었다.

요약

감귤의 저온저장 중 부패방지를 위한 천연항균제 개발의 일환으로 감귤의 저온저장

중 과피로부터 분리한 곰팡이를 MEA와 PDA 배지에서 배양하면서 분생자병과 분생자의 형태적 특성을 조사한 결과 플라스크형의 phialide, 분생자병의 branching type이 simple type이며, conidial head가 columnar shape 등의 특징을 갖는 *Penicillium* sp. CF-301로 동정되었다. 또한 국내 자생식물을 채집하여 유기용매로 추출한 후 항균활성을 조사한 결과 측백나무 열매와 주목나무를 제외한 8종의 식물 추출액이 감귤부패균에 대하여 항균활성을 보였으며, 특히 측백나무 즙액은 8mm의 투명환을 보여 가장 높은 항균활성을 나타내었다.

감사

본 연구는 과학기술부·한국과학재단 지정 대구대학교 농산물저장·가공 및 산업화 연구센터(RRC)의 연구비 지원에 의한 것이며 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. Cavallito, C. J. and J. H. Bailey (1944) Allicin, the antimicrobial principle of *Allium sativum*. I. Isolation, physical properties and antibacterial action. *J. Am. Chem. Soc.*, **66**, 1950-1951.
2. Lin, A. J., M. Lee and D. L. Klayman (1989) Antimarial activity of new water-soluble dihydroatemisinin derivatives. 2. Streospecificity of the ether side chain, *J. Med. Chem.* **32**, 1249-1252.
3. Beuchat, L. R. (1976) Sensitivity of *Vibrio parahaemolyticus* to spices and organic acids. *J. Food Science* **41**, 899-902.

Table 1. Morphological characteristics of *Penicillium* sp. CF-301.

Characteristics	MEA(malt extract agar)
Growth	fast
Colony color	green(dark)
Colony reverse color	yellow
Colony type	convex
Conidial head	columnar, radiate
Type of conidiophore branching	simple
Conidiophores' hyalide	smooth
Phialide	flask shape
Conidia shape	globose, 2.5 μ m(dia.)
Exudate	absent

Table 2. Antifungal activity of crude extracts from domestic plants against *Penicillium* sp. CF-301.

Plants	Part*	Antifungal activity
<i>Juniperus chinensis</i> L.	L	++
<i>J. chinensis</i> var. <i>globosa</i> H.	L	+
<i>J. virginiana</i> L.	L	+++
<i>J. chinensis</i> var. <i>horizontalis</i> N.	L	+
<i>Thuja orientalis</i>	L	+++
<i>T. orientalis</i>	S	-
<i>Taxacus cuspidata</i>	L	-
<i>Arundinaria simonii</i>	L	+++
<i>Poncirus trifoliata</i>	L	+
<i>Lonicera japonica</i>	L	+

*L, leaf; S, seed

-, no activity; +, 1-2mm; ++, 2-3mm; +++, 3-8mm

Table 3. Antifungal activity of the solvent fractions from the crude extracts of plant selected by first screening test against *Penicillium* sp. CF-301.

Plants	Diameter of clear zone (mm)			
	n-Hexane	Ethyl acetate	Chloroform	Water
<i>Juniperus chinensis</i> L.	-	1	5	-
<i>J. chinensis</i> var. <i>globosa</i> H.	3	2	-	-
<i>J. virginiana</i> L.	5	3	-	1
<i>J. chinensis</i> var. <i>horizontalis</i> N.	3	3	-	-
<i>Thuja orientalis</i> (Leaf)	2	-	-	-
<i>T. orientalis</i> (Seed)	-	-	-	-
<i>T. cuspidata</i>	-	-	-	-
<i>Arundinaria simonii</i>	-	4	5	-
<i>Poncirus trifoliata</i>	-	-	2	-
<i>Lonicera japonica</i>	-	2	-	-