

콩나물 腐敗輕減에 有用한 藥劑 選拔*

朴義浩** · 崔然湜**

Selection of Useful Chemicals Reducing Soybean-Sprout Rot*

Eui Ho Park** and Yeun Sig Choi**

ABSTRACT : This study was carried out to select useful chemicals to control pathogens inciting soybean-sprout rot. Pathogen strains were isolated from decaying soybean seedlings. The isolated strains were identified as *Pseudomonas* spp. (*Pse.* strains) through microbiological test, however, no rot-inciting fungus was isolated. Eight food additives were tested with different concentrations in controlling pathogens and harmfulness. Five chemicals(over 5% conc.) including sodium hypochlorite apparently inhibited the growth of *Pse.* strains on media plate, however, sodium hypochlorite was discarded due to its severe germination inhibition. Propionic acid and acetic acid inhibited the growth of *Pse.* strains more effectively than calcium propionate and sodium propionate relatively. As no harmful effect on seed germination and no growth retard of soybean sprouts were observed by those chemicals with lower concentration(0.5~1.0%), these chemicals were considered to be applicable to sprout rot control judged by the effectiveness and permissible concentration as food additives.

Key words : Soybean sprout, Pathogens, Chemicals, Food additives

콩나물은 嗜好性이 높은 우리나라 고유의 채소 식품으로서 그 이용역사가 오래일 뿐만 아니라^{3,4)} 단백질 및 비타민류의 細源으로서도 중요한 역할을 해 왔다^{2,6,7)}. 전통적으로 주로 가정에서의 자가소비를 목적으로 소량씩 재배되어 왔으나 근래에는 市場出荷를 목적으로 한 기업형 공장들이 증가하고 있으며 재배여건도 생산자에 따라 큰 차이를 보이고 있다⁵⁾. 재배규모가 점차 커지면서 우수한 원료콩의 확보와 물주기, 온도유지, 換氣 등의 재배조건 개선뿐만 아니라 콩나물 재배과정 중에 흔히 발생하는 腐敗문제도 매우 중요한 현안이 되고 있다^{9,10,12)}. 콩나물의 부패개체는 품질 저하에 심각한 요인으로 작용하고 있는데 아직까지 이

러한 부패문제를 근본적으로 해결하기 위한 좋은 방안은 제시되지 않고 있다. 더구나 부패방지를 위하여 인체에 유해한 농약을 사용한 사례들도 있어 국민건강상 심각한 문제로 인식되어 왔다.

따라서 본 실험은 콩나물 재배과정에서의 부패 문제를 근본적으로 해결하고 일부의 음성적인 농약사용을 근절시키기 위하여, 기존의 식품제조에 허용되고 있으며 항미생물작용과 방부효과가 있는 酸味料와 殺菌料⁸⁾를 대상으로 이들의 부패방여균에 대한 증식억제효과 및 그 이용 가능성을 검토하고자 수행되었다.

* 이 論文은 1993年度 嶺南大學校 學術研究造成費에 의한 것임.

** 嶺南大學校 自然資源大學 農學科(Dept. of Agronomy, Yeungnam Univ., Gyeongsan 712-749, Korea) <'95. 5. 1 接受>

材料 및 方法

1. 콩나물 腐敗菌의 分離 및 同定

PET(polyethylene terephthalate) 병을 이용하여 미리 흡수시킨 은하콩을 빽빽하게 置床한 뒤 28°C의 항온기에서 키우면서 自然發病을 유도하였다. 부패개체 罹病部位의 가장자리를 5mm 크기로 절단한 다음, 95% ethyl alcohol과 3% sodium hypochlorite 용액으로 표면소독을 한 후 이를 PDA(potato dextrose agar) 배지상에 置床하여 25°C의 항온기에서 48시간 배양하였다.^{9,10)} 형성된 colony에서 순수분리된 균들의 콩나물 腐敗菌與 여부를 확인하기 위하여 동일한 방법으로 표면 소독한 은하콩 종자를 시험관내에서 발아시키고 3일 후에 인위접종하여 콩나물에 부패를 일으키는 균을 선발하였다.

부패를 일으키는 세균의 동정은 Gram stain, King's B 배지에서 螢光物質 형성 여부, anaerobic growth test 등¹¹⁾의 생리적 특성을 조사하여 Bergy's manual¹¹⁾에 예시된 세균분류 및 특성표와 비교하였다.

2. 부패균 増殖抑制 약제의 선발

식품添加劑로 이용되고 있는 sodium hypochlorite, propionic acid, acetic acid(glacial), calcium hypochlorite, calcium propionate, sodium propionate, citric acid, ethyl alcohol 등 8가지를 공시하여 이들의 균증식 억제효과를 배지상에서 검정하였는데, 검정방법은 미생물의 항균감수성 검사(antibiotic sensitivity test)에 이용되고 있는 disc 확산법¹¹⁾을 이용하였다. 즉, 분리된 부패균을 25°C의 shaking incubator에서 24시간 액체배양한 후 petri dish의 TSA(trypic soy agar) 배지상에 0.5ml의 세균현탁액을全面에 고르게 塗抹하였다. 0.6cm 크기의 filter paper disk에 각 약제를 묻혀 도말면 위에 놓아 두고 24시간 후에 disk 주위의 균 증식양상에 의해 약효여부를 판별하였다. 1, 5, 10%의 약액으로 효과가 나타난 약제들을 1차 선발하되 발아저해 등의

약해가 심한 약제는 排除하였다. 1차 선발된 약제들을 대상으로 0.1%, 0.5%, 1.0%의 실용적인 低濃度下에서 그 효과를 검토하였다.

3. 선발약제의 총에 대한 藥害

각 약제의 1, 0.5 및 0.1% 용액에 은하콩 종자를 2분간 침지시킨 후 중류수로 3회 씻어 처리당 40립의 종자를 petri-dish에 5반복씩 치상한 후 1일째부터 발아정도와 양상을 관찰하였다. 약해정도는 발아율, 초기생육과 비정상 발아개체의 비율로 판단하였다.

結果 및 考察

1. 콩나물 腐敗菌의 分離 및 同定

콩나물의 부패조직으로부터 11개 菌系(A부터 K균계까지)를 colony별로 순수분리하였으며, 시험관 내에서 멸균된 상태로 재배한 콩나물에 이들을 다시 접종하여 부패현상을 나타내는 C, D, J의 3균계를 선발하였다. C와 D균계는 콩나물 배축부위에 심한 수침현상을 보여 병원성이 강한 것으로 나타났으며, J균계는 배축부위에 붉은 반점을 나타내는 양상만 보여 상대적으로 약한 것으로 나타났다. 明⁹⁾은 콩나물로부터 분리된 균계들 중에는 발아를 저해하거나 배축 및 뿌리부위에 반점을 나타내는 등의 병징을 보인다고 하였는데 본 실험에서 분리된 菌系들간 병징의 차이도 이들이 분류학상 상이한 種 또는 屬이거나 菌系에 따른 병원성의 차이에 기인했을 것으로 추정되어 각 菌系별로 몇가지 생리적인 특성반응을 조사하여 同定하였다.

부패에 관여한 것으로 확인된 C, D, J菌系들을 가지고 Gram stain, King's B 배지에서 螢光物質 형성과 anaerobic growth test 등의 생리적 반응을 조사한 결과는 표 1과 같다.

이들 세 균계는 모두 好氣性菌이면서 Gram 陰性菌으로 나타났으며 catalase test에서도 모두 陽性으로 나타났다. 또한 mobility 특성과 oxidase test 결과도 양성 및 부분적 양성으로 나타났다. 菌系간 특성의 차이는 다소 있었지만 이를

Table 1. Diagnostic test for the identification of bacteria strains isolated from rotten soybean sprouts*

Microbiological test	Characteristics of <i>Pseudomonas</i> spp.**	Tested strains		
		C	D	J
Gram stain	-	-	-	-
Anaerobic growth	-	-	-	-
Catalase test	+	+	+	+
Mobility	+	+	+	+
Oxidase test	d	d	+	d
Pathogenicity to soybean sprouts	d	+	+	+
Fluorescent pigment	d	-	+	-
Starch hydrolysis	d	+	-	-

* : +, -, and d indicates positive, negative and partial(11-89%) positive reaction, respectively.

** : cited from Bergy's manual.

이를 종합하여 Bergy's Manual^[1]에 제시된 특성과 비교해 볼 때 분리된 균계들은 *Pseudomonas*屬의 생리적 특징과 대부분 일치하여 이들은 모두 *Pseudomonas*屬에 속하는 유사종으로 판단되었다. 그러나 King's B 배지상에서의 형광물질 생성 특성을 보면 C와 J菌系는 생성되지 않은 반면 D菌系에서는 형광물질이 생성되었으며, starch hydrolysis 반응과 oxidase test에서도菌系간 다소 다른 반응을 보였다.

明^[2]은 콩나물 부패에 관여하는 균으로 *Fusarium* spp.의 곰팡이류와 *Pseudomonas* spp.의 細菌類가 존재한다고 보고하였는데 본 실험에서는 부패개체의 감염부위로부터 곰팡이류가 분리되었으나 콩나물에 재접종하여 확인한 결과, 부패에 관여하는 곰팡이류는 없었다. 이는 한정된 공간 및 시간적 조건하의 自然罹病個體로부터 균들이 분리되었기 때문에 나타난 결과일 수도 있다고 추정되며, 추후 보다 다양한 환경조건과 광범위한 부패개체 수집 등을 통한 보완실험이 수행되어야 할 것으로 사료되었다. 또한朴^[12]은 이러한 부패를 생물학적으로 방제하기 위한 방법으로서 자반병에 감염된 종자를 이용하면誘導抵抗性을 나타낸다고 보고한 바 있는데, 본 실험에서는 pH가 낮은 산성 식품첨가제들을 처리함으로써 동일한 효과를 얻고자 시도되었다.

2. 藥劑의 腐敗菌 增殖 抑制效果

콩나물 부패균 증식에 억제효과를 나타내는 약제를 선발하기 위하여 균이 배양되고 있는 人工培地에 1, 5, 10% 농도의 acetic acid 등 8가지 식품첨가제를 처리하여 24시간 후에 균의 확산양상을 관찰하였다(사진 1).

사진 1에서 보는 바와 같이 농도 5% 이상의 sodium hypochlorite, propionic acid와 acetic acid의 disk 주위에는 뚜렷한 環形의 無菌帶가 형성되어 균증식 억제효과가 매우 큰 것으로 나타났다. 또한 calcium propionate와 sodium propionate도 5% 이상의 농도에서 선명한 억제현상을 볼 수 있었는데 disk 주위의 무균대 크기가 상대적으로 작았다. Sodium hypochlorite의 경우는 1% 농도에서도 無菌帶를 형성하여 그 효과가 가장 커던 반면 ethyl alcohol, calcium hypochlorite, citric acid 등의 처리 효과는 거의 없는 것으로 나타났다. 다만 sodium hypochlorite는 예비실험 결과 콩 발아를 크게 저해하는 피해증상이 나타나 검토대상에서 제외하였다.

그런데 acetic acid 등의 약제들이 5% 이상의 濃度에서 부패균의 증식은 현저히 억제하였으나 이러한 농도는 식품첨가제로서의 허용 한계농도를 上廻할 뿐만 아니라 콩나물의 생육에도 영향을 줄 가능성이 있어 적정 最低농도의 한계내에서 검토하는 것이 실용적일 것으로 판단되었다. 따라서 이를 4가지 식품첨가제를 대상으로 1%이하의 濃度에서 부패균 증식 억제 정도를 관찰하였다.

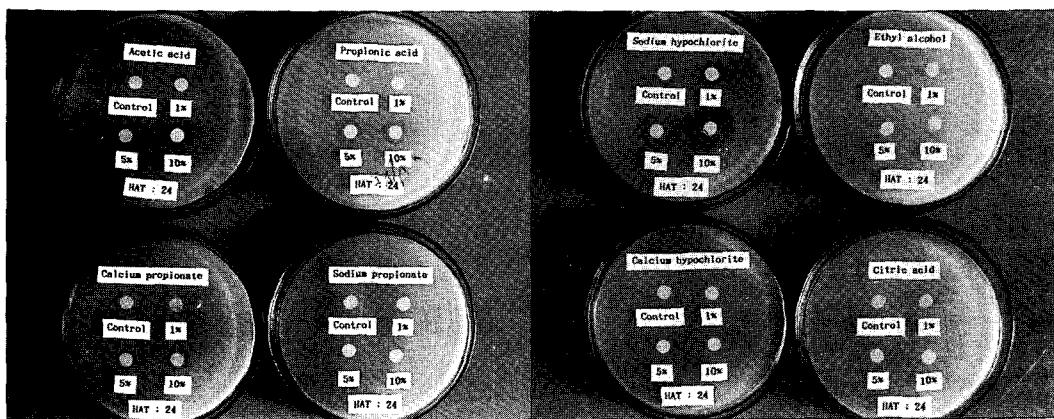


Photo. 1. Effect of chemical treatments on the growth inhibition of *Pseudomonas* spp. at 24 hours after treatment (round filter paper disks soaked with chemicals were placed on the surface of inoculated media).

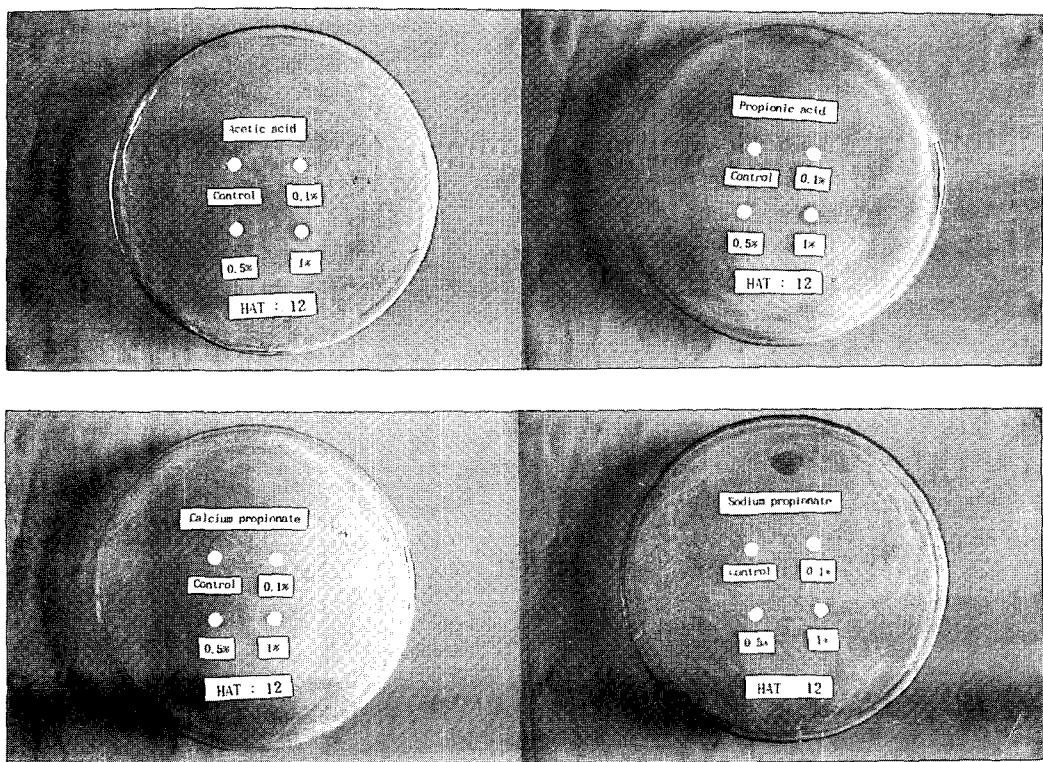


Photo. 2. Growth inhibition of *Pseudomonas* spp. affected by low concentrations of four chemicals (round filter paper disks soaked with chemicals were placed on the surface of inoculated media).

사진 2는 TSA 배지에 균현탁액을 1차실험보다 적은 0.1ml씩 도말한 후, 각각 0.1, 0.5, 1.0%의 식품첨가제를 묻힌 disk를 올려놓고 12시간 후 균증식 억제양상을 촬영하여 얻은 결과이다. 사진 2에 의하면 선발된 약제 4종 모두 1%의 농도에서도 육안 판별이 가능한 억제현상을 관찰할 수 있었다. Acetic acid와 propionic acid는 0.5%의 농도에서도 다소 미약하지만 그 효과를 인정할 수 있었으나 calcium propionate와 sodium propionate의 경우에는 뚜렷하지 않았다.

그러나 이러한 원인으로는 disk에 침투된 약제가 시간 경과에 따라 확산되면서 점차 배지내에서 희석됨으로써 실제의 효과에 비해 다소 약하게 나타났기 때문으로 추정된다. 또 콩나물 재배과정에서는 주기적으로 물을 주기 때문에 이러한 높은 균밀도 환경이 유발될 가능성은 매우 낮으며 따라서 실제 재배과정에서는 저농도의 약제처리로도

충분히 그 효과가 증대될 것으로 추측되었다.

이들 약제들의 사용 허용치는 식품의 종류나 가공정도에 따라 다소 다르긴 하나 제품의 0.09~2% 범위인 저농도가 대부분이므로⁸⁾ 허용한계농도에 대한 문제도 제기될 수 있겠으나, 허용치보다 훨씬 높은 농도의 약제를 처리하더라도 종자나 콩나물의 부피에 비해 그 흡수되는 양은 극히 미미하여 허용치의 한계에는 훨씬 못 미치는 농도가 될 것이므로 실제 사용상의 문제는 없다고 볼 수 있겠다.

3. 선발약제의 콩에 대한 毒害

Acetic acid 등 1차 선발된 4가지 약제를 대상으로 각각 0.1, 0.5, 1%의 농도로 종자에 2분간 처리하여 이들이 콩의 발아에 미치는 영향을 검토하였다(표 2, 3, 4).

0.1% 농도의 약제들을 종자에 처리하였을 때

Table 2. Effects of chemical(0.1% conc.) treatment on the germination and seedling growth of soybean sprouts*

Food additives	Germination(%)				Seedling length(cm)		Abnormal seedling(%)
	1	2	3	4 ^{DAT}	2	3 ^{DAT}	
Control	77.5	98.5	99.0	99.0a ⁺	3.1	5.8a	20.5a
Acetic acid(0.1%)	74.5	98.5	99.0	99.0a	2.9	6.0a	21.5a
Propionic acid(0.1%)	79.0	98.0	99.0	99.0a	2.9	6.2a	24.5a
Sodium propionate(0.1%)	76.0	96.0	98.0	98.0a	2.8	5.9a	27.0a
Calcium propionate(0.1%)	77.5	97.5	98.0	98.0a	2.9	6.0a	23.0a

+ The same letters in a column of the same section are not significantly different at the 5% level by Duncan's Multiple Range Test.

* Seeds were soaked in the chemical solutions for 2 min, and rinsed 3 times with water.

Table 3. Effects of chemical(0.5% conc.) treatment on the germination and seedling growth of soybean sprouts*.

Food additives	Germination(%)				Seedling length(cm)		Abnormal seedling(%)
	1	2	3	4 ^{DAT}	2	3 ^{DAT}	
Control	75.0	96.5	96.5	96.5a	2.5	4.8a	21.0a
Acetic acid(0.5%)	79.0	98.0	98.5	98.5a	2.7	5.2a	19.0a
Propionic acid(0.5%)	77.5	97.0	98.0	98.0a	2.6	4.9a	21.5a
Sodium propionate(0.5%)	79.0	97.5	98.0	98.0a	2.7	5.2a	18.0a
Calcium propionate(0.5%)	81.5	99.0	99.0	99.0a	2.7	6.1a	19.5a

+ The same letters in a column of the same section are not significantly different at the 5% level by Duncan's Multiple Range Test.

* Seeds were soaked in the chemical solutions for 2 min, and rinsed 3 times with water.

Table 4. Effects of chemical(1.0% conc.) treatment on the germination and seeding growth of soybean sprouts*.

Food additives	Germination(%)				Seedling length(cm)		Abnormal seedling(%)
	1	2	3	4 ^{DAT}	2	3 ^{DAT}	
Control	82.0	92.0	95.5	95.5a	2.3	5.0a	20.0a
Acetic acid(1.0%)	82.5	97.0	97.0	97.0a	2.5	5.8a	23.5a
Propionic acid(1.0%)	84.5	96.0	97.0	97.0a	2.7	5.8a	18.5a
Sodium propionate(1.0%)	81.5	95.0	95.0	95.0a	2.7	5.5a	18.5a
Calcium propionate(1.0%)	85.0	98.5	99.0	99.0a	2.8	6.5a	22.0a

+ The same letters in a column of the same section are not significantly different at the 5% level by Duncan's Multiple Range Test.

* Seeds were soaked in the chemical solutions for 2 min. and rinsed 3 times with water.

발아 및 유묘생육에 미치는 영향을 표 2에서 보면, 치상 3일째부터 모든 처리에서의 발아율이 98%를 상회하였으며 무처리 및 처리약제간 발아율의 유의적인 차이를 나타내지 않았다. 발아율이 전체적으로 매우 높았던 반면 비정상유묘의 비율도 대체로 높았는데 이는 보다 높은 부패율 유도를 위하여 다소 노화된 종자를 사용하였고, 또한 상품성이 없을 것으로 예상되는 발아개체들을 모두 포함시켰기 때문에 나타난 결과로 사료되었다.

처리 3일후의 유묘길이는 6cm 전후로 처리간 차이를 나타내지 않았다. 또한 비정상적인 발육개체의 비율에서도 무처리에 비해 약제처리에 따른 차이를 보이지 않아 0.1%의 농도에서는 이를 약제처리로 인한 약해의 문제는 거의 없을 것으로 판단되었다.

처리약제의 농도가 높을수록 부패균에 대한 약효는 증대될 수 있으므로, 다소 높은 0.5% 및 1.0%의 농도에서 그 처리효과를 조사하여 표 3과 표 4를 얻었다.

표 3과 표 4의 결과를 보면, 약제처리의 영향은 0.1%용액을 처리했을 때와 거의 같은 경향을 보였다. 즉 무처리에 비해 0.5% 및 1.0%의 약제처리로도 발아율 및 유묘생육에 영향을 미치지 않는 것으로 나타났으며 비정상발육 유묘의 비율에서도 차이를 나타내지 않았다. 따라서 콩나물 치상 전에 이들 약제들의 사용 허용치 범위인 1.0% 이하의 약액에 종자를 침지처리한다면, 발아 및 발육에 지장을 초래하지 않으면서 콩나물 부패균의 증식을 억제시킬 수 있는 가능성이 충분할 것으로 판단되었다.

다만 종자처리가 아닌 콩나물 재배과정 중의 유묘처리 경우를 고려하여 그 처리시기나 농도별 약해문제에 관한 연구가 추후 보완되어야 할 것이며, 사용 허용기준이나 이와 관련된 행정적 규제 등의 문제도 검토되어야 할 과제로 사료되었다.

摘要

본 실험은 콩나물 재배과정 중에 일어나는 부패문제를 해결하기 위하여 사용이 허가된 산성 식품첨가제들을 대상으로 그 이용 가능성을 찾아보고자 수행되었다. 다소 老化된 은하콩을 재료로 콩나물 배축의 腐敗에 關與하는 菌(腐敗菌)을 순수분리하여 그 특성을 조사하였고, propionic acid 등 8가지 약제처리가 부패균의 증식 억제효과를 人工培地上에서 검토하였다. 또한 1% 이하의 약액처리가 콩나물 발아와 유묘생장에 미치는 영향을 조사하여 약해유발의 가능성도 검토하였으며 그 결과들을 요약하면 다음과 같다.

- 부패균으로 확인된 3종류의 菌系를 대상으로 Gram stain 등 8가지 미생물학적 검정을 통하여 분석한 결과 상호 약간의 특성 차이는 있었으나 Pseudomonas屬의 균계로 판단되었으며, 분리된 곰팡이류 중에는 腐敗菌이 없었다.
- 5% 이상의 농도에서는 공시약제 중 sodium hypochlorite의 腐敗菌 증식억제 효과가 가장 컸으나 발아를 극심하게 저해하여 실용성이 없다고 판단되었다.
- Propionic acid, acetic acid, calcium propi-

- onate, sodium propionate 등의 약제 효과가 큰 것으로 나타났는데 propionic acid와 acetic acid의 효과가 상대적으로 더 뚜렷하였다.
4. Propionic acid, acetic acid, calcium propionate, sodium propionate 등의 선발된 4가지 약제는 1.0% 및 그 이하의 농도에서도 다소의 부패균 증식억제 효과가 나타나 부패경감제로서의 충분한 이용 가능성을 보였다.
 5. 1%이하의 용액에 콩종자를 침지처리 하였을 때 무처리에 비해 선발된 4가지 약제처리에서 모두 발아율, 초기생육 및 비정상발아 개체율에서 차이를 나타내지 않아 약해는 問題視 되지 않을 것으로 판단되었다.
- ### 引用文獻
1. Cappuccino, J.G. and N. Sherman. 1992. Microbiology: a laboratory manual. Third ed. The Benjamin /Cumming Pub. Co. Inc. pp.31-33, 77-82, 247-254.
 2. 崔春彥, 金正熙, 宋必淳, 李泰寧. 1959. 大豆發芽中 vitamin의 消長에 關하여. 과연회보 4(2) : 181-183.
 3. 豆菜情報社. 1989. 콩과 콩나물 文化的 발상 지. 豆菜 1(4) : 24-27.
 4. 張勸烈. 1989. 古農書를 통해 본 韓民族과 콩. 韓國 콩研究會誌 6(2) : 1-8.
 5. 김길환. 1989. 콩나물 재배에 대한 연구. 豆菜 1(4) : 16-23.
 6. 김상옥. 1989. 콩나물 생장과 비타민 C의 생합성에 대한 생장조절제의 영향. 豆菜 1(6) : 16-25.
 7. 김석동, 김수희, 홍은희. 1993. 콩나물의 성분과 그 영양학적 의미. 韓國 콩研究會誌 10(1) : 1-9.
 8. 文範洙. 1993. 食品添加物. 修學社. pp.74-218.
 9. 明寅植. 1987. 콩나물 腐敗의 原因과 防除. 고려대학교 석사학위논문.
 10. 吳秉俊. 1989. 鐵分 및 鹽分이 콩나물 生育과 腐敗에 미치는 影響 및 콩나물 腐敗病菌. 고려대학교 석사학위 논문.
 11. Palleroni, N.J. 1984. Family I. *Pseudomonadaceae*. in Krieg, N.R. and J.C. Holt(ed.). Bergy's Manual of Systematic Bacteriology Vol. I. Williams & Wilkins Co , Baltimore. pp.141-219.
 12. 朴元穆. 1986. 콩나물 腐敗病의 生物學的 防除. 韓國 콩研究會誌 3(2) : 4-9.