

시설원예산물의 선도유지를 위한 항균소재의 개발

정윤정, 이숙지, 정순경, 김영록, 조성환[†]
경상대학교 식품공학과

Development of Natural Antimicrobial Agents for Preserving Greenhouse Fresh Produce

Yun-Jung Chung, Suk-Ji Lee, Sun-Kyung Chung,
Young-Rok Kim and Sung-Hwan Cho[†]

Department of Food Science and Technology, Gyeongsang National University

Abstract

To investigate the function and effectiveness of natural antimicrobial agents(NAA), as freshness preserving material, extracted from medicinal herbs, their antimicrobial activities were tested against *Bacillus cereus*, *Corynebacterium xerosis*, *Pseudomonas syringae* and *Enterobacter aerogenes* causing the postharvest decay of greenhouse produce. The ethanol extracts of *Polygonum cuspidatum* Sieb. et Zucc and *Syzyrium aromaticum* (L.) Merr. et Perry showed remarkable inhibitory effect on the growth of above-mentioned reference microorganisms when treated with more than 500ppm.. The antimicrobial activities of NAA were very stable in the wide spectrum of temperature (40°C~180°C) and pH(4~10).

Key words : natural antimicrobial agents, freshness preserving material, antimicrobial activities, greenhouse produce,

서론

최근, 과채류의 소비가 계속적으로 증대하고 있고, 시설원예의 발달로 생산량이 늘어가고 있는 상황에서 저온저장시설이 제대로 갖추어져 있지 않은 농촌실정 때문에 매년 수확기에 일시적으로 홍수출하는 많은 양의 과채류를 병충해로 폐기처분하게 되고 변패되기 전에 낮은 가격으로나마 수확 즉시 신속하게 판매처리해야 할 어려움에 직면하고 있다(1~5). 현재, 저렴하고 단순한 처리저장기술을 개발하여 산지농가에 보급, 활용케함으로써 과채류의 수확시기나 횡수에 상관없이 신선도를 유지한 과채류를 공급할수 있는 상황이 시급히 도래할 필요성이 요구되며, 과채류의 생리활성을 적극적으로 지속시키면서 선도를 유지시킬수 있는 선도유지제의 개발이 시급한 실정이다. 따라

서, 안전성이 우수한 시설원예산물의 선도유지기능을 가진 천연항균성 저장소재의 개발이 절실히 요구되고 있다. 본 실험에서는 약용식물로부터 천연항균소재(Natural antimicrobial agents :이하 NAA라 칭함)를 추출·분리하고 NAA의 과채류변패 미생물에 대한 항균력 검사 및 생육저해곡선 측정과 아울러, NAA자체의 열 및 pH안전성을 살펴봄으로써 NAA의 항균작용과 안정성을 확인하였다. 이를 기초로 해서, 항균력이 우수한 NAA를 선발하여, 시설채소산물에 대한 분무 또는 침지처리제 및 포장소재등의 천연 선도유지제로서의 이용가능성을 검토하여, 저장, 수송등 유통과정에서 시설채소산물의 shelf life를 연장함으로써, 우리나라 시설채소산물산업의 국제경쟁력 강화에 기여할수 있는 기초를 마련하고자 하였다.

재료 및 방법

Corresponding author : Sung-Hwan Cho, Dept. of Food Sci & Technol., Gyeongsang National University, 900 Kazwa-Dong, Chinju, 660-701, Korea

약용식물로부터 항균소재의 조제

본 실험에 사용되는 항균물질추출용 약용식물로는,

뚜렷한 항균작용 또는 항진균작용이 있는 것으로 소개되고 있고(6~8), 우리나라에서 재배 또는 생육하고 있는 약용식물들을 선별하여 전국 각지에서 채집 또는 구입한 후, 음건한 것이나 생것을 세절하여 추출 시료로 하였다. 먼저, 세절한 추출시료에 ethanol을 각각 첨가하고, homogenizer로 마쇄하여 상온에서 교반·침출시킨 후 1차 추출하고, 다시 일정량의 ethanol을 추출시료에 가하여 같은 방법으로 2차 추출한 후, 추출액을 합하여 Whatman No.2로 여과하였다. 이 추출여액을 50°C-60°C water bath상에서 감압·농축하고 5°C의 냉장고에서 하룻밤 방치한 후, 원심분리하여 침전된 불순물을 제거하고 층분리시킨 후, 건조시켜 천연항균소재(NAA)인 약용식물추출물을 수집하였다. 이 때 얻어지는 추출물은 자외선이 조사되는 무균실에서 특정온도, 압력, 저장시간등의 조건하에서 품질관리 방법에 의한 검사를 실시하여 일정한 규격의 제품이 되도록 하여 사용목적에 알맞도록 각각의 추출용매로 희석한 일정농도의 NAA를 실험용 시료로 사용하였다.

NAA의 물리, 화학적 특성분석

추출시료인 약용식물추출물의 화학조성 성분 및 물리적 특성은 AOAC법(9)에 준하여 분석하였다.

항균력 시험

시설원예산물의 변패미생물에 대한 NAA의 항균력 시험은 다음과 같은 방법으로 균주의 특성 및 분리능에 따라 방법을 선택하여 실시하였다. 시설원예산물 변패미생물에 대한 항균물질의 항균력은 disc plate method(10)를 사용하여 측정하였다. 본 실험에서는 변패된 시설원예산물에서 분리·동정된 *Bacillus cereus*, *Pseudomonas syringae*, *Corynebacterium xerosis* 및 *Enterobacter aerogenes*를 공시균주로 하여, 일정시간 배양한 후, 대조균의 미생물이 배지상의 전표면에 성장한 것이 확인된 후, paper disc주변의 clear zone의 직경을 측정하여 항균효과를 비교하였다.

NAA의 열 및 pH 안정성 조사

항균활성물질의 열안정성을 측정하기 위하여 NAA를 40°C, 60°C, 80°C, 100°C, 120°C 및 180°C에서 각각 1시간동안 열처리한 후, 살균 냉각한 Potato dextrose agar에 500 µg/disc이 되도록 첨가한 다음, disc plate법으로 대조균과 같이 시설원예산물의 변패미생물의 생육저해환을 측정·비교하였다. 또한, pH안정성은 염산이나 수산화나트륨으로 NAA의 pH를, pH 4, pH 6, pH 7, pH 8 및 pH 10으로 조정한 후, 37°C에서 1

시간 방치한 다음, 다시 pH 7로 중화시켜서 열안정성과 동일한 방법으로 생육저해환을 측정·비교하였다.

NAA의 미생물 생육저해 농도곡선 측정

NAA를 membrane filter(0.2 µm)로 제균시키고, Tryptic soy broth(TSB)에 NAA를 여러가지 농도단위로 첨가한 후, 각 공시균주의 slant에서 배양된 균주 1백급이를 취하여 10ml TSB에 접종, 30°C에서 24시간동안 배양시키고, 이 배양액 0.1ml를 취해 다시 10ml TSB에 접종하여 30°C에서 24시간동안 배양한 배양액 0.1ml를 여러 농도의 NAA가 함유된 TSB에 접종한 후 배양하였다. NAA첨가농도별 항균성 효과는 미생물의 생육정도를 spectrometer(620nm)에서 흡광도를 측정하고, NAA를 넣지 않은 TSB를 blank로 사용하였다.

결과 및 고찰

천연항균소재의 조제

국내산 약용식물추출물(20여종)을 건조된 상태로 구입하여 ethanol로 추출·농축하고 동결건조기로 건조하여 조제한 NAA의 추출수율은 다음 Table 1과 같다. 추출수율은 건물중으로 8.0%~40.9% 범위에서 다양하게 나타났으며 목향이 40.9%로 가장 높은 값을 보였으며, 항균력이 우수한 것으로 확인된 NAA중, 호장 10.5%, 정향 16.1%로 비교적 높은 수율로 나타났다.

Table 1. The extraction yields of Korean medicinal herbs as dry weight basis

Name of medicinal herb	Scientific name	Extraction yields(%)
木香	<i>Saussurea lappa</i> Clarke	40.9
白芷	<i>Angelica dahurica</i> (Fisch. ex Hoffm.) Benth. et Sav.	17.2
赤芍藥	<i>Paeonia lactiflora</i> Pall.	8.7
梔子	<i>Gardenia jasminoides</i>	21.8
虎杖	<i>Polygonum cuspidatum</i> Sieb. et Zucc	10.5
馬兜鈴	<i>Aristolochia contorta</i> Bge.	8.0
丁香	<i>Syzygium aromaticum</i> (L.) Merr. et Perry	16.1
苦參	<i>Sophora flavescens</i>	13.5

NAA의 물리적, 화학적 특성 분석

전반부 실험결과에서 항균력이 뛰어난 것으로 밝혀진 호장 및 정향의 ethanol추출물의 물리화학적 특성을 분석한 결과는 다음 Table 2와 같다.

Table 2. Chemical components and physical properties of Polygonum cuspidatum Sieb. et Zucc. extract and Syzyrium aromaticum (L.) Merr. et Perry extract

Chemical components	Dry weight basis(%)	
	<i>Polygonum cuspidatum</i> Sieb. et Zucc ethanol extract	<i>Syzyrium aromaticum</i> (L.) Merr. et Perry ethanol extract
Moisture	7.0	7.8
Ash	12.5	13.7
Total sugar	26.3	35.6
Fat	0.2	0.5
Total nitrogen	12.2	1.1
Physical properties	<i>Polygonum cuspidatum</i> Sieb. et Zucc	<i>Syzyrium aromaticum</i> (L.) Merr. et Perry
Color	dark brown	dark brown
pH at 25°C (aqueous soln.)	6.6	5.6

NAA의 항균력

Table 3에서 보는 바와 같이, 본실험시료로 선택한 NAA중 넓은 영역의 변태미생물에 대하여 항균력이 뛰어난 것은 목향, 치자, 호장, 마두령, 어성초, 정향 등으로 나타났으며, 고삼과 적작약도 뚜렷한 항균력을 보였다. 이들중, 호장, 정향의 항균력이 탁월하여 paper disk법에 의하여 얻어진 결과에서 가장 큰 생육 억제저해환을 보여 주었다. 아울러, 이들은 시설원예산물의 부패미생물에 대해서는 농도에 비례하여 항균력이 증가하는 것을 알 수 있었다.

Table 3. Antimicrobial effect of natural antimicrobial agents extracted from medicinal herbs

Name of medicinal herb	Scientific Name	Antimicrobial effect			
		A	B	C	D
木香	<i>Saussurea lappa</i> Clarke	×	×	×	×
白芷	<i>Angelica dahurica</i> (Fisch. ex Hoffm.) Benth. et Sav.	×	×	×	×
赤芍藥	<i>Paeonia lactiflora</i> Pall.	△	△	△	△
梔子	<i>Gardenia jasminoides</i>	○	○	○	○
虎杖	<i>Polygonum cuspidatum</i> Sieb. et Zucc.	○	○	○	○
馬兜鈴	<i>Aristolochia contorta</i> Bge.	×	×	×	×
丁香	<i>Syzyrium aromaticum</i> (L.) Merr. et Perry	○	○	○	○
苦參	<i>Sophora flavescens</i>	×	×	×	×

○ : very strong effective, △ : effective, × : not effective
 A: Bacillus cereus, B: Corynebacterium xerosis, C: Enterobacter aerogenes, D: Pseudomonas syringae

NAA의 미생물 생육저해 농도곡선

NAA의 항균력 시험에서 항균력이 입증된 호장, 정향의 시설원예산물의 부패미생물의 생육억제를 확

인하기 위하여 측정된 생육저해농도곡선은 Fig. 1 및 Fig. 2와 같다. Fig. 1에서 보는 바와 같이, NAA가 첨가되지 않은 대조구의 경우, 모든 공시균주를 12시간 배양한 후, 최대흡광도값을 나타내어 정상기에 도달한 것을 알 수 있었다. 한편, 호장추출물의 첨가농도가 100ppm에서도 미생물의 성장속도가 크게 감소되었고, 첨가농도가 증가함에 따라 공시균주 모두 생육이 크게 억제되어 1,000ppm이상의 농도에서는 미생물의 증식이 완전히 저해되는 것을 확인할 수 있었다. 또한, 정향추출물을 첨가한 배지에서 배양한 공시균주의 미생물 생육저해농도곡선은 Fig. 2에서 보는 바와 같이, 배양시간별 및 정향추출물 첨가농도별 미생물의 생육저해곡선은 호장추출물의 경우와 거의 일치하는 경향을 나타내었다. 호장추출물과 정향추출물 어느 경우에도 100ppm 이상에서 생육이 크게 억제되는 것으로 나타났으며, 500ppm 이상에서 거의 생육이 억제되는 것으로 나타났다.

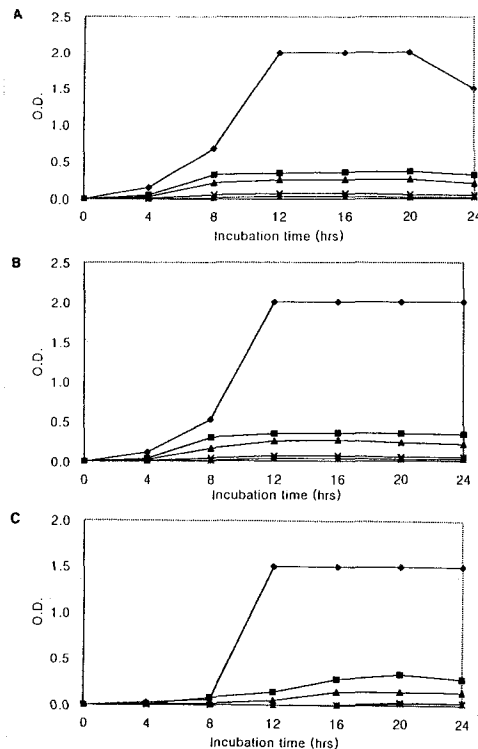


Fig. 1. Microbial growth curve in the medium containing Polygonum cuspidatum Sieb. et Zucc. extract.
 A : Bacillus cereus B : Pseudomonas syringae
 C : Corynebacterium xerosis.
 ◆ : Control, ■ : 100 ppm, ▲ : 500 ppm, × : 1,000 ppm
 * : 2,000ppm.

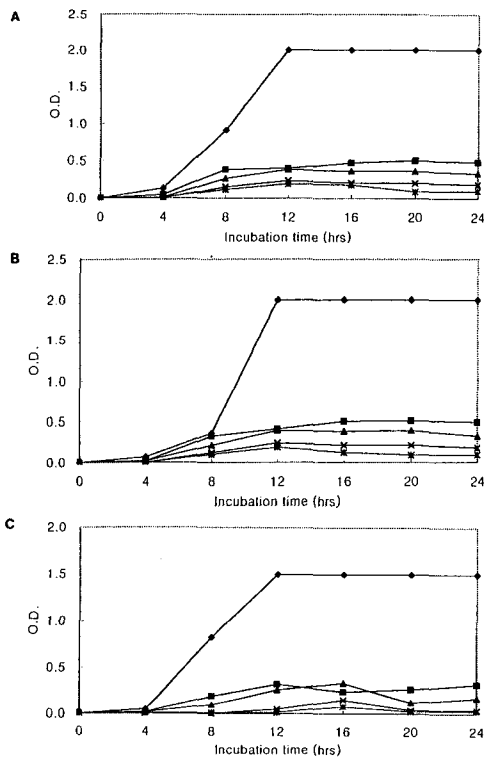


Fig. 2. Microbial growth curve in the medium containing *Syzyrium aromaticum* (L.) Merr. et Perry extract.

A : *Bacillus cereus* B : *Pseudomonas syringae*
 C : *Corynebacterium xerosis*.
 ◆ : Control, ■ : 100 ppm, ▲ : 500 ppm, × : 1,000 ppm
 * : 2,000ppm.

NAA의 열 및 pH 안정성의 검사

paper disc method에 의하여 항균력이 가장 우수한 것으로 나타난 호장추출물 및 정향 추출물의 열안정성과 pH안정성을 검토한 결과는 Fig. 3~Fig. 6과 같다. Fig.3에서 보는 바와 같이, 호장추출물의 열안정성 실험결과, 추출물의 처리온도를 40℃에서 180℃까지 상승시켰을 때, 어느 공시균주나 생육저해환이 15mm 내외로 나타나, 호장추출물의 항균물질은 비교적 넓은 영역의 열처리온도에서 안정한 것을 알 수 있었다. 아울러, 정향추출물의 경우도 Fig.4에서 보는 바와 같이, 호장추출물의 열안정성 시험의 경우와 유사한 결과를 보여 주었다. 한편, pH안정성 실험결과, 호장추출물(Fig. 5)이나 정향추출물(Fig. 6) 모두 pH 4~pH 10의 넓은 pH영역에서 Gram (+)균 또는 Gram (-)균의 구별없이 뚜렷한 16~18mm의 생육저해환을 보여 주고 있어 추출물의 pH안정성을 확인할 수 있었다.

이상의 실험결과를 살펴볼 때, 약용식물로부터 천연항균소재를 제조하여, 시설원예산물의 선도유지를 위한 항균처리제로 활용하기 위한 기초자료를 획득

할 수 있었다. 더 나아가서 천연항균제의 유효성분 및 작용기작을 구명하게 되면 이를 시설원예산물 표면에 처리함으로써, 식물변패미생물의 생육을 억제하고 시설원예산물의 변패를 방지하고 선도기간을 연장함으로써 농산물보존대책을 마련하는 좋은 계기를 마련할 수 있을 것이다.

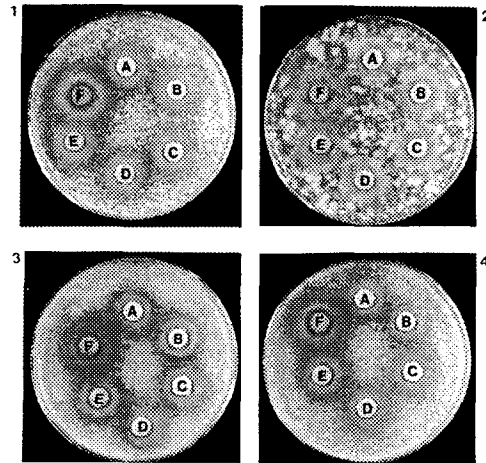


Fig. 3. Thermal stability of *Polygonum cuspidatum* Sieb. et Zucc extract for the growth inhibition of microorganisms.

1 : *Bacillus cereus* 2 : *Corynebacterium xerosis*
 3 : *Enterobacter aerogenes* 4 : *Pseudomonas syringae*.
 a : 40℃, b : 60℃, c : 80℃, d : 100℃, e : 120℃, f : 180℃.

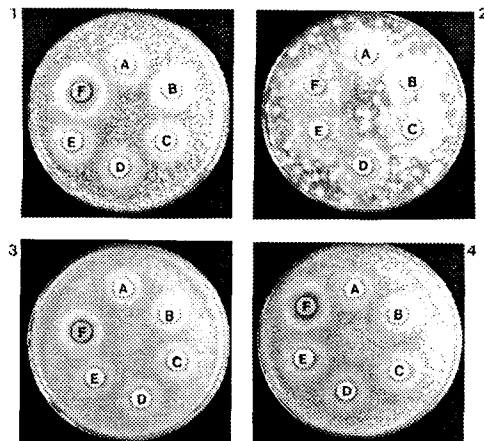


Fig. 4. Thermal stability of *Syzyrium aromaticum* (L.) Merr. et Perry extract for the growth inhibition of microorganisms.

1 : *Bacillus cereus* 2 : *Corynebacterium xerosis*
 3 : *Enterobacter aerogenes* 4 : *Pseudomonas syringae*.
 a : 40℃, b : 60℃, c : 80℃, d : 100℃, e : 120℃, f : 180℃.

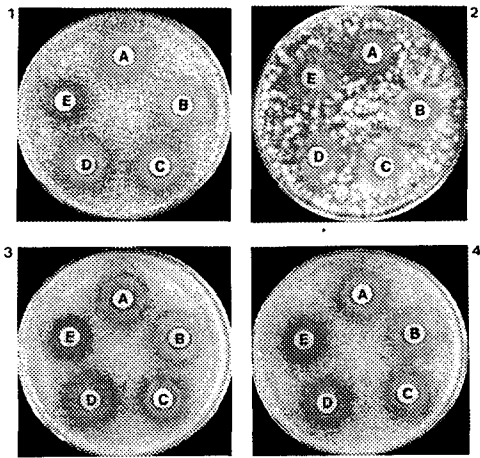


Fig. 5. pH stability of *Polygonum cuspidatum* Sieb. et Zucc extract for the growth inhibition of microorganisms.

1 : *Bacillus cereus* 2 : *Corynebacterium xerosis*
 3 : *Enterobacter aerogenes* 4 : *Pseudomonas syringae*.
 a : pH 4, b : pH 6, c : pH 7, d : pH 8,
 e : pH 10.

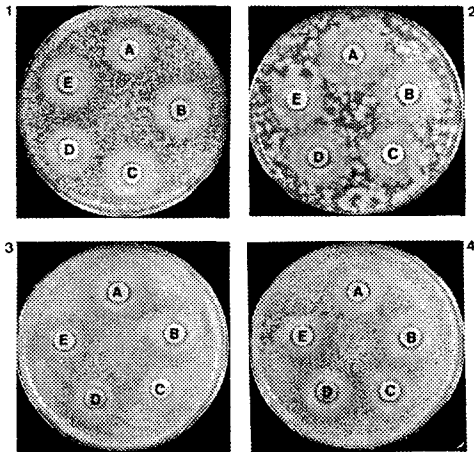


Fig. 6. pH of *Syzyrium aromaticum* (L.) Merr. et Perry extract for the growth inhibition of microorganisms.

1 : *Bacillus cereus* 2 : *Corynebacterium xerosis*
 3 : *Enterobacter aerogenes* 4 : *Pseudomonas syringae*.
 a : pH 4, b : pH 6, c : pH 7, d : pH 8,
 e : pH 10.

요 약

약용식물로부터 항균활성소재를 ethanol로 추출하고, 각 추출물의 시설원예산물에 대한 선도유지제로서의 기능과 효능을 입증하기 위하여, 변패된 시설원

예산물에서 분리된 *Bacillus cereus*, *Corynebacterium xerosis*, *Pseudomonas syringae* 및 *Enterobacter aerogenes* 를 공시균주로 사용하여 항균성을 실험한 결과, 호장, 정향, 치자, 황금, 적작약, 결명자 등에서 항균성을 확인하였고, 여기에서 가장 우수한 항균력을 가진 호장(*Polygonum cuspidatum* Sieb. et Zucc) 또는 정향(*Syzyrium aromaticum* L. Merr. et Perry)추출물을 선택하여, paper disk method에 의한 농도별 항균력을 실험한 결과, 변패미생물에 대하여 농도에 비례하여 상당한 항균효과를 보였으며, 생육저해곡선에서는 500ppm이상에서 미생물의 생육이 완전히 억제되는 것을 볼수 있었다. 호장 및 정향 ethanol추출물의 항균물질에 대한 열 및 pH안정성실험에서는 광범위한 온도(40-180℃)와 pH범위(4-10)에서 항균력을 보임으로써 열과 pH에 안정한 것으로 나타났다.

감사의 글

본 논문은 1997년도 교육부 학술연구조성비(농업과학분야)에 의하여 수행된 연구결과의 일부이며 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. Chung, Y.R., Benner, D.J., Steigerwalt, A.G., Kim, B.S., Kim, H.T. and Cho, K.Y. (1993) *Enterobacter pyrinus*, an organism Associated with Brown leaf Spot Disease of Pear Trees. *Int. J. Sys. Bacteriol.*, 43, 157.
2. Cook, R.J. and Papendick, R.I. (1978) Role of water potential in microbial growth and development of palnt disease, with special reference to postharvest pathology. *Hort. Science*, 13, 559-564.
3. Dennis, C.(ed). (1983) Postharvest pathology of fruits and vegetables. Academic Press London, p.264.
4. Droby, S., E. Chalutz and C.L. (1991) Wilson. Antagonistic microorganisms as biological control agents of postharvest diseases of fruits and vegetables. *Postharvest News and Information*, 2, 169-173.
5. Eckert, J.W. (1997) Control of postharvest diseases. In : M.R. Siegel and H.D. Sisler(eds.), *Antifungal compounds*, Vol. 1, Marcel Dekker,

- NY, pp.269-352.
6. 콰이성, 양재원, 이광승 (1993) 일부 병원성 미생물에 대해 항균활성을 보이는 생약의 탐색. 한국식품위생학회지, 8(3), 141-145.
 7. Beuchat, L. R. and Golden, D. A. (1989) Antimicrobials occurring naturally in foods. *Food Technol.*, 43, 134.
 8. Zaika, L. L. (1988) Spices and herbs; their antimicrobial activity and its determination. *J. Food Safety*, 9, 97.
 9. A.O.A.C. (1984) Official methods of analysis, 14th.
 10. Piddock, L.J.V. (1990) Techniques used for the determination of antimicrobial resistance and sensitivity in bacteria. *J. Appl. Bacterio.* 68, 307.

(1998년 7월 11일 접수)