

농산 부산물 분획성분의 항균 활성

배 송 자

신라대학교 식품영양학과 및 마린-바이오 산업화지원센터

The Antimicrobial Activities of Waste Food Fractions

Song-Ja Bae

Dept. of Food and Nutrition, and Marine-Biotechnology Center for
Bio-Functional Material Industries, Silla University, Busan 617-736, Korea

Abstract

This study was performed to determine the antimicrobial activity of waste food fractions, the *Solanum tuberosum* Peel (SP) and *Allium cepa* L. Peel (AP) on several microorganisms. The methanol extracts (SPM, APM) of SP and AP were fractionated to five different types, which were hexane, ethylether, ethylacetate, butanol and water. Among the various fractions, ethylether and butanol fractions of AP (APMEE, APMB) showed stronger antimicrobial activity against *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* than the other fractions. The ethylether fraction of SP (SPMEE) also showed the higher antimicrobial activity against *Escherchia coli* than the other 4 fractions. These results suggest that the waste food fractions, SP and AP may be developed into bioactive antimicrobial health products.

Key words: *Solanum tuberosum* Peel (SP), *Allium cepa* L. Peel (AP), antimicrobial activity

서 론

현대사회는 생활수준의 향상과 함께 편의성을 추구함에 따라 식품의 인스턴트화가 선호됨으로서, 다양한 가공식품의 수요가 날로 증가하고 있는 추세이다(1). 이러한 가공식품들은 편리함이라는 장점을 가지고 있으나 식품의 부패와 식품 중의 미생물로 인한 식중독이라는 커다란 부정적인 면을 공유하고 있음으로서 저장기간을 늘리기 위한 하나의 수단으로 인공합성 보존료를 사용하고 있다. 그러나 이들 대부분은 독성을 가지고 있거나 사용법에 따라 독성을 생산해 내는 등의 위험인자를 내포함으로써 사용에 있어 주의를 요한다. 그러므로 식품을 이용한 항균효과 연구를 통해 인체에 무해 하면서 항균효과를 가진 천연 항균제 및 보존료의 개발이 점차 요구되고 있다.

전 세계에 서식하는 많은 종류의 식물 추출물중 일부는 자체 항균성을 가지고 있다는 연구 결과가 보고되고 있으며 특히 우리 나라의 경우 마늘(2), 민들레(3), 무화과잎(4), 마두령(5), 갓(6-10), 녹차(11) 등의 항균성은 이미 잘 알려진 사실이다.

감자는 식용작물이면서도 폐놀성 화합물을 많이 함유하여 항산화 효과를 가지는 것으로 연구된 바 있으며(12,13) Bae(14)의 연구에서는 농산 부산물인 감자껍질의 분획물을 여러

종류의 인체 암세포주에 적용한 결과 매우 높은 항발암 활성을 보인 바 있다. 감자는 예로부터 한방에서 위·십이지궤양, 신장병, 고혈압, 화상, 변비 등의 치료에 이용되어 왔으며 피로회복, 상처치유를 돕고, 고혈압을 예방하며, 특히 스트레스로 인한 권태감을 덜어주는 비타민 C를 다량 함유하고 있다. 본 연구에 사용된 감자껍질(*Solanum tuberosum* Peel, SP)은 조직의 산화를 방지하는 칼륨이 다량 함유되어 있고, 식이 섬유가 풍부하여 변비와 장에 생기는 질병을 예방할 뿐 아니라, 우리 몸의 지방량을 제거해주며, 세포를 파괴하고 암을 비롯한 수많은 장애의 요인이 되는 “유리기(free radical)”를 중화시키는 역할을 한다고 한다(15).

우리들 식탁에서 애용되는 양파(*Allium cepa* L.)는 Allium 속 채소류로서 지질에 대한 항산화 효과를 가진 것으로 알려져 있는데, 주로 flavonoid계, phenol계 및 방향족 amine계 물질 등과 관련되어 있다(16). 양파에 함유되어 있는 quercetin과 이와 관련된 물질들은 발암성 물질의 활성을 감소시키고, 혈압을 낮추고, 모세혈관 강화에 영향을 주는 것으로 보고되어 있으며, 특히 양파에 많이 함유된 quercetin 관련 물질은 일반적으로 우리가 섭취하는 가식부위에 비해 폐기되는 비가식 껍질 부위에 훨씬 높게 함유되어 있다(17). 양파 껍질에 많은 양이 함유된 플라보노이드는 동맥경화, 돌연변이 및 종양을 억제하는 효과를 가진 것으로 알려져 있으며

(18-20), 생체 내 퓨린 대사에 관여하는 xanthine oxidase에 대한 저해 효과를 가지는 연구결과가 보고되어 있다(21).

이와 같이 다양한 생리활성기능을 가지고 있는 농산부산물인 감자껍질과 양파껍질은 음식을 만들 때 거의 전량이 폐기되므로 환경친화적 측면과 식품을 이용한 바이오 제품의 산업화 측면에서 접근하여 볼 때, 본 연구는 폐기되는 농산부산물 속의 항균 활성을 이용하여 천연항균제 및 보존료로서 개발하여 산업화함으로써 농산 부산물 이용 고부가가치 제품 개발 및 생산 등의 효율성을 타진해 보았으며, 다음과 같은 결과를 얻었으므로 이에 보고하는 바이다.

재료 및 방법

실험재료

본 실험에 사용된 감자 껍질과 양파 껍질은 2002년 8월 본 교 인문관 식당에서 폐기되는 감자와 양파의 외피만을 수거, 수세, 정선하여 그늘에 건조시켜 -70°C 에서 보관하여 사용하였다. 이 시료들을 추출·분획하여 천연 항균활성 검색에 사용하였다.

시료의 추출 및 분획물 제조

시료로 사용된 건조된 감자껍질과 양파껍질은 일정량의 메탄올을 첨가한 후 37°C 에서 4시간 동안 3회 반복 추출하고 회전식 진공 농축기로 감압 농축시킨 후 동결 건조하였으며, 감자껍질의 메탄올 추출물(SPM)과 양파껍질의 메탄올추출물(APM)을 각각 얻은 후 감자껍질과 양파껍질은 각 용매별로 분획하여 각각 hexane층(SPMH, APMH), ethylether층(SPMEE, APMEE), ethylacetate층(SPMEA, APMEA), butanol층(SPMB, APMB) 및 수층분획물(SPMA, APMA)로 계층 분획하고 각 층을 감압 농축 후 동결 건조하고 분말 로 하여 본 실험 시료로 사용하였다.

추출물의 용매 분획별 항균활성 측정

계층분획물 항균성 검색은 paper disc method(22)를 이용하였으며, 사용한 균주는 식중독 원인균인 *Staphylococcus aureus*(KCTC 1916), 충치 유발균인 *Streptococcus mutans*(KCTC 3065), 녹농균인 *Pseudomonas aeruginosa*(KCTC 2004), 대장균인 *Escherichia coli*(KCTC 1923)균이었으며 각 균의 생육 및 보존을 위해 사용한 배지는 nutrient agar (Difco), yeast extract 및 malt extract을 사용하였다. 항균성 시험용 평판배지는 멸균 후 petri dish에 각각 20 mL씩 분주하여 응고시킨 후 전배양한 각종 시험균을 무균적으로 첨가하여 기층용 배지 위에 다시 20 mL씩 분주하여 2중의 평판배지를 만들었다. 각 시료의 용매 분획별 추출물의 농도를 500, 1000, 1500, 2000 $\mu\text{g}/\text{disc}$ 로 정하고 멸균된 disc(Toyo Roshi Kaisha, Ltd., 직경 8 mm)에 각 시료를 농도별로 가하여 배지에 흡수, 건조시켜 균주가 도말된 plate 표면에 올려놓은 후 37°C incubator에서 24시간 배양하여 disc(8 mm 직경)

주위에 생성된 clear zone의 직경(mm)으로부터 각 분획물의 항균활성정도를 측정하였으며 이 실험을 5회 반복하여 평균치를 내었다.

결과 및 고찰

항균활성 효과

감자껍질과 양파껍질을 methanol로 추출, 여러 용매별로 분획하여 각각 항균 물질을 얻은 후 천연 항균제 및 식품 보존제 개발을 위한 방안으로 각 균주별로 항균활성을 확인한 결과는 다음과 같다. 시료를 첨가하지 않은 paper disc(8 mm)를 대조군으로 하여 clear zone의 직경(mm)을 낸 결과, 식품 부패유발균인 *Pseudomonas aeruginosa*(Table 1)에서는 감자껍질의 메탄올 추출물인 SPM의 경우 SPMH를 제외한 전 층에서 항균활성을 보였으며 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 첨가 농도에서 ethylacetate 층인 SPMEA가 9.10 mm의 균생육억제대를 보였고 시료 최고 첨가 농도인 2000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 농도에서는 수층인 SPMA가 10.05 mm로 가장 높은 항균활성을 나타내었다. 양파껍질의 메탄올 추출물인 APM의 경우는 APMH와 APMA를 제외한 APMEE, APMEA 및 APMB 층에서 월등히 높은 항균활성을 나타내었으며 특히 APMEE는 500, 1000, 1500 및 2000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 첨가농도에서 각각 농도 의존별로 12.60, 14.75, 15.43 및 17.72 mm의 매우 높은 균생육저지대를 나타내어 본 연구에 사용한 분획물 중 가장 높은 항균활성을 나타내었으며 butanol층인 APMB는 그 다음의 순으로 높은 활성이 나타났다.

이와 같은 결과에서, 녹농균인 *Pseudomonas aeruginosa*는 패혈증, 만성 기도감염자 등에게서 나타나는 병원성 세균으로서 양파와 양파껍질의 주성분으로 알려져 있는 quercetin에 의한 항균성이 특이적이고 선택적으로 이 균에 작용한 것 같다.

충치 유발균인 *Streptococcus mutans*의 항균활성 결과는

Table 1. Antimicrobial activity of the fraction from methanol extract of *Solanum tuberosum* Peel (SP) and *Allium cepa* L. Peel (AP) against *Pseudomonas aeruginosa* (KCTC 2004)

Sample	Fractions $\mu\text{g}/\text{mL}$	Clear zone on plate (mm)				
		H	EE	EA	B	A
SPM	500	-	+	+	+	+
	1000	-	+	+	+	+
	1500	-	+	+	+	+
	2000	-	++	+	+	++
APM	500	-	++	+	+	-
	1000	-	+++	++	++	-
	1500	-	+++	+++	+++	-
	2000	-	+++	++	+++	-

SPM: methanol extract of SP, APM: methanol extract of AP. H: hexane fraction, EE: ethylether fraction, EA: ethylacetate fraction, B: butanol fraction, A: aqueous fraction. Growth inhibition size of clear zone: +++, larger than 14 mm; ++, 10~14 mm; +, smaller than 10 mm; -, not detected.

Table 2와 같다. SPM의 경우 전층에서 첨가 농도가 증가될 수록 항균성은 서서히 증가하였으며, 여러 용매층 중 SP-MEE가 비교적 높은 항균활성을 보였다. APM의 경우는 1500 µg/mL 첨가 농도에서 APMEE, APMEA 및 APMB에서 각각 clear zone의 직경이 10.17, 8.97, 9.20 mm로 항균활성이 보이기 시작하여 2000 µg/mL의 첨가 농도의 경우 APMEE는 11.00 mm의 활성을 나타내어 같은 조건의 감자껍질인 SPMEE의 경우보다 비교적 높은 활성을 보였다.

식중독 원인균인 *Staphylococcus aureus* 항균활성 결과는 Table 3과 같다. SPM의 경우 첨가 농도 증가에 따라 서서히 증가하여 2000 µg/mL의 농도에서는 SPMB가 10.00 mm의 높은 생육억제대를 나타내었고 다음은 SPMEA의 순이었다. APM은 SPM과 마찬가지로 저 첨가 농도에서는 거의 나타나지 않았으나 1500 µg/mL 이상의 농도에서부터 항균활성을 보이기 시작하여 2000 µg/mL에서는 APMB가 아주 높은 활성을 나타내어 12.28 mm의 clear zone이 나타났고 APMEE 및 APMEA는 각각 10.61 및 10.68 mm의 활성을 보여 같은 조건의 감자껍질에 비해 전반적으로 높은 균생육저지대를 보였다.

대장균인 *Escherichia coli*의 항균활성 결과는 Table 4와 같으며 SPM의 경우 1000 µg/mL이후부터 서서히 균생육 억제대를 나타내기 시작하여 2000 µg/mL 시료첨가 농도에서 SPMEE는 10.30 mm의 clear zone이 형성되었다. 그러나 APM의 경우는 모든 분획층에서 거의 항균활성이 나타나지 않았다.

Table 2. Antimicrobial activity of the fraction from methanol extract of *Solanum tuberosum* Peel and *Allium cepa* L. Peel against *Streptococcus mutans* (KCTC 3065)

Sample	Fractions		Clear zone on plate (mm)				
	µg/mL		H	EE	EA	B	A
SPM	500		-	+	+	-	-
	1000		+	+	+	+	-
	1500		+	+	+	+	-
	2000		+	++	+	+	+
APM	500		-	-	-	-	-
	1000		-	-	-	-	-
	1500		-	++	+	+	-
	2000		-	++	+	+	-

Table 3. Antimicrobial activity of the fraction from methanol extract of *Solanum tuberosum* Peel and *Allium cepa* L. Peel against *Staphylococcus aureus* (KCTC 1916)

Sample	Fractions		Clear zone on plate (mm)				
	µg/mL		H	EE	EA	B	A
SPM	500		-	-	+	+	-
	1000		-	-	+	+	-
	1500		-	+	+	+	+
	2000		+	+	+	++	+
APM	500		-	-	+	+	-
	1000		-	-	+	+	-
	1500		-	+	++	++	-
	2000		-	++	++	++	-

Table 4. Antimicrobial activity of the fraction from methanol extract of *Solanum tuberosum* Peel and *Allium cepa* L. Peel against *Escherichia coli* (KCTC1923)

Sample	Fractions		Clear zone on plate (mm)				
	µg/mL		H	EE	EA	B	A
SPM	500		-	-	-	-	-
	1000		-	+	+	+	-
	1500		-	+	+	+	-
	2000		-	++	+	+	-
APM	500		-	-	-	-	-
	1000		-	-	-	-	-
	1500		-	-	-	-	-
	2000		-	+	-	+	-

본 실험 결과, 감자 껍질과 양파껍질 메탄올 추출물의 각 용매별 분획물의 경우 감자껍질은 사용한 4가지 균주중 SPMEE층에서 제일 높은 항균활성을 보였으며 양파 껍질 추출물의 경우도 대체적으로 APMEE층과 APMB이 높은 항균활성이 나타났으며 특히 사용균주 중 *Pseudomonas aeruginosa*에서 항균활성이 제일 높게 나타났다. 감자껍질의 경우에는 양파껍질에는 거의 효과가 없던 수층인 SPMA에서 균생육저지대가 커서 높은 항균활성이 나타났다. 본 실험에 사용한 4가지 균주중 *Pseudomonas aeruginosa*의 항균활성 반응이 제일 좋았고, 다음으로는 식중독 원인균인 *Staphylococcus aureus*, 충치 유발균인 *Streptococcus mutans*의 순이었다. 그러나 대장균인 *Escherichia coli*는 SPMEE에서 항균활성을 보였으나 APM의 각 용매분획물에는 거의 활성을 볼 수 없었다. 이 결과를 종합해 보면 감자 껍질과 양파껍질의 항균성은 대체적으로 ethylether층에서 균생육저지 효과가 우수하였으며 이 층에서의 항균물질 분리가 병행되므로서 본 연구 결과, 농산부산물의 항균활성을 이용한 천연 항균제 및 식품 보존제로서의 이용효율성이 높게 평가되리라 사료된다.

요 약

일상적인 식생활에서 흔히 애용되고 있는 감자와 양파의 껍질은 농산 부산물로서 거의 폐기되고 있는 점을 감안하여 폐기 농산물의 재활용의 측면에서 또 환경 친화적인 면에서 본 연구를 시도하였으며, 감자껍질(*Solanum tuberosum* Peel, SP)과 양파껍질(*Allium cepa* L. Peel, AP)을 수거하여 추출, 분획한 후 각 균주에 대한 생육억제 효과를 paper disc법에 의하여 살펴보았다. 각 균주에 따른 실험 결과를 보면 여러 가지 균들 중에서는 *Pseudomonas aeruginosa*균에서 가장 큰 항균활성을 볼 수 있었으며, 감자껍질에 비해 양파껍질이 대체적으로 높은 항균활성을 나타내었고 특히 양파의 ethylether층인 APMEE와 butanol층인 APMB는 2000 µg/mL 농도에서는 17.72 및 16.35 mm의 높은 균 생육억제대가 나타나 본 연구실에서 이미 행한 여러 다른 시료를 이용한 연구결과중에서도 아주 높은 항균활성을 보였다. *Streptococcus mutans*균에서는 초기 농도에서는 SPM에서 균 생육억제대

가 서서히 형성되었으나 APM의 경우는 거의 활성이 보이지 않았지만 최종농도 2000 µg/mL에서는 ethylether층인 APMEE층에서 매우 높은 균생육 억제대인 11.00 mm로 나타나 같은 농도의 SPMEE보다 높은 항균활성을 보여주었다. *Staphylococcus aureus*균의 경우 양파의 butanol층인 APMB를 1500과 2000 µg/mL 농도로 처리하였을 때 각각 10.65, 12.28 mm의 높은 생육억제대가 나타났다. 이외의 균들에서는 각 용매 분획별로는 미약한 항균활성을 보였다. 4가지의 균주에 대한 감자껍질과 양파껍질 분획물의 농도별 항균활성을 측정한 결과, 두 시료 모두 ethylether 층에서 가장 큰 항균력을 보였으며, ethylacetate 층과 butanol 층에서도 비교적 높은 항균력을 보였다. 특히 감자껍질의 경우 *Pseudomonas aeruginosa* 균주에 대해 수층에서의 항균활성이 크게 나타났다. 본 연구결과, 농산 부산물인 양파와 감자껍질을 이용한 천연 항균제 및 식품 보존제로서의 개발 가능성이 높게 평가되는 것으로 사료된다.

문 헌

- Bae SJ. 2002. The effects of anticarcinogenic activity of *Solanum tuberosum* peel fractions. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 31: 905-909.
- Seo HJ. 1999. The antibacterial action of garlic, onion, ginger and red pepper juice. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 28: 94-99.
- Kim KH, Jeon HJ, Han YS. 1998. Antimicrobial effects of dandelion extracts. *J Korean Soc Food Sci* 14: 114-119.
- Kang SK, Jung HJ. 1995. Solvent fractionation of fig leaves and its antimicrobial activity. *Agric Chem Biotechnol* 38: 289-292.
- Lee IE, Cho SH. 2000. Antimicrobial effect of *Aristolochia contorta* Bge. extract on the growth of pathogenic and putrefactive microorganisms. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 29: 1107-1111.
- Takao N, Takahashi N, Kobayashi M, Shoji S. 1980. A polysaccharide by lagoratory cultivation of *Poriacocos* Wolf. *Carboratiry Research* 87: 161-163.
- Kanayama H, Adachi M, Togami M. 1983. A new antitumor polysaccharide from the mycelia of *Poria cocos* Wolf. *Chem Pharm Bull* 31: 1115-1118.
- Tai T, Akita Y, Kinoshita K, Koyama K, Takahshi K, Watanave K. 1995. Anti-emetic principles of *Poriacocos*. *Plant Medica* 61: 527-530.
- Mukaya H, Yamashiro H, Fukazawa H, Kshida H, Tsuji K. 1996. Isolation of inhibitors of TPA-induced mouse ear edema from hoelen, *Poria cocos*. *Chem Pharm Bull* 44: 847-849.
- Tai T, Mikage M, Tsuda Y, Akahori A. 1994. Analytical studies on *Poria cocos* II. The relationship between the triterpene contents and the color for the sclerotium. *Nature Medicines* 48: 219-222.
- Cho YS, Kim HS, Kwon OC, Jeong SJ, Lee YM. 1997. Antibacterial and bactericidal activity of green tea extracts. *J Kor Tea Soc* 3: 89-103.
- Gebhardt R. 1998. Inhibition of cholesterol biosynthesis in primary cultured rat hepatocytes by artichoke (*Cynara scolymus* L.) extract. *J Pharmacol Exp Ther* 286: 1122-1128.
- Lee JH, Lee SR. 1994. Analysis of phenolic substances content on Korea plant foods. *Korean J Food Sci Technol* 26: 310-316.
- Bae SJ. 2002. The effects of anticarcinogenic activity of *Solanum tuberosum* Peel fractions. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 31: 905-909.
- Cha JY, Cho YS. 1999. Effect of potato polyphenolics on lipid peroxidation in rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 28: 1131-1136.
- Kang SK, Kim YD, Hyun KH, Kim YW, Seo JS, Park YK. 1998. Development of separating techniques on quercetin-related substances in onion (*Allium cepa* L.) 2. Optimal extracting condition of quercetin-related substances in onion. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 27: 687-692.
- Kang SK, Kim YD, Hyun KH, Kim YW, Song BH, Shin SC, Park YK. 1998. Development of separating techniques on quercetin-related substances in onion (*Allium cepa* L.) 1. Contents and stability of quercetin-related substances in onion. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 27: 682-686.
- Rho SN, Han JH. 2000. Cytotoxicity of garlic and onion methanol extract on human lung cancer cell lines. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 29: 870-874.
- Katiyar SK. 1993. Protection against TPA-induced inflammation in SENCAR mouse ear skin by polyphenolic fraction of green tea. *Carcinogenesis* 14: 361-364.
- Michael GLH, Edith JMF, Peter CHH. 1993. Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease. *Lancet* 342: 1007-1011.
- Ra KS, Bae SH, Son HS, Chung SH, Suh HJ. 1998. Inhibition of xanthine oxidase by flavonols from onion skin. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 27: 693-697.
- Konorr D. 1987. Food biotechnology it's organization and potential. *Food Technol* 41: 95-100.

(2003년 5월 2일 접수; 2003년 7월 30일 채택)