

연구노트

## 자몽종자 추출물을 함유한 Gelatin Film의 항균 효과

임금옥 · 홍윤희 · 송경빈<sup>†</sup>  
충남대학교 농업생명과학대학 식품공학과

### Preparation of Gelatin Film Containing Grapefruit Seed Extract and Its Antimicrobial Effect

Geum-Ok Lim, Youn-Hee Hong and Kyung Bin Song<sup>†</sup>  
Department of Food Science and Technology, Chungnam National University, Daejeon 305-764, Korea

#### Abstract

The gelatin film containing grapefruit seed extract (GSE) was prepared by incorporating different amounts (0, 0.02, 0.05, 0.08, 0.1%) of GSE into the film. The tensile strength (TS) of the film increased by the addition of GSE, and water vapor permeability (WVP) of the film decreased. In particular, the gelatin film containing 0.1% GSE had a TS of 10.28 MPa, while the control had 8.68 MPa. WVP of the film containing 0.1% GSE decreased to 2.18 ng m/m<sup>2</sup> s Pa, compared to 2.48 ng m/m<sup>2</sup> s Pa of the control. In addition, incorporation of 0.1% GSE to the gelatin film decreased the populations of *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes* by 2.67 and 3.15 log CFU/g, respectively, compared to the control. These results suggest that as a packaging material, gelatin film containing GSE can have antimicrobial activity against pathogenic microorganisms in foods.

**Key words** : edible film, gelatin, grapefruit seed extract

#### 서 론

식품의 저장 유통 중 품질 저하를 방지하고 식품을 보호하기 위하여 사용되는 식품포장재의 대부분이 합성수지로써 자연계에서 쉽게 분해되지 않아 환경오염의 원인으로 문제가 되고 있다(1). 이러한 합성수지 포장재를 대체하기 위해 생분해성 포장재 개발을 위한 많은 연구가 진행되고 있고, 그 포장재의 원료로 alginate, pectin, carrageenan, starch, gelatin, corn zein, wheat gluten, soy protein, whey protein 등이 사용된다(2). 이들 중 gelatin은 collagen의 부분 가수분해에 의해 얻어지는데, 물리적 특성이 뛰어나 가식성 필름 제조에 사용되고 있다(3-5).

가식성 필름에 lysozyme(6), chitosan(7) 및 rosmay oli(8) 등과 같은 항균성 물질을 첨가하여 필름의 기능적 특성을 향상시킬 수 있는데, 자몽종자 추출물(GSE) 또한 미생물의 세포벽을 파괴함으로써 미생물의 성장을 억제하는 효과를

갖는다고 알려져 있다(9-10). 특히 GSE는 미생물 억제 효과 외에도 항산화 특성을 가지므로, 가공식품에 적용 시 미생물의 감균 및 품질 유지에 효과적이라고 보고된 바 있다(11-14).

따라서 본 연구에서는 가식성인 gelatin 필름에 다양한 농도의 GSE를 첨가하여 제조된 필름을 가공식품에 적용하고자, 먼저 필름의 물리적 특성과 항균성을 조사하여 그 결과를 보고하는 바이다.

#### 재료 및 방법

##### 실험재료

본 실험에서 사용한 gelatin 과 glycerol은 Sigma-Aldrich Chemical Co.(St. Louis, MO, USA), 자몽종자 추출물(GSE)은 ABC Techno Inc.(Tokyo, Japan) 에서 구입하여 사용하였다.

##### 필름의 제조

Gelatin(10%, w/v)을 증류수에 넣고 glycerol(2.7%)과 혼

<sup>†</sup>Corresponding author. E-mail : kbsong@cnu.ac.kr,  
Phone : 82-42-821-6723, Fax : 82-42-825-2664

합한 후 90°C 에서 30 분간 증탕 처리하였다. 가열 후 GSE(0, 0.02, 0.05, 0.08, 0.1%, w/v)를 첨가하여 용해시키고 cheese cloth를 이용하여 거른 후 teflon 필름으로 코팅한 수평의 유리판(24 cm x 30 cm)에 두께(140 ± 10 μm)가 균일하게 필름 용액을 80 mL를 부어 실온에서 24시간 건조한 후 필름을 제조하였다. 제조된 필름의 투습도와 인장강도를 측정하기 위해 2 cm x 2 cm, 2.54 cm x 10 cm의 크기로 각각 절단하여 사용하였다

**인장 강도 및 신장률**

필름의 인장강도(tensile strength, TS)와 신장률(elongation at break, E)은 ASTM Standard Method D882-91 방법(15)에 따라 Instron Universal Testing Machine(Instron Co., Canton, MA, USA)을 사용하여 측정하였다. 절단한 필름 조각은 25°C, 50% 상대습도로 조절한 항온항습기에서 2일간 저장하여 수분함량을 조절한 뒤 초기 grip 간의 거리는 5 cm, cross head의 속도는 50 cm/min 조건에서 측정하였다. 필름의 인장강도는 필름을 잡아 늘일 때 필름이 절단될 때까지 작용한 힘을 필름의 초기 단면적으로 나누어 계산하였고, 필름의 신장률은 필름이 절단될 때까지 움직인 grip 간의 거리를 초기 grip 간의 거리에 대한 백분율로 나타내었다. 인장강도 및 신장률은 5번 반복 측정 하였다.

**투습계수**

필름의 투습계수(water vapor permeability, WVP)는 ASTM E 96-95 방법(16)에 따라 polymethylacrylate cup(20 mL)을 사용하여 측정하였다. 25°C, 50%의 상대 습도로 조절된 항온항습기에 보관하며 필름 층을 통한 cup 부의 수분 이동에 따른 매 시간마다 cup의 무게 감소를 측정하여 무게 감소율을 계산하였다. 수분투과율(water vapor transmission rate, WVTR)과 투습계수(WVP)는 다음 식에 의해 계산하였다.

$$WVTR = \text{slope} / \text{film area}$$

$$WVP = (WVTR \times L) / \Delta p$$

이때, slope는 시간에 따른 컵의 무게 감소율, film area는 수분 이동이 일어나고 있는 필름의 넓이, L은 필름의 평균 두께, Δp는 필름을 사이에 둔 cup 내부와 외부 간 수증기 부분압의 차이이다.

**균주 배양**

*E. coli* O157:H7은 Tryptic Soy Agar(TSA, Difco Co., Sparks, MD, USA)에서 *L. monocytogenes* 는 Brain Heart Infusion(BHI, Oxoid, Basingstoke, UK)에서 37°C, 24시간 배양한 후, colony를 Luria-Bertani broth(LB, Difco Co.), *Listeria* enrichment broth base(Oxoid)에 각각 접종하여 3

7°C, 24 시간 배양 후 2,000g에서 15 분간 원심분리하여 농축하였다. 농축된 균을 멸균된 0.1% peptone water에 넣고 적정 농도로 resuspend 시킨 후 사용하였다.

**필름의 항균성 측정**

필름의 항균성 실험은 Ku 등(17)의 방법에 따라 진행 하였다. Gelatin 필름을 0.02 g으로 자른 후 film disc에 각각의 균주 배양액을 15 μL 분주하여 실온에서 60분 동안 incubation 한 후, 멸균된 0.1% peptone water 1.98 mL에 gelatin 필름(0.02 g)을 넣어 3분 동안 균질화 시켰다. 그런 다음 peptone water로 희석하여 각각 MacConkey Sorbitol Agar plates(Difco Co.)와 Oxford Medium Base(Difco Co.)에 분주하여 배양한 후 형성된 colony를 계수하여 log colony forming unit (CFU)/g으로 나타내었으며, 실험은 세 번 반복 하여 측정하였다.

**통계 분석**

모든 실험 결과의 통계처리는 SAS program(18)을 사용하여 실시하였고 p<0.05 수준에서 분산분석과 Duncan's multiple range test를 사용하여 유의성과 평균간 차이를 검정 을 실시하였다.

**결과 및 고찰**

필름의 인장강도와 신장률은 필름의 중요한 물리적 특성 이다(1). GSE를 함유한 gelatin 필름의 인장강도는 Table 1과 같다. 대조구의 인장강도는 8.06 MPa이었고, 0.02% GSE를 함유한 gelatin 필름은 10.49 MPa로 대조구에 비해 2.43 MPa 더 증가하였다. Sivarooban 등(19)에 의하면 soy protein isolate 필름에 phenolic compound를 첨가하였을 때 인장강도가 8.8 MPa에서 10.7 MPa로 증가 하였다고 보고한 바 있다. 본 연구에서는 GSE의 polyphenol과 gelatin 분자 간의 소수결합 등 cross-linking의 결과로 GSE 함유 gelatin 필름의 인장강도가 증가한 것이라고 판단된다(20). 그러나 GSE의 첨가량이 늘어날수록 인장강도는 크게 변화를 나타 내지 않았다. GSE를 첨가한 gelatin 필름의 신장률과 관련해서, 0.02% GSE를 첨가한 필름의 신장률이 117.02%인데 비하여 대조구는 126.68%로 GSE를 첨가한 필름의 신장률이 감소된 것을 확인할 수 있었는데(Table 1), 일반적으로 필름의 인장강도와 신장률 사이에는 반비례 관계가 있어 필름의 인장강도가 증가하게 되면 반대로 신장률이 감소하게 된다(21).

가식성 필름이 갖추어야 할 요인 중 하나로 낮은 수증기 투과도를 들 수 있는데 투습계수는 식품의 유통기한 증대를 위한 식품포장재 선택 시 중요한 요소이다. GSE의 첨가가 gelatin 필름의 투습계수를 감소시켰는데, 대조구의 2.48 ng

m/m<sup>2</sup>sPa에 비해 0.02% GSE 첨가 필름은 2.31 ng m/m<sup>2</sup>sPa로 약 0.17 ng m/m<sup>2</sup>sPa 감소한 것을 확인하였고, 0.1% GSE를 첨가하였을 때 2.18 ng m/m<sup>2</sup>sPa로 GSE의 첨가량이 증가할수록 투습계수는 감소하였다(Table 1). Jongjareonrak 등(22)은 gelatin 필름에  $\alpha$ -tocopherol을 첨가한 결과 투습계수가 감소된 결과를 얻었는데, 이는  $\alpha$ -tocopherol이 hydrophobic하여 필름의 투습계수를 감소시키는 것이라고 보고하였는데, GSE에도 tocopherol 등이 함유되어 있어(10) 이러한 소수성 인자들에 의해 투습계수가 향상된 것이라고 판단된다.

**Table 1. Mechanical properties of gelatin film containing various concentration of GSE**

GSE amount (%)	Tensile strength (MPa)	Elongation (%)	Water vapor permeability (ng m/m <sup>2</sup> sPa)
0	8.68±0.38 <sup>b</sup>	126.68±1.49 <sup>a</sup>	2.48±0.01 <sup>a</sup>
0.02	10.49±0.53 <sup>a</sup>	117.02±2.53 <sup>ab</sup>	2.31±0.05 <sup>b</sup>
0.05	9.81±0.15 <sup>a</sup>	117.02±1.36 <sup>ab</sup>	2.38±0.08 <sup>ab</sup>
0.08	9.73±0.18 <sup>a</sup>	117.68±7.27 <sup>ab</sup>	2.29±0.05 <sup>bc</sup>
0.1	10.28±0.13 <sup>a</sup>	111.67±8.03 <sup>b</sup>	2.18±0.04 <sup>c</sup>

<sup>a-c</sup>Any means in the same column followed by different letters are significantly different (p<0.05).

GSE를 첨가한 gelatin 필름의 *E. coli* O157:H7와 *L. monocytogenes*에 대한 항균활성에 대한 결과(Table 2), GSE의 첨가에 따라 미생물수가 감소하는 것을 확인 할 수 있었는데 *E. coli*와 *L. monocytogenes* 수에 있어서 대조구와 비교해 볼 때 GSE 0.1%를 첨가한 경우 각각 2.67, 3.15 log CFU/g 감소하는 결과를 얻었다. 기존 연구에 따르면 GSE의 *E. coli* 최소 저해농도는 50 ppm, *L. monocytogenes*는 12.5 ppm으로 GSE가 *E. coli*보다 *L. monocytogenes*의 억제에 더 효과적이라고 보고한 결과와 일치한다(23). Reagor 등(11)과 Viuda-Martos 등(24)은 각각 67 종류의 병원균과 4 종류의 곰팡이에 GSE를 처리하여 항균 활성을 연구 한 결과 그람 양성균, 그람 음성균, 곰팡이 억제에 효과가 있다고 보고하였으며, GSE가 균의 세포벽을 파괴하고 세포 내용물을 외부로 유출시켜 균의 성장을 억제했다고 보고한 바 있는데

**Table 2. Inhibition of pathogenic bacteria in the gelatin film containing GSE**

Type of bacteria	GSE amount (%)				
	0	0.02	0.05	0.08	0.1
<i>E. coli</i>	6.81±0.15 <sup>a</sup>	6.69±0.10 <sup>a</sup>	5.13±0.17 <sup>b</sup>	4.52±0.24 <sup>c</sup>	4.14±0.13 <sup>d</sup>
<i>L. monocytogenes</i>	7.93±0.06 <sup>a</sup>	7.87±0.06 <sup>a</sup>	6.63±0.14 <sup>b</sup>	5.27±0.14 <sup>c</sup>	4.78±0.19 <sup>d</sup>

<sup>a-c</sup>Any means in the same row followed by different letters are significantly different (p<0.05).

(25-26), 이러한 결과들은 GSE를 첨가한 gelatin 필름의 항균효과와 관련된 본 연구의 결과를 뒷받침 해 준다.

## 요 약

자몽종자 추출물(GSE)을 0.02, 0.05, 0.08, 0.1%의 농도로 첨가하여 제조한 gelatin 필름의 물성과 항균효과에 대해 조사하였다. 필름의 인장강도는 0.1% GSE를 첨가하였을 경우 10.28 MPa로 대조구의 8.68 MPa에 비하여 1.60 MPa 증가하였으나, GSE 첨가량의 증가에 따라 유의적으로 증가하지는 않았다. 투습계수는 GSE의 첨가량이 증가할수록 감소되는 것을 확인할 수 있었는데, 대조구의 2.48 ng m/m<sup>2</sup>sPa에 비하여 0.1% GSE의 첨가 시 2.18 ng m/m<sup>2</sup>sPa이었다. GSE 첨가한 gelatin 필름의 항균활성의 경우, 0.1% GSE를 첨가 했을 때 *E. coli*의 경우 2.67 log CFU/g, *L. monocytogenes* 경우 3.15 log CFU/g 감소시키는 결과를 얻었다. 따라서 본 연구 결과, GSE를 첨가한 gelatin 필름이 가공식품의 포장재로써 식품에서 일부 위해미생물을 억제할 가능성이 있다고 판단된다.

## 참고문헌

- Krochta, J.M. and Mulder-Johnston, C.D. (1997) Edible and biodegradable polymer film: challenges and opportunities. *Food Technol.*, 51, 61-74
- Kester, J.J. and Fennema, O.R. (1986) Edible films and coating: a review. *Food Technol.*, 40, 7-59
- Cao, N., Yang, X. and Fu, Y. (2009) Effect of various plasticizers on mechanical and water vapor barrier properties of gelatin films. *Food Hydrocoll.*, 23, 729-735
- Jo, C., Kang, H.J., Lee, N.Y., Kwon, J.H. and Byun, M.W. (2004) Pectin- and gelatin-based film: effect of gamma irradiation on the mechanical properties and biodegradation. *Rad. Phys. Chem.*, 72, 745-750
- Achet, D. and He, X.W. (1995) Determination of the renaturation level in gelatin films. *Polymer*, 36, 787-791
- Güçbilmez, Ç.M., Yemencioğlu, A. and Arslanoğlu, A. (2006) Antimicrobial and antioxidant activity of edible zein films incorporated with lysozyme, albumin proteins and disodium EDTA. *Food Res. Int.*, 40, 80-91
- Li, B., Peng, J., Yie, X. and Xie, B. (2006) Enhancing physical properties and antimicrobial activity of konjac glucomannan edible Films by incorporating chitosan and nisin. *J. Food Sci.*, 71, C174-C178
- Seydim, A.C. and Sarikus, G. (2006) Antimicrobial

- activity of whey protein based edible films incorporated with oregano, rosemary and garlic essential oils. *Food Res. Int.*, 39, 639-644
9. Cventnic, Z. and Knezevic, S.V. (2004) Antimicrobial activity of grapefruit seed and pulp ethanolic extract. *Acta Pharm.*, 54, 243-250
  10. Park, H.K. and Kim, S.B. (2006) Antimicrobial activity of grapefruit seed extract. *Korean J. Food Nutr.*, 19, 526-531
  11. Reagor, L., Gusman, J., McCoy, L., Carino, E. and Hegggers, J.P. (2002) The effectiveness of processed grapefruit-seed extract as an antibacterial agent: I. an in vitro agar assay. *J. Altern. Complement Med.*, 8, 325-332
  12. Yu, J., Ghiviriga, I., Buslig, B.S. and Cancalon, P. (2008) A strong antioxidant isolated from grapefruit juice retentate. *Food Sci. Technol.*, 41, 420-424
  13. Xu, W., Qu, W., Huang, K., Guo, F., Yang, J., Zhao, H. and Luo, Y. (2007) Antibacterial effect of grapefruit seed extract on food-borne pathogens and its application in the preservation of minimally processed vegetables. *Postharvest Biol. Technol.*, 45, 126-133
  14. Chin, K.B., Kim, W.Y. and Kim, K.H. (2005) Physicochemical and textural properties antimicrobial effect of low-fat comminuted sausages manufactured with grapefruit seed extract. *Korean J. Food Sci. Anim. Res.*, 25, 141-148
  15. ASTM. (1993) Standard test methods for tensile properties of plastics. D638M, Annual Book of ASTM Standards, Philadelphia, PA. p. 59-67
  16. ASTM. (1983) Standard test methods for water vapor transmission of materials. E 96-80, Annual Book of ASTM Standards, Philadelphia, PA. p. 761-770.
  17. Ku, K.J., Hong, Y.H. and Song, K.B. (2008) Mechanical properties of a Gelidium corneum edible film containing catechin and its application in sausages. *J. Food Sci.*, 73, C217-C221
  18. SAS (2001) SAS User's Guide. Statistical Analysis Systems Institute Inc., Cary, NC, USA.
  19. Sivarooban, T., Hettiarachchy, N. and Johnson, M.G. (2008) Physical and antimicrobial properties of grape-seed-extract, nisin, and EDTA incorporated soy protein edible films. *Food Res. Int.*, 41, 781-785
  20. Kroll, J. and Rawel, H.M. (2001) Reactions of plant phenols with myoglobin: influence of chemical structure of the phenolic compounds. *J. Food Sci.*, 66, 48-58
  21. Pol, H., Dawson, P., Acton, J. and Oglae, A. (2002) Soy protein isolate/corn zein laminated films: transport and mechanical properties. *J. Food Sci.*, 67, 212-217
  22. Jongjareonrak, A., Benjakul, S., Visessanguan, W. and Tanaka, M. (2008) Antioxidative activity and properties of fish skin gelatin films incorporated with BHT and  $\alpha$ -tocopherol. *Food Hydrocoll.*, 22, 449-458
  23. Park, H.K. and Kim, S.B. (2006) Antimicrobial activity of grapefruit seed extract. *Korean J. Food Nutr.*, 19, 526-531
  24. Viuda-Maros, M., Ruis-Navajas, Y., Fernández-López, J. and Pérez-Álvarez, J. (2008) Antifungal activity of lemon (*Citrus lemon L.*), mandarin (*Citrus reticulata L.*), grapefruit (*Citrus paradisi L.*) and orange (*Citrus sinensis L.*) essential oils. *Food Control*, 19, 1130-1138
  25. Cho, S.H., Lee, S.Y., Kim, J.W., Ko, G.H. and Seo, I.W. (1995) Development and application natural antimicrobial agent isolated from grapefruit seed extract. *J. Food Hyg. Safety*, 10, 33-39
  26. Kim, J.W., Matsler, P.L., Wang, H. and Slavik, M.F. (1996) Grapefruit seed extract (DF-100) treatment of poultry to reduce attached salmonella. *J. Food Hyg. Safety*, 11, 7-10

---

(접수 2008년 9월 30일, 채택 2008년 12월 26일)