

해양부산물 아미노산액비 및 유용미생물(KEM) 시용이 후지사과의 품질에 미치는 영향

안승원* · 김영철 · 황인수 · 조전권 · 김명선 · 이정관¹⁾ · 엄원용²⁾

공주대학교 원예학과, ¹⁾식물자원학과, ²⁾금산군농업기술센터
(2010년 9월 3일 접수; 2010년 10월 22일 수정; 2010년 10월 22일 채택)

Effect of Seafood Amino Acid Fertilizer and Korean Effective Microorganisms on the Fruit Quality of Fuji Apple

Seoung-Won Ann*, Young-Chil Kim, In-Su Hwang, Jeon-Kwon Cho,
Myoung-Seon Kim, Jung-Kwan Lee¹⁾, Won-Yong Eum²⁾

Department of Horticulture, Kongju University, Chungnam 340-702, Korea

¹⁾Department of Plant Resources, Kongju University, Chungnam 340-702, Korea

²⁾Geumsan County Agricultural Technology Center, Chungnam 336-812, Korea

(Manuscript received 3 September, 2010; revised 22 October, 2010; accepted 22 October, 2010)

Abstract

This study was carried out to compare and analyze the effect of Korean effective microorganism(KEM) and seafood amino acid fertilizer(SAF) application on apple on functional substances of fruit. Vitamin C in fruit of control and KEM/SAF treated were 29.3 and, 39.8 mg, respectively. Also active oxygen scavenging ability of those treatments measured with DPPH method were 40.6 and 54.1%, respectively. Vitamin E contents of those treatments were 2.51 and 2.50 mg, respectively. Sitosterol, a phytosterol, contents of those treatments were 4.79 and 5.41 mg, respectively. Proportion of sugars, fructose, glucose, and sucrose in the fruit of control were 36.1, 15.3 and 17.8%, respectively. Those of the fruit of KEM/SAF treated were 45.9, 13.2 and 18.8%, respectively. Malic acid contents of control and KEM/SAF treated fruits were 53.7 and 43.8%, respectively.

Key Words : Korean effective microorganisms, Seafood amino acid fertilizer, Vitamin, Phytosterol

1. 서론

농업이 친환경적인 산업으로 거듭나기 위해서는 수질과 토양 오염과 반환경적 요소들을 극복해야 된다. 농약과 화학비료 등에 의한 지하수 오염은 농업생

태계의 오염 형태 중 대표적인 것으로, 이러한 농약과 화학비료의 확산에 의한 오염방지를 위하여 유기폐기물의 재활용과 유용미생물을 활용한 순환농업 등이 확산되어야 할 것이다(比嘉 등, 1999). 요즘 녹색농업에 관심이 고조되면서 농수산부산물의 재활용에 대한 연구가 추진되고 있다. 이러한 부산물의 적극적인 활용은 폐기처리에서 발생하는 오염을 경감시키고 재활용함으로써 귀중한 자원을 확보할 수 있는 기회가 될 것이다. 특히 해양부산물은 식물생육에 유용한 영

*Corresponding author : Seoung-Won Ann, Department of Horticulture, Kongju University, Chungnam 340-702, Korea
Phone: +82-41-330-1224
E-mail: annsw@kongju.ac.kr

양원을 다량함유하고 있어 화학비료의 대체 영양원으로 기대되고 있으며 식물의 주요 영양원인 질소질 공급에 크게 이바지할 것이다(김과 김, 1999).

해양부산물의 발효퇴비는 다양한 미네랄과 아미노산 등을 함유하고 있어 작물재배에 종합영양제로 활용이 가능하다(比嘉, 2003). 아미노산은 생물의 단백질을 구성하는 성분이며 100개 이상의 아미노산이 결합하여 1개의 단백질을 만든다(한국환경보전유기농연합, 2004). 동물은 20종류의 필수 아미노산이 있으며, 동물과 식물의 필수아미노산은 다르다. 식물이나 미생물에서는 자신이 필요한 아미노산을 모두 합성할 수 있다(Daum백과사전, 2010). 식물의 각 부위에 있는 질소는 대부분 단백질분자 내에 있는 것이기 때문에 성장시기에 따른 질소 함량의 변화는 단백질의 분해와 합성의 정도를 반영하는 것이고 잎에서는 이러한 단백질의 절반이 엽록체에 존재한다. 따라서 식물은 아미노산을 식물체 내에서 자체적으로 합성하거나 외부로부터 흡수하여 단백질 형태로 저장, 또는 대사에너지로 전환, 생리활성 등 다양한 용도로 사용하고 있다(배와 김, 2002). 아미노산의 식물에 대한 작용기작에 대해서는 많은 부분이 아직 밝혀지지 않았지만, 각 아미노산 별로 그 기능이 점차 밝혀지고 있다.

이러한 식물에 대한 직접적인 아미노산의 작용 외에도 토양미생물의 영양원으로 작용하여 미생물의 증식을 활발하게 하여 식물의 뿌리활력과 토양 부식의 기본이 된다(堀井, 2000; Cho 등, 1993). 토양부식은 보수력을 향상시키고, 각종 영양원을 고정화하여 토양의 생산력을 증대시켜 효과가 기대된다. 생태계에서 분해자 역할을 하는 미생물은 작물의 영양흡수를 돕고 미생물 자신이 합성한 유기물, 즉 식물생육에 필수적인 비타민, 효소, 호르몬 등 다양한 물질을 공급한다. 유용미생물은 농업에서 농업 부산물의 부식 촉진 효과 및 생물학적 방제로 살균 및 살충력을 이용한 생물 농약, 미생물이 분비하는 각종 영양 및 생리활성물질 등을 활용하기 위하여 이용하고 있다(比嘉, 1991; 김과 김, 1999). 이러한 미생물들의 역할을 적극적으로 활용하기 위하여 공주대학교에서는 발효 및 합성계의 미

생물들(효모균류, 유산균류, 광합성세균류 등)이 공생하는 유용미생물제제(Korean Effective Micro organisms, 이하 KEM으로 표기)를 자가제조하여 친환경농업 및 환경복원 등에 활용하고 있다.

본 연구는 유용미생물제제(KEM)와 해양부산물을 발효하여 제조한 생선아미노산액비(Seafood Amino acid Fertilizer, 이하 SAF로 표기)의 시비가 후지사과의 당, 비타민, 유기산 등의 기능성물질 함량변화에 미치는 영향을 검토하여 환경 친화적인 유기농자재의 자원탐색 및 개발에 활용하고자 수행하였다.

2. 재료 및 방법

사과는 금산군에 위치한 2 ha 포장에 M9 왜성대목을 사용한 후기품종을 8년간 재배되고 있는 포장에서 재배하였고, KEM과 SAF를 사용한 친환경재배 시험구와 일반재배 시험구로 구분하여 실험하였다. KEM·SAF처리 시험포장은 최근 3년간(2007~2009년) 평균생산량은 7.2톤(1,000 m²)이며 2005년도부터 KEM·SAF를 사용하였고, 대조구 시험포장은 농진청 사과재배방법에 준한 일반재배 포장으로 최근 3년간(2007~2009년) 평균생산량은 5.8톤(1,000 m²)이다. 2009년도 시험기간 중 대조구 포장은 농진청 사과재배방법에 준하여 재배하였으며 KEM·SAF 처리구는 KEM과 SAF를 각각 500배액으로 희석하여 4월부터 9월까지 1주일 간격으로 엽면산포 하였다. 사과는 10월 30일에 수확하여 20일간 저온저장한 후 성분의 파괴 없이 건조하기 위하여 동결건조(-60 °C, 96시간)하여 기능성물질을 분석하였다.

○ 비타민C 성분 분석(ascorbic acid)

- 동결 건조된 시료 5 g을 5 mL의 10% meta인산에 10분간 침윤시킨 후,
- 막자사발과 유봉을 이용하여 5% 메타인산을 용액에 넣어가며 분쇄하고,
- 최종부피가 50 mL가 되도록 정용
- 상기용액을 5,000 rpm에서 15분간 원심분리하고,
- 상징 액을 0.4 μm의 nylon membrane filter로 여과한 후 HPLC로 분석

- HPLC분석을 위한 이동상 용매는 methanol : water = 30 : 70에 hexanesulfonic acid와 acetic acid를 각각 0.14%, 1%가 되도록 첨가하여 사용
- HPLC 컬럼은 4.6×250 mm(5 μm)의 Luna C₁₈ 100 A를 사용하고,
- 유속은 1.0 mL/min, 검출기는 UV 254 nm의 조건에서 분석을 수행
- 비타민E 성분 분석(α-, β-, γ-, and δ-tocopherol)
 - 시료 0.5 g을 ascorbic acid 0.1 g과 EtOH 5 mL이 포함된 시험관에 넣고,
 - 80 °C shaking water bath에서 10분간 방치(rpm = 90)
 - 10분경과 후 즉시 44% KOH 150 μl를 넣고,
 - 다시 80 °C shaking water bath에서 18분간 비누화 반응을 진행
 - 18분경과 후 즉시 꺼내서 미리 준비한 얼음에 넣어 냉각
 - 냉각 후 증류수 5 ml, hexane 5 ml 넣은 후 교반
 - 원심분리(5 °C, 1,000 rpm, 1분)를 수행
 - 상층액을 파스테르 pipet으로 취하여 100 ml 분액 여두에 옮김
 - 하층액이 남아있는 원심분리 tube에 앞에서와 동일한 조건으로 hexane 5 ml을 넣고 vortex, centrifuge, 상층액을 파스테르 pipet으로 취해 100 ml 분액여두에 옮기는 과정을 2번 더 수행
 - 합쳐진 분액여두에 증류수를 5 ml 넣어 흔든 후 물층을 버리는 과정을 3회 반복
 - 깔때기에 준비된 여과지를 깔고 Na₂SO₄ 약 4 g을 넣은 후, hexane층을 Na₂SO₄에 통과시키면서 시험관에 받음
 - N₂ gas를 불어 hexane을 제거
 - Isooctane (HPLC) 1 ml를 넣어 완전히 녹인 후,
 - 일회용 주사기를 이용하여 syringe filtration (nylon, 지름 13 mm, 2 μm)을 하여 sample vial (amber)에 담고, N₂ 불어넣으며 밀봉
 - 상기 용액 20 μl를 고속액체 크로마토그래프 (HPLC)에 주입하여 분석
 - HPLC 조건으로는, 컬럼은 Zorbax SIL (4.6 x 250 mm)을 사용하고 이동상으로는 Isooctane/ethylacetate/acetic acid/2,2-di-methoxypropane = 98.15 : 0.7 :

- 0.7 : 0.1 (v/v)의 isocratic 조건을 사용하며,
- flow rate = 1.6 mL/min, 검출기는 형광검출기 (Ext. 290 nm, Em. 330 nm)를 사용
- 유기산 분석
 - 마쇄된 시료 * g을 3.4 M NaCl과 homogenize하고,
 - 4,000 rpm, 20 °C에서 30분간 원심분리 후,
 - supernatent를 취하여 동일 부피의 17 mM NH₄H₂PO₄/H₃PO₄ (pH 2.87)와 혼합한 후,
 - 0.45 μm의 nylon syringe filter를 이용하여 여과한 후 HPLC에 주입
 - HPLC 조건

Equipment	HP Agilent 1200 series HPLC
Column	YMC-ODS-AQ, 5 μm, 150 x 4.6 mm ID
Mobile Phase	17 mM NH ₄ with 300 ppm formaldehyde
Flow rate	Time/mL min ⁻¹ : 0.0/0.4 - 10.0/0.4 - 10.1/0.7 - 18.0/0.7 - 18.1/0.4 - 20.0/0.4
Detector	UV 215 nm
Oven temperature	25 °C

- free sugar 성분의 분석
 - 마쇄된 시료 1 g을 50 mL centrifuge tube에 넣은 후,
 - 80% ethanol 20 mL와 혼합한 후,
 - 80 °C shaking water bath에서 15분간 추출 하고,
 - 여과지(Whatman No. 2, 100 mm)로 여과한 후,
 - 70 °C 수욕상에서 감압 농축한 후,
 - dH₂O 2 mL 녹이고
 - syringe filtration (nylon, 0.45 μm, φ 13 mm)하여
 - HPLC (S 5111, Sykam, Germany)로 분석
 - column은 ZORBAX CARBOHYDRATE (4.6 mm × 150 mm, 5 μm)을,
 - mobile phase는 acetonitrile : dH₂O = 83: 17을 이용하여,
 - flow rate는 1.5 mL min⁻¹로,
 - 검출기는 RI detector로 분석
- 활성산소 소거능 DPPH (1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl) 분석
 - DPPH - 400 uM (DPPH 3.94 mg/DW 25 ml) 완전히 녹임

- 0.2 M MES solution - 8.53 g/200 ml (pH 6) 완충용액
- 80, 20% Ethanol
- 0.2 mM Trolox (사용한 동일 용매에 녹인다음 - 20℃에서 보관)

DPPH는 그 자체가 매우 안정한 free radical로서 517 nm에서 특징적인 광흡수를 나타내는 보라색 화합물이다. 본 radical은 알코올 등의 유기용매에서 매우 안정하며 특히 여러 가지 항산화 기작 중 proton-radical scavenger에 의하여 탈색되기 때문에 항산화 활성을 육안으로도 쉽게 관찰할 수 있는 장점이 있음 (Morrissey and O'Brien, 1998; Temple, 2000; Fang et al., 2002)

- 전자 공여능 (%)
100 - (시료첨가구 흡광도 / 무첨가구 흡광도) X 100
으로 계산하여 사용하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 사과의 비타민 C와 DPPH(%) 성분함량 분석

사과의 비타민 C 함량은 생물중량 100 g당 대조구 및 KEM · SAF처리구에서 각각 29.3, 39.8 mg(Fig. 1)을 함유하고 있으며, 활성산소 소거능 DPPH(%)는 각각 38.2, 48.4%(Fig. 2)를 나타냈다. KEM · SAF처리구 사과의 비타민 C 함량은 대조구에 비하여 20.7% 많았으며, DPPH(%)도 KEM · SAF처리구가 26.5% 높게 나타났다. KEM · SAF 시용이 작물생육의 환경 개선과 영양원으로 작용하게 되면 작물의 생산기관을 활성화 시키게 되고 생산력을 증대시키는 효과도 기대된다. 사과는 비타민 C, 페놀산과 같은 강력한 항산화 물질을 다량함유하고 있어 활성산소의 유해 작용을 억제하여 준다(Willet, 1994; Daum전문자료, 2010). 사과를 섭취하면 이러한 항산화 물질이 기억력 감퇴 현상에 원인이 되는 뇌세포 손상을 억제하여 나이가 들면서 떨어지는 학습능력과 기억력을 올릴 수 있다고 한다(Lee, 1996).

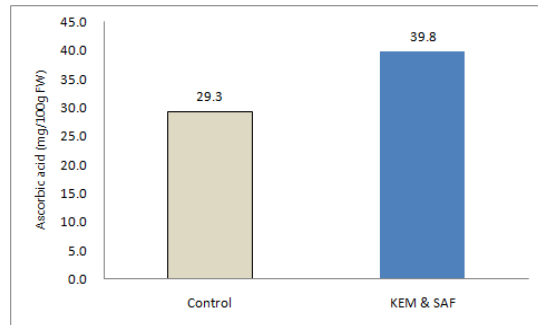


Fig. 1. Vitamin C contents in apple (mg/100g, FW).

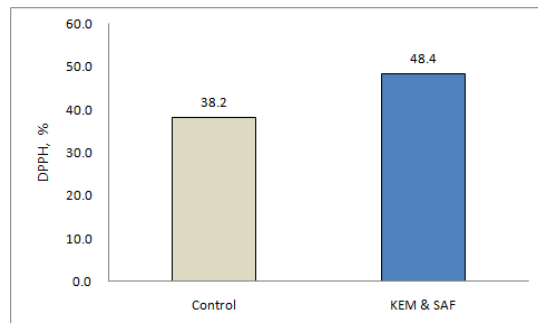


Fig. 2. Scavenging effect of active oxygen of apple measured with DPPH(1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl) method (measurement wavelength; 517 nm).

3.2. 사과의 비타민 E와 식물스테롤 성분함량 분석

사과의 비타민 E 성분함량 분석결과 건물중량 100 g당 대조구와 KEM · SAF 처리구에서 각각 2.51, 2.50 mg을 함유하고 있는 것으로 나타났다(Fig. 3). 대조구에 비하여 KEM · SAF 처리구가 -0.3% 적게 나타났다. 사과의 Phytosterol 중 Sitosterol 함량은 대조구와 KEM · SAF 처리구에서 각각 4.79, 5.41 mg을 나타냈으며, 대조구에 비하여 KEM · SAF 처리구가 13.1% 많은 것으로 나타났다(Fig. 4). 깻잎용 들깨 등에서 Phytosterol은 Campesterol 과 Sitosterol을 함유하고 있으며 Sitosterol 함유량이 Campesterol에 비하여 10배정도 많은 것으로 나타난다. 본 조사에서는 Campesterol 함유량이 미비하여 비교분석에서 제외하였다.

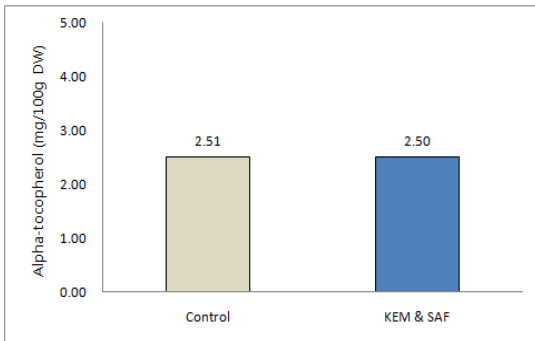


Fig. 3. Vitamin E contents in apple (mg/100g, DW).

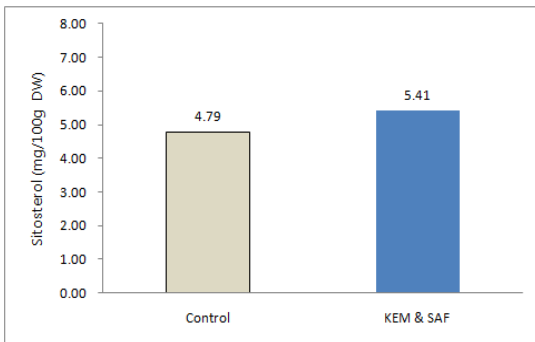


Fig. 4. Sitosterol contents in apple (mg/100g, DW).

3.3. 사과의 당류조성과 유기산(Malic acid) 성분함량 분석

사과의 당류조성 분석은 Fructose, Glucose, Sucrose, Total Free Sugar로 구분하여 각각의 함유량을 백분율로 하여 비교분석하였다(Fig. 5). 대조구의 당류조성은 Fructose, Glucose, Sucrose에서 각각 36.1, 15.3, 17.8%를, Total Free Sugar은 69.2%로 나타났다. KEM · SAF 처리구는 Fructose, Glucose, Sucrose에서 각각 45.9, 13.2, 18.8%를, Total Free Sugar은 77.9%로 나타났다. 한편 산미를 나타내는 Malic acid 함유량(% , mg/100g, DW)은 대조구에서 53.7%, KEM · SAF 처리구는 43.8%로 대조구에 비하여 18.5% 적게 함유하였다(Fig. 6).

사과 과실의 외관은 품종에 따라 크기나 모양, 색 등이 제각각이지만 성분특성은 큰 차이가 없다. 일반적으로 과육의 수분함량은 평균 86%이고, 가용성고형물의 주성분은 당분으로 약13% 포함되어있다. 유

기산은 주로 사과산과 구연산으로 일반적으로 食味가 가장 양호한 유기산의 함량은 0.5% 내외이고 0.8% 정도는 酸味가 너무 강하고 0.3% 이하에서는 저장 후 산미가 낮아져 저장성이 떨어진다(玉根, 2004; Daum백과사전, 2010).

본 조사의 당류조성별 함유량 비율은 대조구에 비하여 KEM · SAF 처리구에서 단맛이 가장 강한 Fructose가 27.0% 많았으며, Glucose와 Sucrose는 각각 -13.6, 5.8%로 상대적으로 차이가 적었으며, Total Free Sugar는 12.6% 높은 것으로 나타났다(Fig. 7). 한편 산미를 나타내는 Malic acid 함유량은 KEM · SAF 처리구에 비하여 대조구에서 18.5% 높게 나타났다. 위와 같은 결과로 보아 사과 재배시 KEM · SAF를 사용하면 당성분 함량은 증가하는 한편 산미를 나타내는 Malic acid는 상대적으로 적게 나타나 과일을 먹을 때 더 달게 느껴지는 것으로 사료된다.

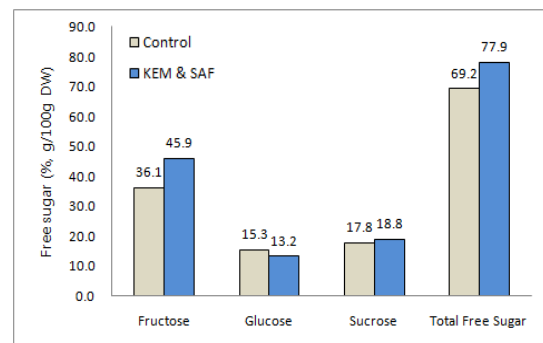


Fig. 5. Composition of sugars in apple (% , g/100g, DW).

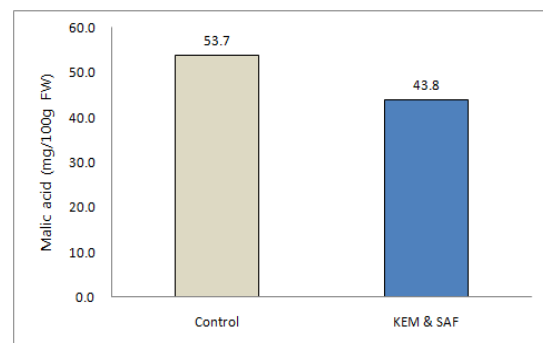


Fig. 6. Malic acid contents in apples (% , mg/100g, DW).

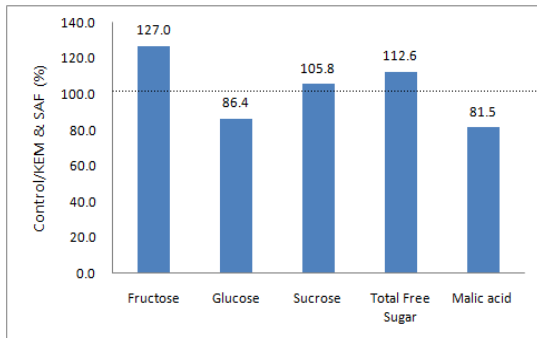


Fig. 7. Relative contents(%) of sugars and malic acid in the apple treated with KEM and SAF compare to untreated control.

4. 결론

사과작물에 유용미생물제제(KEM)와 해양부산물 아미노산액비(SAF)의 시비가 과일의 기능성물질 함유량에 미치는 영향을 비교 분석하기 위하여 수행하였으며, KEM과 SAF의 시용효과를 검토하여 환경 친화적인 유기농자재의 자원탐색 및 개발에 활용하고자 한다.

1) 과일의 비타민 C 함량은 대조구 및 KEM · SAF 처리구에서 각각 29.3, 39.8 mg을 함유하고 있으며, 활성산소 소거능을 나타내는 DPPH(%)는 각각 40.6, 54.1%로 나타났다. KEM · SAF 처리구 사과의 비타민 C 함량은 대조구에 비하여 20.7% 많았으며, DPPH(%)도 KEM · SAF 처리구가 26.5% 높게 나타났다.

2) 비타민 E 성분함량은 대조구와 KEM · SAF 처리구에서 각각 2.51, 2.50 mg을 함유하고 있었으며, 대조구에 비하여 KEM · SAF 처리구가 -0.3% 적게 나타났으나 차이는 거의 없었다. 사과의 Phytosterol 중 Sitosterol 함량은 대조구와 KEM · SAF 처리구에서 각각 4.79, 5.41 mg을 나타냈으며, 대조구에 비하여 KEM · SAF 처리구가 13.1% 많은 것으로 나타났다.

3) 대조구의 당류 함유량 비율은 Fructose, Glucose, Sucrose에서 각각 36.1, 15.3, 17.8%를, Total Free Sugar은 69.2%로 나타났으며, KEM · SAF 처리구는 Fructose, Glucose, Sucrose에서 각각 45.9, 13.2, 18.8%를, Total Free Sugar은 77.9%로 나타났다. 한편 산미를 나타내는 Malic acid 함유량 비율은 대조구

에서 53.7%, KEM · SAF 처리구는 43.8%로 대조구에 비하여 18.5% 적게 함유하고 있었다.

대조구에 비하여 KEM · SAF 처리구에서 단맛이 가장 강한 Fructose가 27.0% 많았으며, Glucose와 Sucrose는 각각 -13.6, 5.8%로 상대적으로 차이가 적었으며, Total Free Sugar는 12.6% 높게 나타났다. 한편 산미를 나타내는 Malic acid 함유량 비율은 KEM · SAF 처리구에 비하여 대조구에서 18.5% 높게 나타났다.

본 시험결과 유용미생물제제(KEM)와 해양부산물을 발효하여 제조한 생선아미노산액비(SAF)의 시비가 과일의 당, 비타민, 유기산 등의 기능성물질을 향상시키며 맛을 좋게 하는 결과를 나타냈다. KEM · SAF는 작물의 영양관리 등에 유용하게 활용할 수 있는 자재로 판단되나 생산물의 단순한 분석결과로 KEM · SAF의 시비 효과를 판단하는 것은 불가능하다. 본 연구를 기초로 유용미생물(KEM)과 농축수산 부산물을 재활용한 생선아미노산액비(SAF) 등의 제조 및 사용 방법을 개발하여 환경 친화적 순환농업에 이바지할 수 있도록 다양한 연구가 요구된다.

감사의 글

이 논문은 2010년도 농촌진흥청 공동연구사업(20090101-036-040-001-02-00)의 지원과 2010년 교육과학기술부(지역거점연구단육성사업/에너지자립형 그린빌리지 핵심기술사업단)로 부터 지원받아 수행된 연구입니다.

참고 문헌

- 김경제, 김석균, 1999, 微生物有機質肥料의 施用이 상추의 收量에 미치는 影響, 한국유기농업학회지, 8(1), 131-138.
- 배명창, 김윤환, 2002, 되살아나는 미래 EM기술이 21세기 환경을 바꾼다, (주)영광도서, 1-246.
- 한국환경보전유기농연합, 2004, 미생물의 농업적 이용과 환경보전(比嘉照 微生物의 農業利用と環境保全), 한국환경보전유기농연합, 1-307.
- 堀井博, 2000, 大規模経営における畜産堆肥(牛糞)の有効活用, EM活用技術事例集, 74-81.

- 比嘉照夫, 1991, 微生物の農業利用と環境保全 -醗酵合成型土壤と作物生産-, (株)EM研究所, 27-85.
- 比嘉照夫, 榊原忠三, 榊澤昭衛, 久保隆彦, 安里勝之, 田邊誠助, 高嶋康豪, 1999, EM産業革命 -農業が活きる, 工業が変わる, 環境が蘇る-, (株)EM研究所, 1-385.
- 比嘉照夫, 2003, EM環境革命. EM技術と超循環型社会への道すじ, 三共グラフィック株式会社, 1-441.
- 玉根康徳, 2004, 美味しい野菜を届けたい -30年の土づくり-, EM活用技術事例集, 52-57.
- Cho, Y. S., Park, S. G., Jun, S. S., Moon, J. S., Ha, B. S., 1993, Proximate sugar and amino acid composition of Dolsan leaf mustard, J. Korean soc. Food Nutr., 22, 48-52.
- Daum백과사전, 2010, <http://enc.daum.net/dic100>.
- Daum전문자료, 2010, <http://ref.daum.net/item>.
- Fang, Y. Z., Yang, S., Wu, G., 2002, Free radical antioxidant and nutrition, Nutrition, 18, 872-879.
- Lee, Y. O., 1996, Studies on the antioxidative characteristics and antioxidative substance of kimchi, Ph D. Dissertation, Pusan National University, 3-28.
- Morrissey, P. A., O'Brien, N. M., 1998, Dietary antioxidant in health and disease, Int Dairy Journal, 8, 463-472.
- Temple, N. J., 2000, Antioxidants and disease: more question than answers, Nurt Res., 20, 449-459.
- Willet, W. C., 1994, Diet and health: what should we eat, Science, 254, 532-537.