

천연항균제처리에 의한 과채류의 선도유지 및 병해방지에 관한 연구 —저장중 병리적 장애 방지를 중심으로—

조성환 · 서일원* · 이근희**

경상대학교 식품공학과, *(주) 아미콘 케미, **한국인삼연초연구소

초록 : 과채류의 저장중, 신선도를 유지하고 병리적 장애를 감소시키기 위하여 천연 식물성 항균제인 grapefruit종자추출물(GFSE)로 처리하여 과채류의 품질향상을 유도할 수 있었고 저장시 과채류 부패병원균의 감염 및 생육을 억제할 수 있었다. Grapefruit종자추출물은 세균, 곰팡이 등, 광범위한 범위의 식물변패미생물에 대하여 50 ppm~2,000 ppm의 처리농도로 뚜렷한 항균효과를 나타내었다. 변패된 과채류에서 분리한 *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*와 같은 세균을 100 ppm의 GFSE용액으로 처리하여 균체세포의 세포막기능이 파괴되어 세포내용물이 균체의부로 유출되어 균체의 생육이 억제되는 것을 관찰할 수 있었으며, 곰팡이 *Fusarium* sp.의 균사체도 1,000 ppm의 용액처리로 세포벽기능이 파괴되었고, *Penicillium* sp.의 포자 내용물도 GFSE처리로 소실되어 정상적인 발아기능이 저해됨을 알 수 있었다. 한편, 농가에서 수확한 대파, 양파, 고추 등을 GFSE용액에 침지처리하고 동결건조하여 선택 및 조직면에서 우수한 저장효과를 얻을 수 있었고, 감자의 발아를 억제하고, 호박, 오이, 토마토, 밀감 등 과채류의 신선도를 상당기간 동안 연장할 수 있었다(1993년 5월 25일 접수, 1993년 6월 23일 수리).

일반적으로 현재까지 사용하고 있는 과채류의 저장방법으로는 저온저장, CA(controlled atmosphere)저장,¹⁻⁶⁾ film저장,^{7,8)} 방사선조사,⁹⁻¹²⁾ 강압처리, 대체가스치환, 피막제처리, 화학약제 처리 등이 있으나, 저온저장, CA저장, 방사선조사는 고가의 시설비 및 경영비가 소요되고 수준높은 기술로만이 정상적인 관리가 이루어질 수 있는 저장시설로서 산지농가에서는 그 이용이 불가능한 처리 기술이다. 최근, 과채류의 소비가 계속적으로 증대하고 있고, 시설원예의 발달로 생산량이 늘어가고 있는 상황에서 저온저장시설이 제대로 갖추어져 있지 않은 농촌 실정 때문에 매년 수확기에 일시적으로 홍수출하하는 많은 양의 과채류를 병충해로 폐기처분하게 되고 변패되기 전에 낮은 가격으로나마 수확 즉시 신속하게 판매처리해야 할 어려움에 직면하고 있다. 따라서, 저렴하고 단순한 처리저장기술을 개발하여 산지농가에 보급, 활용케함으로써 과채류의 수확시기나 횟수에 상관없이 년중 내내 신선도를 유지한 과채류를 공급할 수 있는 상황이 시급히 도래할 필요성이 요구되고 있다. 앞서

제시한 저온저장 및 CA저장은 현재 알려진 저장시설 중에는 가장 이상적이라고 볼 수 있겠으나 시설 및 관리 유지비용 등이 많이 소요되므로, 냉장 또는 냉동시설을 설치할 수 없는 농가의 입장에서 그 이용은 실현성이 없는 일이다. 이와 같은 실정을 고려하여, 저렴한 가격으로 설치 가능한 농가용 간이저장고를 조립하고, 저장고내의 온도 및 습도가 적정수준으로 유지되도록 한 다음, 과채류의 저장중, 식물변패미생물의 감염 및 성장을 억제할 수 있는 강력한 천연항균제이며 보존제인 grapefruit종자추출물(grapefruit seed extract: 이하 GFSE라 칭함)을 처리하고, CA저장 효과를 유도할 수 있는 polyethylene film내에 포장하여 저장함으로써 과채류의 선도유지 및 병해방지에 충분한 대체효과를 기대할 수 있을 것이다. 이러한 취지에서 본 연구에서는 농가용 간이저장고를 이용한 최적 film포장조건을 규명함과 동시에, 과채류에 오염되어 변패를 일으키는 식물변패미생물에 대한 grapefruit종자추출물의 오염미생물 생육억제효과를 검토하였다.

Key words : Natural microorganism control agent, grapefruit seed extract, freshness retention, disease damage
Corresponding author : S.-H. Cho

재료 및 방법

Grapefruit종자추출물의 조제

본 실험에 사용한 grapefruit종자추출물은 전보¹³⁻¹⁵⁾에 준하여 추출·조제하였다.

저장고의 설치

과실채소류의 저장을 위한 농가용 간이저장고는 농촌진흥청 시험연구방법¹⁶⁾을 응용하여 다음과 같이 조립·설치해서 사용하였다. 즉, 저장고는 높이의 1/3이 이하에 있는 반지하식저장고를 설치하여 이용하며 저장고를 시설하는 위치는 기류가 잘 통하고 토양이 습하지 않으며 그늘진 곳을 택하여 저장고의 바깥벽은 벽돌벽 2중벽으로 하고 바깥벽과 안벽의 중간에는 styrofoam로 10cm 정도 단열처리를 하였다. 저장고의 천정위에는 벽에서와 같은 단열제로 15cm 정도 단열처리하고 천정을 통해 지붕위로 저장고내의 공기가 빠져 나갈 수 있도록 배기 fan을 만들어 주고, 찬공기의 유입은 지하 2m 깊이로 토관을 설치하여 저장고의 온·습도 변화를 적게 하였다. 특히, 외기의 온도, 습도변화에 따라 환기함으로써 저장고내의 온도 및 습도가 10°C 내외, 80~90%로 유지되도록 설치하였다.

과채류의 GFSE처리 및 film포장

경남지역에서 생산되고 있는 오이, 호박, 감자 등의 채소작물과, 토마토의 밀감 등의 과수작물 등, 추수 및 수확전후에 오염되는 병원성 또는 부패성 세균 및 곰팡이에 의하여 변패될 수 있는 작물들을 선별하여, 수확직후, 과채류를 GFSE회석용액 (100~1,000 ppm) 속에 농도수준별로 침지·처리한 후, 서늘한 장소에서 짧은 시간동안 방치하였다가 0.1 mm 두께의 polyethylene film 봉지에 넣고 완전 밀봉한 다음, 일정규격의 plastic 상자에 담아 반지하식 저장고에 보관하면서 부패율, 발아율 등 품질상태를 비교·검토하였다. 한편, 양파, 대파, 고추는 전술한 바와 같은 GFSE농도 및 방법으로 처리하여 동결건조시킨 후, film 포장해서 실험재료로 이용하였다.

공시균주의 최소저해 농도측정

식물변패미생물은 본 연구자의 실험실에서 분리·보관중인 10종의 공시균주를 tryptic soy broth(TSB) 배지에 접종하고 30°C에서 24시간동안 배양한 후 phosphate buffer(pH 7.0)로 회석하여 접종균주로 배양하였다. 회석된 배양액 0.1 ml를 grapefruit종자 추출물이 0(대조구), 50, 100, 250, 500, 1,000, 2,000 µg/ml 농도로 함유

되어 있는 TSB배지에 첨가하고, 30°C에서 3일간 배양한 다음, 각 시험구의 배양액 1 ml씩을, plate count agar상에 평판도말하고 30°C에서 3일동안 배양하여 생존균수의 유무를 확인하여, 공시균주의 최소저해 농도를 측정하였다.

전자 현미경적 실험 방법

과채류 과피에 오염되어 외피를 균열시키고 내부조직을 연화시키는 변패미생물에 대한 GFSE의 항균작용을 조사하기 위하여, GFSE용액으로 처리한 미생물 균체 또는 포자를, 처리하지 않은 대조구 미생물과 함께, 전보^{17,18)}와 같은 방법에 준하여 전자현미경 촬영 시료로 조제하고 투과전자현미경(Hitachi H-600)으로 검경하여 GFSE용액이 미생물 형태변화에 미치는 영향을 중심으로 그 항균작용을 조사하였다.

결과 및 고찰

과채류의 선도 유지 효과

1) 대파, 양파 및 고추

경남지역에서 생산되고 있는 대파, 양파 및 고추 등을 구입하여 GFSE처리하고 냉동 건조한 후, polyethylene film bag에 포장하고 30일 동안 저장하면서 사용하였다. 이때 대조구로써 GFSE 무처리시험구와 작물별 부패방지용 GFSE처리시험구(250 ppm, 500 ppm, 1,000 ppm)를 병행하여 실험을 실시하여 각각 Fig.1과 같은 결과를 얻었다. GFSE를 처리하지 않은 대조구와 함께, 작물의 품질변화를 비교·검토한 결과는 Fig.1과 같다.

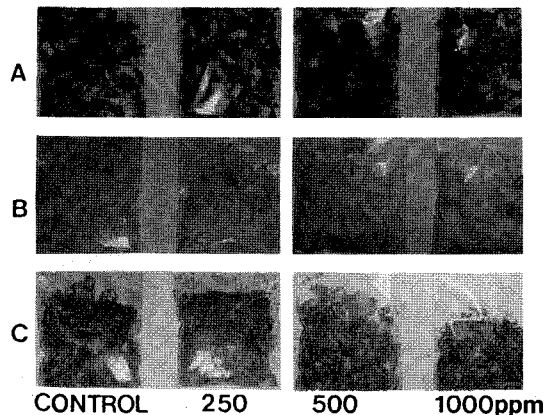


Fig. 1. Photograph of *Allium fistulosum* L., *Allium cepa* L. and *Capsicum annum* washed only in tap water (control) and steeped in 250 ppm, 500 ppm, 1,000 ppm of GFSE, respectively, freeze-dried and stored for 30 days in the temperature range of 10~15°C

즉, 처리실험결과, 동결건조처리한 각 농산물의 경우, GFSE처리시험구에서는 품질면 및 외관면에서 확실한 처리효과를 감지할 수 있었으며, 대조구의 경우, 냉동실 내의 결빙 및 급격한 탈수로 인한 표면조직의 손상이 많았다. GFSE처리구의 경우, 처리 농도가 높을수록 표면조직의 손상이 대조구에 비하여 작은 것으로 나타났고, 조직의 건실도 및 색택이 비교적 양호하게 보존되었다.

2) 감자

GFSE를 처리하지 않은 대조구 감자는 저장 20일째 부터 싹이 나기 시작하였으며, 저장 60일째에는 저장된 감자 중 88.9%의 감자에서 싹이 돋았다. 반면에,

GFSE용액에 침지처리한 감자는 저장 60일째 발아율이 크게 억제되어 Table 1에서 보는 바와 같이 500 ppm 시험구의 경우 22.2%, 1000 ppm 시험구의 경우 14.8%, 2,000 ppm 시험구는 3.7%로 나타났으며, 3,000 ppm 처리시험구의 경우 발아가 완전히 억제되어 단 1개의 감자 표면에서 발아흔적을 표출하였을 뿐 싹의 성장이나 병해 상태를 도출하지 않았다.

3) 기타 과채류

농가에서 수확한 과채류(호박, 오이, 토마토, 밀감)를 GFSE용액(100~250 ppm)으로 침지 또는 분무하고 풍건한 다음, 0.1 mm의 polyethylene film내에 포장하고 자연저온(10~15°C)을 유지하는 간이저장고에 보관함으로써, 무처리구인 대조구 실험과채류에 비하여 병해발생율을 크게 감소시킬 수 있었으며, 작물의 종류에 따라 다소 차이를 보이고 있으나, 대체적으로 상당기간동안(호박 : 50일, 오이 : 40일, 토마토 : 30일, 밀감 : 55일) 선도를 유지하고 조직감이 뒤떨어지지 않아 상품가치를 부여할 수 있게 하였다(Fig. 2).

Table 1. Inhibitory effect of grapefruit seed extract on the germination of potatoes stored for two months at 10~15°C

GFSE conc. (ppm)	Germination observed (%)	Inhibition rate (%)
0	88.9	0.0
500	22.2	75.0
1,000	14.8	83.3
2,000	3.7	95.8
3,000	0.0	100.0

GFSE의 항균활성

GFSE의 세균, 곰팡이 등 광범위한 병원성 및 부패성 미생물에 대하여 강력한 항균작용을 소유하고 있으며,^{13,17,18)}

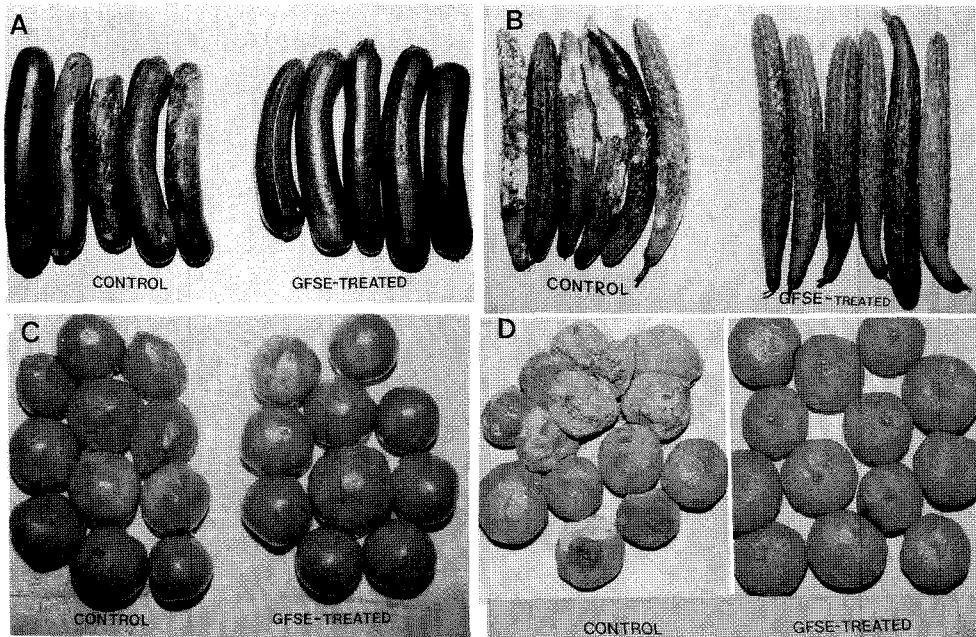


Fig. 2. Photographs of zucchini (A), cucumber (B), tomato (C) and mandarin orange (D) treated with grapefruit seed extract.

Storage period: zucchini, 50 days; cucumber, 40 days; tomato, 30 days; mandarin orange, 55 days. Storage temperature: 10~15°C

다음 Table 2와 같이 식물변패 미생물에 대한 최소 저해농도(minimal inhibitory concentration: MIC)를 나타내었다.

즉, 일반적으로 변패성 미생물중, 세균류에 대한 GFSE의 최소저해농도는 500 ppm 이하로 나타났으며 곰팡이류에 대한 GFSE의 최소저해농도는 1,000~2,000 ppm으로 세균에 비하여 높게 나타났다.

과채류변패미생물의 형태변화

변패된 과채류에서 분리한 *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* 등을 50 ppm, 100 ppm, 또는 250 ppm 농도의 GFSE용액으로 처리한 것을 처리하지 않은 대조군 균주와 함께 전자현미경 촬영시료로 조제하여 촬영한 결과는 Fig. 3 및 Fig. 4와 같다. Fig. 3에서 보는 바와 같이 GFSE를 처리한 *E. coli*균체세포는 세포막의 기능이 파괴되어 세포내용물이 균체외부로 유출되어 균체의 생육이 억제되며, 이러한 현상은 처리한 GFSE농도가 짙어질수록 심화되어 100 ppm 이상의 농도로 처리한 *E. coli* 세포는 세포막의 투과기능이 깨어져 속이 빈 ghost 형태의 균체수가 증대함을 알수 있었다. 같은 현상은 *Staphylococcus aureus*(Fig. 4)에서도 뚜렷하게 나타났다.

한편, 과채류에 오염되어 저장 중 과채류의 병해의 요인이 되는 곰팡이 *Fusarium sp.*의 균사체를 GFSE용액(1,000 ppm)으로 처리한 것과 처리하지 않은 대조군 균주와 함께 전자현미경 촬영시료를 조제하여 촬영한 결과는 Fig. 5와 같다. 즉, 세균의 경우 세포 내용물이 균체 밖으로 유출되어 사멸하는 반면, 균사체를 형성하는 곰팡이의 경우, GFSE용액을 처리함으로 해서 균사체 세

Table 2. Minimal inhibitory concentrations of grapefruit seed extract against plant putrefactive microorganisms

Bacteria & Molds	MIC (ppm)
<i>Lactobacillus plantarum</i>	500
<i>Erwinia carotovora</i>	250
<i>Xanthomonas campestris</i>	50
<i>Acetobacter rancens</i>	100
<i>Botrytis cinerea</i>	250
<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	500
<i>Penicillium italicum</i>	500
<i>Fusarium oxysporum</i>	1,000
<i>Rhizopus nigricans</i>	2,000
<i>Alternaria radicina</i>	1,000

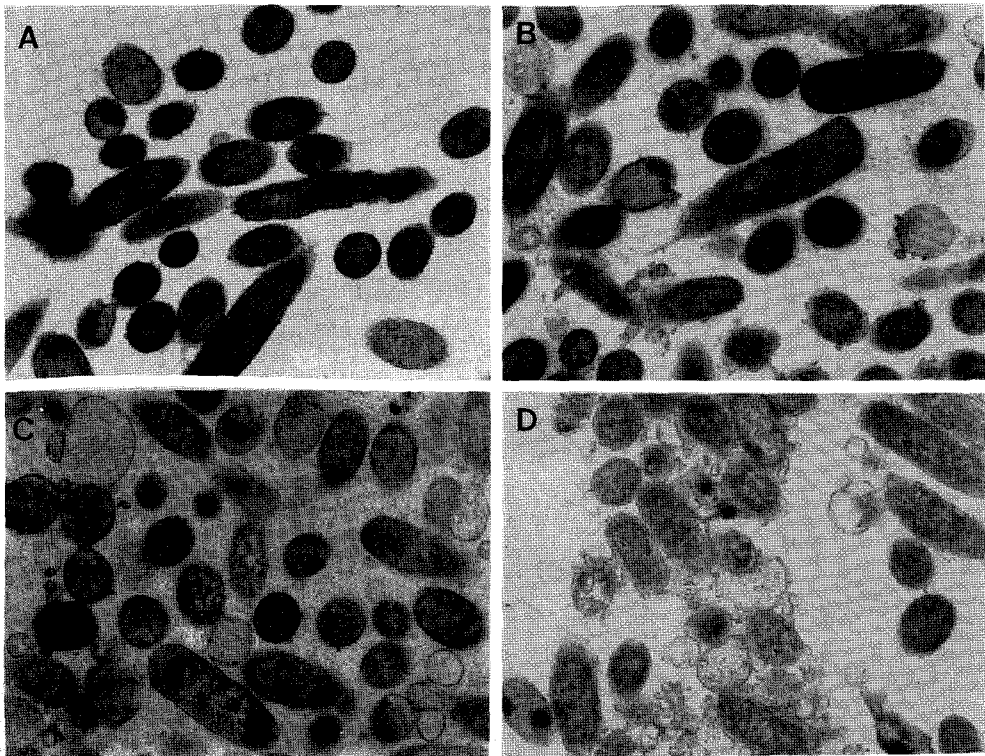


Fig. 3. Transmission electron micrographs of *Escherichia coli* contaminated on vegetables (A: Control) and *E. coli* treated with grapefruit seed extract (B, 50 ppm; C, 100 ppm). (magnification: ×25,000)

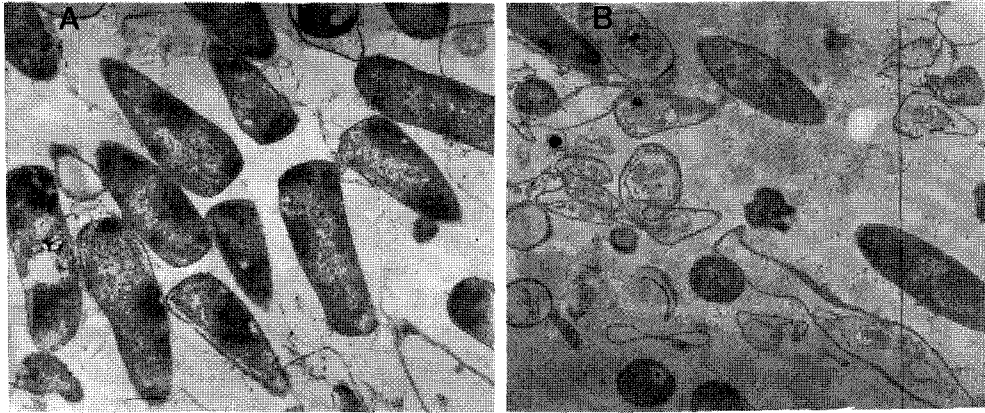


Fig. 4. Transmission electron micrographs of *Staphylococcus aureus* contaminated on vegetables (A: Control) and *S. aureus* treated with grapefruit seed extract (B: 100 ppm). (magnification: $\times 17,000$)

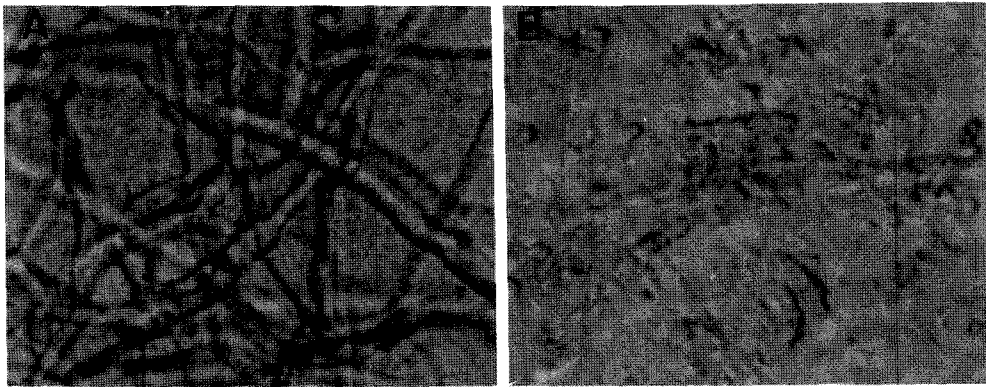


Fig. 5. Mycelial morphology of *Fusarium* sp. contaminated on fruits (A: Control) and *Fusarium* sp. treated with 1,000 ppm of grapefruit seed extract (B).

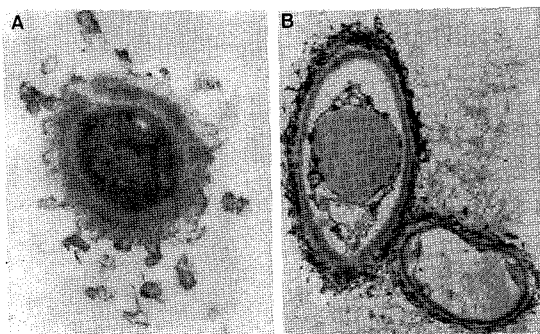


Fig. 6. Transmission electron micrographs of conidiospore of *Penicillium* sp. contaminated on mandarin orange (A) and a conidiospore of *Penicillium* sp. treated with 1,000 ppm of GFSE (B) (magnification: $\times 35,000$)

포벽이 파손 또는 분열되어 미생물생리가 중단되어 생육이 억제되는 것을 볼 수 있었다. 아울러, 밀감과피에

오염되어 과피의 파손 및 과육조직의 연화현상을 일으키는 *Penicillium* sp.의 생육포자인 conidia 세포구조가 GFSE처리에 의하여 포자형태 뿐만 아니라 포자 구조 내용물의 유실로 정상적인 발아 기능이 어려워지고 생식수단으로의 포자구실이 파괴되어 떨어져 나가고, 포자내용물도 소멸되어 가고 있는 현상을 보여 주고 있다 (Fig. 6). 이것은 GFSE가 미생물의 세포내 생리활성효소의 기능을 약화시키고 DNA/RNA 유전정보 기작을 방해한다는 연구보고^{13,14)}로 미루어 세포벽 및 세포막의 기능이 상실되어 포자내용물의 소실 등으로 인한 GFSE의 항균작용에 기인하는 것으로 생각된다.

앞에서 언급한 바와 같이 현재까지의 실험결과로, GFSE는 농산물 특히, 과채류의 선도유지 및 병해방지에 탁월한 효능을 소유하고 있었다. 이와 같은 신선도 유지효과 및 항균능력은 직접적인 GFSE처리 실험결과로 확인될 수 있었으나 그 효능을 나타내는 물질의 분리나 작용기작 등의 지속적인 연구가 진행되어야 할 것이며,

GFSE의 방부제로서의 역할과 살균제로서의 탁월한 효능을 분자적인 수준에서 이해하려함에 그 목표를 두어 효능물질의 분리 및 기능을 연구할 필요가 있을 것이다.

감사의 말

본 연구는 1992년도 산학협동재단의 학술연구비지원에 의하여 수행된 것으로 이에 깊은 감사를 드립니다.

참 고 문 헌

1. 윤인화, 손영구, 조광동, 정대성, 박남규, 송정춘, 한관주: 시험연구보고서, 448(1987)
2. 이세은, 김동만, 김길환, 이 철: 한국식품과학회지, 21 : 869(1989)
3. 정대성, 손영구, 조광동, 윤인화, 한관주: 농사시험연구논문집, 33 : 39(1991)
4. Porritt, S. W.: Can. J. Plant Sci., 46 : 317(1966)
5. Anderson, R. E.: Proc. Amer. Soc. Hort. Sci., 91 : 810(1967)
6. Kim, D. M. and Shin, H. K.: J. Korean Soc. Food Nutr., 15 : 9(1986)

7. 이병영, 윤인화, 김영배, 한관주, 이정명: 한국식품과학회지, 17 : 331(1985)
8. 박남규, 송정춘, 윤인화, 조광동: 시험연구보고서, 490 (1987)
9. 조한옥, 변명우, 권충호, 양호숙: 한국영양식량학회지, 11 : 53(1982)
10. 조한옥, 권충호, 변명우, 윤형식: 한국식품과학회지, 16 : 66(1984)
11. 조한옥, 변명우, 권충호: 한국식품과학회지, 16 : 182 (1984)
12. Kwon, J. H., Yoon, H. S., Byun, M. W. and Cho, H. O.: J. Korean Agric. Chem. Soc., 31 : 147(1988)
13. Harich, J.: DF-100. U.S. Patent 1, 354, 818(1982)
14. 조성환, 서일원, 최종덕, 주인생: 한국농화학회지, 33 : 169(1990)
15. 조성환, 이현철, 서일원, 김재욱, 장영상, 신재익: 한국식품과학회지, 23 : 614(1991)
16. 손영구, 정대성, 송정춘, 박남규, 윤인화, 이영인, 한관주: 농사시험연구논문집, 28 : 122(1986)
17. 조성환, 정덕화, 서일원, 이현숙, 황보혜, 박우포: 한국식품위생학회지, 7 : 15(1992)
18. 조성환, 서일원, 최종덕, 전상수, 라택균, 정수근, 강동훈: 한국식품위생학회지, 7 : 99(1992)

Prevention from microbial post-harvest injury of fruits and vegetables by using grapefruit seed extract, a natural antimicrobial agent

Sung-Hwan Cho, Il-Won Seo* and Keun-Hoi Lee* (Department of Food Science and Technology, Gyeongsang National University, Chinju, 660-701, Korea, *ABCON CHEMIE Ltd, Co., Seoul, 150-010, Korea, **Korea Ginseng and Tobacco Research Institute, Daejeon, 305-345, Korea)

Abstract : In order to retain the freshness of fruits and vegetables and to reduce the rate of disease damage, grapefruit seed extract (GFSE), natural microorganism control agent, was applied during the preservation process of fresh fruits and vegetables. GFSE showed an effective inhibitory action against plant putrefactive bacteria and fungi which were involved in the decay of fruits and vegetables. Minimal inhibitory concentrations for GFSE against the microbes were in the range of 50 to 2,000 ppm. Direct observation of microbial cells and spores using electron microscopy showed their function was destroyed by the treatment of the dilute solutions of GFSE. Fresh Welsh onions, onions and red peppers treated with GFSE and stored in polyethylene film (0.1 mm) retained better quality in color and texture than the non-treated control. GFSE was efficient in controlling the germination of potatoes. It was observed that GFSE would reduce disease damages and have bactericidal and fungicidal properties during the storage of such fruits and vegetables as zucchinis, cucumbers, tomatoes and mandarin oranges.