

과제구분	기본	Code : LS0505	수행구분	전반기	연구기간	'00-'01(2년차완료)
연구과제명	농특산물 가공식품 개발 연구				연구책임자	공영준
세부과제명	가공식품의 유통연장을 위한 보존제 개발					
연구원별임무						
구분	소속	성명	담당업무			
세부과제책임자	특화작목개발시험장	공영준	연구기획 및 총괄			
공동연구자	"	권혜정	항산화 측정			
	"	최병곤	성분분석			
	"	정정수	항균활성 측정			
	"	홍정기	연구자문			
	충북과학대학	강태수	연구자문. 공동연구			
색인용어	천연보존제, 합성보존제, 가공식품, 유통, 항균, 항산화					

## 1. 연구배경

일반적으로 식품의 소비패턴은 그 나라 국민들의 사회발전 및 소비자의 경제적 여건과 밀접한 관계가 있다. 따라서 근래 우리의 생활여건이 좋아지면서 소비자가 원하는 가공식품도 크게 변화하여 안정성과 신선함을 유지시키며 건강 지향적인 천연식품의 소비패턴이 두드러지고 있다. 이와 같이 급속히 변화하는 시점에서 식품가공은 어떤 형태가 되든 소비자의 욕구만족과 가공식품의 당연한 문제인 보존성 향상을 동시에 만족시켜야하는 어려움에 직면하고 있다.

이런 식품의 안전 저장기간을 연장하기 위해 다양한 식품 보존제가 사용되고 있으나, 대부분 합성보존제로서 안전한 것이라 하더라도 온도나 사용법 등에 따라서 인체에 해로운 영향을 끼칠 수 있고, 경우에 따라서는 잔류독성과 돌연변이를 유발할 수 있다는 문제가 제기되고 있다. 따라서 사용량은 줄어들고 있지만, 안전한 첨가농도 범위 내에서는 보존력을 지속하는 항균효과가 적으므로 더 높은 농도의 보존제를 사용할 수밖에 없어 안전성이 큰 문제시되고 있다. 따라서 식품의 원료나 부재료로 사용되고 있는 천연보존제의 대한 연구가 많이 진행되고 있다.

현재까지 연구된 대부분의 천연보존제로는 마늘, 갖, 클로버, 황련, 오미자, 자몽종자추출물, 토코페롤 등이 있으나 높은 첨가농도에서도 합성보존제와 같은 보존효과를 나타낼 수 없어 상업적으로 실용화가 늦어지고 있는 실정이다.

따라서 본 연구에서는 합성보존제의 안전성에 대한 문제해결과 천연보존제의 보존력 향상을 동시에 확보할 수 있는 천연, 합성보존제를 이용한 혼합형 보존제를 개발하고자 한다.

## 2. 재료 및 방법

### 가. 공시재료

본 시험에 사용한 천연보존제 재료는 1년차에는 느릅나무 잎, 신갈나무 잎을 평창군에서, 2년차는 도라지 등 101여종을 강원도 전지역에서 수집한 생체 또는 건조품을 사용하였고, 천연보존제인 모노로린, 자몽종자 추출물, 합성보존제인 안식향산나트륨 등 15종은 시판 중인 식품첨가물을 사용하였다.

### 나. 실험방법

#### ① 항균활성 검색

항균력 검색은 TSB 배지를 121°C에서 15분간 살균한 후 냉각하여 무균적으로 petridish에 15ml를 분주하여 무균상에서 하룻밤 방치하여 균힌 후 준비된 피검균 배양액 0.1ml를 평판배지에 주입하여 균일하게 도포하였다. 각 시료를 멸균된 8.0mm filter paper disc (Whatman No.2)에 농도별로 흡수시킨 후 시험용 평판배지에 올려놓고 난 다음, 30°C의 인큐베이터에서 24-48시간 배양하면서 dish 주변의 clear zone(mm)을 측정하여 항균력을 조사하였다.

최소저해농도 측정은 각 시료를 0.45µm의 membrane filter(Whatman No.2)로 제균하고 농도별로 멸균한 broth에 첨가한 후 전 배양된 각 균의 농도를 10<sup>5</sup>CFU/ml 되도록 접종하여 bioscreen C로 35°C에서 24시간 배양하면서 피검균의 생육을 O.D값으로 측정하였다. 본 실험에 사용된 공시균주와 배지는 표 1과 같다.

표 1. 공시균주와 배지

공시균주	배 지
◦ Gram positive bacteria	
- <i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 19111	Tryptic soy broth and agar
- <i>Bacillus cereus</i> KCCM 11204	"
- <i>Staphylococcus aureus</i> KCCM 32395	"
◦ Gram negative bacteria	
- <i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028	"
- <i>Escherichia coli</i> O157:H7 932	"
- <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	"

## ② 항산화 활성

산화는 우리 체내에서 세포막 내 손상을 일으키고 노화를 촉진하며 발암이나 성인병 등도 밀접한 관련을 갖고 있다. 노화 및 성인병 예방의 측면에서 항산화 활성물질이 요구되어지며, 산화억제물질에 대한 검색으로 0.03M lonic acid 수용액 5ml에 sample 0.5ml를 넣어서 50°C에서 incubation 시키면서 마개달린 test tube에 1.1ml씩 4일마다 채취하여 TCA 1ml, TBA 2ml, BHT 0.1ml, SDS 1ml를 각각 혼합한 후 N<sub>2</sub> gas를 취입하고 밀봉한 후 비등수욕조에서 15분간 incubation하고 방냉시킨 후 1ml acetic acid와 2ml chloroform을 혼합 진탕 후 2,500rpm에서 10분간 원심분리하여 상등액을 532nm에서 흡광도를 측정하였다.

## 3. 결과 및 고찰

### 가. 천연 및 합성항균제의 항균력 검사

병원성 및 부패 미생물에 대한 천연 및 합성항균제 종류별 항균활성 검정 결과, 표 2와 같이 모든 공시균주에 대해 항균력을 나타낸 것은 신갈나무 잎 및 자몽종자 추출물, 무수구연산, 젖산, 초산 등으로 나타났다

표 2. 천연 및 합성항균제 종류별 항균효과

(1mg/ml/8mm disc)

구	분	Inhibition zone(mm)					
		L.M	B.C	S.A	S.T	E.C	P.S
천 연 항 균 제	느릅나무잎추출물	11	9	nd J	nd	nd	nd
	모노로린	12	12	9	nd	nd	13
	신갈나무잎추출물	11	11	10	11	9	12
	자몽종자추출물	13	11	13	9.5	10	14
합 성 항 균 제	글루타민산나트륨	nd	nd	nd	nd	nd	nd
	구연산나트륨	nd	nd	nd	nd	nd	nd
	안식향산나트륨	nd	nd	nd	nd	nd	nd
	염화나트륨	nd	nd	10	nd	nd	nd
	DL-염산카르니틴	nd	nd	nd	nd	nd	nd
	무수구연산	10	9	9	9	9	10
	젖산	11	10	9	10	9	10
	초산	11	10	9	9	9	10
	키토산올리고당	nd	nd	nd	nd	nd	nd
	젖산칼슘	nd	nd	nd	nd	nd	nd
	판토텐산칼슘	nd	nd	nd	nd	nd	nd
	염화칼슘	nd	nd	nd	nd	nd	nd

J : nd (not detected)

천연 및 합성 항균제의 최소저해농도 검정 결과 신갈나무 잎 등 4종의 천연항균제는 32~1000 µg/ml농도 범위에서 공기균주에 대해 강한 항균저해농도를 나타내었고, 합성항균제의 경우 무수구연산, 젖산, 초산이 그람양성 및 음성균에 대해 광범위한 항균력을 나타내었으나 최소저해농도는 천연항균제보다 미약하게 나타났다(표 3).

표 3. 식품 부패균 및 병원성균에 대한 최소저해농도(MIC)

구	분	MIC(µg/ml)					
		L.M	B.C	S.A	S.T	E.C	P.S
천 연 항 균 제	느릅나무잎추출물	62.5	125	1000	>2000	>2000	>2000
	모노로린	32	32	32	>2000	1000	32
	신갈나무잎추출물	62.5	62.5	62.5	62.5	500	32
	자몽종자추출물	62.5	62.5	32	125	125	32
합 성 항 균 제	안식향산나트륨	>2000	>2000	62.5	>2000	>2000	>2000
	무수구연산	500	500	500	500	500	500
	젖산	250	250	250	250	250	250
	초산	125	125	125	125	125	125

나. 식중독 균에 대한 천연보존제와 유기산과의 병용처리효과



표 7. *Escherichia coli* O157:H7 932균에 자몽종자 추출물과 유기산의 병용처리효과

자몽종자 추출물	MIC( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )											
	Lactic acid				Citric acid				Acetic acid			
	0	125	250	500	0	125	250	500	0	125	250	500
0 $\mu\text{g}/\text{ml}$	+	+	-	-	+	+	+	-	+	-	-	-
16	+	+	-	-	+	+	+	-	+	-	-	-
32	+	+	-	-	+	+	+	-	+	-	-	-
62.5	+	+	-	-	+	+	+	-	+	-	-	-
125	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

#### 다. 자생식물과 합성항산화제의 항산화 효과

Lionenic acid(0.03M) 수용액 5ml에 시료 농도를 0.2, 0.6, 1.0mg/ml로 하여 0.5ml를 넣은 후 50°C에서 저장하며 자생식물 및 합성항산화제의 항산화력을 TBA가로 나타낸 결과는 표 8 및 9와 같다. 자생식물에 대한 항산화 효과는 짚신나물, 잔대, 영아자, 꿀풀, 창포, 쇠비름, 당귀 등 7종이 59 %/mg/ml의 항산화 효과를 나타내었고, 합성항산화제의 경우 항산화 효과는 BHT(93%)>토코페롤(90%)>비타민C(87%) 순으로 자생식물들에 비해 아주 강한 항산화 효과를 나타내었다.

표 8. 자생식물에 대한 항산화 효과

(%)

구 분	농 도 별(mg/ml)		
	0.2	0.6	1.0
1. 도라지(자연산)	16	33	49
2. 도라지(재배산)	13	31	47
3. 차전자	12	17	30
4. 둥굴레(잎)	15	26	41
5. 둥굴레(줄기)	12	21	34
6. 둥굴레(뿌리)	11	19	29
7. 산 약(마)	13	18	33
8. 복분자	15	35	45
9. 택 사	11	15	35
10. 참나물	11	15	31
11. 창 출	18	36	51
12. 향 유	13	19	36
13. 화살나무	17	29	43
14. 인동덩굴(줄기)	14	14	34
15. 인동덩굴(잎)	13	14	37
16. 짚신나물(잎)	12	16	38
17. 짚신나물(줄기)	15	38	<b>59</b>
18. 부 추	15	30	53
19. 산부추	10	32	56
20. 두메부추	15	30	52
21. 잔대뿌리(재배산)	10	32	50
22. 잔대뿌리(자연산)	13	31	<b>58</b>
23. 공취(재배산)	18	34	51
24. 공취(자연산)	10	31	56
25. 더덕(재배산)	12	37	57
26. 더덕(자연산)	15	35	52
27. 잔대잎(재배산)	11	32	56
28. 잔대잎(자연산)	13	32	52
29. 박하(줄기)	10	32	52
30. 박하(잎)	15	32	51
31. 영아자잎(재배산)	10	34	<b>59</b>
32. 영아자잎(자연산)	15	33	55
33. 참취(재배산)	15	38	55
34. 참취(자연산)	18	35	54

※ 기준비 : >50%/mg/ml

구 분	농 도 별(mg/ml)		
	0.2	0.6	1.0
35. 꿀풀(꽃대)	15	36	55
36. 꿀풀(뿌리)	12	35	<b>58</b>
37. 인진쑥(줄기)	10	32	51
38. 인진쑥(잎)	14	34	53
39. 속새(잎)	13	35	54
40. 속새(뿌리)	12	34	53
41. 가래나무(열매)	15	33	52
42. 가래나무(줄기)	17	36	56
43. 가래나무(잎)	16	37	53
44. 창 포	19	33	<b>58</b>
45. 돌나물	11	34	56
46. 쇠비름(뿌리)	10	35	<b>58</b>
47. 쇠비름(잎)	18	37	56
48. 물푸레나무(진피)	14	34	53
49. 당 귀	13	30	<b>59</b>
50. 백 출	12	34	46
51. 살구씨	12	32	42
52. 두릅나무	12	35	47
53. 마가목	15	39	45
54. 황 정	12	32	41
55. 일청궁	15	38	46
56. 주엽나무	17	36	41
57. 쥐손이풀(잎)	11	37	43
58. 쥐손이풀(줄기)	15	32	44
59. 만삼(잎)	14	31	47
60. 만삼(뿌리)	19	37	45
61. 큰까치수영	12	34	49
62. 향나무(잎)	15	36	49
63. 향나무(줄기)	11	33	41
64. 민들레(잎)	16	38	43
65. 민들레(뿌리)	16	31	46

구 분	농 도 별(mg/ml)		
	0.2	0.6	1.0
66. 갈근(취)	11	34	43
67. 원두총(잎)	13	34	46
68. 원두총(줄기)	12	32	42
69. 오갈피(잎)	12	35	47
70. 오갈피(줄기)	15	39	45
71. 오갈피(미숙열매)	24	42	54
72. 오갈피(완숙열매)	22	43	56
73. 가시오갈피(줄기)	12	32	41
74. 가시오갈피(잎)	15	38	46
75. 토우술	17	36	41
76. 백작양	11	37	43
77. 감 초	15	32	44
78. 익모초	14	31	47
79. 뽕나무(잎)	19	37	45
80. 가시오갈피(잎)	15	38	46
81. 토우술	17	36	41
82. 백작양	11	37	43
83. 감 초	15	32	44
84. 익모초	14	31	47
85. 뽕나무(잎)	19	37	45
86. 머위	12	34	49
87. 주엽나무(잎)	15	36	49
88. 큰까지수영(잎)	11	33	41
89. 영 지	16	38	43
90. 잣나무(잎)	16	31	46
91. 잣나무(가지)	11	34	43
92. 대나무(줄기)	25	35	42
93. 대나무(잎)	24	33	43
94. 산머루(열매)	23	32	44

구 분	농 도 별(mg/ml)		
	0.2	0.6	1.0
95.마가목	27	30	42
96.마가목(잎)	28	39	44
97.갈대(잎)	14	35	42
98.갈대(줄기)	15	33	45
99.갈대(뿌리)	12	32	42
100. 자소(잎)	14	36	45
101. 자소(줄기)	15	33	47

표 9. 합성항산화제에 대한 항산화 효과 (%)

구 분	농 도 별(mg/ml)		
	0.2	0.6	1.0
- BHT	14	36	93
- Tocopherol	15	33	90
- Vitamin C	24	42	87

#### 라. 자생식물과 합성항산화제의 병용처리 효과

표 10은 항산화 효과가 우수한 자생식물과 합성항산화제의 병용처리 효과를 검정한 결과로 합성항산화제인 BHT에 대하여는 당귀추출물이 75%/mg/ml로 항산화 효과가 가장 높게 나타났으나 BHT단독처리구에 비해 낮았으며, 토코페롤 및 비타민 C도 병용처리에 따른 상승효과는 없는 것으로 생각되었다.

표 10. 우수 자생식물과 합성항산화제의 병용처리 효과 (%/mg/ml)

구 분	BHT	Tocopherol	Vitamin C
- 짚신나물(줄기)	74	72	71
- 잔대뿌리(자연산)	72	71	69
- 영아자잎(재배산)	73	71	72
- 꿀풀(뿌리)	73	70	72
- 창 포	73	71	70
- 쇠비름(뿌리)	74	72	71
- 당 귀	75	71	71

## 4. 적 요

가공식품의 유통기간 연장을 위하여 인체에 유해도가 낮은 천연 및 합성항균제를 이용한 혼합형 보존제를 개발하기 위해 실험한 결과는 다음과 같다.

- 가. 천연 및 합성항균제의 항균력 및 최소저해농도검사 결과, 신갈나무 잎 등 4종의 천연항균제는 32~1000µg/ml농도 범위에서 공시균주에 대해 항균력과 저해농도가 높은 것으로 나타났음,
- 나. 합성항균제의 경우 무수구연산, 젖산, 초산이 그람양성 및 음성균에 대해 광범위한 항균력을 나

타내었으나 최소저해농도는 천연항균제보다 미약하게 나타났음.

- 다. 신갈나무 잎 추출물을 유기산과 병용처리한 결과, *Listeria monocytogenes* 및 *Escherichia coli*에 대하여 효과가 없었음
- 라. 자몽종자 추출물은 *Escherichia coli* 균에 대해서는 병용처리효과가 없었으나, *Listeria monocytogenes* 균에 대해서는 젖산과 병용처리시 상승효과가 있었음
- 마. 자생식물중 짚신나물, 잔대, 영아자, 꿀풀, 창포, 쇠비름, 당귀 등 7종의 자생식물이 58~59%/mg/ml의 항산화 효능이 있는 것으로 나타났음
- 바. 합성항산화제의 항산화 효과는 BHT(93%)>토코페롤(90)>비타민C(87) 순으로 나타났음.
- 사. 합성항산화제와 짚신나물 등 7종의 자생식물을 병용처리한 결과, 병용처리에 따른 상승효과는 없었음.

## 5. 인용문헌

- 공영준, 박부길, 오덕환. 2001. 식중독균에 대한 신갈나무 잎 추출물과 유기산의 항균효과. 한국식품과학회지, 33(2), pp178~183
- 김선희, 박찬성, 2001. 담자균 추출물의 항균작용 및 항산화 작용. 한국농산물저장유통학회지, 8(1), pp118~124
- 나경주, 서형주, 정수현, 손종현, 1997. 양파껍질에서 분리된 용매 추출물의 항산화 효과. 한국식품과학회지, 29(3), pp595~600
- 신동화, 1990. 천연 항균성 물질의 연구현황과 식품가공에의 이용. 식품과학과 산업, 23(4), pp68~73
- 오덕환, 함승시, 박부길, 안철, 유진영. 1988. 식품부패 및 병원성미생물에 대한 천연 약용식물 추출물의 항균효과. 한국식품과학회지, 30(4), pp957
- 이향희, 강성국, 임종환, 1999. 고구마의 품종별 항산화성과 향미생물 특성. 한국식품과학회지, 31(4), pp1090~1095
- 전방실, 차재영, 조영수, 2001. 참오동나무(*Paulownia tomentosa* Stued.)열매 추출물의 항산화 활성. 한국농산물저장유통학회지, 8(2), pp231~238
- 조성환, 1997. 천연식물성 항균제 처리에 의한 과채류의 선도유지 및 병해 방지. 한국농산물저장유통학회지, 4(1), pp87~98
- 최흥식, 황정희, 1997. 식품 지방질의 과산화 반응억제와 천연 항산화제의 활용. 식품과학과 산업, 30(3), pp18~29

## 6. 연구결과 활용계획

천연보존제 개발 기초자료로 활용