

최 종
연구보고서

천연식물성 항균소재를 이용한
환경친화적 신소재 포장재의 개발 및 응용

Development and Application of Environment-Friendly
Packaging Paper Using Botanical Antimicrobial Agents

연구기관
경 상 대 학 교

농 립 부

제 출 문

농림부 장관 귀하

본 보고서를 “천연식물성 항균소재를 이용한 환경친화적 신소재 포장재의 개발 및 응용에 관한 연구” 과제의 최종보고서로 제출합니다.

2003 년 8 월 20 일

주관연구기관명 : 경상대학교
총괄연구책임자 : 조 성 환
세부연구책임자 : 김 철 환
연 구 원 : 김 정 환
연 구 원 : 박 종 열
연 구 원 : 하 명 희
연 구 원 : 이 강 삼
연 구 조 원 : 정 준 호
연 구 조 원 : 강 진 기
협동연구기관명 : 마산대학
협동연구책임자 : 박 우 포

요 약 문

I. 제 목

천연 식물성 향균소재를 이용한 환경친화적 신소재 포장재의 개발 및 응용

II. 연구 개발의 목적 및 필요성

수확한 과채류는 호흡작용, 증산작용 등의 생리작용이 활발해질 뿐만 아니라 곰팡이를 비롯한 식물병리 미생물의 오염 및 성장으로 부패가 일어난다. 또한 과채류의 품질을 결정하는 지표가 될 수 있는 경도가 저하되며, 수분, 비타민, 유기산, 당분, 색소함량 등이 떨어져서 가격을 제대로 받을 수가 없게 된다. 과채류의 소비와 생산량이 늘어가고 있는 상황에서 매년 수확기에 홍수 출하로 인하여 가격을 제대로 받지 못하고 있는 실정이다. 소비자들은 고품질의 과채류를 요구하므로 적절한 선도를 유지해야 높은 가격을 받을 수 있다.

영세 농가가 안고 있는 이러한 문제점을 조금이라도 해결하기 위해서는 상온에서도 어느 정도의 선도 유지 성능을 갖는 저장 및 유통용 포장 소재의 개발이 무엇보다 필요하다. 이러한 포장 소재는 수확후 과채류의 저장 및 유통 기간 동안 변패 미생물의 발생을 억제하고, 호흡 작용을 통하여 방출하는 숙성 호르몬인 에틸렌가스나, 이산화탄소 및 산소를 흡수 제거하며, 과채류의 수분 손실을 최소화할 수 있어야 한다. 따라서 수확한 과채류의 품질과 부가가치를 향상시키는 하나의 수단으로서 저장성 향상 및 선도 유지 방법의 개발이 요구된다. 과채류의 선도를 향상시키는 방안으로서는 안전성에서 우수한 천연 향균제를 이용하는 것이다. 또한 과채류의 유통시에 포장은 필수적이므로 향균력이 뛰어난 천연향균제를 함유한 포장재의 개발도 과채류의 선도 유지에 바람직한 방안의 하나가 될 수 있다.

현재 향균 기능, 선택적 가스 투과 기능, 수분 보존 기능 등을 갖는 소재들이 개발되어 유통되고 있지만 대부분의 소재가 PE 혹은 PP 필름을 이용한 난분해성 재료로 만들어졌기 때문에 국내외적으로 사용 규제가 따를 예정이기 때문에 대체 소재의 개발이 시급한 실정이다. 또한 이들 소재들은 두께가 매우 얇아서 과채류의 저장 및 유통 동안에 외부 충격에 의한 파손에 그대로 노출될 뿐만 아니라 PE나 PP 필름 포장을 이용한 대규모 저장이 어

려운 실정이다. 따라서 PE나 PP 필름 포장을 이용할 때에는 충격 흡수 및 대규모 저장을 목적으로 한 외부 포장 상자가 필요하게 되어 자원의 과다 소비를 초래하게 된다. 따라서 포장되는 과채류의 선도를 유지하면서도 포장의 일차적 기능인 과채류의 파손을 방지할 수 있는 친환경적 포장 소재가 개발되어야 하고, 이들 소재는 자연계에 노출되었을 때 바로 분해될 수 있는 지류, 즉 펄프 섬유를 사용하는 것이 바람직 할 것이다.

과채류는 인간의 식생활과 밀접하게 관련되기 때문에 과채류의 포장에 사용되는 소재의 안전성은 매우 중요하다. 따라서 저장 유통 중에 과채류에서 발생할 수 있는 변패 미생물의 발생을 억제하면서도 인체에는 무해한 우수한 성능의 항균제가 포장 소재의 개발에 사용되어야 한다. 이러한 항균제는 특정 균에 대한 항균력만 나타내서는 안되고 과채류 변패의 원인 미생물 모두에 대하여 강력한 항균 성능을 발현하는 천연 식물성 항균제가 개발되어야 한다.

과채류의 선도 유지를 목적으로 개발되는 포장 원지를 사용하여 개발된 포장 봉지(packaging bag)나 골판지 포장 상자(corrugated packaging box)에 과채류를 넣어 저장할 때 이들 포장 소재의 효능을 최대로 발현시키기 위한 저장 조건의 설정이 매우 중요하다. CA(Controlled Atmosphere)나 MA(Modified Atmosphere) 저장법을 사용할 때 새로이 개발된 기능성 포장 소재에 저장된 과채류의 선도가 최대로 유지될 수 있도록 하기 위하여 이들 포장 소재에 적합한 최적의 저장 조건이 탐색되어야 할 것이다.

III. 연구 개발 내용 및 범위

천연 식물성 항균 물질을 이용한 신소재 포장 소재를 개발하기 위해서는 천연 식물성 항균 물질(Botanical Antimicrobial Agent : BAA) 관련 전문가, 펄프·제지공학 전문가, 그리고 과채류 저장 관련 전문가로 연구 개발팀이 구성되어야 한다. 이들 연구 개발팀이 담당하는 연구 개발 내용 및 범위는 아래에 정리된 바와 같다.

■ 1차년도(2001년 8월 - 2002년 7월)

연구개발목표	연구개발 내용 및 범위	비고
BAA의 조제 및 특성 조사	<ul style="list-style-type: none"> ○ BAA가 변패미생물의 생리적, 형태적 특성에 미치는 영향 ○ 변패미생물의 에너지생산대사 관련 효소반응에 대한 BAA의 억제작용 측정 ○ 변패미생물의 세포막 기능에 미치는 BAA의 처리효과 측정 ○ BAA의 항균력에 의한 공시균주 세포의 전자 현미경학적 형태 변화 및 인체 안전성 조사 	경상대
BAA의 최대 보류를 위한 기작 탐색 및 기능성 첨가제의 선발	<ul style="list-style-type: none"> ○ 펄프 섬유 네트워크 내에 항균 물질(BAA)의 부착능을 최적으로 향상시킬 수 있는 첨가법과 보류 향상제 선발 ○ 가스 제거 효율이 높은 무기 첨가제의 선발 ○ 발수 처리를 통한 수분 보유율 조사 	경상대
과채류에 대한 BAA의 최적 처리 조건 탐색	<ul style="list-style-type: none"> ○ 품목에 따른 BAA의 최적 처리 및 MA 저장 조건 설정 <ul style="list-style-type: none"> - BAA의 최적 처리 조건 설정 - MA 저장 조건의 설정 	마산대학

■ 2차년도(2002년 8월 - 2003년 7월)

연구개발목표	연구개발 내용 및 범위	비고
항균 물질의 분리 및 동정	<ul style="list-style-type: none"> ○ 항균 물질의 분리 방법 모색 및 분자 구조적 해석 구명 	경상대
항균 포장 원지의 제조 및 물성 시험	<ul style="list-style-type: none"> ○ 지료첨가법 포장원료 펄프 → 해리 및 고해 → 항균물질부가 → 포장 원지 ○ 과채류 변패 미생물에 대한 항균력 시험 - Paper Disc Plate Method ○ 인장강도, 파열강도, 투기도, 투습도 등 ○ 현장 적용 문제점 도출 및 대처 방안 논의 	경상대
과채류의 최적 저장 조건 설정	<ul style="list-style-type: none"> ○ BAA를 처리한 과채류에 적합한 저장 조건의 설정 ○ 대규모 저장 조건하에서 개발된 기술로 처리 포장된 과채류의 저장 조건의 설정 	마산 대학

IV. 연구 개발 결과 및 활용에 대한 건의

자몽 종자 추출물을 주원료로 하여 조제된 천연 식물성 항균 물질 (Botanical Antimicrobial Agent-Grapefruit Seed Extract mixtures, BAAG) 는 과채류의 변패 미생물에 대하여 우수한 항균력을 나타내었고, 인체에 대한 안전성 시험에서도 무해한 것으로 입증되었다. BAAG를 펄프 섬유에 쉽게 정착시키기 위하여 탄산칼슘(CaCO_3)에 침착시킨 분말 형태로 조제하였다.

분말형 BAAG를 지료 현탁액에 첨가하여 섬유 네트워크에 효과적으로 정착시키기 위하여 양이온성 고분자 보류 향상제인 cationic polyacrylamide (Ca-PAM)를 사용하였다. Ca-PAM은 분말형 BAAG를 셀룰로오스가 주성분으로 되어 있는 섬유 상에 보류시켜 포장 원지가 항균력을 발현하게 하였다. 여기에 무수한 공극들을 가지고 있는 제올라이트를 첨가하여 저장 과채류가 방출하는 에틸렌가스, 이산화탄소, 산소와 같은 가스들을 제거하고, Alkyl Ketene Dimer (AKD)와 같은 내수화제를 첨가하여 포장지가 과채류가 보유하고 있는 수분을 흡수 제거하여 과채류가 빨리 시들게 하는 조건을 없앴다.

개발된 항균 포장 원지를 이용하여 포장 봉지(packaging bag)와 골판지 포장 상자(corrugated box)를 제작하였고, 여기에 과채류를 포장하였을 때 일반 포장 봉지나 골판지 상자에서 포장된 과채류 보다 변패 미생물의 발생이나 생체중 감소가 상당히 줄어들었다. 이는 BAAG에 의해 과채류의 변패에 관여하는 미생물의 생육을 차단하였고, 제올라이트에 의해 과채류의 조직을 빠르게 연화시키는 기체들인 에틸렌가스, 이산화탄소 및 산소가 제거되었으며, AKD에 의해 과채류가 보유한 수분 손실을 최소한으로 일어나게 하였기 때문이다.

과채류의 표면 미생물 수를 감소시키기 위하여 BAAG 용액에 과채류를 일정시간 동안 침지한 결과 사과와 방울토마토는 1,000 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 배, 단감, 오이 및 피망은 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 처리가 적당하였다. 이러한 농도에서 적절한 침지 시간은 배, 감 및 방울토마토는 10분, 사과는 20분, 오이는 30분이었다. 방울토마토와 피망에 적합한 MA 조건을 설정하기 위하여 30 μm cast polypropylene (CPP, STC Co., Korea), 20 μm low density polyethylene (LDPE, Daelim Vinyl, Korea), 15 μm polyolefin (MPD, Cryovac, U.S.A.), 30 μm polyolefin (PD961, Cryovac, U.S.A.), 15 μm perforated polyolefin(PY85, Cryovac,

U.S.A.) 및 10 μ m linear low density polyethylene (LLDPE, Clean Wrap, Korea)으로 포장하여 저장하면서 품질 변화를 측정하였다. 방울토마토의 포장에 가장 적절한 포장재는 MPD였으며, 이들이 저장 기간 중에 나타낸 산소 농도 16~19%, 이산화탄소 농도 2.5~4.0%였다. 피망은 CPP 포장에 품질 유지에 가장 적절하였으며, 산소 농도 12~15%, 이산화탄소 농도 2~5%였다. BAAG와 zeolite를 같은 양 섞어서 만든 항균포장지로 방울토마토를 12°C에서 저장한 결과 20일에 6% 항균포장지는 5.4%, 9% 항균포장지는 9.9%, 대조구는 14.8%의 부패율을 나타내어 6% 항균포장지 포장이 가장 효과적이었다. 감귤은 저장 1주부터 부패한 과육이 발생하기 시작하였으며, 저장 3주에는 대조구가 다른 시험구에 비하여 급격하게 증가하였다. 저장 4주 감귤의 부패율은 12% 항균포장지로 포장한 시험구는 18.0%, 9% 항균 포장지는 21.0%, 6% 항균포장지는 23.5%, 대조구는 34.7%로 나타났다. 항균포장지 시험결과 방울토마토는 6% 항균포장지, 감귤은 12% 항균포장지가 효과가 큰 것으로 나타나 대규모 저장 실험을 위해서 이들을 10 kg씩 담은 다음 5°C 저온 창고에서 저장한 결과 대조구에 비하여 6% 항균포장지 박스로 포장한 방울토마토의 총균수, 효모 및 곰팡이 수가 적었다. 저장 20일까지는 대조구와 6% 항균포장지로 포장한 방울토마토 모두에서 부패가 발생하지 않았으나 30일에는 대조구가 11.5%, 항균포장지로 포장한 시험구는 1.5%로 10배정도 부패율의 차이를 나타내어 항균포장지로 포장한 시험구에서 부패가 억제되는 효과가 확인되었다. 감귤은 저장 10일까지는 12% 항균포장지로 포장한 시험구에서는 부패가 발생하지는 않았으나 대조구는 저장 20일에 부패가 발생하였으며, 30일에 대조구는 11.3%, 12% 항균포장지 박스로 포장한 시험구는 5.3%로 나타나 항균 포장지 박스 포장이 부패를 억제하는 효과가 있었다.

Summary

I. Title

Development and Application of Environmental-Friendly Packaging Paper Using Botanical Antimicrobial Agents

II. Aims and Necessities of Research Development

Subsistent farmhouses without refrigerated storehouse have been suffering from agricultural products which are putrefied by vigorous respiration and transpiration. In order to avoid such problems, the farmhouses must ship all products right after harvest. Flood shipment causes the farmers to lose the original values of vegetables and fruits.

It is greatly necessary to develop packaging materials to make vegetables and fruits keep their freshness during storage and distribution at room temperature, which will help subsistent farmhouses to make up for the loss. Such packaging materials must play considerable roles to inhibit microbial generation, to remove hazardous gases such ethylene, carbon dioxide and oxygen emitted by respiration and to preserve moisture of vegetables and fruits during storage and distribution.

Currently functional packaging materials with antibiosis, selective gas permeability and moisture-preserving function is manufactured and distributed, but most of the materials are made of non-decomposable materials in such as polyethylene or polypropylene films which will be prohibited by the government in the near future. Therefore new alternative materials like pulp fibers have to be developed to cope with the prohibition. Since PE or PP films are very thin in thickness, they are readily exposed to external impacts and can not be used to store vegetables and fruits on a large scale. These films require further use of

exterior packaging containers which are used for impact absorption as well as a large scale storage, which might lead to extra-consumption of the resources. Finally it is desirable to develop new environment-friendly packaging materials conserving freshness of vegetables and fruits as well as mitigating external impacts.

Since vegetables and fruits are closely related to men's eating habits, the safety of their packing materials such as antimicrobial agents and other additives is regarded as an important factor. That is, antimicrobial agents used to inhibit microbes growing on vegetables should not inflict injury on men's body. In addition, most of microbes putrefying vegetables and fruits must be inhibited by botanical antimicrobial agents which will be developed by this study

It is vital that packaging bag or corrugated container manufactured by newly developed packaging paper should be used under optimum storage environment in order to keep vegetables and fruits fresh. Thus the optimum condition for controlled atmosphere (CA) or modified atmosphere (MA) storage for vegetables and fruits packed by the newly-developed packaging paper must be explored in this study.

III. Research Development Contents and its Ranges

In order to develop a new packaging material using botanical antimicrobial Agent (BAA), the experts in the fields of antibiotics, pulp and paper sciences and storage of vegetables and fruits must be organized. The research contents and ranges carried out by the experts are shown in the following table:

■ The first year (August, 2001 -August, 2002)

Research aims	Research contents & ranges	Research body
Preparation and characteristics of BAA	<ul style="list-style-type: none"> o Effect of BAA on physiological and morphological characteristics o Inhibition effect of BAA on enzyme reaction regarding metabolism of energy generation of putrefactive microbes o Effect of BAA on cell walls of putrefactive microbes o Investigation of BAA on human body 	Gyeongsang National University (GNU)
Retention mechanism of BAA and selection of functional additives	<ul style="list-style-type: none"> o Exploration of optimum retention mechanism of BAA within a fiber network o Selection of inorganic functional additives for effective absorption of gas o Water repellency treatment for preserving moisture of vegetables & fruits 	GNU
Optimum conditions for treating BAA on vegetables and fruits	<ul style="list-style-type: none"> o Optimum treatment of BAA according to storage items and determination of MA storage conditions 	Masan College

■ The second year(August, 2002 - August, 2003)

Research aims	Research contents & ranges	Research body
Isolation and identification of active antimicrobial principles	<ul style="list-style-type: none"> o Approach to the isolation of antimicrobial principles and their identification of molecular structure 	GNU
Preparation of antimicrobial packaging paper & Physical test	<ul style="list-style-type: none"> o Stock preparation Pulp → disintegration * beating → Addition of BAAG → Packaging paper o Antimicrobial test Paper Disc Plate Method o Physical test Tensile strength, tear strength, burst strength, air permeability, water vapor transmission test, etc. o Discussion for mass production of antibacterial packaging paper 	GNU
Establishment of optimal storage conditions	<ul style="list-style-type: none"> o Establishment of optimal BAAG treatment and storage condition of fruits and vegetables packaged with antimicrobial paper box o Application of studied technology to large scale storage of fruits and vegetables 	Masan College

IV. Conclusion and Suggestion of Research Development

Botanical antimicrobial agent prepared with grapefruit seed and citrus organic acids(BAAG) showed the most efficiently antimicrobial properties against wide spectrum of pathological and putrefactive microorganisms and proved its safety in the food hygiene. BAAG was mixed in the power form fixed to CaCO_3 particles easily to adhere to the pulp fiber. Cationic polyacrylamide (Ca-PAM) was used to retain BAAG powders onto a fiber network in a fiber suspension. Ca-PAM played a great role for packaging paper to reveal an antimicrobial activity against putrefactive microbes. In addition, inorganic fillers such as zeolite with lots of fine pores was added to absorb ethylene, carbon dioxide and oxygen gases emitted from stored vegetables and fruits. For endowing packaging paper with water repellency property, a water resistant agent such as Alkyl Ketene Dimer (AKD) was also added to a fiber suspension, which preserving water or moisture from stored vegetables and fruits. Finally, it was expected that the above functional agents added to the fiber suspension would contribute to keep vegetables and fruits fresh during storage.

Packaging bags and corrugated boxes were manufactured using the newly developed antimicrobial packaging paper. Mandarin oranges were chosen as the representative specimens for evaluating freshness of vegetables and fruits packed in the packaging bags and the corrugated boxes. When mandarin oranges were packed and stored in the packaging bags and the corrugated boxes respectively, generation of putrefactive microbes and weight reduction of the mandarin oranges were much less made during storage than in the non-treated packaging bag and the non-treated corrugated box. This might be caused by intercepting microbial growth by the antimicrobial function of BAAG in the packaging paper, absorbing harmful gases such as C_2H_4 , CO_2 and O_2 , to the freshness of stored vegetables and fruits, and preserving water and moisture of stored goods.

Stored vegetables and fruits for storage were treated with BAAG

(Botanical antimicrobial agent-GFSE mixture) to reduce microbial load, and optimum conditions differ with each product. Each goods was dipped in different BAAG solutions with various concentrations. It was determined that optimum concentration was 500 µg/mL for pear, persimmon, cucumber, bell pepper and 1000 µg/mL was suitable for apple, cherry tomato. Dipping time was 10 minutes for pear, persimmon, cherry tomato and bell pepper and 20 minutes for apple and 30 minutes for cucumber. Several plastic films with different gas permeability were used to package cherry tomato and bell pepper, and suitable gas composition was attained for the retention of quality characteristics of produce. Cherry tomato showed a good quality characteristics at modified atmosphere(MA) of O₂ with 16~19% and CO₂ with 2.5~4.0%, and bell pepper did the optimal MA at O₂ with 12~15% and CO₂ with 2~ 5% during storage.

Antimicrobial packaging paper(APP) were fabricated by incorporating BAAG and zeolite at same amount, and they were added by 6%, 9% and 12%, respectively. Package with 6% APP was most effective in reducing decay of cherry tomato without lowering quality characteristics, and 12% APP maintained the freshness of orange during storage at 10°C. Based on the investigated conditions for cherry tomato and orange, produce were packaged to large scale. Quality characteristics of produce were measured during storage, and APP was effective in reducing the decay of the produce to large scale.

Contents

Chapter I. Introduction of the Research Project	23
Section 1. Research Aims and Necessities	23
Section 2. Range of the Research Development	27
Chapter 2. Research Trend in Korea and Overseas	29
Chapter 3. Research Constitutions and Representative Results	31
Section 1. Preparation and characterization of botanical antimicrobial agent	
1. Introduction	31
2. Materials and Methods	34
A. Preparation of botanical antimicrobial agent(BAA) and investigation of their antimicrobial properties	34
B. Effect of botanical antimicrobial agent-grapefruit seed extract mixture(BAAG) on enzymatic activities related to the energetic metabolism	35
C. Effect of BAAG on the cellular physiology of microorganisms by using scanning electron microscope(SEM)	37
D. Effect of BAAG on cellular β -galactosidase	37
E. Safety test of BAAG	38
F. Separation and identification of antimicrobial substances	40
3. Results and Discussion	41
A. Antimicrobial characteristics of BAA	41
B. Effect of botanical antimicrobial agent-grapefruit seed extract	

mixture(BAAG) on enzymatic activities related to the energetic me	43
C. Safety test of BAAG	54
D. Separation and identification of antimicrobial substances	58
4. Conclusions	67

Section 2. Development of antimicrobial packaging paper using botanical antimicrobial agents

1. Introduction	69
2. Materials and Methods	71
A. Development of antimicrobial packaging paper	71
1) Stock preparation	71
2) BAAG addition	72
3) Preparation of antimicrobial packaging paper	73
B. Tests of physical properties for antimicrobial packaging paper	74
1) Strength properties of antimicrobial packaging paper	74
2) Retention evaluation of BAAG	75
3) Manufacture of corrugated container and packaging bag	76
4) Antimicrobial test - Paper Disk Method	77
5) Absorption rate of ethylene gas	77
6) Freshness of mandarin oranges packed by functional corrugated container and packaging bag	78
3. Results and Discussion	79
A. Exploration of optimum retention of BAAG in a fiber network	79
1) Particle size analysis of BAAG	79
2) Selection of a retention aid	81
3) Retention rate of BAAG and zeolite	83
4) SEM photographs of antimicrobial packaging paper	87
5) Effect of BAAG on physical properties of packaging paper	91

6) Gas absorption rate of functional packaging paper	94
7) Water repellency property of functional packaging paper	98
B. Antimicrobial test of functional packaging paper	101
1) Antimicrobial test of BAAG-containing packaging paper	101
2) Antimicrobial test of the packaging paper containing BAAG and zeolite	102
3) Freshness evaluation of mandarin oranges packed in a packaging bag and corrugated container	108
4) Economical analysis of functional packaging paper	116
4. Conclusions	118

Section 3. Establishment of the conditions for the treatment of botanical antimicrobial agent-GFSE (BAAG) mixture

1. Introduction	120
2. Materials & methods	121
A. Produce	121
B. Establishment of the conditions for the treatment of botanical antimicrobial agent-GFSE(BAAG) mixture	121
C. Microbial analysis	121
D. Storage condition	122
E. Measurement of gas condition in produce package	122
F. Measurement of weight loss and decay ratio during storage	123
G. Measurement of pH, total acidity and soluble solid content	123
H. Measurement of ascorbic acid content	123
I. Measurement of surface color	123
3. Results & discussion	124
A. Establishment of optimum BAAG treatment	124
B. Investigation of modified atmosphere (MA) storage condition of	

produce	125
C. Establishment of optimum storage conditions of produce packaged with antimicrobial packaging paper	139
D. Application of studied technology to large scale storage	146
4. Conclusions	152
Chapter 4. Aims Achievement and Contribution to Related Fields	154
Section 1. Achievement of the Research Aims	154
Section 2. Contribution of Related Science Fields	156
Chapter 5. Application plan of the Research Products	158
Chapter 6. Overseas Research Materials	160
Chapter 7. References	161

목 차

제 1 장 연구개발과제의 개요	23
제 1절 연구 개발의 목적 및 필요성	23
제 2절 연구 개발의 범위	27
제 2 장 국내외 기술 개발 현황	29
제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과	31
제 1 절 식물성 천연항균제의 조제 및 항균작용구명	31
1. 서 설	31
2. 재료 및 방법	34
가. 식물성 천연항균제의 조제 및 항균특성 검사	34
1) 식물성 천연항균제의 조제	34
2) 식물 추출물의 항균력 시험	34
3) BAAG의 생육 저해 적정 농도 측정시험	35
4) BAAG의 열 및 pH 안정성검사	35
나. 변패미생물의 에너지 생성에 미치는 BAAG의 억제효과	35
1) 시험균주의 보관 및 배양	35
2) 효소원의 제조	36
3) Glucose-6-phosphate dehydrogenase (D-glucose-6- phosphate: NADP-oxidoreductase; G6PDH, EC 1.1.1.49)의 활성 측정	36
4) Hexokinase (ATP : D-hexose 6-phosphotransferase ; EC 2.7.1.1)의 활성 측정	36
5) Malate dehydrogenase (L-malate : NAD ⁺ oxidoreductase ; MDH, EC 1.1.1.37)의 활성측정	36
6) Succinate Dehydrogenase (succinate : oxidoreductase ; SDH, EC 1.3.99.1)의 활성 측정	37
다. BAAG의 항균력에 의한 미생물세포의 전자현미경적 형태 변화 ..	37
라. BAAG처리에 의한 변패미생물의 세포막 기능변화	37
1) β -galactosidase(β -D-galactoside galactohydrolase ; EC 3.2.1.23)의 정량	37
마. BAAG의 안전성검사	38

1) 급성 경구 독성 시험	38
2) 피부 자극 시험	39
3) 안점막 자극 시험	39
바. 항균활성물질의 분리 및 동정	40
3. 결과 및 고찰	41
가. 식물성 천연항균제의 선정 및 항균작용	41
1) 천연항균소재의 항균성 시험	42
2) BAAG의 생육 저해 적정 농도 측정시험	43
3) BAAG의 열 및 pH 안정성검사	43
나. BAAG가 변패미생물의 생리학적 및 세포 형태학적 특성에 미치는 영향	43
1) 식물성 천연항균소재인 BAAG가 에너지 생성대사관련 효소 활성에 미치는 영향	43
2) 변패미생물의 세포막 기능에 미치는 BAAG의 처리효과	50
3) 전자현미경을 이용한 미생물의 세포형태변화	51
다. BAAG의 안전성	54
1) 급성 경구 독성 시험	54
2) 피부 자극 시험	55
3) 안점막 자극 시험	56
라. 항균활성물질의 구조동정	58
1) 분리된 Compound의 NMR에 의한 구조분석	58
가) Compound A의 구조동정	58
(1) 화합물 A의 ¹ H-NMR 스펙트럼 해석	58
(2) 화합물 A의 ¹³ C-NMR 스펙트럼 해석	59
(3) DataBase로부터 얻은 표준물질의 스펙트럼	59
나) Compound B의 구조동정	59
(1) 화합물 B의 ¹ H-NMR 스펙트럼 해석	59
(2) 화합물 B의 ¹³ C-NMR 스펙트럼 해석	59
2) 분리된 Compound의 FAB에 의한 구조분석	65
가) Compound A의 구조동정	65
나) Compound B의 구조동정	65
4. 결 론	67
제 2 절 천연항균물질을 이용한 항균 포장지 개발	69

1. 서 설	69
2. 재료 및 방법	71
가. 항균 포장 원지의 개발	71
1) 지료 조성	71
2) 항균제 배합	72
3) 시험용 항균 포장 원지 제조	73
나. 포장 원지의 물성 시험	74
1) 시험편의 강도적 성질	74
2) 선도 유지제의 보류율 측정	75
3) 골판지 상자 및 항균 포장 봉지 제작	76
4) 포장 원지의 항균력 시험 - Paper Disk Method	77
5) 항균 포장 원지의 에틸렌 가스 제거율 시험	77
6) 항균 포장 상자 및 항균 포장 봉지의 선도 유지력 시험	78
3. 결과 및 고찰	79
가. 항균 포장 원지내 항균 제제의 최적 정착법 탐색	79
1) 항균제 분말의 입도 분포	79
2) 펄프 섬유 구조 내 최대 정착을 위한 보류 향상제의 선발	81
3) 항균제 및 제올라이트 분말의 보류율	83
4) 항균 포장지의 전자현미경(SEM) 사진	87
5) 항균제 첨가에 따른 포장지의 물성 변화	91
6) 기능성 포장지의 가스 제거율 분석	94
7) 항균 포장지의 내수성 분석	98
나. 항균 포장지 및 포장 상자의 항균력 시험	101
1) BAAG가 첨가된 포장지의 항균력 시험	101
2) 제올라이트와 BAAG가 처리된 포장 원지의 항균력	102
3) 항균 포장지와 포장 상자에 저장된 과채류의 선도 평가	108
가) 포장 봉지(packaging bag)에 저장된 굴 선도 평가	108
나) 골판지 상자에 저장된 굴의 선도 평가	113
4) 항균 포장 원지의 경제성 분석	116
4. 결 론	118
제 3 절 과채류의 저장·유통 조건의 확립	120
1. 서 설	120
2. 재료 및 방법	121

가. 시료	121
나. 식물성 천연항균제의 처리조건 설정	121
다. 미생물의 측정	121
라. 시료의 저장조건	122
1) MA(Modified atmosphere) 조건 설정을 위한 포장 및 저장	122
2) 항균포장지를 이용한 과채류의 포장 및 저장	122
3) 개발된 기술을 이용한 과채류의 대규모 저장 실험	122
마. 포장 내부의 기체 조성 측정	122
바. 중량 감소율 및 부패율의 측정	123
사. pH, 총산 및 가용성 고형물의 측정	123
아. 비타민 C 함량의 측정	123
자. 색도 측정	123
3. 결과 및 고찰	124
가. 과채류에 식물성 천연항균제(BAAG) 용액 처리 조건 설정	124
나. 과채류의 MA 저장조건 설정	125
1) 방울토마토의 MA 저장조건 설정	125
가) 포장 내부의 기체 조성 변화	125
나) 중량감소율	126
다) 미생물수의 변화	128
라) pH, 총산 및 가용성 고형물	131
마) 부패율	132
2) 피망의 MA 저장조건 설정	133
가) 포장 내부의 기체 조성 변화	133
나) 중량감소율	135
다) 미생물 수의 변화	136
라) 가용성 고형물	138
마) Ascorbic acid 함량과 색도의 변화	138
다. 항균포장지를 이용한 과채류의 저장 조건 설정	139
1) 방울토마토의 저장	139
가) 중량 감소율	139
나) pH, 총산 및 가용성 고형물	140
다) 미생물수의 변화	140
라) 부패율	141
2) 배의 저장	142

가) 중량 감소율	142
나) 가용성 고형물 및 색도 변화	143
다) 미생물 수의 변화	144
3) 감귤의 저장	144
가) 중량 감소율	144
나) pH, 총산, 가용성 고형물 변화	144
다) 미생물 수의 변화	146
라) 부패율	146
라. 개발된 기술을 이용한 과채류의 대규모 저장 실험	146
1) 방울토마토의 저장	147
가) 중량 감소율	147
나) pH, 총산 및 가용성 고형물	147
다) 미생물수	148
라) 부패율	149
2) 감귤의 저장	149
가) 중량 감소율	149
나) pH, 총산 및 가용성 고형물	150
다) 미생물수	151
라) 부패율	151
4. 결 론	152
제 4 장 목표 달성도 및 관련 분야에의 기여도	154
제 1절 연구 개발 목표의 달성도	154
제 2 절 관련 분야 기술 발전에의 기여도	156
제 5 장 연구 개발 결과의 활용 계획	158
제 1 절 추가 연구의 필요성	158
제 2 절 타 연구에의 응용 및 기업화 추진 방안	158
제 6 장 해외 연구 자료	160
제 7 장 인용문헌	161

제 1 장 연구개발과제의 개요

제 1절 연구 개발의 목적 및 필요성

현재 물류 유통 과정의 선진화 및 고급화가 이루어지면서 생산되는 과채류의 대부분이 포장되어 다루어지고 있다. 과채류가 포장되면서 저장 및 유통 과정 중에 발생하는 폐기 과채류의 양이 급격히 줄어들게 되었고, 폐기 과채류의 처분 문제도 상당히 해결할 수 있었다. 즉, 과채류가 이송이나 유통, 혹은 저장 중에 과채류끼리의 마찰, 짓눌림, 운반 중의 파손 등으로 인하여 폐기 과채류가 상당히 발생하게 되는데, 이러한 문제가 발생하는 것을 방지하기 위하여 포장이라는 수단을 사용한다. 농·수산물유통공사가 2000년에 전국 농산물 도매시장과 화훼공판장을 대상으로 자체 조사한 결과 표준 규격이 설정된 농산물 37개 품목의 평균 포장화율은 88.0%로 집계됐다. 특히 농산물 중에서도 과일류의 포장화율이 높고 고른 것은 지난 1999년 정부의 농산물 포장화정책이 강화되면서 주산지별로 규격 포장에 의한 농산물 출하가 대폭 늘어났기 때문으로 분석된다. 그러나 포장이라는 수단만 강조하게 되면 포장의 일차적 목적인 외부 충격으로부터 포장 물품의 보호라는 일차적 목적에만 치중하게 되는데, 과채류와 같은 포장 물품이 외부 충격에 의한 파손뿐만 아니라 저장 및 유통 중의 호흡, 증산 등의 생리 작용에 덧붙여 식물 변패 관여 미생물에 의한 부패로 인하여 상당한 양의 과채류가 폐기된다는 점을 간과해서는 안 된다. 따라서 단순 포장 기능에 덧붙여 항균 혹은 선도 유지력이 있는 포장 소재의 개발을 통하여 물리적 충격에 의한 폐기 과채류의 양을 줄이면서 동시에 변패 미생물들에 의한 폐기 과채류의 양도 줄일 수 있는 기능성 포장 소재가 개발될 필요가 있다. 더군다나 국민 식생활의 개선으로 과채류에 대한 소비가 급격히 증가하고 있고, 시설 원예의 발달로 과채류의 생산량이 증가하고 있는 상황에서 적정 저장 시설을 갖추지 못한 농촌 실정을 감안할 때 홍수 출하되는 과채류의 저장을 목적으로 한 선도 유지용 포장 소재의 개발도 매우 시급한 실정이다. 현재까지 polyethylene (PE) film이나 polypropylene (PP) film 등과 같은 고분자 필름에 항균제를 처리하여 항균 포장 소재로 이용한 사례가 보고되고 있지만, PE나 PP 소재는 사용 후 분해가 어려울 뿐만 아니라 충격 완화 기능이 없기 때문에 운송 및 유통 중의 충격으로 인하여 과채류의 파손을 초래할 가능성이 높다. 또한 고온에서 PE나 PP를 사출해야 하기 때문에 고온 처리 중에 항균 성분이 파괴되어 항균 효과가 제대로 발현되기 어려운 측면도 안고

있다. 또한 항균 포장 소재를 사용할 지라도 항균력 발현을 위해 첨가된 항균제들이 특정 균에 대해서만 항균성을 나타내는 한계를 안고 있어 다양한 변패 미생물에 대하여 항균성을 나타내는 항균제의 개발이 절실한 실정이다.

따라서 외부 충격에 대한 포장 물품의 보호라는 포장의 일차적 기능을 살리면서 동시에 재활용 및 분해가 용이한 포장 소재의 선택이 필요하다. 또한 친환경적 포장 소재의 사용에 덧붙여 다양한 변패 미생물에 대하여 강한 항균력을 지닌 항균제를 개발하여 포장 소재에 효과적으로 첨가하는 기술을 개발할 필요가 있다. 보통 과채류 포장용 기능성 소재를 개발할 때 과채류의 선도 유지에 일차적 중요성을 두기 위해서는 세 가지 요인이 반드시 고려되어야 한다. 먼저 수확 후 저장되는 과채류는 호흡 작용을 통하여 에틸렌가스, 산소 및 이산화탄소를 방출하여 최초 품질이 변성되는 현상을 발생시킴으로써 수확 당시의 가치를 떨어뜨린다. 또한 증산 작용을 통하여 과채류가 지니고 있는 수분 손실을 촉진시켜 과채류가 빠르게 시드는 현상을 일으켜 과채류의 품질을 심각하게 훼손시킨다. 마지막으로 수확된 과채류를 저장하는 동안 과채류 자체나 외부에서 들어 온 식물의 변패 관련 미생물이 생육하여 과채류의 부패를 일으킨다. 이러한 세 가지 요인이 복합적으로 작용하여 수확 후 저장되는 과채류의 선도가 얼마나 오랫동안 유지될 수 있는가가 결정된다.

최근 지구 온난화가 가속화되면서 식품 위생에 대한 관심이 날로 높아지고 있기 때문에 선도 유지를 위해 행해지는 여러 가지 화학적 처리에 대하여 대다수의 소비자들은 상당한 거부감을 나타낸다. 따라서 소비자들에게 거부감을 나타내지 않으면서 우수한 선도 유지 효과를 발현시킬 수 있는 천연 항균제를 기능성 포장 소재의 개발에 이용하는 것이 좋은 대안이 될 수 있다. 또한 수출 농산물의 경우 포장화 한 상태로 선적되는 것은 일반화되었지만 품질 보존 혹은 선도 유지 등의 문제가 발생하고 있어 제품 자체에 대한 관심과 더불어 포장 소재의 고기능화 및 다양화를 위한 요구가 거세어지고 있다. 만약 국내산 농산물이 고기능성 포장 소재로 포장되어 선적된다면 수출 농산물의 신뢰 회복 및 가치 보존에 큰 역할을 할 수 있을 것이다.

현재 천연 항균제로써 널리 거론되고 있는 것들로는 식물 추출물, 특정 단백질 및 효소류, 유기산류, bacterocin 등을 들 수 있는데, 본 연구진에 의하여 우수한 항균력이 확인된 자몽종자추출물(Grapefruit Seed Extracts, GFSE)은 천연식품 보존제로서 광범위한 사용 범위가 확인된 물질이며, 특히 인체에 독성이 없는 것으로 확인되었기 때문에 효용 가치가 매우 클 것으로 예상된다. 본 연구에서는 Grapefruit seed extract(GFSE)를 주원료로 하여 항균력 향상을 위한 추가 물질을 첨가하여 더욱 높은 항균력이 발현되는 식물성 천연 항균

물질 (Botanical Antimicrobial Agent-GFSE mixtures, BAAG)를 개발하여 항균 포장 소재에 응용하였다. 가스 흡착 제거 용도로 사용되는 기능성 물질로는 세라믹, 고흡수성 고분자, 제올라이트, 활성탄, KMnO_4 등과 같은 다양한 재료들이 포장 내의 가스 조성, 에틸렌 가스의 농도 등을 조절하는 기능을 수행한다. 특히 제올라이트는 국내외를 막론하고 농업 분야에서 가장 많이 응용되는 것으로 알려져 있는데, 대표적인 예를 들면 Ag-zeolite를 포장에 혼입시켜 미생물 생육의 억제, 포장 내의 산소나 이산화탄소의 흡수 및 발생을 통한 과채류의 품질 변화 반응 억제, 과채류가 발생하는 숙성 호르몬인 에틸렌가스의 흡수·제거를 통한 숙성 과정 지연 등의 효과를 유도함으로써 포장된 과채류의 선도가 지속적으로 유지되도록 한다. 본 연구에서도 가격이 저렴한 천연 제올라이트를 포장 과채류가 방출하는 에틸렌 가스, 이산화탄소 및 산소 등을 흡수·제거하는 용도로 사용하였다. 또한, 포장 과채류가 보유한 수분 손실을 최소화하기 위하여 포장 소재에 내수성 약품을 처리한다. 일반적으로 제지용 내수화제(혹은 사이즈제)로는 로진 계열의 산성 사이즈제, Alkyl Ketene Dimer (AKD) 및 Alkenyl Succinic Anhydride (ASA)와 같은 중성 사이즈제, 왁스 에멀전 등이 많이 사용된다. 여기서 포장 소재로써 재활용이 용이한 목재 펄프 섬유를 사용하기 때문에 재활용에 지장을 초래하는 내수성 약품인 왁스 계통은 배제하였고, 또한 초지 시스템의 부식을 수반하는 산성 사이즈제 계통과 제외시켰다. 결국 빠른 반응성을 나타내는 중성 사이즈제인 AKD를 포장 소재의 내수성 부여 목적으로 응용하였다.

기능성 포장 소재의 사용에 덧붙여 적정 저장 방법의 사용을 통하여 과채류의 선도를 보다 오랫동안 유지시킬 수 있다. 저장 방법으로는 저온저장에 덧붙여 저장고내 공기조성을 일반 대기성분과는 다르게 온도, 습도, 공기조성의 3가지를 조절하는 저장 방식인 CA (Controlled Atmosphere Storage) 방법, 저산소저장은 CA저장고의 산소농도를 2~3%에서 1.25%의 저산소 상태로 하여 저장하는 저산소 저장법, 각종 플라스틱 필름 등으로 과일을 포장하는 경우 필름의 기체투과성이나 과일로부터 발생한 기체의 양과 종류에 의하여 포장내부의 기체가 대기와는 현저하게 달라지기 때문에 이것에 의해 저장하는 MA (Modified Atmosphere Packaging) 방법 등이 있다. 적정 저장 방법의 선별을 통하여 새로이 개발된 포장 소재의 효과가 최대로 발휘될 수 있도록 하였다.

현재 수확된 농산물의 선도 유지를 목적으로 지류 포장 봉지(paper packaging bag)나 골판지 포장 상자(corrugated packaging box)에 기능성 약품을 처리하는 기술 개발에 관한 연구는 거의 이루어지지 않고 있다. 따라서 본 연구에서는 수확된 과채류의 저장 및 유통 기간 동안 미생물 생육, 수분 손

실, 호흡 작용으로 인하여 과채류 선도가 상실되는 것을 최소한으로 줄이기 위하여 포장 원지 제조시 기능성 항균 소재, 제올라이트 및 AKD를 효율적으로 처리하는 기술을 개발하고자 한다. 본 연구를 통하여 개발된 고기능성 포장 원지는 포장 봉지나 골판지 상자의 이면 라이너에 이용하여 과채류, 식품, 의약품 등의 품질 보존을 위한 포장에 응용하고자 하였다.

제 2절 연구 개발의 범위

천연 식물성 향균 소재를 이용한 환경 친화적 신소재 포장재 개발을 위한 연구를 수행하기 위하여 먼저 GFSE를 주원료로 한 고기능성 천연항균물질인 BAAG를 개발하여 BAAG의 향균 성능 및 변패 미생물에 대한 처리 효과, BAAG의 안전성 시험 등을 거쳐서 기능성 포장 소재의 개발에 사용하였고, 두 번째로 BAAG와 무기계 첨가제인 제올라이트, 그리고 내수성 약품인 AKD를 처리하여 포장 원지에 향균성 부여, 가스 조절 기능 및 내수성을 부여하여 고기능성 포장 원지 제작을 위한 기술을 개발하였다. 마지막으로 과채류에 BAAG의 최적 처리 조건 설정 및 MA 저장 조건을 탐색하고, 개발된 기능성 포장 원지(이면 라이너)를 이용하여 과채류 포장용 골판지 포장 상자를 제작하여 이를 위한 최적 저장 조건을 탐색하였다.

위의 연구 내용을 토대로 정리한 전체적인 연구 구성과 세부 내용을 Table 1-1에 정리하였다.

Table 1-1. “식물성 향균소재를 이용한 새로운 포장소재의 개발 및 응용”이라는 연구과제의 체계적 연구방법

연구개발목표	연구개발 내용 및 범위	연구 기관
식물성 천연항균 물질의 개발	<ul style="list-style-type: none"> ○ 향균 물질의 분리 방법 모색 및 분자 구조적 해석 구명 ○ BAAG가 변패미생물의 생리적, 형태적 특성에 미치는 영향 ○ 변패미생물의 에너지생산대사 관련 효소반응에 대한 BAAG의 억제 작용 측정 ○ 변패미생물의 세포막 기능에 미치는 BAAG의 처리 효과 측정 ○ BAAG의 향균력에 의한 공시균주 세포의 전자현미경학적 형태 변화 조사 ○ BAAG의 안전성 조사 	경상대

연구개발목표	연구개발 내용 및 범위	연구기관
<p>천연항균물질을 이용한 항균 포장 원지 개발</p>	<ul style="list-style-type: none"> ○ 항균물질의 부착능을 최적으로 향상시킬 수 있는 첨가법과 보류 향상제 모색 ○ Zeolite 등 무기첨가제의 선도 유지 효과 조사 ○ 지료 조성법 탐색 포장원료 펄프 → 해리 및 고해 → 항균물질부가 → 수초지 ○ 과채류 변패 미생물에 대한 항균력 시험 ○ 항균포장용지의 물성 평가 ○ 항균성 포장용지 현장 생산라인의 적용 가능성 검토 	<p>경상대</p>
<p>과채류의 저장·유통 조건의 확립</p>	<ul style="list-style-type: none"> ○ 품목에 따른 BAAG의 최적 처리 및 MA 저장 조건 설정 <ul style="list-style-type: none"> - BAAG의 최적 처리 조건 설정 - MA 저장 조건의 설정 ○ BAAG를 처리한 과채류에 적합한 저장 조건의 설정 ○ 대규모 저장 조건 하에서 개발된 기술로 처리 포장된 과채류의 저장 및 유통 조건의 설정 	<p>마산대</p>

제 2 장 국내외 기술 개발 현황

농산물의 포장화율은 1998년 평균 75%에서 2000년에는 약 88%까지 증가하여 왔고, 일부 품목에서는 거의 100%에 이를 정도로 높은 포장화율을 보이고 있다. 포장의 형태는 주로 골판지 상자를 이용한 포장 방법이 이용되고 있고, 일부에서는 PE 필름 포장을 병행하고 있다. 따라서 대부분의 포장과 관련된 연구는 외부 충격으로부터 포장 물품을 보호한다는 일차적인 포장 목적과 관련되어 있는 골판지 포장 상자의 압축강도나 파열강도 향상과 관한 것에 치중되어 있다.

그러나 수출 농산물의 경우 잔류 농약이나 변패 농산물의 유무 등에 따라 수출용 농산물의 신뢰도가 상당히 좌우되기 때문에 저장 혹은 운송 동안에 포장된 농산물의 선도를 유지하는 것이 무엇보다 중요한 과제이다. 물론 저장 및 운송 동안 저온, CA 혹은 MA 저장 방식의 사용을 통하여 포장 과채류의 호흡 및 증산 작용을 인위적으로 조절하여 선도 유지를 도모하고 있지만 변패 미생물의 발생을 원천적으로 억제하기는 힘들다. 이를 해결하기 위하여 선도 유지용 약품을 처리하여 변패 미생물의 생육 조건을 제거하기도 하지만 농산물에 잔류하는 선도 유지 약품의 안전성을 상당히 우려하는 소비자들의 관심이 높아지면서 적정 선도 유지제를 선별하기가 쉽지 않다.

이러한 염려를 고려하여 본 연구진에서는 자몽종자 추출물(GFSE), 한국산 약용 식물 추출물(Korean Medical Herb Extracts, KMHE) 등과 같이 천연 식품 보존제와 살균제로 폭 넓게 사용될 수 있는 항균 소재를 개발 완료하여 다양한 응용 범위를 탐색하고 있다. 특히 GFSE와 KMHE가 과채류의 선도 유지를 위한 생물학적 처리에 관한 관심이 증폭되면서 이들 항균 소재가 인체에 무독하다는 것을 입증하여 상용 가치를 더욱 높였다. 세계적으로는 식물 추출물, 특정 단백질 및 효소류, 유기산류, bacteriocin 등과 같은 천연 항균제 등이 사용되고 있다.

그러나 식물성 천연 항균 물질을 저장 농산물에 직접 처리함으로써 상당한 양의 수분이 농산물에 잔류하게 하는 단점을 지닌다. 더군다나 천연 항균제를 함유한 수분이 농산물에 잔류하기 때문에 친수성이 큰 골판지 포장 상자에 넣어 저장하기가 적합하지 않다. 또한 수출용 농산물의 경우 중량 단위로 선적할 경우 식물성 항균제가 함유된 수분의 과다 처리로 단위 포장 상자가 갖는 중량이 증가되어 수출 비용의 증가를 초래할 수도 있다. 따라서 저장 과채류 자체에 대한 선도 유지제의 처리보다는 포장 소재 자체에 선도 유지제를 처리하는 방법을 개발하는 더욱 바람직할 것이다.

수확 후의 농산물 혹은 과채류의 선도 유지를 목적으로 인체에 무해하면서도 우수한 항균력을 지니는 식물성 천연 항균 소재가 개발하거나 선정하게 되면 이

들 항균제가 저장 및 유통 중인 과채류의 선도 유지에 적합하게 사용될 수 있는 방법을 강구하여야 한다. 전 세계적으로 일회용 제품이나 환경에 유해한 포장 소재의 사용을 금하고 있는 상황에서 환경친화적인 지류 포장 소재의 사용이 급증할 것으로 예상된다. 따라서 천연 식물성 항균 소재를 PE 필름과 같은 포장 소재에 처리하는 것은 장기적인 차원에서 전망해 볼 때 이용 가치가 떨어지는 방법이기 때문에 지류 포장 소재 자체에 항균제의 적정 처리 방법을 탐색하는 것이 더욱 효과적인 방법이 될 것이다. 국내에서는 일부 제지회사에서 골판지 상자용 원지(혹은 원단)에 항균제를 처리하여 생산하고 있지만, 이들 제품에 대한 소비가 거의 없기 때문에 생산이 간헐적으로 이루어지고 있다. 또한 위생용 종이에 항균제를 처리하여 시판되고 있는 제품이 있지만 습윤된 상태로 판매되기 때문에 용도가 극히 한정되어 있는 단점이 있다. 앞서 언급한 바와 같이 PE나 PP 필름에 천연 항균제나 기타 무기계 첨가제를 처리한 포장 소재가 양산되고 있지만 향후 사용이 금지될 것으로 예상되어 이들 고분자 소재에 대한 이용은 바람직하지 않다. 일본, 호주 등을 중심으로 선도 유지용 포장 소재가 많이 개발되어 사용되고 있지만 이들 소재들 역시도 대체로 플라스틱 필름에 주로 의존하고 있다.

농산물 혹은 과채류의 선도 유지를 목적으로 포장 소재가 새로이 개발된다면 난분해성 소재인 플라스틱 필름 사용을 지양하고, 환경친화적 소재인 지류 포장 소재를 사용하는 것이 많은 호응을 얻게 될 것이다. 본 연구에서는 인체에 무해 하면서 동시에 강한 항균력을 나타내는 천연 식물성 항균 소재를 개발하고, 이를 지류 포장 원지의 제조 시에 처리함으로써 환경친화적 신소재 포장 원지를 개발하였다. 또한 이러한 기능성 포장 원지를 이용하여 포장 봉지와 골판지 포장 상자를 제작하여 이들 포장 방법에 적합한 저장 조건을 개발하여 가장 효과적인 선도 유지 방법을 확립하고자 하였다.

제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

제 1 절 식물성 천연항균제의 조제 및 항균작용구명

1. 서 설

농산물 시장의 개방에 따라 농업에서 있어서 곡물에 비해 상대적으로 과일이나 채소의 비중이 커지고 있다. 아울러, 건강에 대한 관심이 증대되면서 신선 채소 및 과일에 대한 소비는 세계적으로 꾸준히 증가하고 있다. 국내에서도 과채류의 소비가 계속적으로 증대하고 있고, 시설원예의 발달로 생산량이 늘어가고 있는 상황에서 수확기의 홍수출하와 저온저장시설의 미비로 가격지지가 어려울뿐만 아니라 폐기되는 양도 상당하다. 따라서 국내산 과채류의 경쟁력을 향상시키기 위해서는 유통 및 저장기술의 정립과 함께 과채류를 이용한 고부가가치 저장제품의 생산이 필요하다. 즉, 저렴하고 단순한 처리저장기술을 개발하여 산지농가에 보급, 활용케함으로써 과채류의 수확시기나 유통에 상관없이 년중내내 선도를 유지한 과채류를 공급할수 있는 상황이 시급히 도래할 필요성이 요구되고 있으며, 과채류의 생리활성을 적극적으로 지속시키면서 선도를 유지시킬 수 있는 선도유지제의 개발이 시급한 실정이다. 아울러, 국내산 과채류의 수출확대면에서 국제경쟁력을 강화시키기 위한 필수여건의 하나로, 과채류의 선도유지기간을 연장할 수 있는 대책 마련이 선행되어야 할 입장이다. 수확된 과채류의 이용도를 높이고 품질과 부가가치를 향상시키는 방법으로서 저장성의 향상과 선도를 유지시키는 것이 하나의 방법이다. 선도를 유지시키고 저장성을 향상시키기 위해서 여러 가지 화학적 처리가 행해질 수 있으나 건강성을 지향하는 소비자들로부터 외면당하거나 경계의 대상이 되고 있다. 과채류의 선도를 향상시키는 방안으로서 안전성에서 우수한 천연 항균제를 이용한 직접처리제 또는 포장소재가 좋은 대안의 하나이다. 이러한 취지에서 개발과 더불어, 그 적용분야 및 사용방법을 검토go 불만한 천연항균제로는 식물추출물, 특정단백질 및 효소류, 유기산류, bacteriocin 등을 들 수 있다. 식물추출물로서 마늘과 양파추출물이 부패미생물의 생육 및 곰팡이 독소성분의 생합성 저해효과를 나타내었으며, 정향등의 향신료 및 그 정유성분이 항균성을 보이고, 편축, 초피 나무등의 항진균 작용이 밝혀졌으며 생약재로 쓰이는 황련, 대황추출물 등

은 광범위한 항균성을 나타내었다. 한편, 식물의 색소물질도 항균성이 인정되고 있어 flavanol 및 proanthocyanidins 또는 anthocyanin에 관한 연구가 진행된 바 있다. 여러 단백질과 효소류는 특정 균류에 항균성을 나타내고 있어, polylysine, 계란 흰자위중의 lysozyme, lactoperoxidase 등이 Gram 양성균과 음성세균의 저해효과를 보여주었다. 유기산은 식품의 원료에 천연적으로 혹은 발효산물로 존재하거나 인공적으로 첨가하는 경우가 있는데 항진균성과 항균성을 갖는다고 알려졌다. 유기산 중 citric acid, benzoic acid, lactic acid, acetic acid, propionic acid, tartaric acid 등은 pH 강하에 의한 항균성이 인정되고 있으며, 일반적으로 탄소수 12-18의 중급 지방산들이 가장 효과적인 항균성을 보이고, 지방산의 이중결합수가 많아질수록 항균성도 증가하며 비해리분자가 작용기작에 관여한다고 알려져 있다. Bacteriocin은 젖산균과 같은 세균이 생산하는 물질로서 세균을 죽이지만 용균하지 못하며 특정균의 대사활동을 방해하는 것으로 알려져 있다. 이상과 같이, 항균성분을 함유한 천연항균제에 관한 연구는 대부분 실제응용 분야에 있어서 효과면에 치중한 연구로서 살균작용을 하는 유효성분 및 작용기작을 규명하기 위한 기초연구가 부족한 상태이며, 이들 천연항균제의 급성구강독성, 피부독성, 공기흡입 독성 및 부식작용 등 안전성에 관한 조사가 선행되어야 할 입장이다. 즉, 강력한 살균력을 가지며, 항생효과 및 장효과, 독물에 대한 중화, 분해효과, 백혈구의 항균력 증강 등 항균제로서의 구비조건을 갖춘 천연항균제의 개발을 유도한 천연항균제의 활성물질과 작용기작에 관하여 충분한 연구결과를 제시하지 못하고 있는 형편이다. 연구결과를 천연항균제의 미생물 생육억제 효과를 분자수준적인 입장에서 해명하기 위하여서는 미생물의 생육과 그에 필요한 에너지 생산에 관련된 효소작용, 물질의 수송을 조절하는 세포막의 생화학적 기능, 천연항균제의 세포벽 또는 세포막 파괴효소 기능을 검토하여 천연항균제의 항균작용을 규명함으로써, 선도유지제로서 응용·개발될 천연항균제의 적용범위를 확대시켜, 미생물 오염이 원인이 되는 일반적인 부패, 또는 변패현상을 근절시키는 계기가 될 것이다. 아울러, 신선 과채류는 저장 유통 중에 선도저하가 심하기 때문에 수확후 품질손실이 심하고 유통기한이 짧은 단점을 가지고 있다. 특히, 과채류에서는 선도의 유지가 아주 중요하여 선도가 가격을 결정하기때문에, 선도의 향상에 의하여 부가가치의 창출이 가능하다. 더우기 최근의 소비자들은 고품질, 건강성의 과채류를 요구하는 경향을 보이고 있으므로 적절한 선도를 유지함에 의하여 높은 가격을 얻을 수 있고 이는 생산농민에게 추가적인 이익을 보장해줄 것이다. 과채류의 선도유지에는 품

중, 재배 및 수확조건, 수확후 처리, 저장 유통의 조건 등이 밀접하게 관련되거나 적정 포장의 사용에 의하여 유통기간 중의 선도를 향상시키고 유지시키는 것이 가능하며, 최근에 선도를 능동적으로 향상시키는 포장시스템에 대한 관심이 증가하고 있다. 이러한 포장시스템은 과채류변패 미생물의 발생과 생육을 억제하면서 과채류의 여러 생리적 변화를 바람직한 방향으로 유도시키고 바람직하지 않은 생리활성반응은 억제한다. 사용되는 포장시스템은 온도, 습도, 포장내부의 가스조성, 에틸렌 가스의 농도 등을 조절하는 기능을 가지도록 설계되며, 포장재료에는 필요한 기능성을 위해 적절한 투과성을 가진 플라스틱 필름과 함께 세라믹, 고흡수성 고분자, 활성탄, KMnO_4 등의 다양한 재료를 복합적으로 결합하여 사용하고 있다. 이러한 신선도 유지의 기능을 가진 포장에 관련된 특허나 문헌이 최근에 들어 많이 나타나기 시작하고 있으며, 이러한 포장의 이용범위가 무한히 확대될 가능성을 가지고 있다. 신선도의 향상을 위해서 포장내의 환경을 능동적으로 변화시키는 창의적인 아이디어들이 투과도가 적절히 조절된 포장재와 함께 적용되는 개념이 현실화되어 가는 추세에 있으며, 대표적인 예로 Ag-zeolite를 포장에 혼입시킴으로써 미생물에 대한 억제 효과를 얻거나, 산소나 이산화탄소를 흡수하거나 발생시킴으로써 호흡등의 품질변화반응을 억제하거나, 과채류가 발생하는 에틸렌가스를 흡수 제거함으로써 숙성과정을 지연시키거나, 포장내에 수분흡수제나 방출제를 첨가하여 포장내의 습도를 조절함으로써 표면의 건조현상이나 부패를 방지하는 방법 등으로 그 이용범위는 무한히 넓으며 앞으로 계속 새로운 개념이 도입될 것으로 전망된다.

따라서, 본 연구에서는 항균력과 안전성이 우수한 식물성 천연항균제를 이용하여 과채류의 선도를 유지시키고자 하였다. 본연구에서는 식물성 천연항균제로부터 항균활성물질을 확인하고 과채류의 선도유지제로서의 기능과 효능을 분자적인 수준에서 이해하려함에 목표를 두었다. 아울러, 식물성 천연항균제의 항균활성성분이 과채류 변패미생물 세포막 또는 세포벽의 유동성에 미치는 영향을 검토하는 한편, 변패미생물 세포전체적으로 일어나는 미생물세포의 형태변화를 살펴봄으로써 식물성 천연항균제의 항균작용을 확인하고 그 안전성을 점검하였다. 항균력과 안전성이 우수한 천연항균제를 조제, 선정하여 다른 기능성 물질과 혼합처리하여 환경친화적 포장지 개발의 원료로 이용함으로써, 과채류에 대한 선도유지제로서의 이용가능성을 검토하여, 저장, 수송등 유통과정에서 과채류의 half life를 연장함으로써, 국내산 과채류의 국제경쟁력 강화에 기여할 수 있는 기초를 마련하고자 하였다.

2. 재료 및 방법

가. 식물성 천연항균제의 조제 및 항균특성 검사

1) 식물성 천연항균제의 조제

일반 약용식물을 건조된 상태로 구입하여 각각 100 g씩을 분쇄기에 분쇄하여 시료와 증류수를 1 : 5의 비율로 넣고 100°C water bath에서 3시간 동안 추출하여 1차 여과포를 이용하여 여과한 후 10분 동안 5,000 rpm에서 원심분리하여 상등액을 수집하였다. 이 상등액에 2차 여과시켜 얻은 액을 합쳐 회전진공증발기로 최초량의 약 1/10로 농축하고 동결건조기를 이용하여 분말상태로 조제하였다. 한편, 자몽종자추출물은 외국산 자몽을 구입하여 과육부와 종자의 비율이 1 : 4 정도로 혼합되어 있는 자몽과실체를 60°C~70°C의 건조실에서 drum-drying을 행하여 건조시킨 후, milling system으로 80~120 mesh 크기로 분쇄하고 감압추출장치를 이용하여 glycerine을 추출용매로 연속 추출하고, 층분리시켜 자몽종자추출물(Grapefruit seed extract : GFSE)을 수집하였다. 이와같이 추출조제한 종자추출물에 lactic acid 5%, citric acid 5%이 되도록 혼합, 교반하고 균질화하는 과정을 반복한 다음, 50~80 rpm의 느린 속도로 일정시간 교반하여 얻어진 추출물을 식물성 천연항균제 자몽종자추출물제제(Botanical antimicrobial agent-GFSE mixture: 이하 BAAG라 칭함)로 선택하여 항균력 실험원액으로 사용하였다. BAAG는 목적에 맞게 일정농도로 희석하여 실험용 시료로 이용하였다. 이 때 얻어지는 BAAG는 자외선이 조사되는 무균실에서 특정 온도, 압력, 시간 등의 조건 하에서 품질관리 방법에 의한 검사를 실시하여 일정한 규격의 제품이 되도록 하였으며, 기능성 포장원지의 항균성 첨가제는 상기 원액 40%, lactic acid 5%, citric acid 5%, CaCO₃(식품첨가물용) 50%의 조성비율로 조제한 분말제품을 실험용으로 사용하였다.

2) 식물 추출물의 항균력 시험

식물추출물에 대한 항균력 시험은 paper disc method에 의해 측정하였다. 즉, 배양된 공시균액 1 ml을 petri dish에 가하고 멸균된 배지를 약 15 ml 부어 혼합하고 굳혀서 그 위에 다시 10 ml을 중첩하여 굳힌다. 그 위에 paper disc를 놓고 BAA의 농도를 0, 250, 500, 1000 µg/ml의 농도로 조제한 액을 10 µl 흡수시켜 세균의 경우 생육최적온도인 35°C에서 48시간 배양하고, 곰팡이의

경우는 25℃에서 72시간 배양후 균이 증식하지 못한 clear zone의 직경을 대조구(약용식물 추출물을 처리하지 않은 것)와 비교하여 항균력을 시험하였다.

3) BAAG의 생육 저해 적정 농도 측정시험

BAA의 항균력 시험에서 항균력이 우수한 것으로 입증된 자몽종자추출제재(BAAG)를 선택하여 membrane filter(0.2 μm)로 제균시키고, tryptic soy broth(TSB)에 BAAG를 여러 가지 농도(50, 100, 250, 500, 1000 $\mu\text{g/ml}$)단위로 첨가한 후, 각 공시균주의 slant에서 배양된 균주 1백금을 취하여 10 ml TSB에 접종, 30℃에서 24시간 동안 배양시키고, 이 배양액 0.1 ml를 취해 다시 10 ml TSB에 접종하여 30℃에서 24시간 동안 배양한 배양액 0.1 ml를 여러농도(50, 100, 250, 500, 1000 $\mu\text{g/ml}$)의 BAAG가 함유된 TSB에 접종한후 배양하였다. BAAG의 첨가농도별 항균효과는 미생물의 생육정도를 spectrometer(620 nm)로 흡광도를 측정, 비교하고 천연항균소재인 BAAG를 넣은 TSB를 blank로 사용하였다. 공시균주에 대하여 BAAG의 생육억제를 확인하기 위하여 생육저해 농도곡선을 측정하였다.

4) BAAG의 열 및 pH 안정성검사

Paper disc method에 의하여 BAA의 항균성을 측정하여 항균력이 가장 우수한 BAAG를 대상으로 열 및 pH 안정성을 검토하였다. 열 안정성을 측정하기 위하여 40, 60, 80, 100, 120, 150℃까지 30분 동안 열처리한 후, 처리온도별로 BAAG를 1000 $\mu\text{g/ml}$ 농도가 되게한 다음, Gram 양성균, Gram 음성균, 곰팡이 및 효모 분류에 해당되는 각각의 공시균주를 이용하여 항균력 시험 방법과 동일하게 생육저해환을 비교, 측정하였다. 또한 pH안정성을 측정하기 위하여, buffer solution으로 BAAG의 pH를 4, 6, 7, 8, 10으로 조정한 후, 37℃에서 1시간 방치한 다음, 다시 pH 7로 중화시켜 열안정성 시험과 같은 방법으로 생육저해환을 비교·검토하여 pH 안정성을 측정하였다.

나. 변패미생물의 에너지 생성에 미치는 BAAG의 억제효과

1) 시험균주의 보관 및 배양

과채류 저장중, 발생한 병반에서 분리한 *Enterobacter pyrinus*는 경상대학교 식품공학과에 소장중인 균주를 분양받아 nutrient agar에 계대 배양하여 보관하였고, nutrient media에 배양하였다.

2) 효소원의 제조

*Enterobacter pyrinus*를 영양 배지에서 20시간 배양하고 원심분리하여 세포만을 수집하였다. 세포를 10 mM EDTA를 포함한 10 mM Tris-HCl (pH 7.5) 완충 용액에 현탁시키고, 초음파 파쇄기로 파쇄한 후 3,000×g에서 15분간 원심분리하여 상등액을 모으고 이를 효소원으로 사용하였다.

3) Glucose-6-phosphate dehydrogenase (D-glucose-6-phosphate: NADP-oxidoreductase ; G6PDH, EC 1.1.1.49)의 활성 측정

Glucose-6-phosphate dehydrogenase의 활성은 다음과 같은 방법에 따라 측정하였다. 즉, 효소 반응액 (전체 부피 1 ml)의 조성(최종 농도)은 30 mM Tris-HCl (pH 9.0), 6 mM MgCl₂, 0.24 mM NADP⁺, 1mM glucose-6-phosphate와 여러 가지 농도의 BAAG와 효소원이었다. 효소 반응은 기질인 glucose-6-phosphate를 가하여 시작하였고, 시간에 따라 340 nm에서 흡광도의 변화를 측정하여 효소의 활성을 결정하였다.

4) Hexokinase (ATP : D-hexose 6-phosphotransferase ; EC 2.7.1.1)의 활성 측정

Hexokinase의 효소 활성은 효소 반응액에 glucose를 기질로 하여 정제된 glucose-6-phosphate dehydrogenase를 첨가하여 주고 생성된 D-glucose-6-phosphate를 coupling assay 방법으로 정량하여 결정하였다. 효소 반응액(전체 부피 1ml)의 조성(최종 농도)은 40 mM Tris-HCl (pH 7.6), 222 mM Glucose, 8 mM MgCl₂, 0.91 mM NADP⁺, 0.64 mM ATP, 1unit의 glucose-6-phosphate dehydrogenase, 여러 가지 농도의 BAAG와 효소원이었다. 효소 활성은 glucose를 가하여 시작하였고 340 nm에서의 흡광도의 변화를 측정하여 결정하였다.

5) Malate dehydrogenase (L-malate : NAD⁺ oxidoreductase ; MDH, EC 1.1.1.37)의 활성 측정

Malate dehydrogenase의 효소 활성 측정은 malate를 기질로 하여 생성된 NADH에 의해 2,6-dichlorophenol indophenol (DICPIP)가 환원되는 양을 620 nm에서 흡광도의 변화를 측정하여 추적하였다. 반응액(전체부피 1ml)의 조성(최종 농도)은 20 mM phosphate buffer (pH 7.4), 0.43 mM NAD, 30 mM nicotinamide, 10 mM Na-malate, 0.86 mM KCN, 0.0034 mM DICPIP, 여러 가지 농도의 BAAG와 효소원이었다.

6) Succinate Dehydrogenase (succinate : oxidoreductase ; SDH, EC 1.3.99.1)의 활성 측정

Succinate dehydrogenase의 활성은 다음과 같은 방법에 따라 측정하였다. 즉, 반응액 (전체 부피 1ml)의 조성(최종 농도)은 50 mM phosphate buffer (pH 7.6), 1 mM KCN, 0.04 mM DIPCIP, 20 mM sodium succinate, 여러 가지 농도의 BAAG와 효소원이었다. 환원된 DIPCIP의 양은 620 nm에서 측정하여 효소의 활성을 추적하였다.

다. BAAG의 항균력에 의한 미생물세포의 전자현미경적 형태 변화

항균력이 뛰어난 BAAG의 처리로 인한 공시균주의 세포형태 및 기능성 변화를 알아보기 위해 전자현미경을 이용하여 처리전후의 세포구조를 관찰하였다. BAAG 1,000 µg/ml의 농도로 처리한 것과, 처리하지 않은 대조구 균체세포의 주사전자현미경(SEM : Scanning electron microscope)촬영사진을 비교·검토하여 미생물 세포조직의 변화를 측정하였다. 주사전자현미경의 조직표본 제작과정은 다음과 같다. 즉, broth 배지상에 미생물을 eppendorf tube에 전배양하고, 항균물질을 투입할 경우 eppendorf tube에 배지와 항균물질을 동시에 주입한 후 미생물에 따라 시간을 달리하여 1~2일정도 배양하였다. 배양액을 4°C에서 12,000 rpm으로 원심분리 시킨 후, 2.5% glutaraldehyde용액(pH 7.0~7.4)에서 2~4시간 정도에서 고정하였다. 고정 후, phosphate buffer(monobasic & dibasic) pH(7.0~7.4)로 2회 정도 세척하고, 다시 1~2% osmium tetroxide용액 (pH7.0~7.4, 4°C)로 1~2시간 고정하고, phosphate buffer pH(7.0~7.4)로 2회 정도 세척한 후, 95% Ethanol로 각각 15분 간격으로 탈수를 실시하였다. 이어서 acetone이나 isoamylacetate에 침전시키고, 바로 CO₂나 HMDS(hexamethyldisilazane)를 이용하여 시료를 완전히 건조시켰다. 탈수된 조직은 critical point dryer로 건조시킨후 ion sputter를 이용하여 gold ion particle을 두께 20 nm로 피막을 입힌 후 주사전자현미경(Scanning electron micrograph, SEM : DS-130C, ISI ABT)으로 관찰하였다.

라. BAAG처리에 의한 변패미생물의 세포막 기능변화

1) β-galactosidase(β-D-galactoside galactohydrolase ; EC 3.2.1.23)의 정량

BAAG가 미생물의 세포막에 미치는 영향을 알아보기 위하여 세포를 파쇄하지 않고, toluene, chloroform과 BAAG 존재시에 균체의 β -galactosidase가 정량되는 거의 여부를 살펴보았다. 사용균주가 β -galactosidase를 가지고 있음은 IPTG(Isopropyl- β -D-thiogalactoside)X-gal(5-Bromo-4-chloro-3-indolyl- β -D-galactoside)을 함유한 배지에서 확인하였다. 변패된 원예산물에서 분리된 *E. coli* 및 *Pseudomonas syringae*를 영양배지에 접종한 뒤, 37°C에서 24시간 배양한 후, M9 medium으로 옮겨주고 600 nm에서 흡광도가 0.2~0.7이 되도록 배양한 다음, 0°C에서 방치하여 성장을 억제하였다. 배양액 0.5 ml에 같은 부피의 완충액을 가하고 10초간 잘 흔들어 toluene, 증류수, 황금추출물, chloroform을 같은 농도(500 μ g/ml)로 처리하고, 다시 10초간 세게 흔들어 주었다. Toluene제거를 위해 37°C에서 40분간 방치하고, 28°C에서 5분간 더 방치하고 ONPG(o-nitrophenyl- β -D-galactopyranoside, 4mg/ml)를 0.2 ml 첨가후 잘 흔들어 주고 약 20시간 동안 28°C에서 반응하였다. 1 M Na₂CO₃ 0.5 ml를 가하여 반응을 정지시킨 후, 원심분리하고 상등액의 흡광도를 420 nm에서 측정하였다. 증류수를 넣은 경우를 0으로 하고 toluene을 넣어준 경우를 100으로 하여 BAAG가 세포막에 미치는 영향을 비교하였다.

마. BAAG의 안전성검사

본 연구에서 수행된 천연항균제 BAAG는 광범위한 범위의 병원성 및 부패성 미생물에 대한 뚜렷한 항균성을 보이는 것으로 확인되었으며, 그 활용범위가 검토되고 있다. 이들 식물성 천연항균제는 항균제, 살균소독제, 식품보존료, 의약품, 수의약품 등으로 사용하기에 앞서 이 물질의 안전성 여부를 검사할 필요가 있다는 것은 당연하다. 따라서 본 연구에서는 항균력이 탁월한 BAAG의 안전성 검사를 이행하고자 우선 흰쥐를 대상으로 경구 투여시 BAAG의 급성 경구 독성 여부를 알아보려고 하였으며, 또한 토끼를 대상으로 피부와 눈에 대한 국소 독성 여부를 검사하였다.

1) 급성 경구 독성 시험

무게가 150-200 g 가량 되는 Sprague-Dawley계 흰쥐 60 마리를 1군당 암수 각각 5마리씩 6군으로 나누어, 1군부터 5군의 흰쥐에게 BAAG를 흰쥐 무게 1 kg 당 0.9 ml (1.0 mg), 1.9 ml (2.1 mg), 3.8 ml (4.3 mg), 7.5 ml (8.5 mg), 15.0 ml (17.0 mg)씩 위관(gastric tube)을 통해 각각 투여하였다. 제 6군은 대조군으로서 흰쥐 무게 1 kg 당 식염수 15.0 ml 씩을 투여하였다. 약물을 투여

하기 18 시간 전부터는 먹이를 주지 않았다. 약물을 투여한 후 흰쥐들을 암수 및 군별로 사육통에 넣고 실험동물사료를 주어 14 일간 사육하였다. 약물을 투여한 날은 흰쥐를 자주 관찰하여 죽거나 또는 이상한 몸의 자세, 이상한 꼬리의 위치, righting reflex의 소실, 무기력증, 경련, 진전(tremor), 행동의 변화, 수면, 타액 및 눈물 콧물 양의 변화, 배설물 성상의 변화, 먹이 소비량의 변화, 털의 일어섬 등과 같은 전신적인 독성 증상이 나타나는 가를 관찰하였다. 다음 날부터는 하루에 2번 이상 흰쥐를 관찰하였다. 8일 후에 살아남은 흰쥐들의 무게를 측정하였고, 14일 후에 살아 남은 흰쥐는 무게를 달고 희생시켜 마찬가지로 부검하고 주요 장기를 적출하여 현미경으로 관찰하였다. LD₅₀와 95 % confidence range는 Litchfield와 Wilcoxon의 방법으로 계산하였다.

2). 피부 자극 시험

무게가 2-3 kg 가량 되는 수컷 흰토끼 6마리의 등쪽 털을 모두 제거하고 약물을 도포할 부위 4 군데를 선정하였다. 그중 한 군데에 BAAG용액 0.5 ml를 떨어뜨리고 즉시 2.5×2.5 cm의 크기로 자른 가아제를 덮고 약물의 증발을 막기 위해 같은 크기의 비닐로 덮은 다음 테이프로 고정하였다. 또 한 군데는 주사 바늘로 긁어 피가 나지 않는 범위내에서 최대한 깊게 상처를 낸 뒤에 마찬가지로 BAAG용액을 도포하였다. 나머지 두 군데는 각각에 대한 대조군으로서 BAAG용액 대신 식염수를 도포하였다. 24시간 뒤에 비닐과 거즈를 제거하고 약물 도포 부위에 병변이 생겼는지, 생겼다면 얼마나 심한지를 관찰하였다. 그 후 14일간 사육하면서 매일 약물 도포 부위를 관찰하여 병변의 변화 양상을 관찰하였다. 피부 병변의 평가는 국립보건안전연구원 예규 제10호(1988년 10월 29일 제정) 의약품 등의 독성시험 기준에 의거하였다. 즉, 홍반에 대해서는 홍반이 전혀 없는 경우를 0점, 육안으로 겨우 식별할 정도의 아주 가벼운 홍반을 1점, 분명한 홍반을 2점, 약간 심한 홍반을 3점, 홍당 무색의 발적을 보이는 심한 홍반을 4점으로 하였다. 부종에 대해서는 부종이 전혀 없는 경우를 0 점, 육안으로 겨우 식별할 정도의 아주 가벼운 부종을 1 점, 뚜렷하게 부어올라서 병변부가 분명히 구별될 경우의 가벼운 부종을 2 점, 약 1 mm 정도 부어오르는 보통 정도의 부종을 3 점, 1 mm 이상 부어오르고 노출 부위 밖에까지 확장된 상태의 심한 부종을 4 점으로 하였다.

3) 안점막 자극 시험

무게가 2-3 kg 가량 되는 흰토끼 9마리 중 6마리의 우측 눈에 BAAG용액 0.1 ml씩 떨어뜨린 후 매일 관찰하여 어떠한 병변이 얼마나 심하게 생겼는지

를 평가하였다. 좌측 눈은 대조군으로 사용하였다. 나머지 3마리의 우측 눈에도 BAAG용액 0.1 ml 떨어뜨린 다음 20-30초 후 미온수로 1분간 세척하고 마찬가지로 방법으로 관찰하였다. 병변의 평가는 국립보건안전연구원 예규 제10호 의약품 등의 독성시험 기준에 의거하였다. 즉, 각막 혼탁의 정도에 대해서는 화농이나 혼탁이 없는 경우를 0, 분산 또는 밀집된 혼탁이 있으나 홍채의 말단이 명확히 관찰되는 경우를 1, 반투명한 부분이 쉽게 관측되며 홍채의 말단이 약간 불명확한 경우를 2, 각막이 진주빛이며 홍채의 말단이 관찰되지 않고 동공의 크기가 가까스로 관측되는 정도를 3, 각막이 불투명하여 홍채가 관찰되지 않는 경우를 4로 하고, 혼탁된 각막의 범위에 대해서는 1/4 이하를 1, 1/4 이상 1/2 미만을 2, 1/2 이상 3/4 미만을 3, 3/4 이상을 4로 하여, 각막 혼탁의 정도를 A, 혼탁의 범위를 B로 할때 각막의 병변을 $A \times B \times 5$ 로 점수화 하였다. 홍채에 대해서는 정상을 0, 현저한 주름이나 충혈, 종창이 있으나 빛에 대한 반응은 있는 경우를 1, 출혈이나 심한 파괴가 관찰되거나 빛에 대한 반응이 없는 경우를 2로 하여 여기에 5를 곱한 값을 홍채 병변의 점수로 하였다. 결막의 발적에 대해서는 발적이 없는 경우를 1, 몇몇 혈관이 명확히 충혈된 경우를 1, 넓은 심홍색 색조를 보이는 경우를 2, 넓은 선홍색으로 변한 경우를 3으로 하고, 결막의 부종에 대해서는 부종이 없는 경우를 0, 약간의 종창이 있는 경우를 1, 안검의 부분적 외전을 동반한 현저한 종창이 있는 경우를 2, 눈이 반쯤 감길 정도의 안검의 종창이 있는 경우를 3, 눈이 반 이상 감길 정도의 종창이 있는 경우를 4로 하고, 배출물에 대해서는 배출물이 없는 경우를 0, 약간의 배출물이 있는 경우를 1, 속눈썹과 눈꺼풀을 적시는 배출물이 있는 경우를 2, 눈 주위의 상당 부위를 적시는 배출물이 있는 경우를 3으로 하여, 발적의 정도를 A, 결막 부종의 정도를 B, 배출물의 정도를 C로 할때 결막의 병변을 $(A+B+C) \times 2$ 로 점수화 하였다. 눈에 대한 BAAG의 독성은 위와같이 계산된 각막, 홍채, 결막 병변의 점수를 모두 더한 값으로 하였다.

바. 항균활성물질의 분리 및 동정

항균력이 탁월한 BAAG로부터 항균활성물질을 column chromatography를 이용하여 순수하게 분리하고, NMR 및 Fast atomic bombardment(FAB)측정기에 의하여 항균활성물질의 화학구조를 다음과 같이 분리·동정하였다. 즉, syrup상인 BAAG 100g을 상온에서 메탄올 300ml로 3회 추출하여 메탄올 추출물을 얻었다. 이 추출물을 증류수 300ml에 현탁한 후, ethyl ether, ethyl acetate, n-butanol 순서로 각각 3회씩 분배·추출하여 ethyl ether 분획물, ethyl acetate 분획물, n-butanol 분획물을 얻었다. Ethyl ether 분획물을 silica

gel (70-230 mesh, Merck) column chromatography (petroleum ether/ethyl acetate=99 : 1 → 80 : 20, gradient)하여 3개의 소획분(FE1~FE3)을 얻었다. 분리된 분획중 항균력이 있는 소획분 FE1을 Sephadex LH 20을 사용한 column chromatography (CHCl₃/MeOH = 30 : 70)하여 Compound A를 분리하였다. ethyl acetate 분획물을 silica gel (70-230 mesh, Merck) column chromatography (CHCl₃/MeOH = 98 : 2 → 70 : 30, gradient)하여 4개의 소분획(FA1-FA4)을 얻었다. 분리된 분획중 항균력이 있는 소분획 FA2를 sephadex LH 20을 사용한 column chromatography (CHCl₃/MeOH = 10 : 90)하여 Compound B를 분리하였다. 분리된 Compound A와 B의 구조분석을 위해 ¹H 및 ¹³C NMR 스펙트럼을 실온에서 특정하였다. 기기로는 Bruker DRX500 (500MHz)를 사용하였으며 TMS를 기준물질로 사용하였다. 한편, 기존의 저분해능 질량분석이 분자량 측정에 머무는 반면, 고분해능 질량분석은 최근 기술발달에 의해, 질량분석으로 화합물의 분자식 조성이 가능해 짐에 따라 분자식을 확인할 수 있는 강력한 방법으로 평가받는다. 따라서 본 연구에서는 다양한 이온화 방법을 이용하여 Compound A와 B의 질량분석을 시도한 결과, FAB(Fast Atomic Bombardment; 빠른-원자 포격) 방식을 이용하였을 때 어미이온의 피크를 얻을 수 있었고, 고분해능 방법으로 분석을 하여 NMR 분석결과와의 상응성을 확인하여 활성물질을 동정하였다.

3. 결과 및 고찰

천연항균소재의 탐색을 위해서 먼저, 식물성 천연 항균물질과 개발과정 중에 있거나 상품화되어 있는 천연항균제를 대상으로 항균특성을 검토하여, 뚜렷한 항균작용 또는 항진균작용이 있는 것들을 선별하여 과채류의 선도유지용 천연항균소재로 선발하였다. 동시에 과채류 저장 중에 오염되어 과채류의 변패에 관여하는 부패미생물을 분리, 동정하거나 분양받아 표준공시균주로 사용하고, 그들의 생육조건에 적합한 생육배지를 선정하여 배양, 증식시켜 천연항균소재의 항균실험을 실시한 후, 가장 우수한 항균력을 나타내는 항균소재를 본과제의 최우선 후보물질로 결정하여 실험을 진행하였다. 이상에서 진행된 연구내용을 정리하면 다음과 같다.

가. 식물성 천연항균제의 선정 및 항균작용

1) 천연항균소재의 항균성 시험

식물성 천연항균소재(Botanical antimicrobial agent : BAA)의 항균력을 측정하기 위하여 공시균주에 대하여 BAA의 농도를 0, 250, 500, 1000 µg/ml으로 달리하여 측정하였다. 본 실험시료로 선택한 BAA중 넓은 영역의 변패미생물에 대하여 항균력이 뛰어난 것은 치자, 마두령, 대황, 황금, 치자, 황련, 호장, 정향 등으로 나타났으며, 감초와 적작약도 약간의 항균력을 보였다. 이들중, BAAG의 항균력이 탁월하여 paper disk법에 의하여 얻어진 결과에서 가장 큰 생육억제저해환을 보여 주었다. 아울러 이들은 공시균주에 대해서는 농도에 비례하여 항균력이 증가하는 것을 알 수 있었다.

Table 1-1. Inhibitory effect of natural antimicrobial agents against the growth of microorganisms related to the putrefaction of *Kimchi* products

Botanical antimicrobial agent	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Escherchia coli</i>	<i>Lactobaiillus plantarum</i>	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>
<i>Rheum palmatum</i> L. (大黃)	+	++	+	+
<i>Scutellariae radix</i> (黃芩)	+	+	+	+
<i>Gardenia jasminoides</i> (梔子)	+	+	+	-
<i>Coptis chinensis</i> Franch (黃蓮)	++	+	+	-
<i>Polygonum cuspidatum</i> Sieb. et Zucc.(虎杖)	+	+	-	-
<i>Aristolochia contorta</i> Bge.(馬兜鈴)	+	+	-	+
<i>Syzyrium aromaticum</i> (L.) Merr. et Perry (丁香)	+	+	+	+
BAAG*	++	++	+	++
Lysozyme	++	-	-	-
Bacteriocin	++	+	-	-

* Botanical antimicrobial agent-citrus product

++ : very effective, + : effective, - : not effective

2) BAAG의 생육 저해 적정 농도 측정시험

BAA의 항균력 시험에서 항균력이 우수한 것으로 입증된 BAAG를 선택하여 membrane filter(0.2 μm)로 제균시키고, tryptic soy broth(TSB)에 BAAG를 여러 가지 농도(50, 100, 250, 500, 1000 $\mu\text{g/ml}$)단위로 첨가한 후, 각 공시균주의 slant에서 배양된 균주 1백금을 취하여 10 ml TSB에 접종, 30 $^{\circ}\text{C}$ 에서 24시간 동안 배양시키고, 이 배양액 0.1 ml를 취해 다시 10 ml TSB에 접종하여 30 $^{\circ}\text{C}$ 에서 24시간 동안 배양한 배양액 0.1 ml를 여러 농도(50, 100, 250, 500, 1000 $\mu\text{g/ml}$)의 BAAG가 함유된 TSB에 접종한후 배양하였다. BAAG의 첨가 농도별 항균효과는 미생물의 생육정도를 spectrometer(620 nm)로 흡광도를 측정, 비교하고 천연항균소재인 BAAG를 넣은 TSB를 blank로 사용하였다. 공시균주에 대하여 BAAG의 생육억제를 확인하기 위하여 생육저해 농도곡선을 측정하였다. 이 결과, Fig. 1-1, Fig. 1-2 및 Fig. 1-3에서 보는 바와 같이 대부분의 과채류 변패미생물들이 100-500 $\mu\text{g/ml}$ 이상의 BAAG농도에서 거의 생육이 억제되는 것으로 나타났다.

3) BAAG의 열 및 pH 안정성검사

Paper disc method에 의하여 BAA의 항균성을 측정하여 항균력이 가장 우수한 BAAG를 대상으로 열 및 pH 안정성을 검토하였다. 열 안정성을 측정하기 위하여 40, 60, 80, 100, 120, 150 $^{\circ}\text{C}$ 까지 30분 동안 열처리한 후, 처리온도별로 BAAG를 1000 $\mu\text{g/ml}$ 농도가 되게한 다음, Gram 양성균, Gram 음성균, 곰팡이 및 효모 분류에 해당되는 각각의 공시균주를 이용하여 항균력 시험 방법과 동일하게 생육저해환을 비교, 측정하였다. 또한 pH 안정성을 측정하기 위하여, buffer solution으로 BAAG의 pH를 4, 6, 7, 8, 10으로 조정한 후, 37 $^{\circ}\text{C}$ 에서 1시간 방치한 다음, 다시 pH 7로 중화시켜 열안정성 시험과 같은 방법으로 생육저해 환을 측정하였다. 그 결과, BAAG는 Gram 양성균, Gram 음성균, Mold 및 Yeast 등 폭넓은 미생물영역에 대하여 넓은 범위의 처리온도(Fig. 1-4)와 pH(Fig. 1-5)에서 뚜렷한 항균력을 보임으로써 열과 pH에 안정한 것으로 나타났다.

나. BAAG가 변패미생물의 생리학적 및 세포 형태학적 특성에 미치는 영향

1) 식물성 천연항균소재인 BAAG가 에너지 생성대사관련 효소 활성화에 미

치는 영향

BAAG의 첨가배지상에서 미생물세포의 생육이 크게 억제된다는 실험결과를 토대로, 미생물에 대한 항균작용의 방식을 알아 보고자, *Enterobacter pyrinus*를 배양하여 분리한 여러 가지 효소 활성화에 미치는 영향을 조사하였다. 특히 에너지 대사와 관련된 효소들에 대한 영향을 살펴보기 위하여 여러가지 대사 경로에서 주요한 역할을 하는 효소인, hexokinase, glucose 6-phosphate dehydrogenase, malate dehydrogenase와 succinate dehydrogenase에 대한 영향을 살펴 보았다. 이중 hexokinase의 활성화는 glucose-6-phosphate dehydrogenase를 이용하여 coupling assay method를 사용하므로, 먼저 glucose-6-phosphate dehydrogenase에 대한 BAAG의 효과를 살펴보았다. BAAG를 각각 효소반응시 농도를 달리하여 첨가한 후 효소활성을 측정하였다. 대조구로는 이들 물질을 첨가하지 않고, 정상적인 효소활성을 나타내는 것을 사용하였으며 효소에 미치는 영향은 대조구에 대한 각 효소반응의 비율로 결정하였다. Table 1-2에서 보는 바와 같이, 미생물 에너지대사 관련 효소 중, glucose-6-phosphate dehydrogenase의 활성화는 BAAG의 최종농도가 0.01%와 0.1%에서 각각 약간의 효소활성 억제되었으나, 유의성은 없었다. succinate dehydrogenase 및 hexokinase 효소활성은 BAAG의 최종농도가 0.01%와 0.1%에서 각각 대조구에 비하여 93%와 88%, 92%와 83%로 나타나 약간의 효소활성 억제작용을 관찰할 수 있었다. malate dehydrogenase 효소활성의 경우, 추출물의 최종농도가 0.01%와 0.1%에서 각각 효소활성이 유의성 있는 억제효과를 보이지 않았으며, 전반적으로 에너지 생성대사에 미치는 BAAG의 뚜렷한 효소활성 억제효과는 예상할 수 없었다. 이 결과로 BAAG가 일부 에너지 생성대사의 효소활성에 영향을 미치는 것으로 나타났으나, BAAG가 세포내로 침투하는가의 여부와는 상관없이 일부 효소의 활성을 부분적으로 억제하는 것으로 미루어 보아 세포내 대사를 억제하는 것을 확인하기 위해서는 추가적인 실험 결과가 수반되어야 할 것으로 생각되었다.

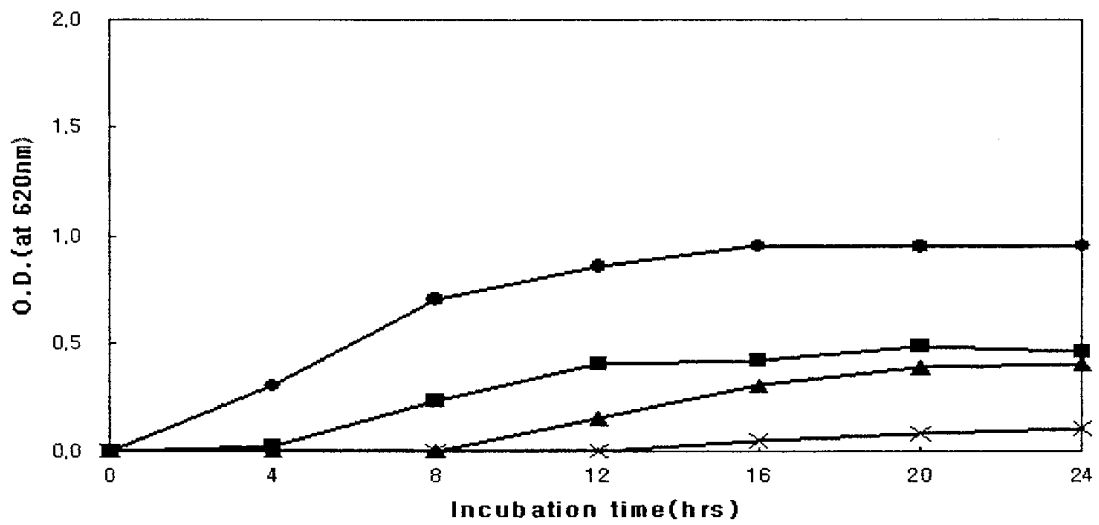
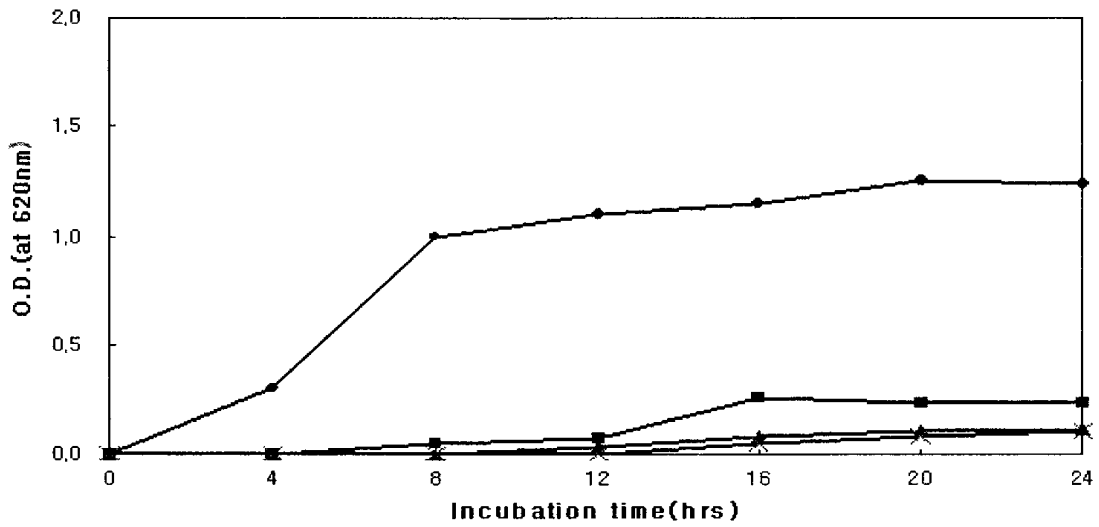


Fig. 1-1. Growth curves of *Fusarium solani*(Top) and *Botrytis cinerea*(Bottom) in the medium containing botanical antimicrobial agent-grapefruit seed extract(BAAG).

●: Control, ■: 100 μl/ml of BAAG
 ▲: 250 μl/ml of BAAG, ×: 500 μl/ml of BAAG.

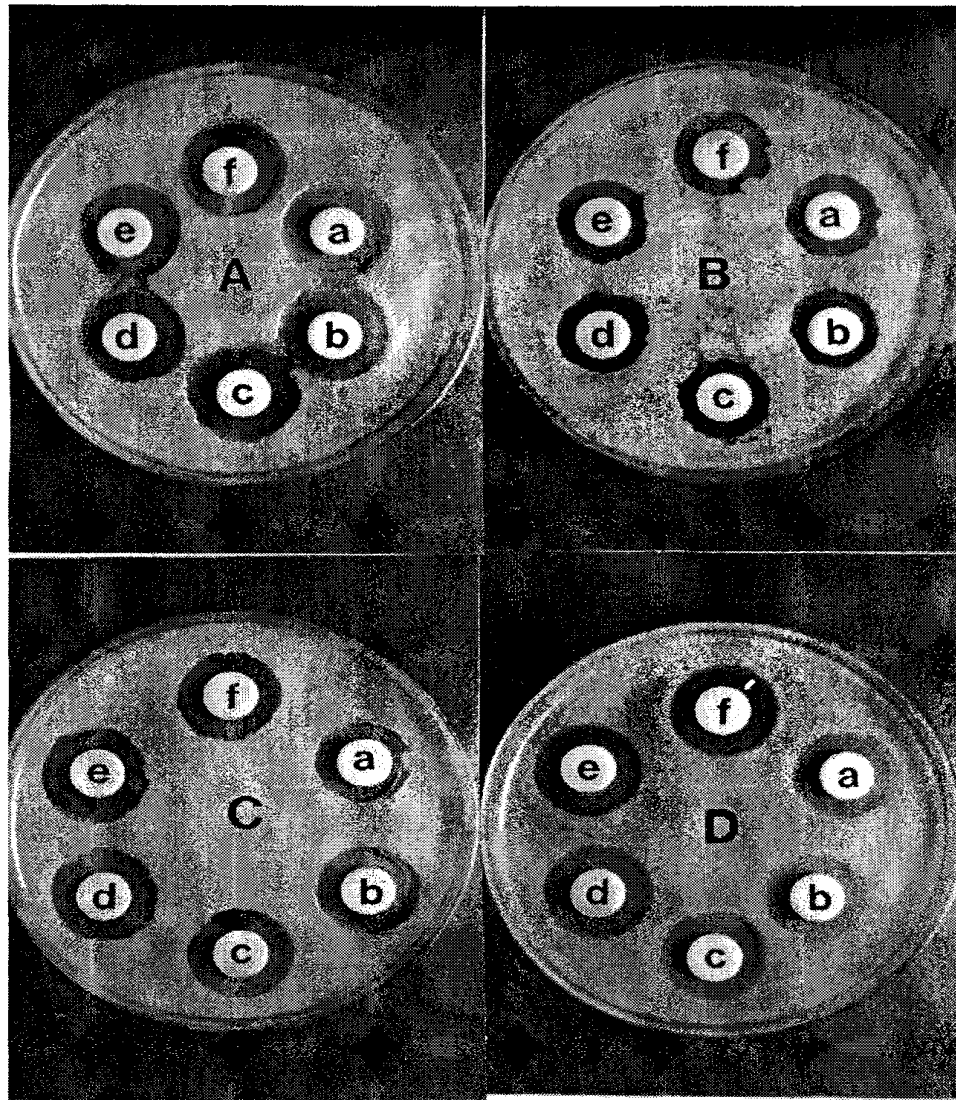


Fig. 1-4. Thermal stability of grapefruit seed extract mixed with lactic acid and citric acid (BAAG) against the growth inhibition of microorganisms.

A : *Staphylococcus aureus* B : *Salmonella choleraesuis*

C : *Aspergillus oryzae* D : *Candida albicans*

(a : 40°C, b : 60°C, c : 80°C, d : 100°C, e : 120°C, f : 150°C)

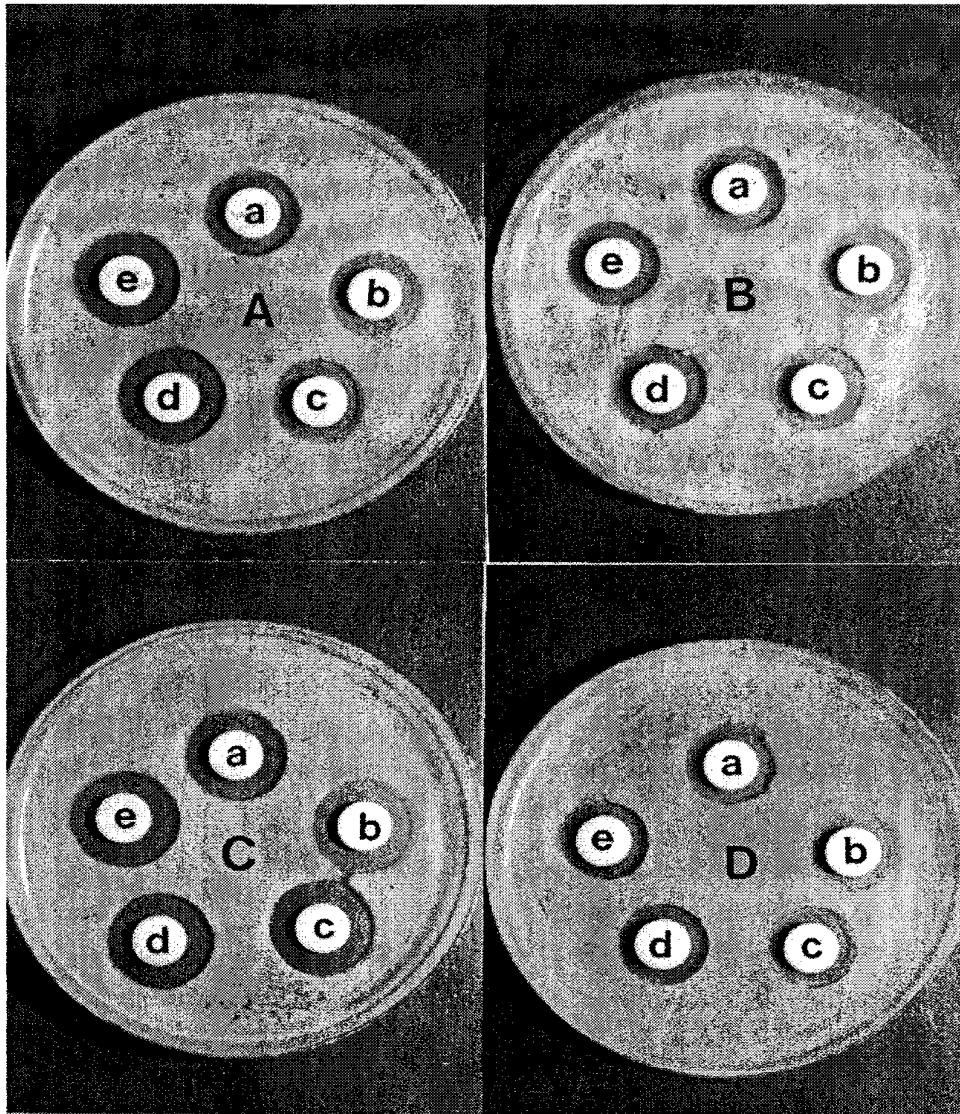


Fig. 1-5. pH stability of grapefruit seed extract mixed with lactic acid and citric acid(BAAG) against the growth inhibition of microorganisms.

A : *Staphylococcus aureus* B : *Salmonella choleraesuis*

C : *Aspergillus oryzae* D : *Candida albicans*

(a : pH 4, b : pH 6, c : pH 7, d : pH 8, e : pH 10)

Table 1-2. The relative activities of BAAG¹⁾ on various metabolic enzymes concerned with energy production

Treatment	Conc. (%)	Glucose-6-phosphate dehydrogenase	Succinate dehydrogenase	Malate dehydrogenase	Hexokinase
CONTROL		100	100	100	100
BAAG	0.01	95	93	98	92
BAAG	0.1	94	88	99	83

¹⁾ Botanical antimicrobial agent-grapefruit seed extract mixture

* Enzymatic activities were represented as percentage assuming the control as 100.

2) 변패미생물의 세포막 기능에 미치는 BAAG의 처리효과

BAAG를 세포에 처리하였을 때, 세포막에 영향을 주는가를 알아보기 위하여 BAAG의 존재하에서 *E. coli*의 세포내 β -galactosidase의 활성을 측정하였다. *E. coli*가 β -galactosidase를 생성하는가를 알아보기 위하여 IPTG와 X-gal을 가하여 준 배지에서 배양하여 파란색 colony가 발현으로 이 효소의 활성을 확인할 수 있었다. 이어서, 세포를 배양한 후, ONPG와 세포 혼합액에 증류수, toluene, chloroform, BAAG(0.05% 및 0.1%)를 가하여 주었다. 측정하고자 하는 효소 β -galactosidase가 배양세포내에 존재하므로 BAAG가 세포막에 영향을 주어 세포막이 손상을 받아 β -galactosidase가 세포 밖으로 유출이 되어, toluene을 가하여 준 대조군에서 처럼 효소 활성이 검출되었다. Fig. 1-6에 나타낸 바와 같이, 증류수를 가해준 대조군에서의 값을 0으로하고 toluene을 가하여 준 대조군을 100으로 하였을 때, BAAG 0.05%의 경우 62%, BAAG 0.1%의 경우 93%의 활성이 검출되었다. Chloroform을 가하여 세포막을 손상하여 얻은 값이 10%였는데 이를 토대로 보면, BAAG는 chloroform보다 세포막을 더 손상 시키는 것으로 판단 되었다. 이 결과의 양상과 세포 성장 억제 효과의 결과는 잘 일치하였으며, BAAG의 항균작용은 에너지 생성대사의 억제

를 유발하는 효과라기보다는 미생물의 세포막 기능에 손상을 주는 인자에 기인하는 것으로 생각되었다.

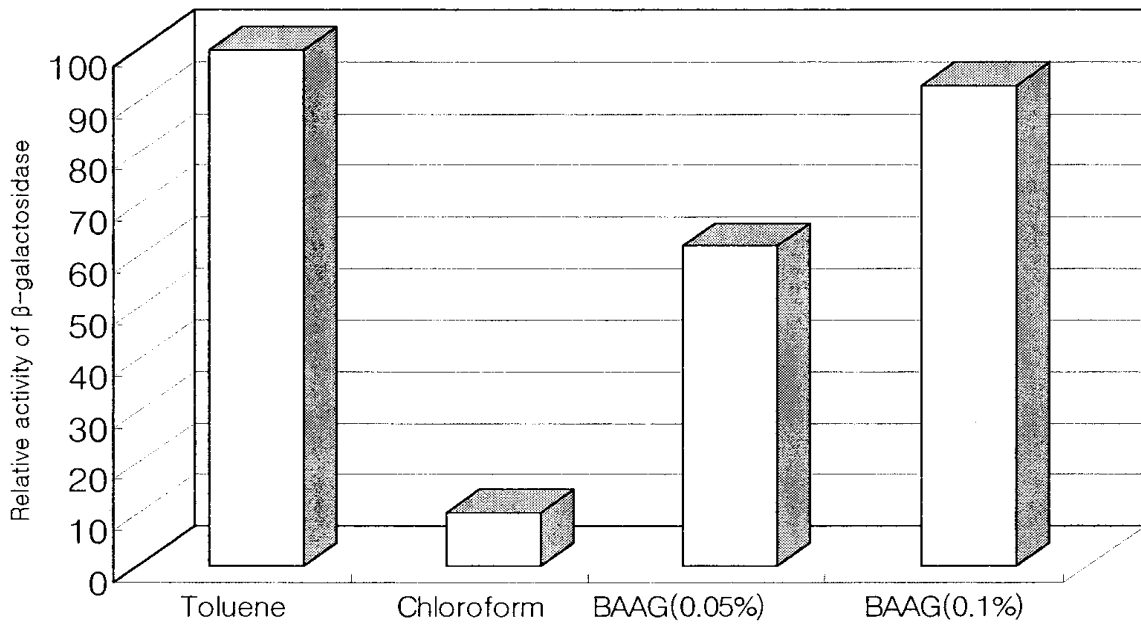


Fig. 1-6. The effect of BAAG on the membrane pertubation of *Escherchia coli*.: The cells were treated with the reagents including toluene, chloroform, BAAG(0.05% or 0.1%) in the media containing ONPG as substrate for β -galactosidase.

3) 전자현미경을 이용한 미생물의 세포형태변화

BAAG의 미생물세포 생리특성에 미치는 영향을 조사하기 위하여 국립보건원으로부터 구입 또는 분양받거나, 경상대학교 식품공학과에 보관중인 *Listeria monocytogenes* 및 *Fusarium sp.* 균체세포를 500 μ g/mL의 BAAG용액으로 처리한 균체세포 및 포자를 처리하지 않은 대조구와 함께 전자현미경

검경시료로 조제하여 SEM으로 촬영한 결과는 Fig. 1-7 및 Fig. 1-7과 같다. 즉, SEM에 의한 시료촬영결과에서 BAAG처리로 미생물 군체가 세포벽 또는 세포막의 기능파괴로 인하여 세포형태의 변화가 뚜렷하게 발생하고, 사멸하게 되어 미생물 군체세포에 대한 BAAG의 항균작용을 확인할 수 있었고, 부패성 및 병원성 균주오염 가능성이 있는 식품을 BAAG로 예방처리함으로써 변패성 미생물균주에 의한 농축수산 식품원료 및 그 가공식품의 변패현상을 억제할 수 있을 것으로 생각된다.

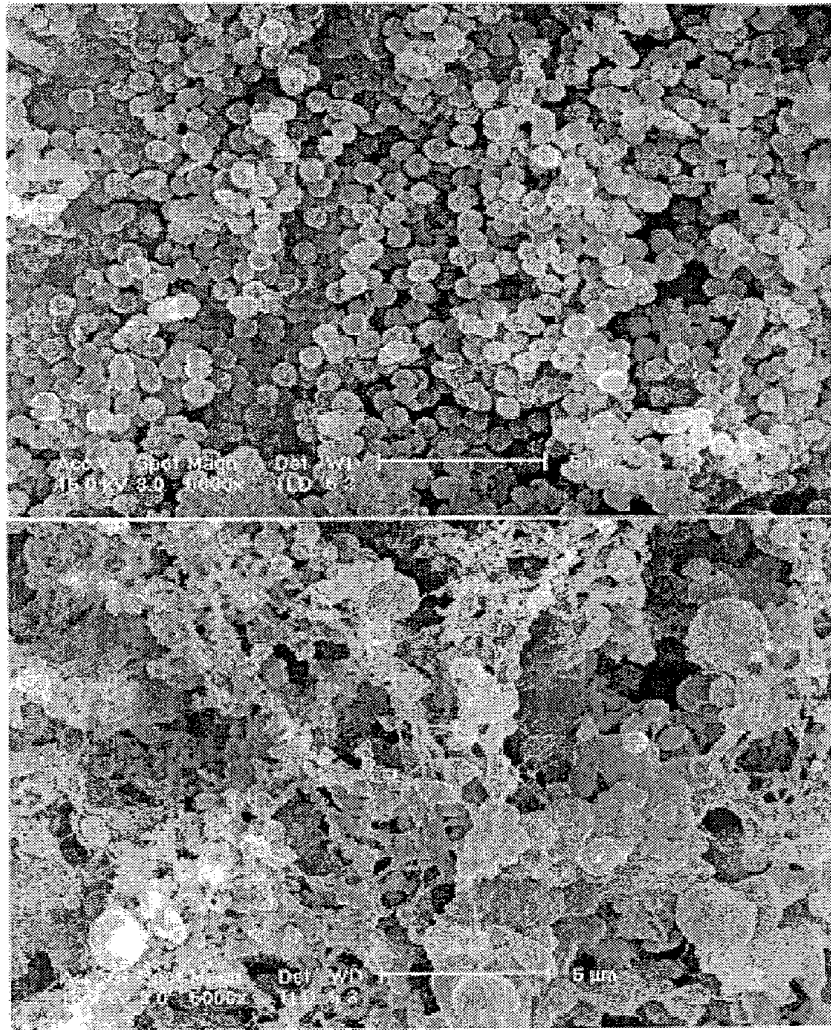


Fig. 1-7. Scanning electron micrographs of *Listeria monocytogenes* not-treated(Top : Control) and treated with BAAG(Bottom : 250 μg/mL).

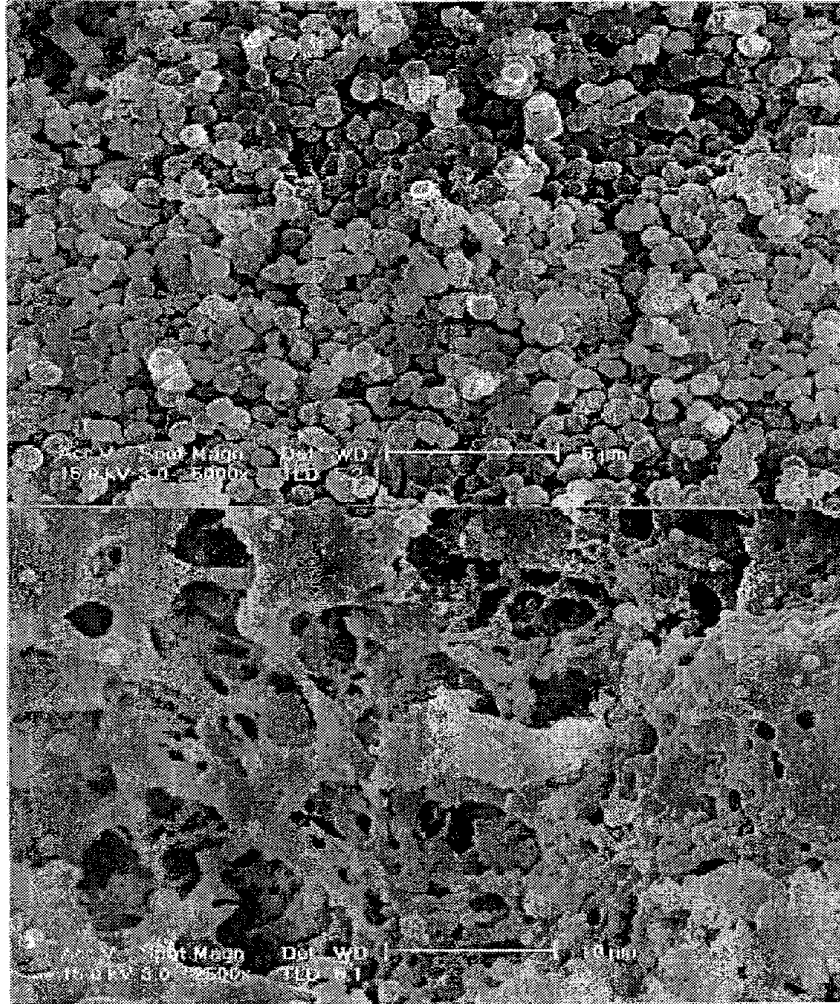


Fig. 1-8. Scanning electron micrographs of *Fusarium* sp. not-treated(Top : Control) and treated with BAAG(Bottom : 250 µg/mL).

다. BAAG의 안전성

1) 급성 경구 독성 시험

BAAG를 투여하였을때 2주일 동안의 흰쥐의 치사율은 Table 1-3과 같으며 이를 근거로 계산한 50% 치사량 (LD₅₀) 은 3.35 mL/kg 이며 95% 신뢰 한계는 2.28-4.93 mL/kg 이었다. BAAG의 비중은 1.24이므로 이를 무게로 환산하면 LD₅₀ 는 3.75 g/kg 이며 95 % 신뢰 한계는 2.55-5.52 g/kg 이다. 죽은 흰쥐

의 수는 암컷이 13마리, 수컷이 14마리로 암수의 차이는 없었다. 죽은 흰쥐는 모두 BAAG를 투여한 후 3 일 이내에 죽었고, 설사를 하였으며, 무기력하였고, 먹이를 먹지 않았다. 살아남은 흰쥐들의 행동은 정상이었으며, 14일 후 희생시켜 부검한 결과 육안적 병변은 관찰되지 않았다. BAAG 0.9 mL/kg을 투여한 군의 흰쥐의 무게는 실험 시작시 평균 193.5 g 이었고, 8일에는 228 g (17.8 % 증가), 14일에는 240 g (8일에 비해 5.3 % 증가) 이었으며, 1.9 mL/kg을 투여한 군의 살아남은 흰쥐 9 마리의 무게는 실험 시작시 평균 178.9 g이었고, 8일에는 206.5 g (15.4 % 증가), 14일에는 216.1 g (8일에 비해 4.8 % 증가)이었다. BAAG 3.8 mL/kg을 투여한 군의 살아남은 흰쥐 4 마리의 무게는 실험 시작시 평균 182.8 g 이었고, 8일에는 181.7 g (0.6 % 감소) 이었으며, 14일에는 196.8 g(8일에 비해 8.3 % 증가)이었다. 죽은 흰쥐의 무게는 실험 시작시 평균 176.8 g이었으며, 죽었을때의 무게는 평균 166.7 g이었다.

Table 3. The mortality rates of rats during the 14-day observation period with administration of botanical antimicrobial agent, grapefruit seed extract mixture(BAAG)

Dose (mL/kg)	Time of death								
	Hours			Days					
	3.5	4	1	2	3	4	5	6	7-14
0.9	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
1.9	0/10	0/10	1/10	1/10	1/10	1/10	1/10	1/10	1/10
3.8	0/10	0/10	4/10	4/10	6/10	6/10	6/10	6/10	6/10
7.5	0/10	0/10	9/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10
15.0	2/10	3/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10

* Values are number of animals dead/number of animals tested, cumulative

2) 피부 자극 시험

흰토끼의 피부에 BAAG를 도포하고 1, 3, 7, 14일 후에 관찰한 결과는 Table 1-4와 같다. 즉, 피부에 생긴 병변의 심한 정도는 정상 피부와 찰과상을

입힌 피부에서 같았으며, BAAG를 도포한 후 1일째의 홍반 점수는 평균 2.67 (총 가능 점수 4.0)이었고, 3일째는 2.0, 7일 이후에는 1.0 이었다. 부종 점수는 1일 부터 7일까지 평균 0.17 (총 가능 점수 4.0) 이었으며, 14일에는 0 이었다. 7일 이후부터는 크기가 약 0.5 cm 정도 되는 불규칙하나 주위와의 경계가 뚜렷한 표피 박탈이 생기기 시작하여 14일에는 모든 토끼에서 정상 또는 찰과상을 입힌 부위에 이러한 병변이 생겼다.

3) 안점막 자극 시험

흰토끼의 안점막에 BAAG를 점안한 후 1, 2, 3, 4, 7, 10, 13일에 관찰한 결과는 Table 1-5와 같다. 즉, BAAG를 점안한 후 1, 2, 3일째의 눈의 병변의 점수는 110 (총 가능 점수 110), 4일째는 평균 109.7, 7일째는 평균 108.7, 10일째는 평균 98.0, 13일째는 평균 87.7 이었다. BAAG를 점안한 후 20-30 초 후에 물로 세척한 군의 1, 2, 3, 4, 7, 10, 13일째의 눈의 병변의 점수는 각각 평균 105.0, 85.0, 83.7, 77.0, 51.3, 34.7, 20.0 이었다. BAAG 쥐에 투여했을 때의 50 % 치사량 (LD₅₀) 은 3.75 g/kg 으로 이는 국립보건안전연구원 예규 제 10호에 의한 저독성의 기준 5 g/kg 에 미치지 못하는 못하지만 비교적 저독성이라고 볼 수 있다. 다량의 BAAG를 쥐에 경구 투여했을 때 흰쥐가 죽는 원인은 탈수증이라고 생각된다. 왜냐하면 죽은 흰쥐 모두에서 설사가 관찰되었으며 죽었을 때의 몸무게가 실험 시작시에 비해 평균 10.1 g (5.7 %) 감소되었기 때문이다. 또한 육안 및 현미경 검사상 탈수증 이외에 사망의 원인이 될 만한 소견이 관찰되지 않았다. BAAG를 kg당 1.0 mg 또는 2.1 mg을 투여한 군에서의 2주일 동안의 몸무게의 증가는 정상적인 흰쥐의 성장 범위 내에 속한다고 생각된다. 반면 kg 당 4.3 mg을 투여한 군에서 살아남은 흰쥐의 무게는 제 8일에는 실험 시작시에 비해 0.6 % 감소하였는데 이는 BAAG가 직접 흰쥐의 성장에 영향을 미쳤다가 보다는 급성 독성에 의한 간접적인 영향으로 보인다.

왜냐하면 급성 독성의 영향이 사라진 것으로 생각되는 제 8일부터 14일까지 4.3 mg 를 투여한 군에서의 몸무게의 증가율은 1.0 mg 또는 2.1 mg를 투여한 군에서보다도 오히려 더 높았기 때문이다. BAAG를 흰토끼의 피부에 도포하였을 때의 병변의 정도는 홍반과 부종의 경우 총 가능 점수 4.0에 대해 제1일에 각각 2.67과 0.17로서 비교적 약하다고 생각된다. 또한 이러한 병변은 2주일 후에는 각각 1.0과 0으로 거의 사라졌다고 볼 수 있다. 제7일 이후부터 생기기 시작한 표피박탈의 병변은 BAAG자체의 독성에 의한 것인지 아니면 외상이나 감염 등에 의한 이차적인 병변인지 확실하지 않다. 흰토끼의 안점막에 BAAG를 점안했을 때의 병변은 총 가능 점수 110에 대해 제1일에 110으로 매우 심

하였으며 13일에도 87.7로서 심한 편이었다. BAAG를 점안한 후 물로 세척한 경우에도 13일까지 병변이 계속 관찰되었으나 세척하지 않은 경우에 비해 병변의 정도가 훨씬 덜 하였다. 따라서 BAAG는 눈에 대한 자극성이 있으므로 BAAG가 눈에 들어갔을 때에는 즉시 물로 씻어 주는 편이 좋을 것이다. BAAG를 흰쥐에 경구 투여했을 때의 50% 치사량 (LD₅₀) 은 3.75 g/kg 이었으며, BAAG의 흰토끼의 피부에 대한 독성 또한 약한 편으로 BAAG는 비교적 안전한 천연추출물로 판단할 수 있는 것으로 나타났다.

Table 1-4. Primary irritation scores in rabbits following a patch application of botanical antimicrobial agent, grapefruit seed extract mixture (BAAG)

	Time (day)	Rabbit number						Average
		1	2	3	4	5	6	
<u>Erythema</u>								
Intact skin	1	3	3	3	2	3	2	2.67
	3	2	2	2	2	2	2	2.0
	7	1	1	1*	1	1	1	1.0
	14	1	1*	1*	1*	1*	1	1.0
Abraded skin	1	3	3	3	2	3	2	2.67
	3	2	2	2	2	2	2	2.0
	7	1	1	1	1	1*	1	1.0
	14	1*	1	1	1*	1*	1*	1.0
<u>Edema</u>								
Intact skin	1	0	1	0	0	0	0	0.17
	3	0	1	0	0	0	0	0.17
	7	0	1	0	0	0	0	0.17
	14	0	0	0	0	0	0	0
Abraded skin	1	0	1	0	0	0	0	0.17
	3	0	1	0	0	0	0	0.17
	7	0	1	0	0	0	0	0.17
	14	0	0	0	0	0	0	0

* Epidermal defects

Table 1-5. Eye irritation scores in rabbits following application of botanical antimicrobial agent, grapefruit seed extract mixture(BAAG)

	Time (day)	Cornea		Iris	Conjunctiva			Total score
		Opacity	Area		Hyperemia	Swelling	Discharge	
Not washed group (n=6)	1	4.0	4.0	2.0	3.0	4.0	3.0	110.0
	2	4.0	4.0	2.0	3.0	4.0	3.0	110.0
	3	4.0	4.0	2.0	3.0	4.0	3.0	110.0
	4	4.0	4.0	2.0	3.0	4.0	2.83	109.7
	7	4.0	4.0	2.0	3.0	3.67	2.67	108.7
	10	3.67	4.0	2.0	2.33	2.83	2.17	98.0
	13	3.5	4.0	2.0	1.5	0.67	1.67	87.7
Washed group (n=3)	1	4.0	4.0	1.0	3.0	4.0	3.0	105.0
	2	3.0	4.0	1.0	3.0	4.0	3.0	85.0
	3	3.0	4.0	1.0	2.67	4.0	2.67	83.7
	4	2.67	4.0	1.0	2.67	4.0	2.67	77.0
	7	2.0	4.0	0.67	1.67	1.67	0.67	51.3
	10	1.67	4.0	0	0.67	0	0	34.7
	13	1.0	4.0	0	0	0	0	20.0

라. 항균활성물질의 구조동정

1) 분리된 Compound의 NMR에 의한 구조분석

가) Compound A의 구조동정

(1) 화합물 A의 1H-NMR 스펙트럼 해석

Fig. 1-9에서 보는 바와 같이 화합물 A의 1H-NMR 스펙트럼으로부터 모든 특성 공명선의 해석이 다음과 같이 가능하여 본 시료가 limonin임을 규명하였다. 먼저 limonin 분자의 4종류 메틸 수소 (CH₃) q, f, j 및 i는 1.12~1.24 ppm에서 각각 3H 면적의 단일선으로 얻어졌다. 5종류의 메틸렌 수소 (CH₂)중 o 및 p는 각각 1.43 및 1.35 ppm에서 다중선으로 나타났다. 그리고 나머지 3종류 메틸렌 수소인 m, l 및 g은 각각 상대적으로 저자장인 4.82, 2.82 및 2.45 ppm에서 2H 면적으로 얻어졌다. 이처럼 저자기장에서 신호가 나타난 이유는 인접한 산소(카르보닐 및 에테르)에 의한 벗김효과 (deshielding effect) 때문이다. 5종류의 메틴 수소(CH) 중에서 d, k 및 e은 각각 5.53, 4.28 및 3.15 ppm에서

1H 면적으로 얻어졌다. 그리고 나머지 두 메틴 수소인 h와 n은 각각 1.92 및 1.88 ppm에서 다중선으로 나타났다. 방향족 수소인 b, c 및 a는 각각 7.75, 7.65 및 6.51 ppm에서 1H 면적으로 나타났다.

(2) 화합물 A의 13C-NMR 스펙트럼 해석

Fig. 1-10에서 보는 바와 같이 화합물 A의 모든 탄소 공명선은 잘 해석되어져 1H-NMR의 해석 결과와 동일하게 limonin으로 규명되었다. 즉, 4종류의 메틸탄소 9, 14, 15 및 26는 17.87~21.78 ppm에서 4개의 피크로 얻어졌다. 또한 3종류의 카르보닐 탄소 중 5와 18은 화학적 환경이 동일하여 177.53 ppm에서, 10은 170.06 ppm에서 각각 얻어졌다. 4종류의 방향족 탄소 1, 2, 3 및 25는 각각 144.11, 142.49, 121.73 및 110.98 ppm에서 얻어졌다.

(3) DataBase로부터 얻은 표준물질의 스펙트럼

Sigma-Aldrich NMR DB로부터 얻은 Limonin 표준물질의 1H- 및 13C-NMR 스펙트럼은 Fig. 1-11과 같다. 이는 화합물 A에 대한 1H- (Fig. 9) 및 13C-NMR (Fig. 10) 스펙트럼과 잘 일치하였다

나) Compound B의 구조동정

(1) 화합물 B의 1H-NMR 스펙트럼 해석

Fig. 1-12에서 보는 바와 같이 화합물 B의 1H-NMR 스펙트럼으로부터 모든 특성 공명선의 해석이 다음과 같이 가능하여 본 시료가 Naringin임을 규명하였다. 먼저 Naringin 분자의 1종류의 메틸 수소(CH₃) k는 1.28 ppm에서 3H 면적의 삼중선으로 얻어졌다. 2종류의 메틸렌 수소(CH₂) a와 q는 각각 3.89, 3.60 ppm에서 나타났다. 9종류의 메틴 수소(CH) 중에서 b와 j는 각각 3.95, 3.81 ppm에서 나타났다. 그리고 h, d, g는 화학적 환경이 동일하여 3.70 ppm에서 다중선으로 나타났다. c, i, e는 각각 3.48, 3.41, 3.26 ppm에서 1H 면적의 다중선으로 나타났다. t, l, f는 상대적으로 저자장인 각각 5.49, 5.35, 5.18 ppm에서 1H 면적으로 나타났다. 3종류의 방향족 수소 n, r과 m, s 그리고 o, p는 각각 7.41, 6.90, 6.17 ppm에서 2H 면적의 다중선으로 나타났다

(2) 화합물 B의 13C-NMR 스펙트럼 해석

Fig. 13에서 보는 바와 같이 화합물 B의 모든 탄소 공명선은 잘 해석되어져 1H-NMR의 해석 결과와 동일하게 Naringin으로 규명되었다. 즉, 1종류의 카르보닐탄소가 197.95 ppm에서 얻어졌다. 그리고 1, 20, 5번 탄소가 각각 62.37,

43.35, 18.36 ppm에서 얻어졌다.

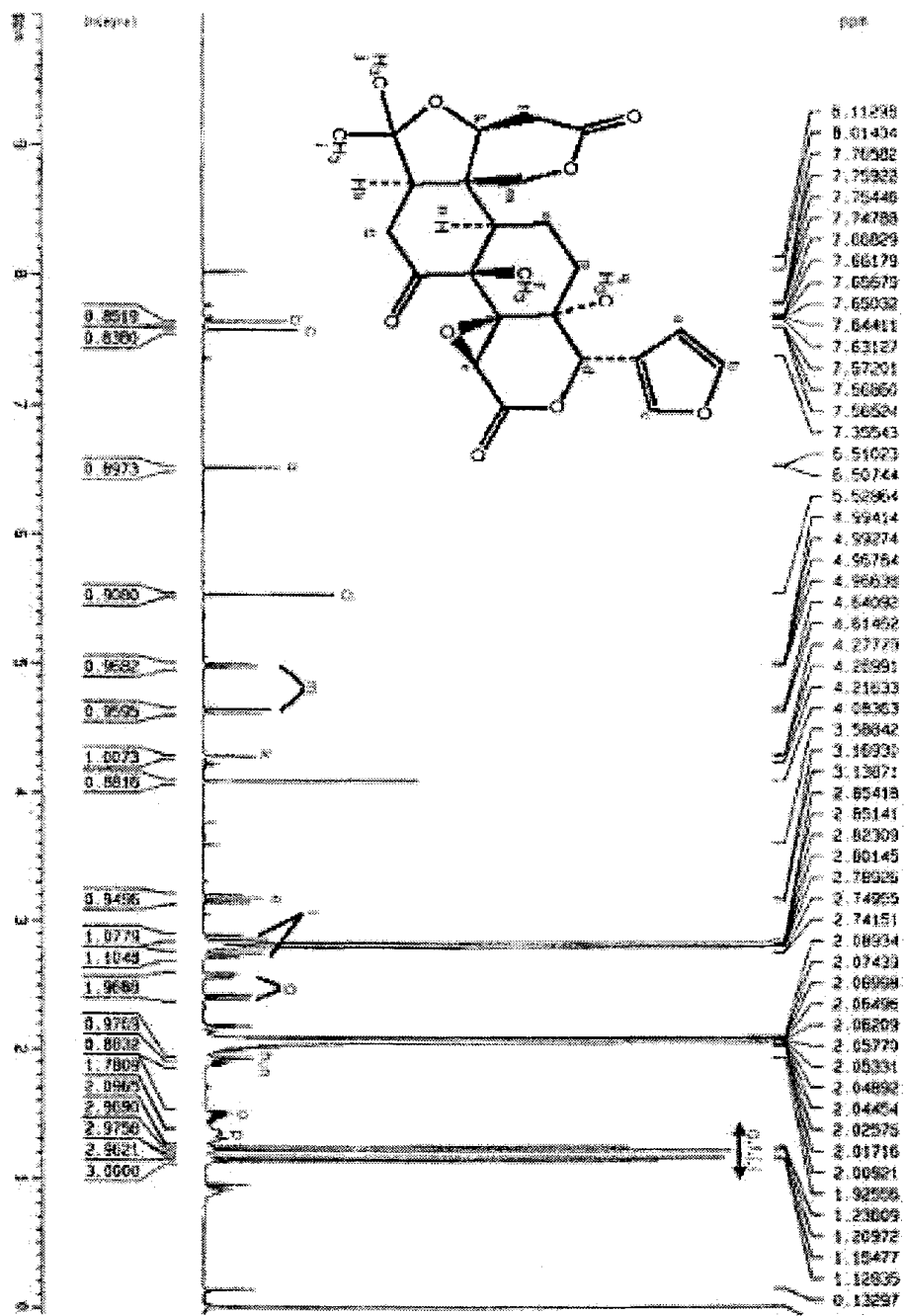


Fig. 1-9. 500 MHz $^1\text{H-NMR}$ spectrum of compound A in acetone- d_6 .

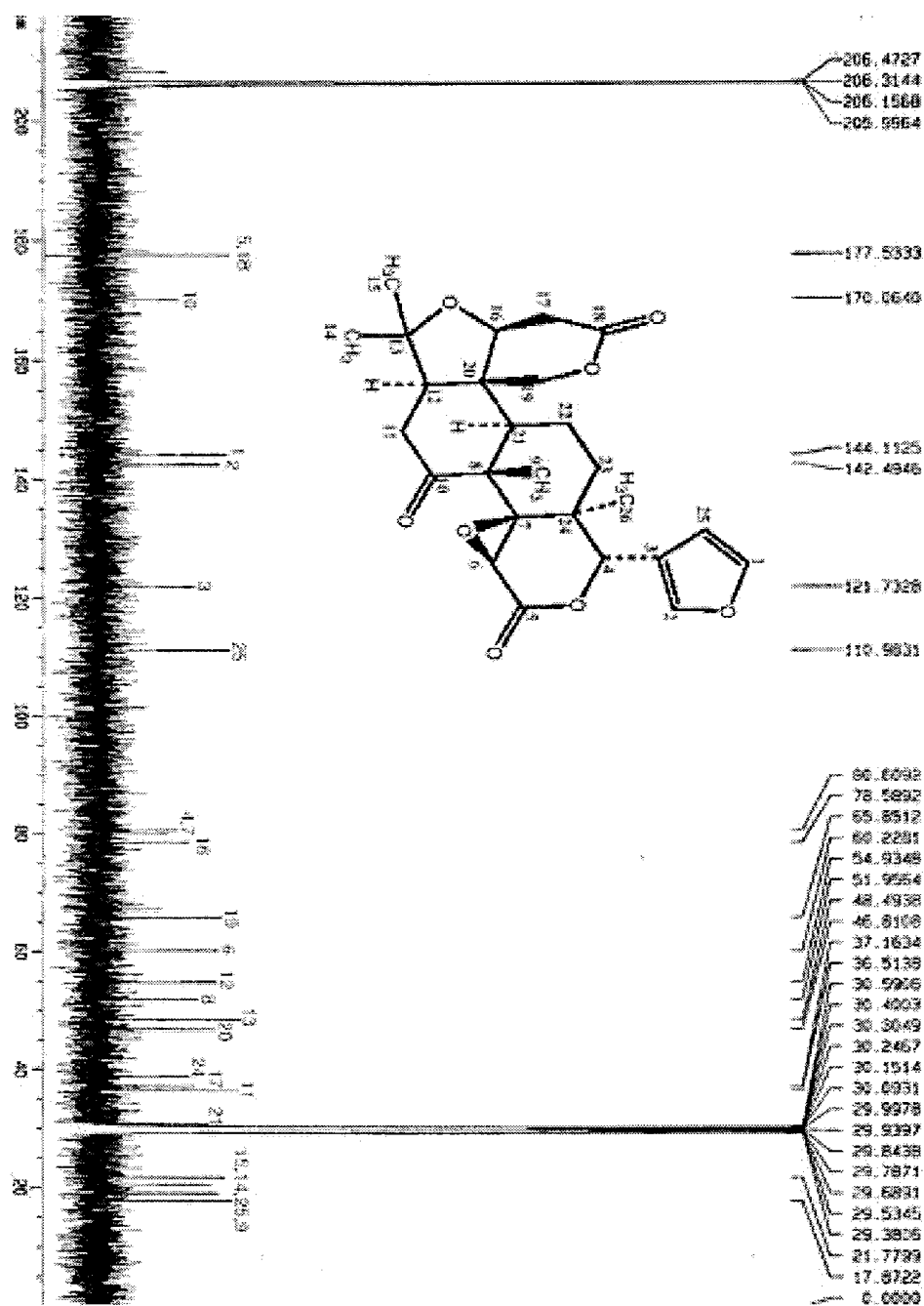


Fig. 1-10. 125 MHz ^{13}C -NMR spectrum of compound A in acetone- d_6 .

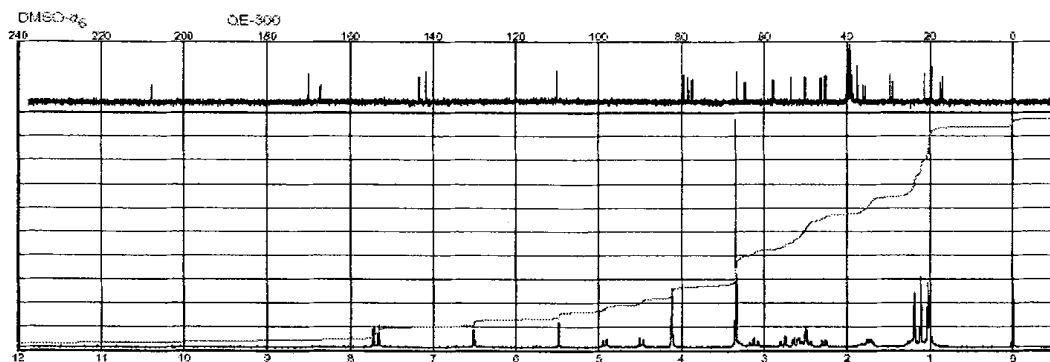


Fig. 1-11. ^1H - (bottom) and ^{13}C -NMR (top) spectra of limolin from Sigma- Aldrich DB.

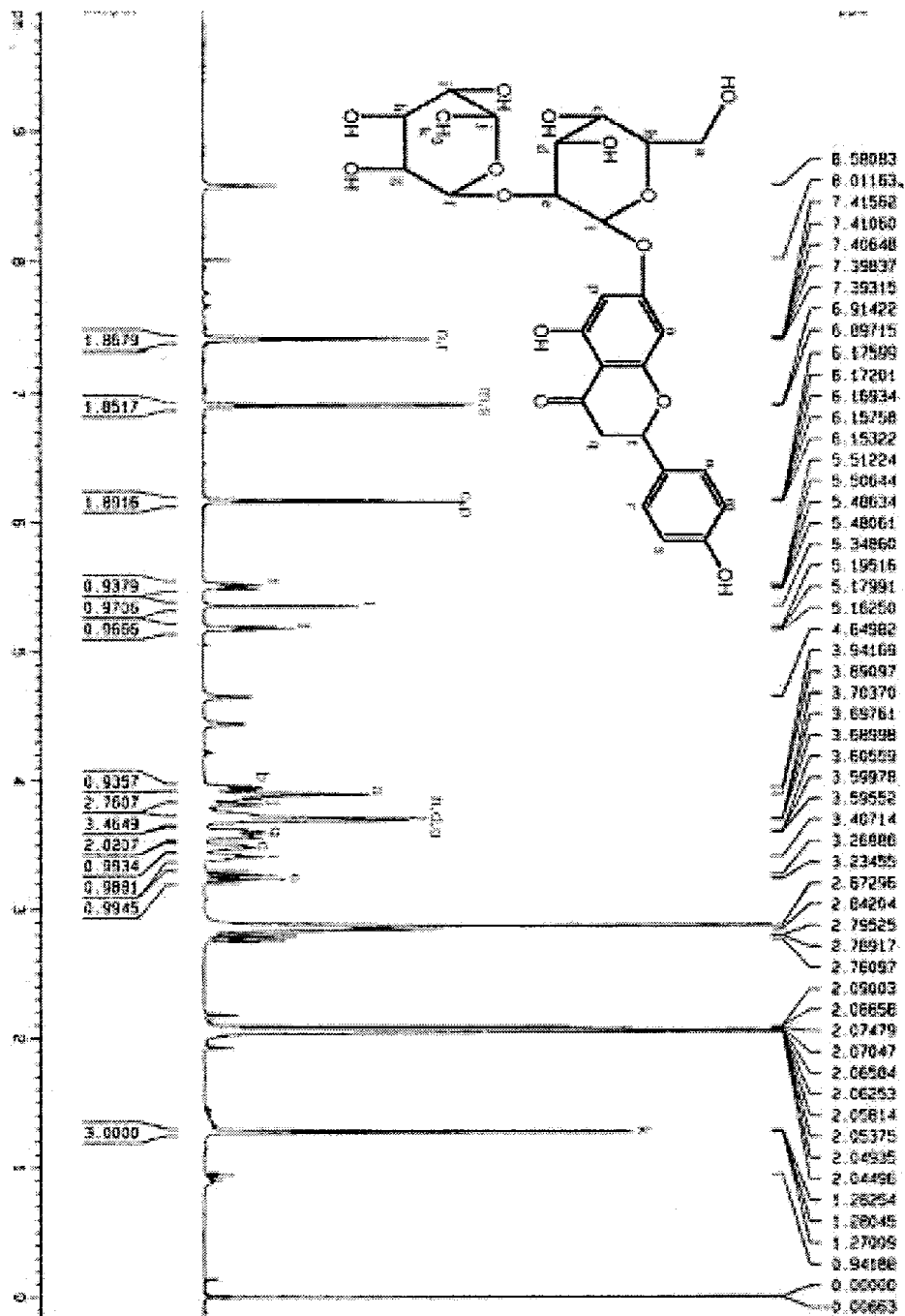


Fig. 1-12. 500 MHz ¹H-NMR spectrum of compound B in acetone-*d*₆.

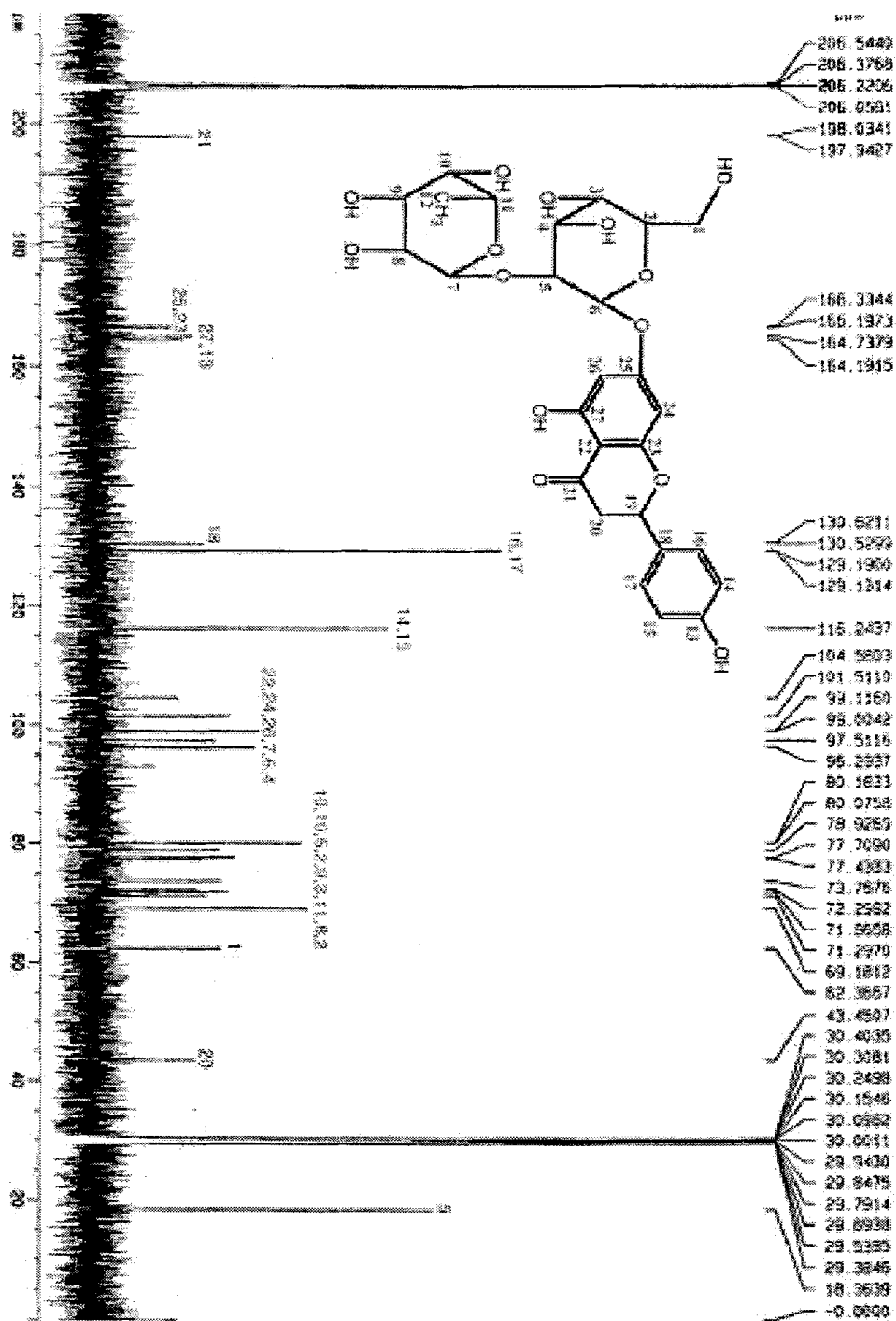


Fig. 1-13. 125 MHz ^{13}C -NMR spectrum of compound B in acetone- d_6 .

2) 분리된 Compound의 FAB에 의한 구조분석

가) Compound A의 구조동정

Compound A의 질량 분석 결과를 동위원소 패턴과 같이 Fig. 1-14에 나타내었다. 질량-대-전하비(m/z) 471.2025에서 Limonin의 조성식인 $C_{26}H_{30}O_8$ 에 해당하는 $M+H(C_{26}H_{31}O_8)$, 이론값: 471.2019, 실험오차: +1.2ppm) 피크가 관찰되었다. 동위원소 패턴 역시, 계산값과 실험값이 일치하였다. 따라서 Compound A는 Limonin으로 확인 되었다.

나) Compound B의 구조동정

Compound B의 질량 분석 결과를 동위원소 패턴과 같이 Fig. 1-15에 나타내었다. 질량-대-전하비(m/z) 581.1852에서 Naringin의 조성식인 $C_{27}H_{32}O_{14}$ 에 해당하는 $M+H(C_{27}H_{33}O_{14})$, 이론값: 581.1870, 실험오차: -3.1ppm) 피크가 관찰되었다. 화합물을 질량분석법으로 분석할 때, 어미 이온은 양전하를 가져야 검출이 가능하다. 이때 양전하를 가지는 방식으로 어미이온에서 전자를 한 개 떼어내는 방식(M^+)과, 수소원자 한 개가 어미분자에 붙는 방식($M+H$)이 있다. 동위원소 패턴을 확인한 결과, 계산값과 실험값이 일치함을 확인하였다. 따라서 시료 B는 Naringin으로 확인 되었다.

이상에서 보는 바와 같이, NMR 및 FAB의 분석결과, 분리된 화합물이 limonin과 naringin으로 공통적으로 확인, 동정되었다.

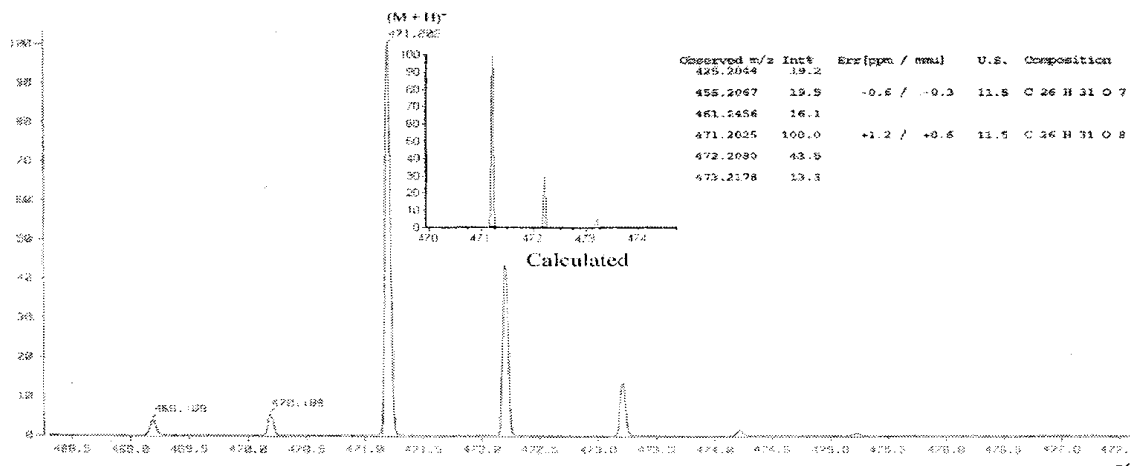


Fig. 1-14. Fast atomic bombardment spectrum of Compound A

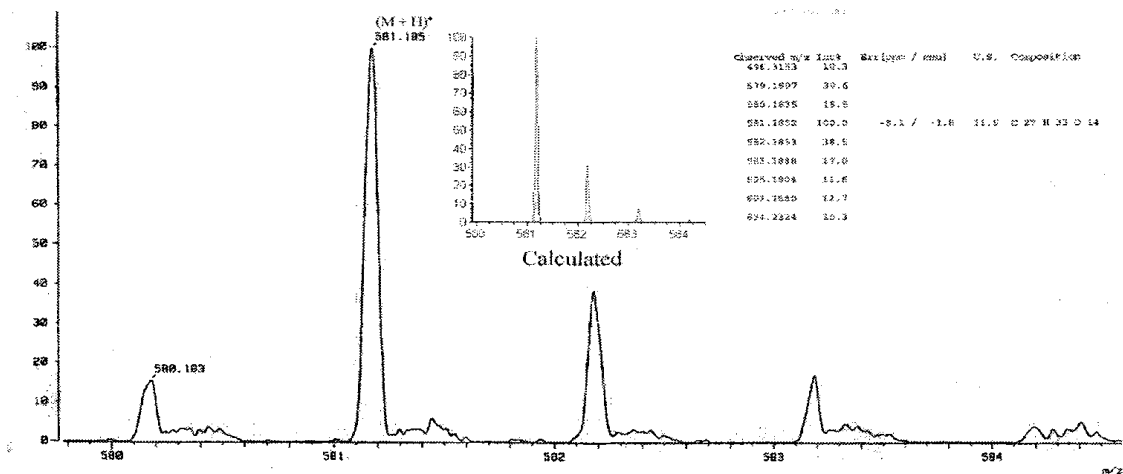


Fig. 1-15. Fast atomic bombardment spectrum of Compound B

4. 결 론

수확한 과채류의 선도유지를 위한 천연항균소재로 개발된 BAAG는 과채류 변패미생물인 Gram(+), Gram(-), Yeasts 및 곰팡이 등에 대해서 농도에 비례하여 우수한 항균효과를 보였으며, 생육저해곡선에서는 500ppm이상에서 미생물의 생육이 완전히 억제되는 것을 볼 수 있었다. 그리고 열 및 pH 안전성에 대해서도 열처리의 온도와 pH 범위에 관계없이 항균력을 보임으로써 열과 pH에 안정한 것으로 나타났다. 또한 항균력에 의한 미생물의 생태변화에 대한 전자현미경적 검사(SEM)에서도 항균물질이 미생물의 생리활성효소의 기능을 약화시켜 세포벽 또는 세포막을 파손하여 삼투기능이 상실됨으로 해서 미생물의 생리가 중단되고 생육이 억제되는 것을 볼 수 있으며, 균체 내부에 빈 ghost 형태의 균체들이 증대함을 알 수 있었다. 이와 같은 미생물의 세포막 생리기능 상실현상은 β -galactosidase 활성 변화에서도 확인될 수 있었다. 또한, BAAG의 안전성 시험결과, 흰쥐에 경구 투여하였을 때의 LD50값은 3.75g/kg이었으며, 흰토끼의 피부에 대한 독성 또한 약한 편으로 BAAG는 비교적 안전한 천연추출물로 판단할 수 있는 것으로 나타났다. 아울러, column chromatography를 이용하여 BAAG로부터 항균활성물질을 분리하고 NMR 및 Fast atomic bombardment측정기에 의해서 항균활성물질의 화학구조를 limonin과 naringin으로 동정할 수 있었다.

이상의 연구결과로 미루어, 본 연구에서 그 기능과 작용을 구명한 천연항균 소재 BAAG는 수확한 과채류의 직접 처리제재 및 항균 포장 소재로 과채류의 선도유지를 목적으로 활용하여 그 효과를 기대할 수 있어, 과채류의 생산기반 보호와 농가소득에 큰 도움이 될 것으로 생각된다.

제 2 절 천연항균물질을 이용한 항균 포장지 개발

1. 서 설

현재 국내에서 생산되는 포장 소재의 약 46% 정도가 합성 수지를 이용한 난분해성 포장 소재이고, 27%는 펄프 섬유를 주원료한 한 지류 포장지 차지하고 있다. 기타 금속, 유리, 목재 등이 포장 용도로 사용되고 있지만 지류, 금속, 유리, 목재와는 달리 합성 수지는 사용 후 분해가 어려워 세계적으로 사용 규제를 점차 강화하고 있고, 조만간 사용 자체가 불가능하게 될 것으로 전망된다(Cho, 2002). 뿐만 아니라 합성 수지 포장 소재는 과채류의 포장에 사용할 때에는 종이에 비하여 수분 보유력은 우수하지만 저장 중에 과채류로부터 방산되는 에틸렌 가스, 이산화탄소, 산소 등과 같은 선도 연장에 유해한 가스들을 제거하지 못하는 단점도 안고 있다(주현규 외, 1981). 따라서 과채류가 쉽게 선도를 잃게 되어 과채류가 지니는 최초 가치의 하락을 동반하게 된다. 따라서 저온 저장에서 단기간에 사용될 과채류의 경우에는 합성 수지 포장지도 있지만 장기간의 저장 및 유통 기간이 필요한 과채류의 경우에는 지류 포장 방식이 보다 유리할 것으로 판단된다. 더군다나 합성 수지로만 포장되면 저장이나 유통 중에 가해질 수 있는 외부 충격으로 인한 손상을 방지할 수 없기 때문에 별도의 충격 흡수용 포장 방식을 필요로 하게 된다. 결국 포장 소재의 과다 사용으로 인한 환경 부담으로 이어져 지양해야될 포장 방식으로 치부될 것이다.

지류 포장의 경우에는 충격 흡수용 골(flute)을 채택한 골판지를 사용하기 때문에 저장 및 유통 중에 발생하는 충격으로부터 과채류의 손상을 근본적으로 차단할 수 있다(Savolainen, 2000). 그러나 지류 포장 방식은 합성 수지 포장 방식과는 달리 수많은 펄프 섬유로 구성된 섬유 네트워크의 집합체이기 때문에 다수의 공극을 수반하게 되고, 또한 친수성 천연 고분자인 천연 셀룰로오스(celluloses)가 주체인 목재 섬유로 구성되어 과채류가 보유한 수분의 흡수를 촉진하게 된다. 즉, 다수의 공극을 보유한 지류 포장지는 과채류의 호흡 동안 발생하는 유해 가스를 외부로 방산시키는데 기여하게 되지만, 펄프 섬유가 갖는 고유 성질인 친수성으로 인해 과채류의 수분이 쉽게 제거되는 한계를 안고 있다. 그러므로 포장 상자 제조업체에서는 수분으로 인한 선도 상실을 방지하기 위하여 적정 발수제를 사용하여 일정 수준 이상의 발수 처리를 실시하여 이러한 문제점을 해결한다. 결국 지류 포장 소재가 안고 있는 문제점은 지류

포장 소재 자체에 부가적인 처리를 통하여 쉽게 해소가 가능하기 때문에 이 또한 합성수지와는 구별되는 장점이 될 수 있다. 또한 지류 포장은 셀룰로오스를 주원료로 하는 펄프로 제조되기 때문에 재사용이 가능하고 폐기되더라도 토양 중에서 쉽게 분해가 가능하기 때문에 환경친화적 소재로 널리 알려져 있다.

그러나 지류 포장이 갖는 이러한 장점들에도 불구하고 현재까지의 포장 방식은 물류 유통 과정 중에 발생할 수 있는 외부 충격으로부터 포장 물품을 보호한다는 일차적 목적에 치중하고 있다. 과채류나 식품 포장에 지류 포장 방식이 사용된다면 골판지에 의한 충격 흡수 기능은 가지지만 유통 및 저장 중에 과채류나 식품에서 발생하는 변패성의 미생물의 발생이나 공격으로부터 포장 물품을 보호할 수 있는 기능은 제외되어 있다. 만약 저장이나 유통 중에 변패성 미생물이 발생하게 되면 포장 물품이 갖는 최초의 가치가 하락되어 생산자나 유통업자에게 경제적 손실을 미치게 되는 것은 자명한 사실이다. 따라서 곁 포장이나 속포장, 대량 포장에 사용되는 골판지 상자 등의 포장 원지에 항균 및 가스 제거 성능을 부여함으로써 포장 소재의 용도 다양화를 시도화 필요가 있다.

이에 포장 원지(혹은 원단) 제조 시에 성능이 확인된 천연식물성 항균제 (Botanical antimicrobial Agent, 이하 BAA)를 처리하여 지류 포장지에 항균 성능을 부가하여 과채류나 식품류의 변패를 방지하고, 또한 저장 및 유통 기간 중에 과채류에서 발생하는 유해 가스의 제거를 위하여 가스 흡착·제거 기능을 갖는 무기 첨가제를 처리함으로써 기능성 포장 소재를 개발하고자 하였다.

2. 재료 및 방법

가. 향균 포장 원지의 개발

1) 지료 조성

포장 원지의 제조를 위해 (주)동해펄프에서 생산하는 미표백 활엽수 크라프트 펄프(Hardwood Unbleached Kraft Pulp, HwUKP)와 국내산 골판지 고지(Korean Old Corrugated Container, KOCC)를 사용하였다. 포장 원지의 제조를 위한 지료 조성 공정은 Tappi Standard Method T200 sp-96에 의하여 수행하였다. 즉, HwUKP와 KOCC는 1.57%의 농도가 되도록 4시간 이상 물에 침지시킨 후 실험실용 Valley beater(Fig. 1 참조)에서 약 5-10분간 해리 하였다. 이중 해리된 HwUKP는 Valley beater에 5.6 kg의 추를 달고 여수도(freeness)가 350 mL CSF될 때까지 고해하였다. 해리 및 고해된 지료는 0.3% 농도로 희석하여 초지에 이용하였다.

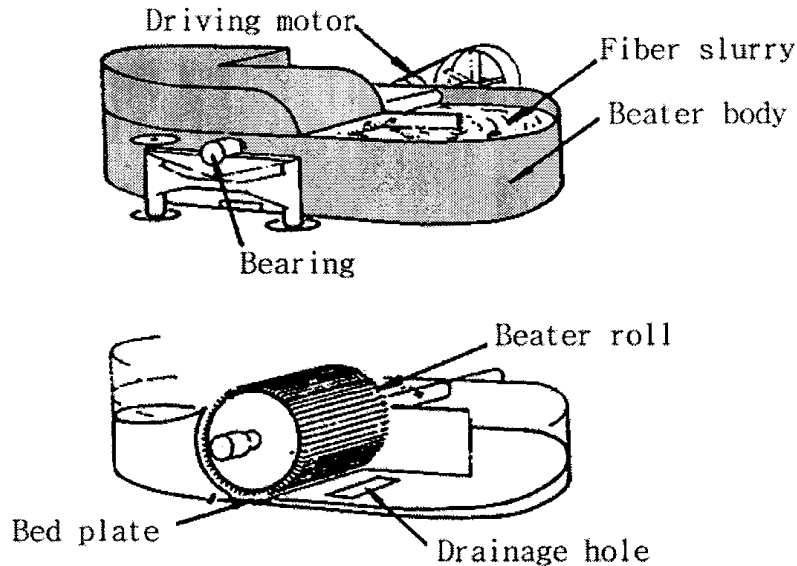


Fig. 2-1. Laboratory Valley beater for disintegrating and beating pulp fibers in accordance with Tappi T 200.

2) 항균제 배합

항균 포장 원지 개발을 위해 사용된 항균제는 자몽종자 추출물(Grapefruit Seed Extract)을 개량한 것을 사용하였다. BAA 분말은 아래와 같은 과정을 거쳐 제조된 것을 사용하였다.

본 연구에 응용된 천연 식물성 항균소재는 다음과 같은 방법에 준하여 추출, 분리수집하였다. 즉, 외국산 자몽을 구입하여 그 과육부를 분리한 종자들을 수거하여 60℃~70℃의 건조실에서 drum-drying을 행하여 건조시킨 후, milling system으로 80~120 mesh 크기로 분쇄하고 감압추출장치를 이용하여 glycerine을 추출용매로 연속 추출하고, 층분리시켜 자몽종자추출물(Grapefruit seed extract : GFSE)을 수집하였다. 이와같이 추출조제한 종자추출물에 lactic acid 5%, citric acid 5%이 되도록 혼합, 교반하고 균질화하는 과정을 반복한 다음, 50~80 rpm의 느린 속도로 일정시간 교반하여 얻어진 추출물을 식물성 천연항균제 자몽종자추출물제재(Botanical antimicrobial agent-GFSE mixture : 이하 BAAG라 칭함) 항균력 실험원액으로 사용하였다.

분말상의 BAAG가 갖는 입자 크기 분포를 알아보기 위하여 MALVERN Instruments사의 MasterSizer E를 이용하였다. 또한 BAA는 탄산칼슘의 분말 형태로 사용되기 때문에 포장 원지의 초지 시에 지료 상에 보류되기가 힘들다. 따라서 BAAG 분말을 섬유 상에 보류시키기 위하여 한국 BASF사에 공급하는 cationic polyacrylamide(이하 Ca-PAM)를 보류향상제로 사용하였다. 초지 중에 첨가된 BAAG와 Ca-PAM의 조성은 Table 2-1에 나타난 바와 같다.

펄프 지료에 BAAG를 첨가하기 전에 BAAG의 균일한 분산을 위하여 일정량의 증류수에 정해진 양의 BAAG를 넣고 균질 교반기(homogenizer)로 분산시켰다. 균질 분산된 BAAG와 Ca-PAM을 펄프 지료에 함께 넣고 교반기에서 800 rpm의 속도로 균일하게 혼합시켰다.

또한 가스 흡착 제거 성능을 부여하기 위하여 제올라이트를 BAAG와 함께 첨가하였는데, 첨가된 비율은 Table 2-1에 나타내었다.

Table 2-1. Addition condition of BAAG and Ca-PAM to papermaking stock

	BAAG (%)	BAAG + Zeolite (%)	Ca-PAM (%)
Addition rate(%)*	0	×	0.02
	6		
	9		
	12		
	15		
Addition rate(%)*	0	0	0.02
	3	3	
	4.5	4.5	
	6	6	

* Addition rate is based on an oven-dried fiber weight(g).

3) 시험용 항공 포장 원지 제조

Tappi Standard T 205 sp-95에 기초하여 포장 원지를 실험실용 사각 수초지기를 이용하여 초지(papermaking) 하였다. 초지된 포장 원지의 평량은 200 g/m²를 기준으로 하였고, 초지 과정은 Fig. 2-2에 나타난 바와 같다. 먼저 Table 2-1에 나타난 비율로 BAAG와 Ca-PAM이 첨가된 일정량의 지료 현탁액을 취하여 80 mesh 와이어가 놓여진 사각 수초지기(250×250 mm)에 넣고 분산기(baffler)로 균일하게 혼합한 후 감압을 통해 물을 제거하여 습윤 매트를 형성하였다. 이 때 포장 원지에 발수성을 부여하고자 할 때에는 중성 사이즈제인 Alkyl Ketene Dimer (AKD)를 펄프 섬유량의 전건 중량에 대하여 0.3%, 0.6% 및 1.0%를 첨가하여 지료 현탁액을 조성하였다.

와이어 상에 형성된 지료 매트가 함유하고 있는 과량의 물은 흡습지 (blotting paper)를 매트 상에 올려놓고 카우치 롤(couch roll)을 일정 횟수 왕복시켜 흡수·제거하였다. 카우칭된 습윤 시트는 건조된 흡습지가 아래위로 놓여진 표준 압착기(papermaking press)에 올려놓고 3.5 kgf/cm²의 압력으로 5분간 압착하여 섬유간의 수소결합을 유도하였다. 압착된 원지 시트는 105±3℃로 조절된 드림 건조기에서 통과시켜 완전 건조된 포장 원지를 제조하였다.

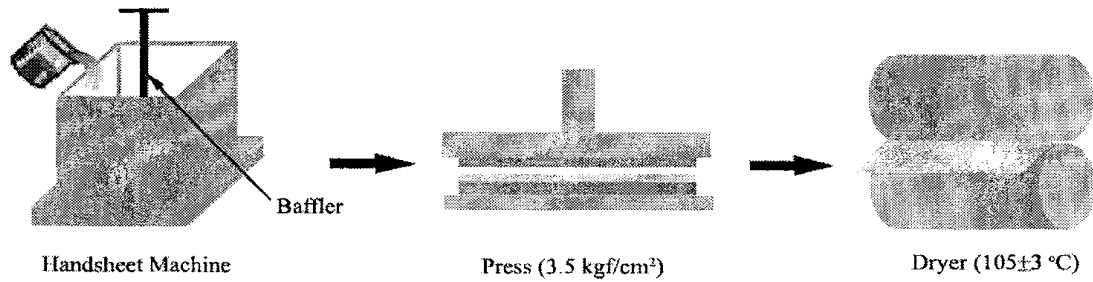


Fig. 2-2. Papermaking process using handsheet machine in accordance with Tappi T 205.

나. 포장 원지의 물성 시험

1) 시험편의 강도적 성질

포장 원지의 물성 실험을 위해서 선도유지제 첨가량별로 각 6장씩 초지하였고, 초지된 종이는 상대습도 $50.0 \pm 2\%$, $23.0 \pm 1^\circ\text{C}$ 에서 24시간 동안 조습처리하였다. 항균 포장 원지의 물성 시험은 아래의 Table 2-2에 근거하여 이루어졌다. 물성 시험의 항목은 투기도, 투습도, 인장, 인열 및 파열강도, 그리고 강성이었고, 종이 표면의 구조 및 무기 성분의 관찰을 위하여 주사전자현미경을 이용하였다. 투기 및 투습은 골판지 상자나 포장 봉지(包裝袋) 내의 가스 투과, 수분 변화 등에 미치는 영향을 알아보기 위한 시험이고, 인장, 인열 및 파열강도, 강성은 포장 원지의 강도적 성질을 평가하기 위한 항목들이다. 그리고 접축각 및 스테키히트 사이즈도 측정은 포장 원지의 발수성을 평가하기 위한 실험이다.

Table 2-2. Physical tests for packaging paper

Testing items	Standard Methods
Air permeability(sec)	T 460 om-96
Water Vapor Transmission Rate (g/m ² , 24h)	T 464 om-95
Tensile(Nm/g), Burst(kPa · m ² /g), and Tear Strength(mN · m ² /g), and Stiffness(mN)	T 220 sp-96 T 489 om-99
Contact angle Stöckight sizing test	AMS-2001 KS M 7025
Surface structure	JEOL FE-SEM
Particle Size Analysis	MasterSizer E, MALVERN Instruments Co.

2) 선도 유지제의 보류율 측정

자료내 선도 유지제의 보류 정도를 시험하기 위하여 Tappi Standard Methods T 413 om-93에 의거하여 포장 원지의 회분 함량으로 측정하였다. 즉, 회분 측정용 노(muffle furnace)에서 선도 유지제가 포함된 포장 원지를 525℃의 온도에서 30분간 완전 연소시킨 후 잔류하고 있는 회분의 중량을 측정하여 그 함량 비를 계산한다. 즉, 525℃의 온도에서 선도 유지제를 첨가하지 않고 펄프 섬유로만 초지한 포장 원지 약 1 g을 완전 연소시킨 후 소수점 4자리까지의 질량(C)을 측정하였다. 그 후 선도유지제를 첨가하여 초지한 포장 원지 약 1 g을 525℃의 온도에서 완전 연소시킨 후 남은 회분의 질량(A)을 측정하였다. 아래의 식에서 보는 바와 같이 펄프 자료 상에 보류되어 있는 무기물만의 함량을 정량화하기 위해서는 선도유지제가 포함된 회분 질량(A)에서 펄프 섬유만의 회분 질량(C)을 뺀 후 회분 함량 측정을 위해 취한 시료의 전건 중량(B)과의 비를 계산하였다. 따라서 회분 함량 비율이 높게 나올수록 섬유

상에 보류된 선도유지제의 양이 많은 것을 의미한다.

$$Ash, \% = \frac{(A - C) \times 100}{B}$$

A = weight of ash, g

B = weight of a test specimen, g moisture-free, g

C = weight of a sheet, g

3) 골판지 상자 및 항균 포장 봉지 제작

골판지 상자의 선도 유지력을 시험하기 위하여 골판지 상자를 제조하였다. 경기도에 소재한 중앙판지에 의뢰하여 골(flute) 형태를 A골로 하여 23×23×22 cm의 크기로 항균 상자를 제조하였다. Fig. 3-3에는 본 연구에서 사용한 양면 골판지(Single wall corrugated board)의 구조를 보여주고 있는데, 라이너 중에서는 골판지 상자의 안 쪽에 해당하는 이면 라이너에 항균 처리한 포장 원지를 사용하였다.

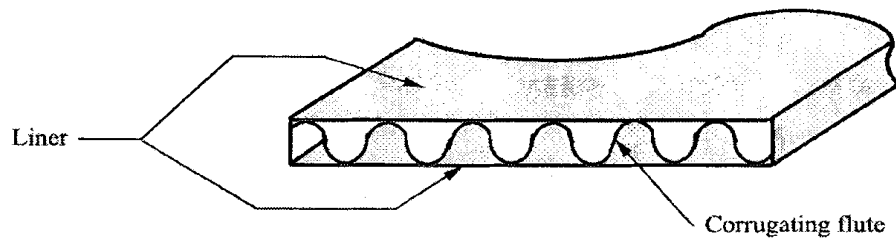


Fig. 2-3. Single wall corrugated paperboard with A flute.

또한 날개 포장을 위한 항균 포장 봉지(包裝袋)는 Fig. 2-4에 나타낸 바와 같이 20×10×23 cm의 크기로 제작하였고, 실제 모양은 오른쪽에 나타난 종이 봉지와 같다.

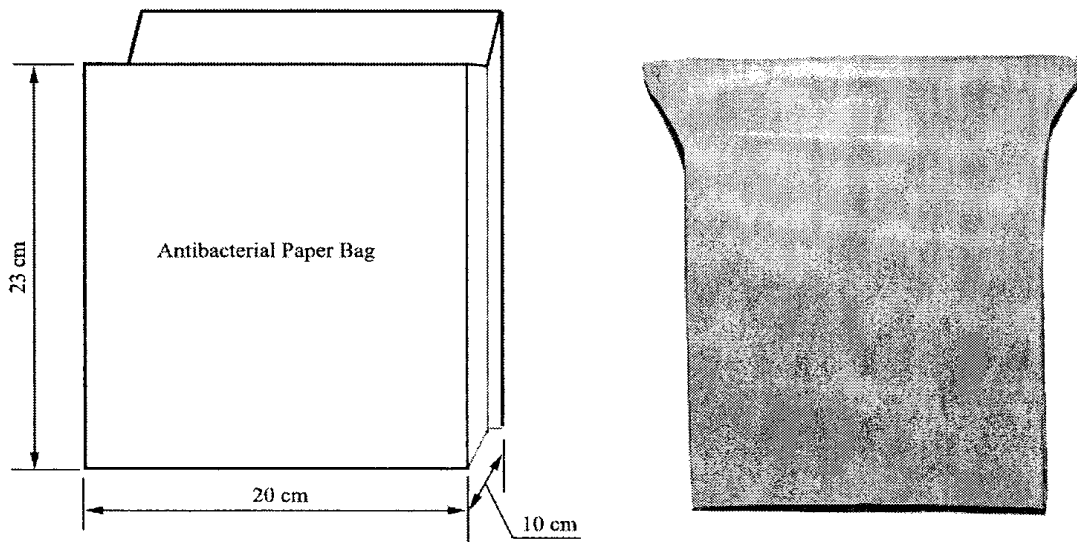


Fig. 2-4. antimicrobial paper bag for item packaging.

4) 포장 원지의 항균력 시험 - Paper Disk Method

부패성 및 병원성 공시 균주에 대한 포장 원지의 항균성은 항균 처리된 paper disk를 Brain Heart Infusion Agar(BHIA) plate 상에 접촉시켜 공시 균주의 증식도를 비교하여 생육저해정도를 측정하는 paper disk method를 이용하였다. 즉, Tryptic Soy Agar (TSA)의 slant media에 배양된 공시균주 1 백 균이를 취하여 10 mL Tryptic Soy Broth(TSB)에 접종하고, 30 °C에서 24시간동안 배양한 후, 일정 농도($10^5 \mu\text{g/mL}$)로 희석한 공시균주 균용액 0.1 mL를 실온에서 하룻밤 건조한 두께가 5-8 mm인 BHIA plate상에 주입하고 구부린 유리막대로 균일하게 펼친 다음, 처리를 달리한 포장 원지의 disk를 BHIA plate 표면에 놓고 30 °C에서 48-72시간 동안 배양한 후 disk 주위에서의 균의 생육 저해도를 비교하여 항균력을 평가하였다.

5) 항균 포장 원지의 에틸렌 가스 제거율 시험

포장 원지의 가스 흡착 효율을 시험하기 위하여 Fig. 2-5와 같이 1,000 mL 용량의 유리병에 일정한 중량의 포장 원지를 넣고 밀봉한 후 병의 마개에 장착된 가스 주입구를 통하여 일정 농도의 에틸렌가스를 gas-tight syringe를 이용하여 주입하였다. 시간에 따른 포장 원지의 에틸렌가스 제거 효율은 포장 원

지가 들어 있는 병 내부의 에틸렌가스 농도 변화를 Gas Chromatography (Model 860D, Young-In Co., Korea) 통하여 측정하여 결정하였다. 이 때 사용한 column은 CTR I (Alltech Associates Inc., U.S.A.)이며, 검출기는 TCD detector였다. 오븐의 온도는 40 °C, 인젝터는 70 °C, 검출기는 90 °C로 하며, 운반 기체로 사용한 헬륨의 이동 속도는 40 mL/min로 하였다.

6) 향균 포장 상자 및 향균 포장 봉지의 선도 유지력 시험

본 연구를 통해 개발된 포장 원지의 선도유지 효과를 검증하기 위하여 국내산 감귤(*Citrus unshiu Markovich*)을 Fig. 2-6과 같이 포장 상자에 넣고 8°C, 상대 습도 50%의 조건에서 일정 기간 저장하면서 과채류의 생체중 변화율과 변패 미생물의 발생 여부를 조사하였다. 포장 상자 내 과채류의 변패율은 전체 개체 수에 대하여 부패한 개체 수와의 비를 백분율로 나타내었다.

$$\text{생체중 변화율} = \frac{\text{최초 감귤의 무게} - \text{일정 기간 경과한 감귤의 무게}}{\text{최초 감귤의 무게}} \times 100$$

$$\text{과채류의 변패율} = \frac{\text{변패 과채류의 개체 수}}{\text{전체 과채류의 개체 수}} \times 100$$

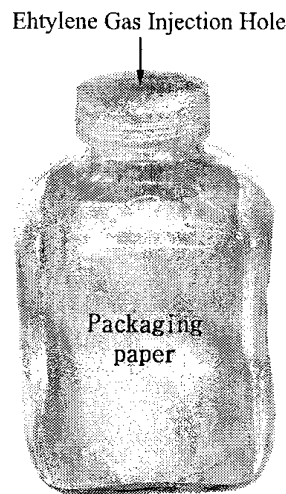


Fig. 2-5. Test bottle used for determining the adsorption efficiency of ethylene gas of packaging paper.

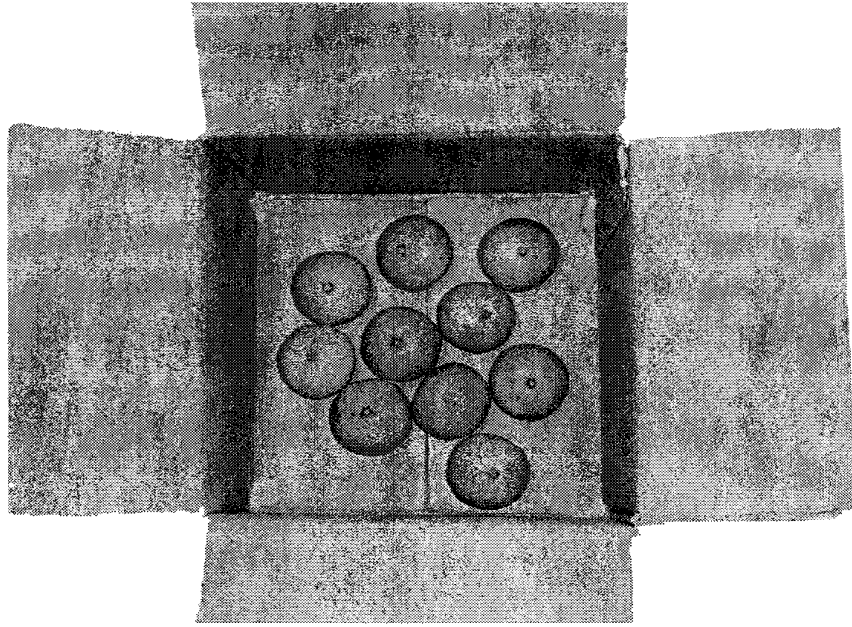


Fig. 2-6. Mandarin oranges packed by a corrugated box.

3. 결과 및 고찰

가. 항균 포장 원지내 항균 제제의 최적 정착법 탐색

1) 항균제 분말의 입도 분포

두 종류의 BAAG 분말의 입도 분포를 MasterSizer E를 이용하여 측정한 결과를 Fig. 2-7에 나타내었다. Fig. 2-7의 입자 분포 그래프에서 볼 수 있는 바와 같이 대부분의 항균제 분말은 0.6-65 μm 사이에 분포하였고, 평균 입자 크기는 약 12.45 μm 였다. 분말의 평균 입자 크기는 중질탄산칼슘의 입자 크기와 유사하였지만 15 μm 이하가 50% 정도를 차지할 정도로 매우 미세한 입자들로 구성되어 있다. 따라서 지료 현탁액에 BAAG 분말만을 첨가하였을 경우에는 섬유 상에 정착되지 않고 모두 빠져나갈 가능성이 크기 때문에 보류 향상제의 사용이 필요하다.

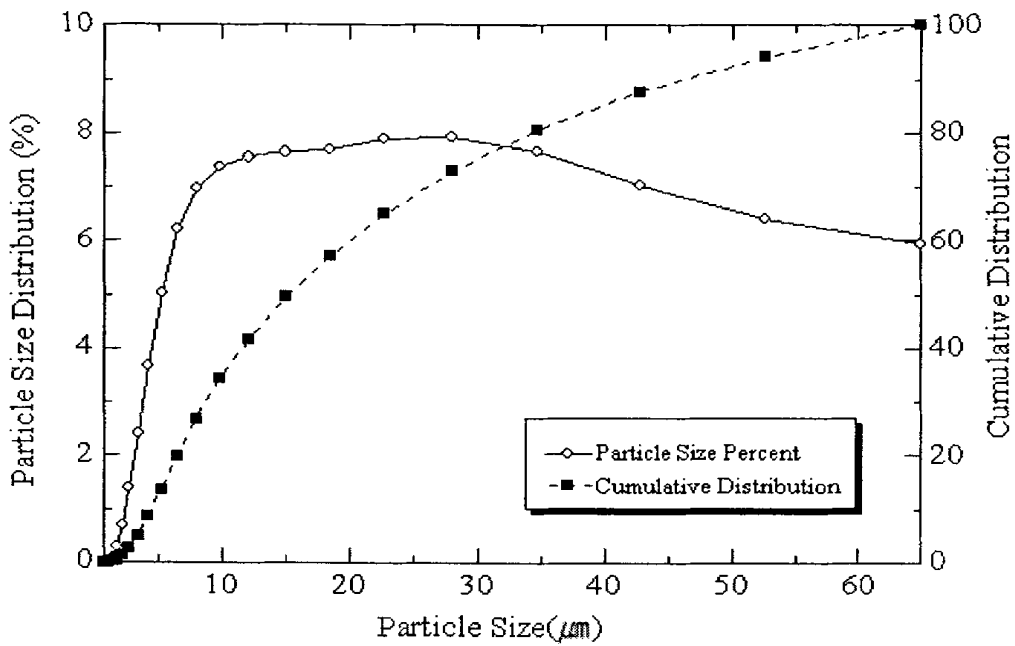


Fig. 2-7. Particle size distribution of BAAG powder.

Fig. 2-8은 BAAG의 분말의 전자 현미경 사진을 보여 준다. CaCO_3 에 침착되어 있는 BAAG는 육면체 형태의 미세한 분말로 구성되어 있음을 알 수 있다. 이것은 백상지나 아트지 제조시 사용되는 중질 및 경질 탄산칼슘의 형태와는 차이가 있는데, 이것은 항공제 분말 제조시 인위적으로 분쇄하기 때문에 나타난 현상일 것으로 추정된다.

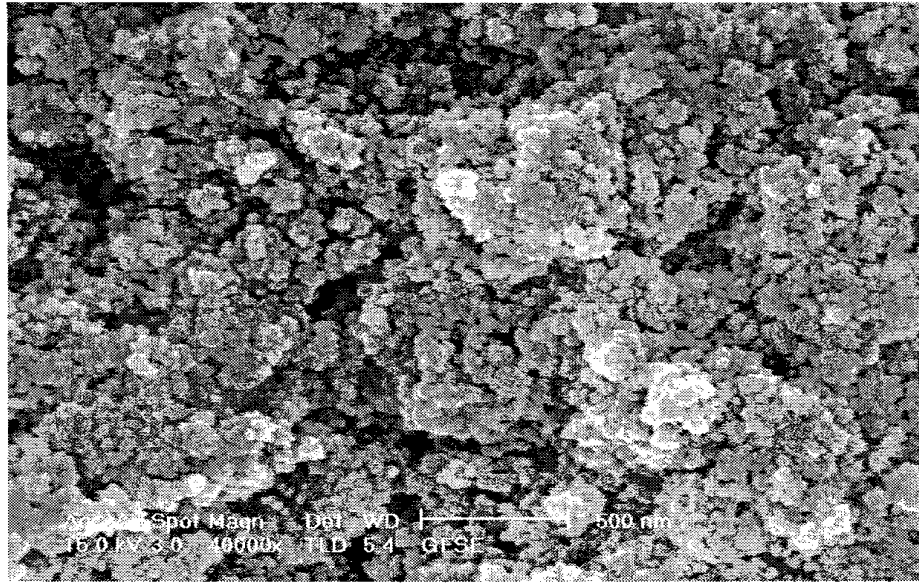


Fig. 2-8. Scanning Electron Micrograph of BAAG powder.

2) 펄프 섬유 구조 내 최대 정착을 위한 보류 향상제의 선발

본 연구에서 개발한 향균제(BAAG)는 천연 식물성 향균 성분이 주성분으로 하여 CaCO_3 에 침착시킨 분말형 제제이다. 반면에 새로운 기능성 포장 소재는 셀룰로오스를 주성분으로 하는 천연 펄프 섬유로 구성된다. 따라서 Fig. 2-10의 (a)에 나타낸 바와 같이 향균제와 펄프 섬유 사이에는 화학 결합을 통한 정착이 이루어지지 않기 때문에 정착 보조제(또는 보류 향상제)를 첨가하여 펄프 섬유와 향균제 사이에 인위적 결합을 유도하여야 한다.

섬유 상에 향균제의 정착을 위하여 사용한 보류 향상제는 cationic polyacrylamide (Ca-PAM)로써 그 구조는 Fig. 2-9와 같다. 이와 같은 고분자 Ca-PAM이 향균제와 함께 섬유 현탁액에 첨가되었을 때 Ca-PAM은 펄프 현탁액 중에서 강한 양이온성(+) 전하를 가지기 때문에 Fig. 2-10의 (b)에서 보는 바와 같이 음이온성(-) 전하를 띠는 셀룰로오스와 향균제 분말을 서로 결합시켜 섬유 상에 향균제 분말이 쉽게 정착되도록 도와주는 역할을 한다(Au et al, 1995).

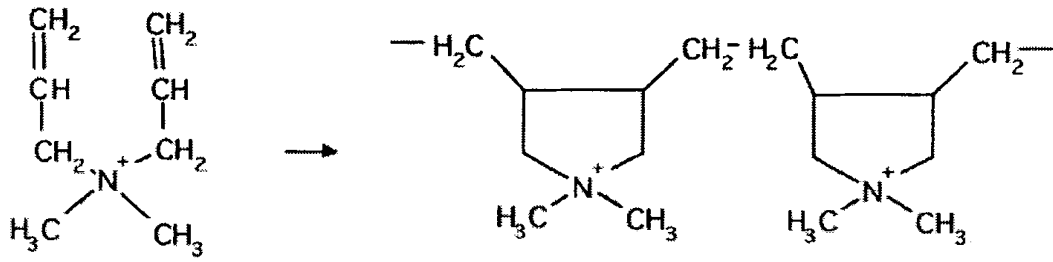


Fig. 2-9. Chemical structure of cationic polyacrylamide.

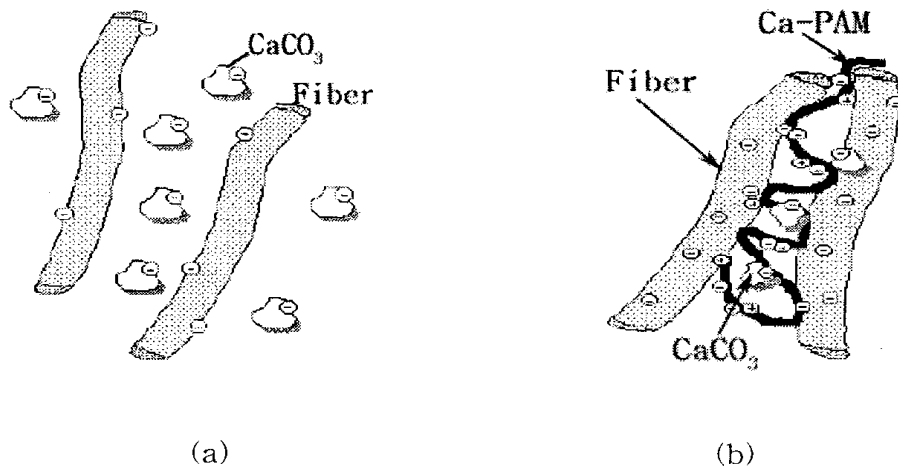


Fig. 2-10. Effect of a cationic polymer in a fiber network: (a) before adding a retention aid, (b) after adding a retention aid.

Ca-PAM 이외에도 제지 공정에서 무기 충전제의 보류를 향상시키기 위하여 많이 사용하는 천연 고분자의 변성체로는 양성 전분(cationic starch)이다. 양성 전분은 일반 천연 전분에 양이온성을 부과하기 위하여 4가 ammonium기 ($-NH_4^+$)를 도입하여 변성시킨 것이다. 그러나 항균제 분말의 보류를 위해 양성전분을 첨가하게 되면 Fig. 2-11에서 보는 바와 같이 치료에 첨가된 항균제는 항균 성능이 급격히 약화되어 미생물에 의해 쉽게 공격받게 되었다. 이는 양성전분의 기본 골격 자체가 천연 전분과 유사하기 때문에 외부의 변패 미생물에 쉽게 노출되어 공격을 받아 그 성질을 잃게 되거나 초지 공정 중에서 미

생물의 발생원이 될 가능성이 큼을 의미한다. 따라서 본 연구에서는 양성 전분을 이용한 보류향상 시스템을 지양하고, 항균제 보류를 최적화하기 위하여 Ca-PAM을 보류향상제로 채택하였다.

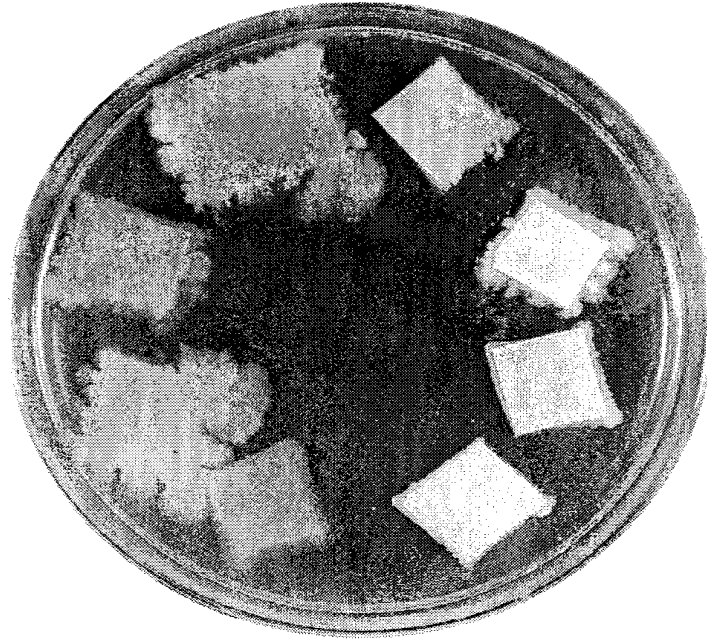


Fig. 2-11. Packaging paper attacked by *Salmonella typhimurium kctc 1925*: the paper was treated with cationic starch and an antimicrobial agent.

3) 항균제 및 제올라이트 분말의 보류를

Table 2-3은 포장 원지내 보류된 항균제의 보류량을 회분 함량(ash content, %)으로 나타낸 것이다. 즉, 회분 함량이 많으면 많을수록 펄프 섬유 상에 정착한 무기 첨가물, 즉 항균제의 양이 증가하는 것을 나타낸다. 항균제의 첨가량을 증가시킬수록 회분 함량이 증가하고 있는 것으로 보아 항균제의 보류를 향상시키기 위해 사용된 Ca-PAM이 섬유 네트워크 내에 항균제를 정착시키는데 매우 효과적인 보류향상제로서의 역할을 하였다. 이는 Fig. 2-10의 (b)에 나타낸 바와 같이 Ca-PAM이 표면에 음(-)전하를 띠는 BAAG 항균제를 포집하여 음(-)전하를 띠는 섬유 상에 정착시킴으로써 항균 효과를 발현시킴을 의미하

는 것이다.

또한 제올라이트와 향균제 분말을 동시에 처리한 포장 원지의 경우에는 향균제 분말을 처리한 경우보다 회분 함량이 훨씬 많이 검출되었다. 그러나 Fig. 2-12에서 보는 바와 같이 입자의 형상이 정육면체이고, 입자의 크기도 Fig. 2-8의 BAAG 분말 입자들에 비하여 훨씬 컸다. 따라서 이렇게 큰 입자들을 초지 공정에 사용하게 되면 초지기 금망(wire)의 마모, 지층 불량 등의 문제를 일으킬 수 있기 때문에 제올라이트를 잘게 분쇄하여 100 mesh 스크린을 통과하는 것만 취하여 가스 흡착제로 사용하였다.

Fig. 2-13에서는 Ca-PAM이 향균제 및 제올라이트의 보류에 미치는 효과를 쉽게 알아보기 위하여 그래프로 나타내었다. Fig. 2-10의 (a)와 (b)에서 볼 수 있는 바와 같이 Ca-PAM은 섬유 전건 중량에 대하여 0.02%로 일정하게 첨가하였지만 BAAG 유도체 분말이나 BAAG와 제올라이트 분말을 혼합 처리한 경우 첨가량이 증가할수록 섬유 상에 보류된 향균제와 제올라이트의 양도 함께 증가하는 것을 쉽게 볼 수 있다. 이를 통해 Ca-PAM이 향균제의 보류에 우수한 효능을 발휘하는 고분자임이 확인할 수 있었다.

Table 2-3. Ash contents of packaging paper added with BAAG derivatives and zeolite

BAAG	Addition rate(%)* based on OD pulp wt.	0	3	6	9	12	15	
	Ash content(%)	0	0.64	2.03	3.03	4.20	5.07	
BAAG + Zeolite	Zeolite addition rate(%)* based on OD pulp wt.	0	3	6	9	12	-	
	Ash content (%)	BAAG 0%*	0	2.93	3.49	6.17	9.93	-
		BAAG 3%	0	2.26	4.64	6.90	11.57	-
		BAAG 6%	0	2.24	4.68	10.93	13.66	-
		BAAG 9%	0	3.06	4.35	7.64	13.81	-
		BAAG 12%	0	3.06	5.63	8.98	10.53	-

* Concentration(%) of BAAG-diluted liquid.

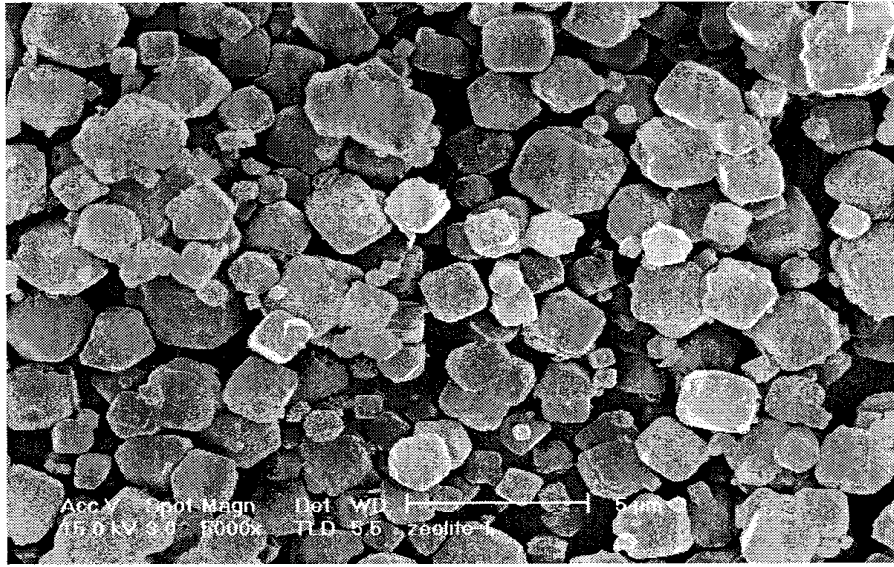
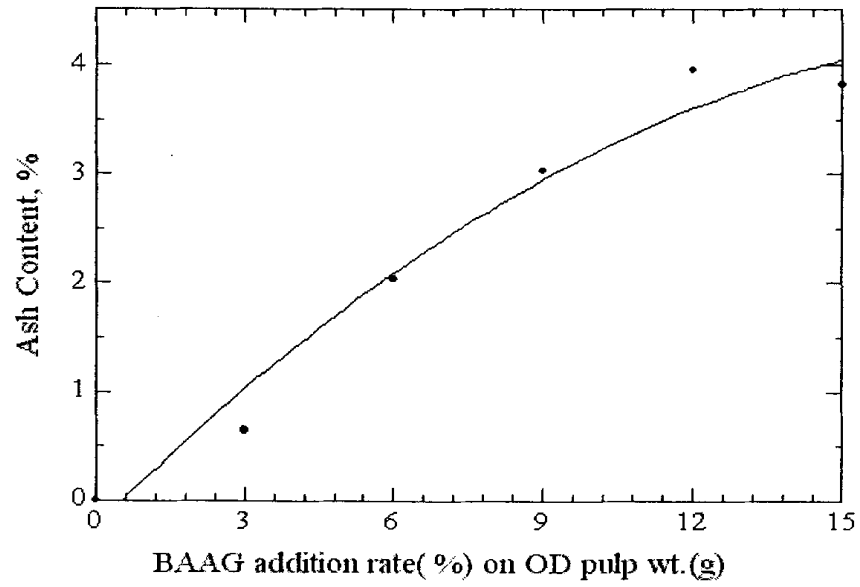
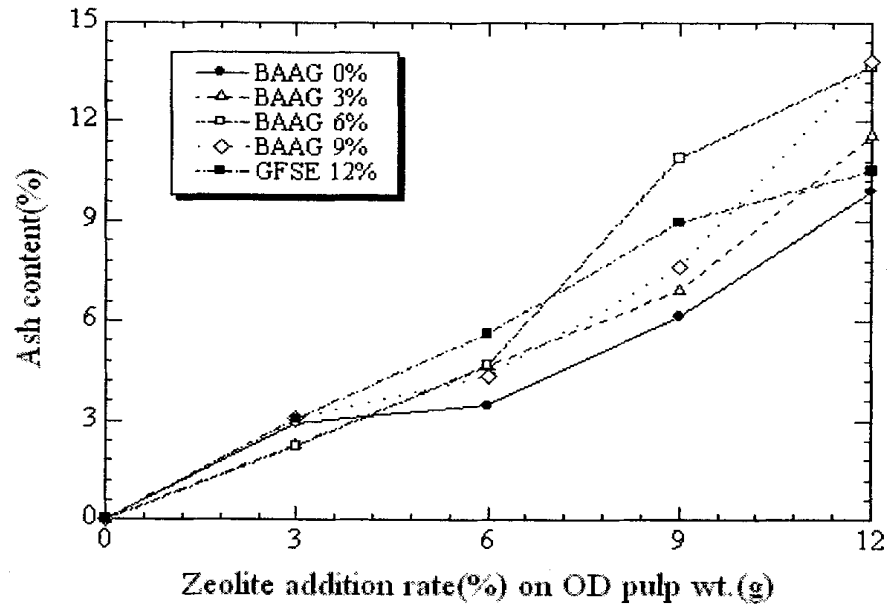


Fig. 2-12. Scanning Electron Micrograph of zeolite($\times 5000$).



(a) Addition of BAAG



(b) Addition of both BAAG and Zeolite

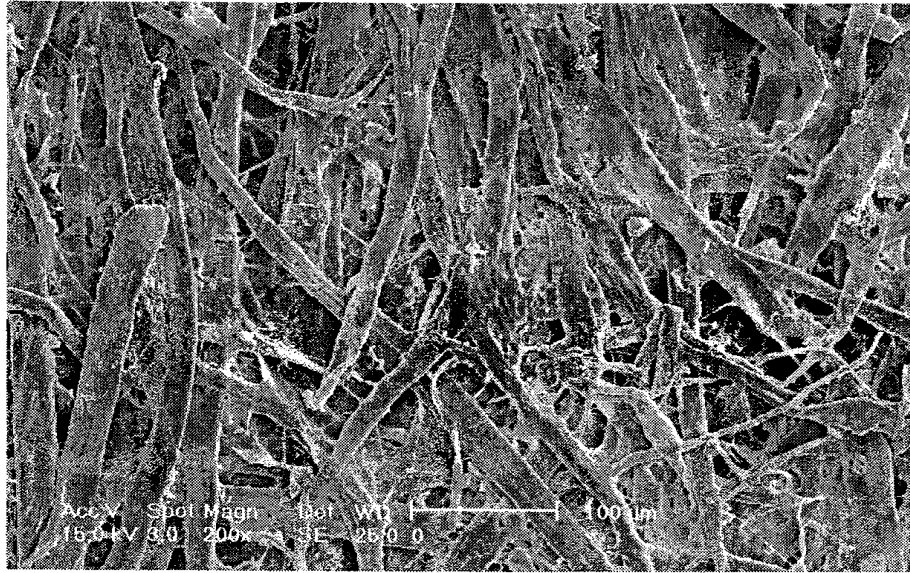
Fig. 2-13. Retention rate(%) of BAAG powder and zeolite on a packaging paper.

4) 항균 포장지의 전자현미경(SEM) 사진

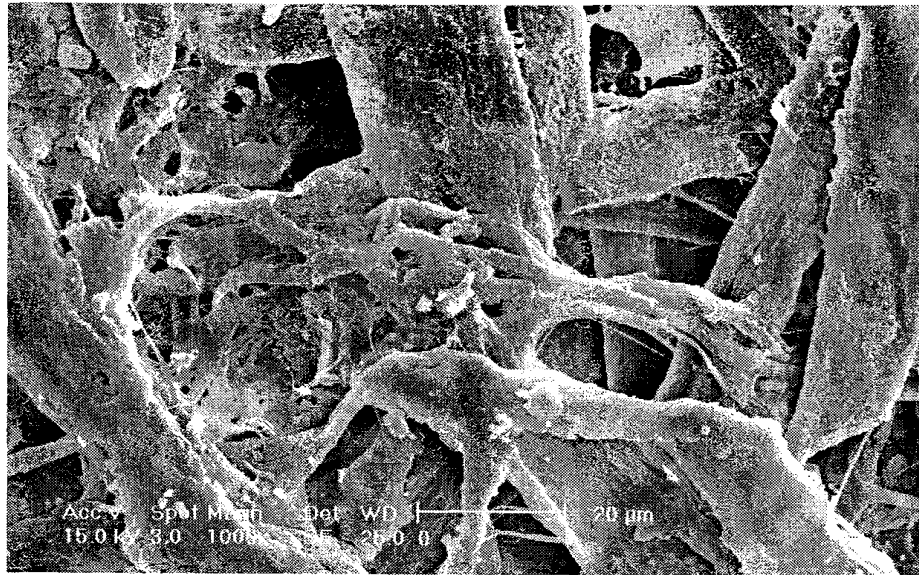
Fig. 2-14는 골판지 포장 상자(corrugated packaging box)의 라이너(liner)를 구성하는 섬유 네트워크의 표면을 전자현미경(SEM)으로 촬영한 것이다. 무기계 첨가제가 전혀 첨가되지 않았기 때문에 라이너가 섬유들로만 구성되어 있고, $\times 1,000$ 배로 확대된 전자현미경 사진(Fig. 2-14의 b)에서는 라이너를 구성하는 섬유 네트워크 내에 공극들이 형성되어 있는 것을 관찰할 수 있다. 이러한 공극들을 통해서 공기가 쉽게 통과하여 포장 상자 내의 과채류가 호흡을 활발하게 하여 과채류의 선도 상실에 기여하게 된다. 따라서 호흡 기능을 최소화시킬 수 있는 기능을 보완할 수 있는 처리를 해주어야만 기능성 포장 상자로서 활용 가치를 가지게 될 것이다.

포장 원지에 BAAG가 첨가된 항균 포장 원지의 전자 현미경 사진을 Fig. 2-15에 나타내었다. Fig. 2-15의 (a)에 보는 바와 같이 미세한 작은 분말 형태의 항균제가 섬유 네트워크 상에 보류되어 있는 것을 볼 수 있다. Fig. 2-15의 (b)는 좀 더 확대하여 찍은 항균 포장 원지의 표면 사진인데, 섬유 상에 정착되어 있는 항균제 분말을 더욱 명확하게 확인할 수 있다. 이렇게 정착된 항균제 입자들이 과채류 혹은 식품류의 유통 중에 발생할 수 있는 변패성 미생물의 활동을 억제시키는 역할을 하게 될 것이다.

Fig. 2-16에는 항균제 분말과 제올라이트가 동시에 첨가된 기능성 포장 원지의 표면을 전자 현미경으로 촬영하여 나타내었다. Fig. 2-16의 (a)에는 항균제와 제올라이트가 포장지를 구성하는 섬유 상에 균일하게 보류되어 있는 것을 확인할 수 있다. Fig. 2-16의 (b)에는 기능성 항균 포장지의 표면을 고배율로 촬영한 SEM 사진으로써 미세한 기능성 첨가제들이 섬유상에 정착되어 있는 것을 쉽게 관찰할 수 있다. 이와 같은 기능성 포장 원지를 이용하여 단위 포장지(item packaging bag)이나 골판지 포장 상자의 라이너에 이용하였을 때 항균 및 유해 가스의 제거에 효능을 발현할 것으로 기대할 수 있다.

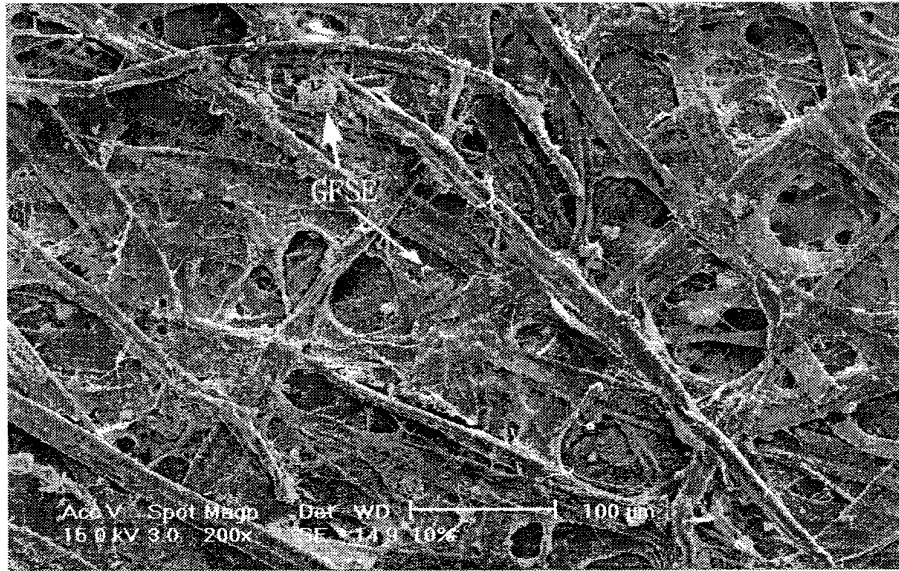


(a) $\times 200$

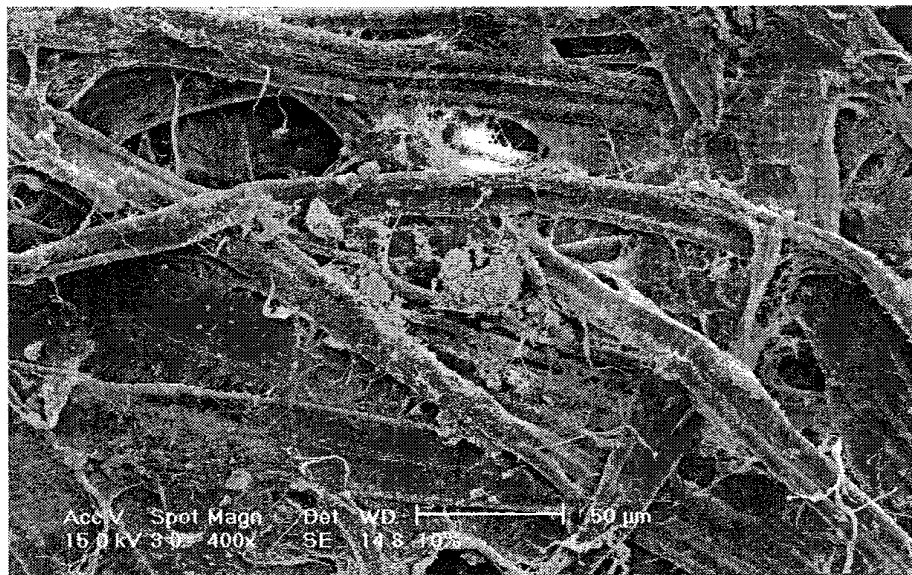


(b) $\times 1,000$

Fig. 2-14. Scanning Electron Microphotographs of liner.

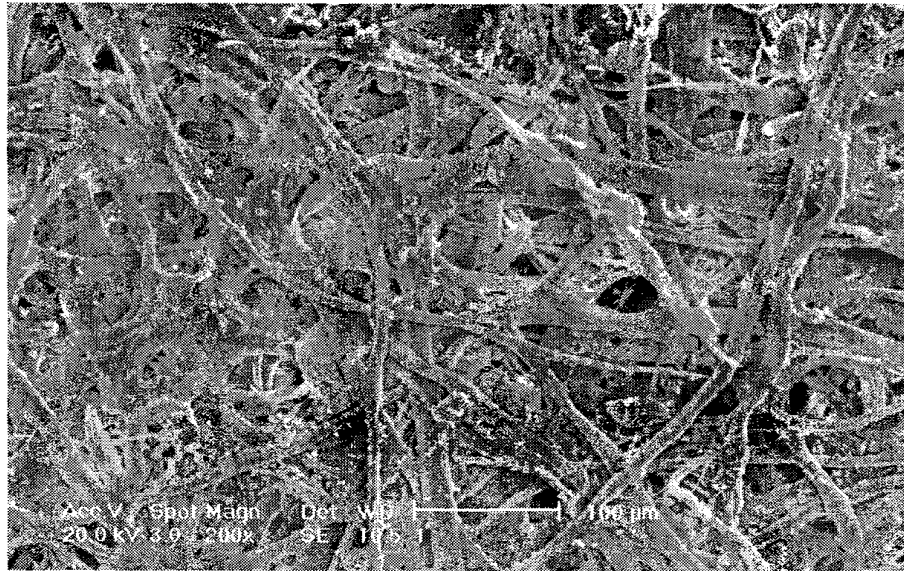


(a) ×200

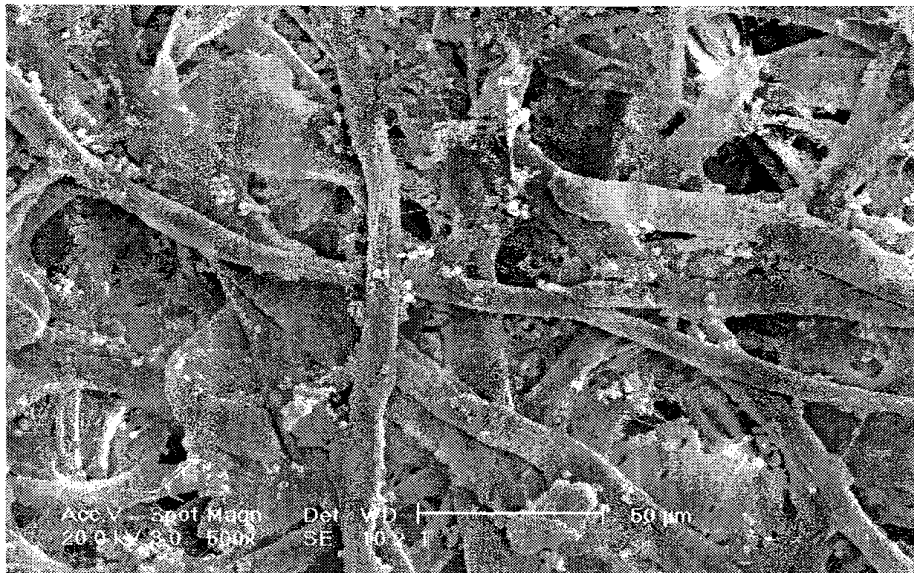


(b) ×400

Fig. 2-15. Scanning Electron Micrographs of antimicrobial packaging paper



(a) ×200



(b) ×500

Fig. 2-16. Scanning Electron Micrographs of packaging paper treated with BAAG and Zeolite.

5) 항균제 첨가에 따른 포장지의 물성 변화

항균 포장 소재 개발을 위해 첨가된 항균제는 분말형이기 때문에 섬유간 수소 결합에 의존하는 포장지의 물리·강도적 성질에 나쁜 영향을 받게 된다. 따라서 포장지의 물리·강도적 성질에 미치는 영향을 최소화하는 상태에서 항균제가 첨가되어야 한다.

Table 2-4에는 분말형 항균제와 제올라이트를 지료에 첨가하여 포장 원지를 제조하였을 때 항균제 첨가 수준별 포장지의 물성 변화를 나타내었다.

Table 2-4. Physical properties of antimicrobial packaging paper

BAAG+Zeolite (%) [*]	Tensile strength (kNm/g)	Stiffness (mN)	Burst strength (kPa g/m ²)	Tear strength (mN m ² /g)
0%	0.36	0.03	5.17	1875
6% (BAAG 3 +Zeolite 3)	0.33	0.05	4.50	2275
9% (BAAG 4.5 +Zeolite 4.5)	0.26	0.05	3.16	2307
12% (BAAG 4.5 +Zeolite 4.5)	0.27	0.05	3.19	2346

* Addition rate is based on oven-dried weight of pulp fibers(g).

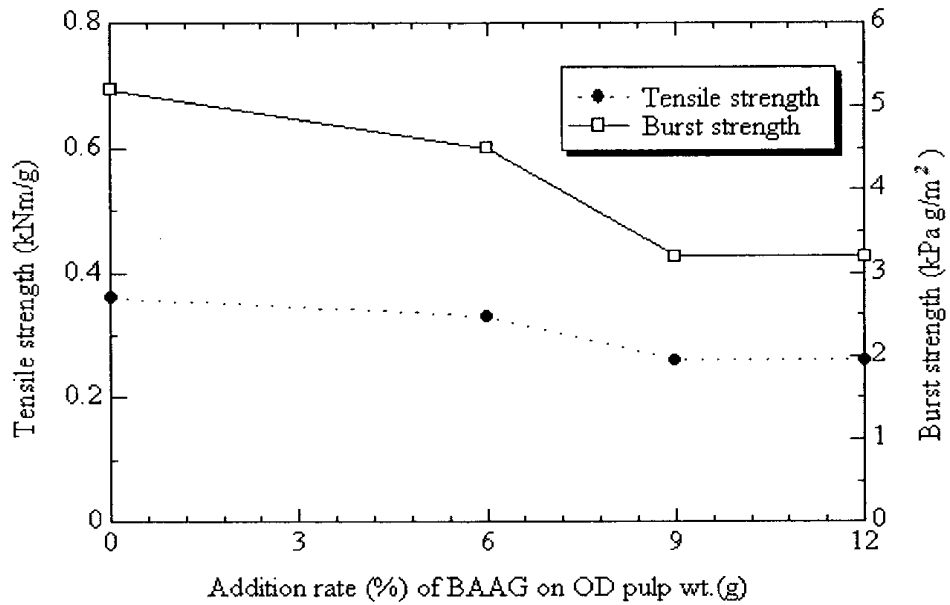
인장강도(tensile strength)와 파열강도(burst strength)는 항균제와 제올라이트를 첨가하지 않았을 때보다 다소 감소하는 경향을 나타내었고, 반면에 강성(stiffness)과 인열강도(tear strength)는 항균제와 제올라이트를 첨가하지 않았을 때보다 증가하는 경향을 나타내었다. 종이의 강도는 섬유간 수소결합(interfiber bonding)에 의하여 영향을 받지만 무기 충전제(inorganic fillers)가 지료에 첨가되면 이웃한 섬유들 사이에 기능성 충전제(혹은 항균제와 제올라이트) 분말이 들어가 섬유간 결합을 방해하게 된다(Niskanen, 2000). 특히 인장강도와 파열강도는 Fig. 2-17의 a)에서 볼 수 있는 바와 같이 무기 첨가제에 의해 민감하게 영향을 받게 되어 무기 충전제가 첨가되면 인장 및 파열강도가

감소하게 된다. 기능성 첨가제가 펄프 섬유의 전건 중량에 대하여 9%까지 첨가되었을 때 인장 및 파열강도가 감소를 보이지만 그 이상의 첨가량에서는 감소 경향이 사라지는 것을 볼 수 있다.

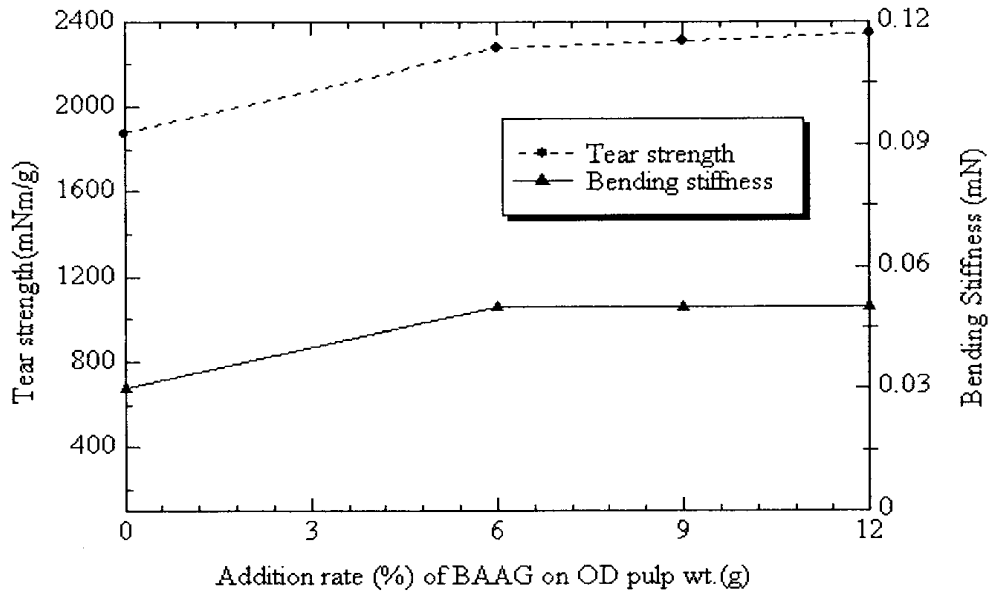
무기 충전제의 입자 크기 또한 섬유간 수소결합에 영향을 미치게 되는데, 충전제 입자 크기가 작아질수록 강도적 성질에 부정적인 영향을 미친다. 그러나 항균제 분말은 일반 제지용 충전제 입자들에 비하여 더 크기 때문에 기능성 첨가제 분말의 첨가량을 증가시킬지라도 포장 원지의 강도적 성질에 미치는 영향이 미미하게 나타난 것으로 보인다. 따라서 기능성 첨가제 분말의 첨가로 인하여 발생할 수 있는 골판지 상자의 라이너나 단위 포장용(item packaging) 포장지의 강도적 성질의 감소 현상이 미미할 것으로 판단되었다.

반면에 휨 강성과 인열강도는 인장 및 파열강도에 비해 충전제에 의한 영향을 훨씬 적게 받는다. Fig. 2-17의 b)에서 보는 바와 같이 인열강도의 경우에는 인열시 적용되는 힘의 전달이 충전제 입자들에 의해 방해를 받아 충전제를 첨가하지 않았을 때보다 오히려 인열강도가 더욱 증가하는 경향을 보이게 되지만 첨가 이후에는 기능성 첨가제의 첨가량을 증가시킬지라도 큰 변화를 보이지 않았다. 휨 강성의 경우에는 항균제의 첨가와 함께 동일 평량의 포장 원지를 구성하는데 필요한 섬유의 양이 상대적으로 감소하게 되면서 휨 저항성(bending stiffness)을 증가시키는데 기여한 것으로 사료된다. 골판지 포장 상자의 적재시 골판지 상자의 무게로 인하여 골판지 상자가 찌그러지는 현상이 발생하는데, 휨 강성의 결과를 통해 볼 때 항균제의 첨가로 인하여 이러한 문제가 거의 일어나지 않을 것으로 추정할 수 있다(Paulapuro, 2000).

결론적으로 펄기 및 인쇄 용지의 제조시 첨가되는 충전제가 종이 강도에 부정적인 영향을 미치는 것으로 알려져 있지만 항균 포장지 제조에 사용되는 항균제와 제올라이트 분말은 종이의 물성 열화에 미치는 영향이 크지 않는 것으로 나타났다. 오히려 골판지 포장 상자의 중요한 물성의 하나인 휨 강성의 상승 효과를 가져 왔다.



(a) Tensile and burst strength



(b) Tear strength and bending stiffness

Fig. 2-17. Effects of BAAG powder on strength properties of antimicrobial paper.

6) 기능성 포장지의 가스 제거율 분석

포장 상자에 저장되어 유통되는 과채류의 선도는 과채류의 저장 및 유통 중에 과채류의 호흡에 의해 방출되는 에틸렌가스, 이산화탄소 및 산소와 밀접한 관련이 있다. 일반적으로 과채류는 수확되어 영양 보급이 끊어진 후에도 호흡 작용을 계속하여 과숙을 촉진하는 열과 물, CO₂, 에틸렌가스와 같은 휘발성물질을 방출한다. 따라서 수확 후의 청과물에 있어서 부패나 건조 등에 의한 변질을 제외하면 영양성분의 감소나 시들 등 품질 저하의 대부분은 호흡 작용이 원인이 된다. 이러한 호흡 작용은 호흡작용은 온도, 습도, 공기조성, 미생물, 빛, 바람과 같은 환경요인에 의해 좌우되며, 그 중에서도 온도의 영향이 가장 큰 것으로 알려져 있다(주현규외, 1981).

그러나 과채류의 저장 동안에는 CA(controlled atmosphere) 혹은 MA(modified atmosphere) 등의 방법으로 저장 조건의 온도, 습도, 공기 조성을 변화시켜 과채류의 선도를 어느 정도 유지시킬 수 있지만, 유통 중에는 단순히 온도와 습도의 조절에 의존하는 경우가 대부분이기 때문에 공기 조성을 조절하기는 매우 어려운 형편이다. 따라서 유통 중에 물류 유통의 편리함을 위하여 친환경적 포장 도구인 골판지 상자가 사용된다고 가정한다면 과채류의 호흡을 방해할 수 있는 매체가 처리된 포장 상자를 사용하여 선도 유지율도 모하여야 할 것이다.

플라스틱 필름 포장과는 달리 골판지 포장 상자는 친환경적 포장 소재라는 장점이 있지만 투기성이 매우 높기 때문에 과채류의 호흡 활동을 지속적으로 일어나게 한다. 따라서 저장 및 유통 중에 변패성 및 병원성 미생물의 생육을 억제하면서 호흡 작용에 의해 방출되는 가스의 제거가 효과적으로 이루어지는 골판지 상자가 사용되어야 한다.

Table 2-5은 BAAG와 제올라이트 첨가에 따른 기능성 포장 원지의 투기도(air permeability) 및 투습도(water vapor transmission rate, WVTR), 그리고 에틸렌가스의 흡착을 변화를 보여준다. 기능성 포장원지의 에틸렌 가스 제거율은 12.2 ppm의 에틸렌 가스를 포장 원지가 들어 있는 가스 포집병에 투여한 후 24시간 이후에 잔류하고 있는 에틸렌 가스의 양을 나타낸 것이다. 에틸렌 가스에 대한 시험을 통하여 산소 및 이산화탄소에 대한 흡착 제거율도 함께 유추하고자 하였다.

Table 2-5. Effect of BAAG and zeolite on air permeability, water vapor transmission rate and ethylene gas adsorption rate of packaging paper

BAAG+Zeolite (%) [*]	Air permeability (sec)	Water Vapor Transmission Rate (g/m ² · 24h)	Eethylene gas content after 24 hrs. (ppm)
0%	165.2	350	10.28
6% (BAAG 3 +Zeolite 3)	62.2	723	9.30
9% (BAAG 4.5 +Zeolite 4.5)	53.8	920	8.00
12% (BAAG 6 +Zeolite 6)	31.8	1065	7.66

* Addition rate is based on oven-dried weight of pulp fibers(g).

Fig. 2-18은 Table 2-5에 나타난 시험 값들을 근거하여 BAAG와 제올라이트 첨가량 증가에 따른 투기도와 투습율의 변화를 그래프로 나타내었다. Fig. 2-18에서 보는 바와 같이 기능성 첨가제의 양을 증가시키기에 따라 포장 원지 내의 공극이 증가하여 100 mL의 공기가 포장 원지를 투과하는 시간(즉, 투기도)가 감소하는 것을 볼 수 있다. 이러한 현상은 투습도(WVTR)에서도 일어나는데, 투습도는 투기도와 밀접한 관련이 있어서 포장 원지의 투기성이 향상되면 투습 효율도 함께 증가하는 것으로 알려져 있는데, Fig. 2-18의 WVTR 그래프에서도 동일한 현상이 나타나는 것을 쉽게 확인할 수 있다. 이는 기능성 첨가제들인 BAAG와 제올라이트가 첨가되면 섬유간 수소결합이 방해받아서 섬유들 사이의 공극을 증가시키게 된다. 이러한 공극들 사이로 공기나 수증기가 쉽게 통과하여 과채류의 호흡 및 증산 작용을 활발하게 하는 원인을 제공한다.

따라서 단순히 목재 펄프의 섬유로만 포장 원지를 제조하였을 때는 과채류의 선도가 빠르게 상실되는 현상이 일어나기 때문에 포장 원지의 제조시에

과채류의 호흡 작용을 통하여 방출되는 가스를 제거하면서 동시에 과채류의 수분을 보유하게 하는 발수 처리가 필요하게 된다.

Table 2-5에 기능성 향균 포장 원지의 가스 제거 효율을 나타내었는데, 일정량의 가스가 투입된 병 속에 포장 원지를 넣어 24시간이 지난 후 가스 잔류량을 GC를 통하여 정량한 값을 나타내었다. 기능성 첨가제(즉, 제올라이트)가 첨가되지 않은 일반 포장 원지의 경우에도 어느 정도 가스 함량의 감소가 일어났지만, 제올라이트의 첨가되면서 가스 함량의 감소가 빠르게 진행되었다. 제올라이트가 첨가되지 포장 원지의 경우에는 포장 원지 내에 포함된 수많은 공극 사이에 극소량의 가스 입자들이 포집되어 가스 함량의 감소가 일어난 것으로 보인다. 그러나 제올라이트의 경우에는 고온에서 진공·탈수되어 1,000 m²/g에 이르는 내부의 넓은 표면적을 갖는 세공들을 가지기 때문에 이들 세공을 통해 물분자들이 흡착·제거된다(Barrer, 1986, Harben, 1995). 따라서 이러한 제올라이트가 포장지 제조 시 첨가되면 가스 제거에 매우 유용하게 사용될 수 있고, Table 2-5에서도 이와 유사한 결과를 확인할 수 있다.

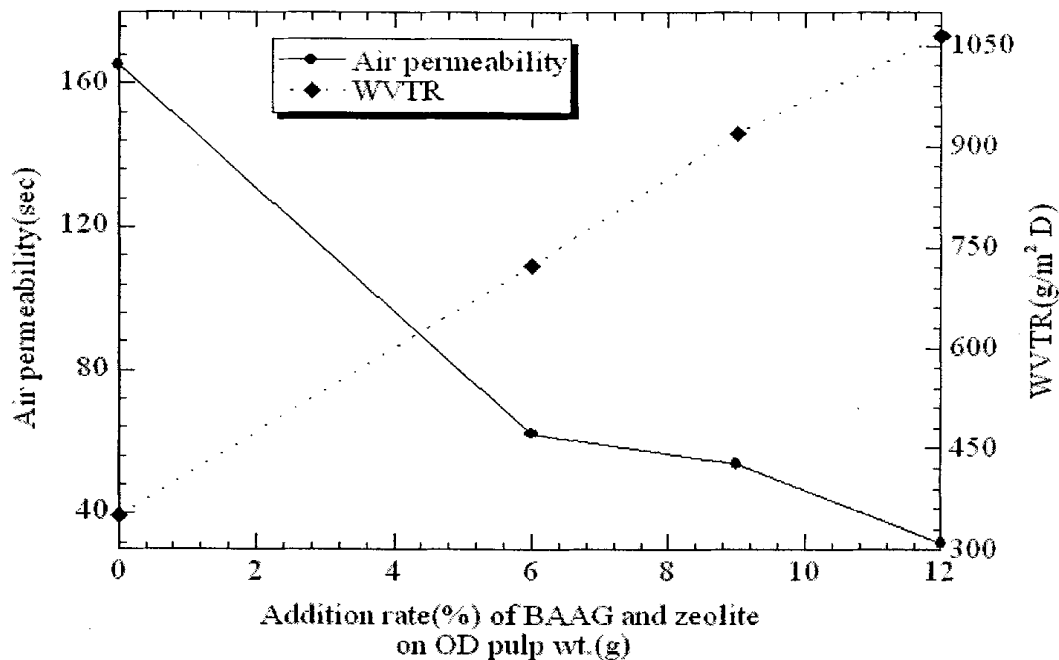


Fig. 2-18. Effects of BAAG powder on air permeability, and water vapor transmission rate of antimicrobial paper.

Table 2-6에는 가스 포집병에 12.2 ppm의 에틸렌가스와 포장 원지를 함께 넣어 시간 변화에 따른 에틸렌 가스의 농도 변화를 나타내었다. Fig. 2-19에는 Table 2-6의 결과를 그래프로 나타낸 것이다. Fig. 2-19에서 볼 수 있는 바와 같이 가스 포집병에 들어 있는 에틸렌 가스의 농도는 어느 정도 일정하게 유지되는 것을 볼 수 있지만, 포장 원지가 들어가면서 에틸렌 가스의 농도가 감소하기 시작하였다. 위에서도 지적한 바와 같이 가스 흡착제를 첨가하지 않은 포장 원지도 가스 흡착 능력을 가지지만 일정 시간만 지나면 가스 농도의 변화가 거의 일어나지 않기 때문에 가스 제거 효율이 떨어지게 된다. 반면에 제올라이트가 첨가되면서 포장 원지는 가스 제거 능력이 향상되면서 시간 경과에 따라 가스 포집병 내의 가스 농도가 가파르게 감소하는 것을 볼 수 있다. 이를 통해 포장 원지가 과채류의 선도에 유해한 가스를 흡착·제거하는데 효율적으로 이용될 수 있음을 확인되었다.

Table 2-6. Change of ethylene gas content in a bottle containing packaging paper

Storage time (hr)	Bottle	0%	6%	9%	12%
0	12.2	12.2	12.2	12.2	12.2
1	12.115	11.842	11.448	10.662	10.438
2	11.658	11.516	11.02	10.069	9.717
3	11.953	11.189	10.611	9.614	9.254
4	11.959	10.877	10.254	9.349	8.838
5	11.324	10.727	9.807	8.93	8.493
10	11.788	10.588	9.504	8.63	8.155
15	11.737	10.476	9.208	8.382	8.055
20	11.107	10.229	9.025	8.061	7.341
24	11.057	10.278	9.301	8	7.656

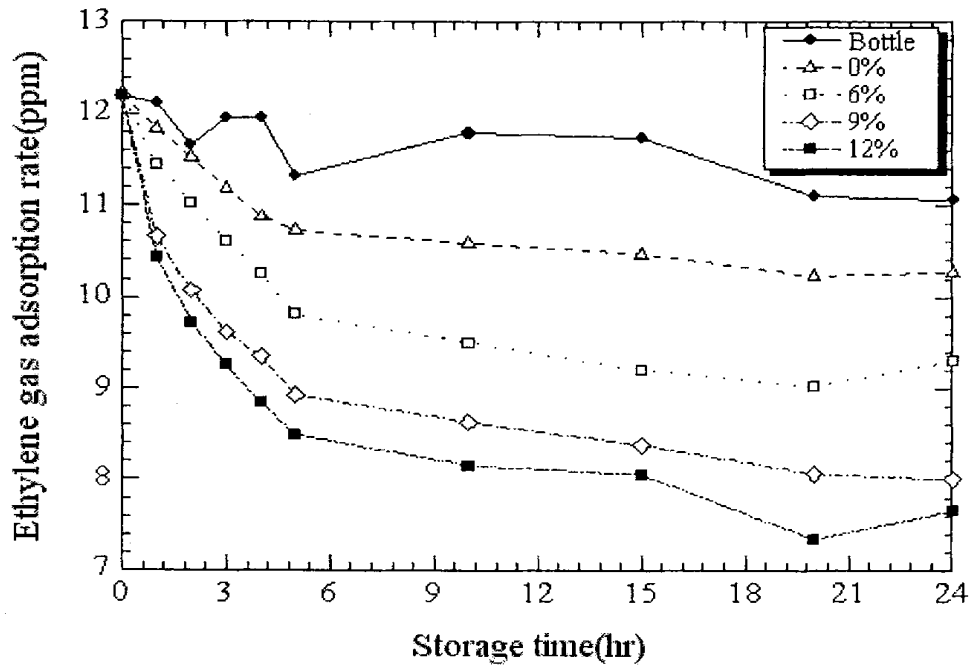


Fig. 2-19. Effects of BAAG powder on ethylene gas adsorption rate of antimicrobial paper.

7) 향균 포장지의 내수성 분석

수분을 함유하고 있는 과채류를 포장할 때에는 포장 소재로 사용되는 포장 봉지(packaging bag)나 포장 상자가 내수성을 나타내지 않으면 포장 소재가 포장된 과채류의 수분을 흡수하여 과채류의 선도를 떨어뜨리게 한다. 일반적으로 과채류의 포장에 골판지 상자를 사용할 경우에는 포장되는 과채류의 종류 및 특성에 따라 이면 라이너(inner liner)는 일정 수준 이상의 발수도(water repellency value, WRV)를 나타내어야 한다.

Table 2-7에 나타나 있는 바와 같이 곡물 및 과채류를 포장할 때에는 골판지 상자의 라이너는 R2-R6 수준의 발수도를 가져야 한다. 그러나 R2나 R4 수준의 발수도를 처리하는 것은 어렵지 않지만 R6 이상의 발수도를 얻고자 할 때에는 고도의 내수성을 발현시킬 수 있는 사이즈제(sizing agent)를 처리하여야 한다. 이러한 사이즈제(혹은 발수제)는 석유계 왁스나 파라핀, 지방산 유도체, 합성수지, 실리콘, 크롬 착염 등을 주성분으로 하고 있지만 가격 문제로 인하여 크라프트지 및 골판지 라이너에는 왁스계가 주로 사용된다. 그러나 왁스

계 발수제를 사용하여 내수 처리를 할 경우 골판지 고지의 재사용에 장애를 초래하기 때문에 제한된 용도에 사용하는 것이 바람직하다.

Table 2-7. Water repellency value (WRV) of inner liner of corrugated boxes for packing fruits and vegetables based on KS M7057

WRV	Agricultural products packed
R2 이상	건조된 농산물로서 PE대, PP대 등으로 속포장하여 내용물의 수분이 겉포장에 영향을 거의 미치지 않는 농산물 (예: 쌀, 콩, 들깨, 참깨, 땅콩 등)
R4 이상	① 수분 증발과 호흡 작용이 대체로 적은 농산물 (예: 사과, 배, 오이, 호박, 양파 등) ② 수분과 호흡 작용이 과다하나 겉포장 보호를 위하여 PE대 등으로 속포장한 농산물 (예: 상추, 깻잎, 두릅 등)
R6 이상	① 수분과 호흡 작용이 과다하여 내용물의 수분이 겉포장 상자에 영향을 미칠 우려가 있는 농산물 (예: 감자, 고구마, 시금치, 파, 딸기 등) ② PE대 등으로 속포장하여도 수분이 겉포장 상자에 영향을 미칠 우려가 있는 농산물 (예: 미나리)

본 연구에서는 골판지 상자의 이면 라이너에만 발수 처리를 가하여 저장 혹은 유통 중에 골판지 상자에 포장된 과채류가 보유한 수분이 감소되는 것을 억제하고자 하였다. 본 연구에서 포장 원지에 대하여 Alkyl Ketene Dimer (AKD)를 처리(발수 처리)하여 포장 원지에 내수성을 부여하였다. 발수도(또는 내수성)는 AMS-2001 (Mirero Co., Korea)을 이용한 접촉각 측정을 통하여 분석하였다. Fig. 2-20에 보는 바와 같이 AKD가 처리되지 않은 골판지 라이너에서는 접촉각이 거의 형성되지 않는 것을 볼 수 있고, AKD가 0.3%가 첨가되면서부터 접촉각이 일정한 각을 이루면서 포장 원지 상에 형성되는 것을 확인할 수 있다. 보통 접촉각이 90° 이상이 되면 90AKD 0.6% 및 1.0% 첨가되면

서 일정 수준 이상의 내수성을 나타내는데, 90° 미만에서는 침투, 젖음 현상이 발생한다. 그러나 AKD 0.6% 이상에서는 접촉각 90° 이상을 나타내어 포장지가 과채류가 보유한 수분을 흡수하여 골판지의 강도를 감소시키는 현상을 지연시킬 수 있을 것으로 짐작할 수 있다. 여기서 인지하여야 할 것은 발수도와 과채류의 증산 작용 억제와는 무관하다는 사실이다.

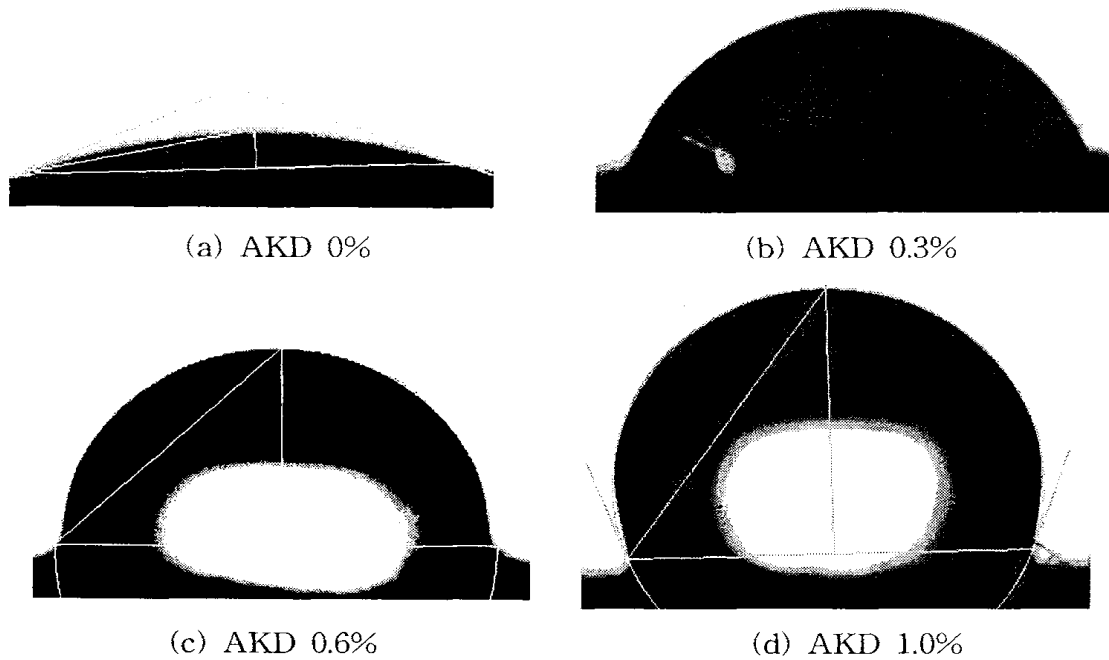


Fig. 2-20. Contact angles of packaging paper showing water repellency degree.

나. 항균 포장지 및 포장 상자의 항균력 시험

BAAG가 첨가된 포장지의 항균력 시험은 paper disk method를 사용하였고, 항균 시험에 사용된 과채류의 변패에 관여하는 미생물들은 Table 2-5와 같다.

Table 2-5. Microorganism used for antimicrobial activity test

Mold	Yeast	Bacteria	
		Gram negative	Gram positive
<i>Fusarium</i> sp.	<i>Candida albicans</i>	<i>Escherichia coli</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i> <i>Bacillus cereus</i>

1) BAAG가 첨가된 포장지의 항균력 시험

자몽종자추출물과 기타 항균 성능 향상 성분이 혼합된 BAAG를 포장 원지를 구성하는 섬유질 전건 중량에 대하여 0, 3, 6, 9 및 12% 처리한 포장지의 항균력을 시험한 결과가 Fig. 2-21, 2-22 및 Fig. 2-23에 나타나 있다. Fig. 2-21에 나타난 바와 같이 과채류의 변패에 관여하는 곰팡이 *Fusarium* sp.와 효모 *Candida albicans*에 대한 항균력에 BAAG 3% 첨가 수준에서는 나타나지 않았고, 6%에서부터 항균 활성 저해환을 나타내기 시작하였다. 첨가량을 증가시킬수록 균 활성 저해환이 더욱 뚜렷해지는 것을 쉽게 관찰할 수 있고, 곰팡이와 효모 모두에 강력한 항균력을 나타내었다. 특히 *Fusarium* sp.는 항균 포장 원지 주위로 균 활성 저해환이 매우 명확하게 나타날 뿐만 아니라 항균제의 첨가 수준별로 항균 환의 크기가 명확히 차이를 나타내고 있다. BAAG가 첨가된 항균 포장 원지가 곰팡이류에 대해 더욱 강한 항균 활성을 보이는 것으로 확인되었다.

이러한 항균 포장 원지의 항균력은 미세한 분말 형태로 제조된 BAAG가 섬유 상에 효과적으로 정착하여 균의 활성 혹은 생육을 억제시키는 데 효율적으로 작용하기 때문인 것으로 사료된다. 항균 포장 원지로 제조된 항균 포장 상

자(corrugating box)나 향균 포장 봉지(packaging bag)는 변패성 곰팡이나 효모의 활성을 저해하여 과채류의 선도 유지에 상당한 기여를 할 것이다.

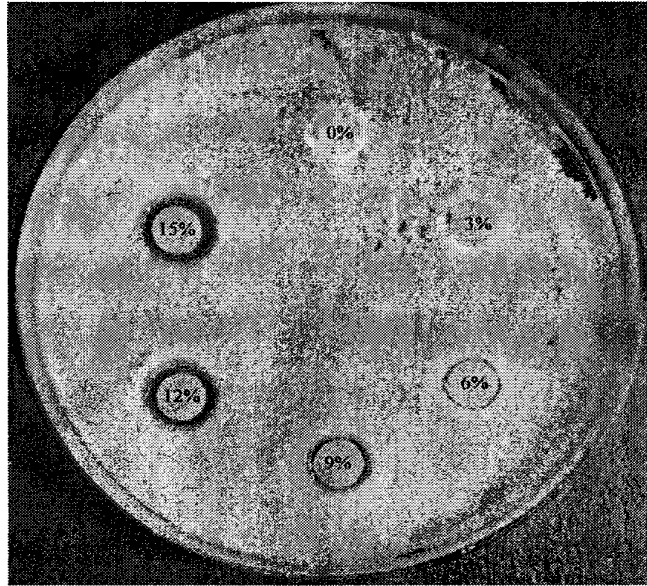
Fig. 2-22와 2-23에서 보는 바와 같이 병원성 세균들인 Gram균들에 대한 향균 시험에서도 곰팡이나 효모와 유사한 실험 결과를 얻을 수 있었지만, *Pseudomonas aeruginosa*를 제외하고는 BAAG 첨가량 3% 수준에서부터 향균 활성을 나타내기 시작하여 6%로 갈수록 생육 저해환이 더욱 명확하게 넓어졌다. 즉, 자몽 종자 추출물을 주성분으로 하여 제조한 BAAG가 포장 원지에 첨가되었을 때는 곰팡이와 효모에 비해서 병원성 세균류에 대하여 더 효과적인 향균력을 나타냄을 의미하는 것이다. 이것은 BAAG가 단순한 과채류나 식품류의 포장에만 사용될 수 있는 것이 아니라 의약품이나 기타 변패가 쉽게 일어날 수 있는 물품의 포장에 사용되는 포장지 제조에도 사용될 수 있음을 보여주는 증거이다.

위의 결과들을 통해 볼 때 과채류의 수확 후 저장이나 유통 중에 향균 포장 원지(혹은 라이너)로 제조된 골판지 상자나 향균 포장지로 포장을 한다면 과채류의 변패를 일으킬 수 있는 미생물의 활성을 억제하여 과채류의 최초 가치를 보전할 수 있을 것으로 보인다.

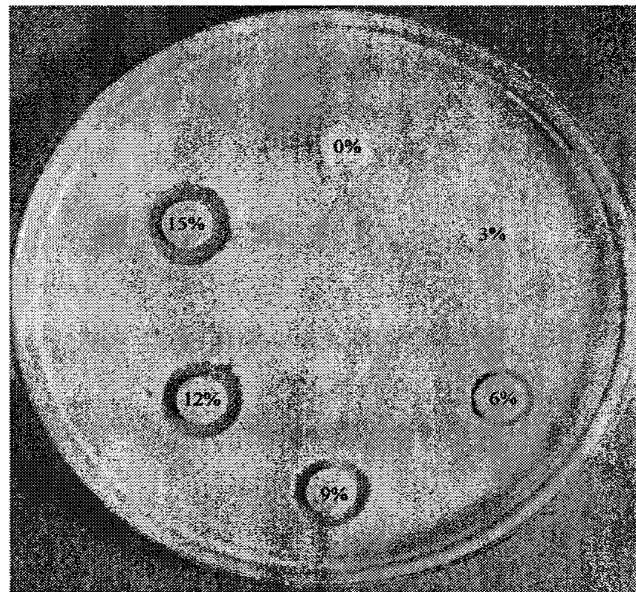
2) 제올라이트와 BAAG가 처리된 포장 원지의 향균력

천연 향균제인 BAAG와 가스 흡착 제거제인 제올라이트를 동시에 처리하여 제조한 포장 원지의 향균력을 시험한 결과는 Fig. 2-24와 같다. BAAG와 제올라이트의 첨가 비율은 포장 원지를 구성하는 펄프 섬유질의 전건 중량(g)에 대하여 각각 0, 3, 4.5 및 6%였다.

Fig. 2-24에서 보는 바와 같이 BAAG와 제올라이트의 첨가량이 6%일 때부터 생육 저해환이 형성되기 시작하여 첨가량을 9% 및 12%로 증가할수록 저해환의 크기가 커졌다. 포장 원지에 향균력과 가스 흡착력을 부여하기 위하여 제올라이트와 BAAG를 동시에 처리할지라도 제올라이트로 인한 향균 성능의 감소가 전혀 일어나지 않음을 의미한다. 따라서 본 연구를 통하여 BAAG와 제올라이트의 동시 처리를 통한 고기능성 향균 포장 원지 제조가 가능함을 확인할 수 있었다.

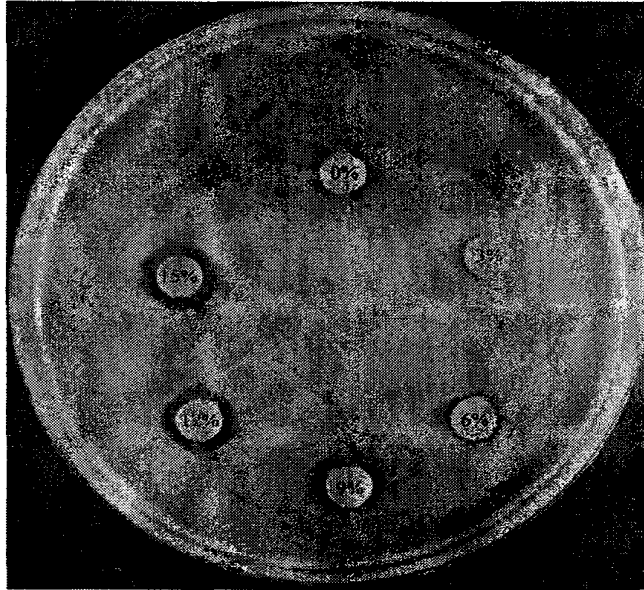


(a) *Candida albicans*

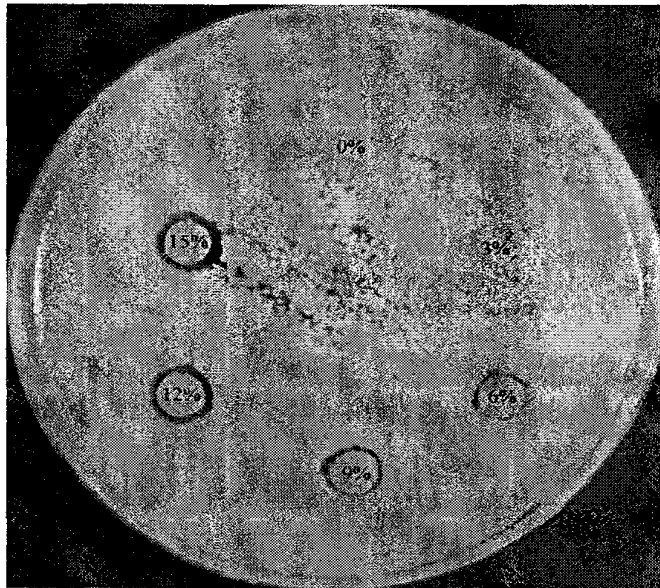


(b) *Fusarium* sp.

Fig. 2-21. Inhibitory effect of packaging paper treated with BAAG against fungi and yeast: The numbers on the specimens show the addition ratios (%) of BAAG from 0 to 15% based on an oven-dried pulp weight.

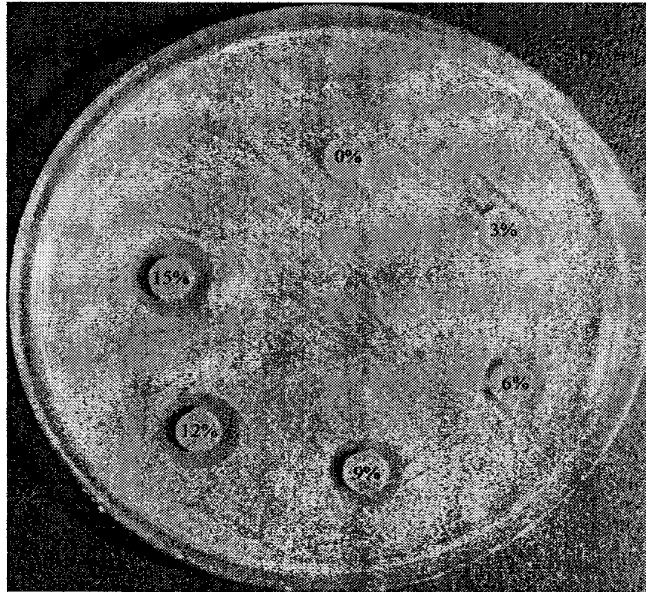


(a) *Escherichia coli*

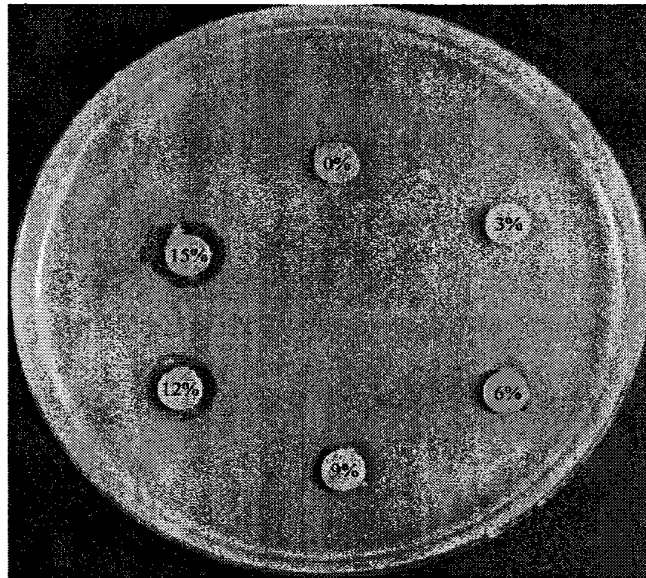


(b) *Pseudomonas aeruginosa*

Fig. 2-22. Inhibitory effect of packaging paper treated with BAAG against gram-negative bacteria: The numbers on the specimens show the addition ratios (%) of BAAG from 0 to 15% based on an oven-dried pulp weight.

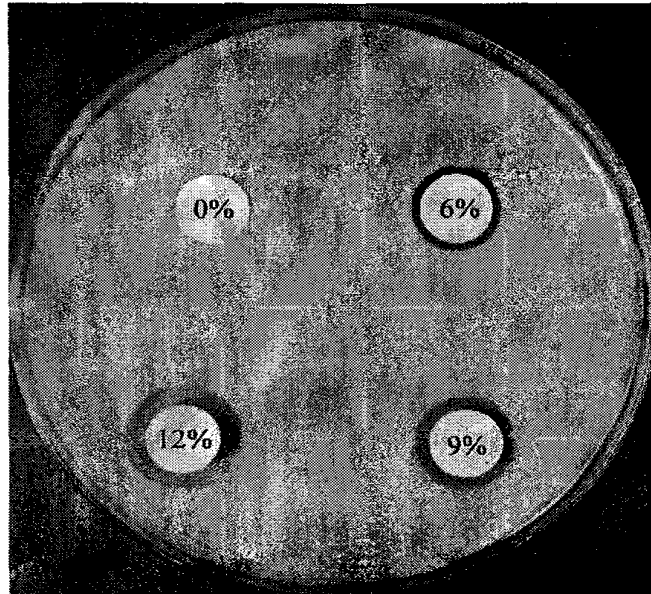


(a) *Staphylococcus epidermidis*

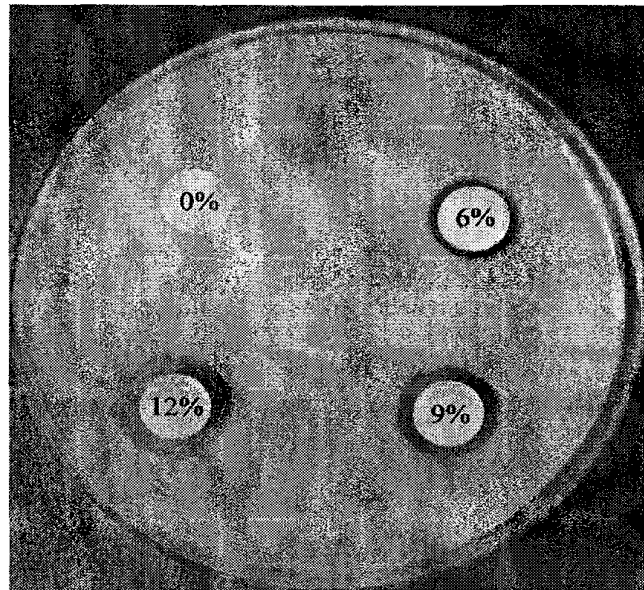


(b) *Bacillus cereus*

Fig. 2-23. Inhibitory effect of packaging paper treated with BAAG against gram-positive bacteria: The numbers on the specimens show the addition ratios (%) of BAAG from 0 to 15% based on an oven-dried pulp weight.

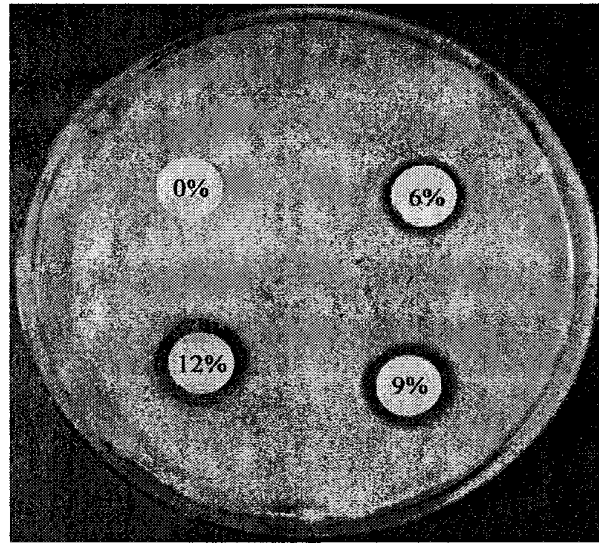


(a) *Fusarium* sp.

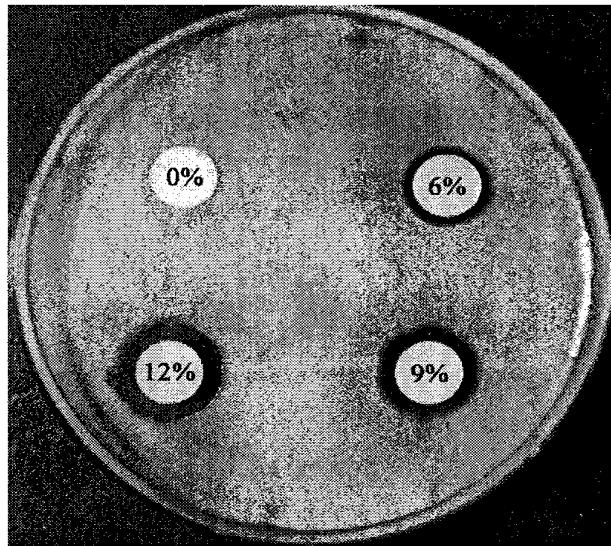


(b) *Candida albicans*

Fig. 2-24. Inhibitory effect of packaging paper treated with BAAG against gram-positive bacteria: The numbers on the specimens show the addition ratios (%) of BAAG from 0 to 12% based on an oven-dried pulp weight.



(a) *Bacillus cereus*



(b) *Pseudomonas aeruginosa*

Fig. 2-25. Inhibitory effect of packaging paper treated with BAAG against gram-positive bacteria: The numbers on the specimens show the addition ratios (%) of BAAG from 0 to 12% based on an oven-dried pulp weight.

3) 항균 포장지와 포장 상자에 저장된 과채류의 선도 평가

본 연구를 통해 개발된 기능성 포장 원지로 제조한 골판지 상자(corrugated box)와 포장 봉지(packaging bag)에 과채류를 포장하여 저장하여 이들 포장 수단들이 과채류의 선도에 미치는 영향을 조사하였다. 시험용 과채류로는 시중에 판매 중인 귤(mandarin orange)을 이용하였고, 저장 조건은 온도 10 ± 2 °C, 습도 50% 조건에서 15일간 저장하여 저장 귤의 생체중 변화, 미생물 생육 상태의 육안 감별 등을 실시하였다.

이러한 실험은 개발된 항균 포장 원지가 과채류의 포장 수단으로 이용될 때 단순히 과채류의 선도를 유지할 수 있는 능력을 지녔는가의 유무만을 판단하기 위한 것이다. 단위 포장용 포장 봉지에 저장되는 귤의 개수는 10개로 하였고, 골판지 상자에 저장되는 귤의 개수는 20개로 하였다. 매 24시간을 기본 저장 단위로 하여 미생물 발생 유무와 생체중 변화를 측정하여 귤의 선도를 평가하였다.

가) 포장 봉지(packaging bag)에 저장된 귤 선도 평가

단위 포장(item packaging) 및 골판지 상자에 포장된 귤이 일정 저장 기간을 거쳤을 때 미생물이 발생되었는가를 조사하였다. 미생물의 발생 유무는 포장 봉지와 포장 상자를 열어 육안을 통해 조사하였고, 미생물이 발생된 귤의 개수를 세어 변패율을 계산하여 표기하였다. Fig. 2-26에는 단위 포장 상태에서 15일 동안 저장된 귤에서 나타난 미생물의 발생 유무를 촬영한 사진이다. Fig. 2-26의 (a)에서 보는 바와 같이 BAAG과 제올라이트를 전혀 첨가하지 않은 일반 포장 원지로 제조한 포장 봉지는 선도 유지 능력이 거의 발현되지 않아 귤의 상당수가 매우 부패되어 있었다. 따라서 전체적인 저장 귤의 외관이 변패 곰팡이에 오염되어 있어 상품 가치가 상당히 훼손되었다. Fig. 2-26의 (b)에서 나타난 BAAG와 제올라이트가 각각 3%씩 첨가된 포장 봉지에서는 무처리 상태보다는 귤의 저장 상태가 양호하였지만 귤의 변패가 상당히 진행되어 있었다. 그러나 부패된 귤의 상태는 무처리 포장 봉지에 저장된 귤보다는 수축 현상이 다소 작게 일어나는 것으로 부패에 대한 저항성이 발현되기 시작한 것으로 추정되었다.

포장 원지에 BAAG와 제올라이트의 첨가량이 각각 4.5%씩 첨가하였을 때의 저장 귤의 상태가 Fig. 2-27의 (a)에 나타나 있다. Fig.2-26의 (a)와 (b)에서 보여진 것과는 달리 저장 귤의 상태가 매우 양호하고 변패된 귤의 개수도 상

당히 감소한 것을 볼 수 있다. Fig. 2-27의 (b)에서 보는 바와 같이 포장 원지에 BAAG와 제올라이트를 각각 6%씩 첨가하였을 때는 저장 궤에서 변패가 전혀 일어나지 않았고 저장 초기의 상태를 그대로 간직하고 있었다.

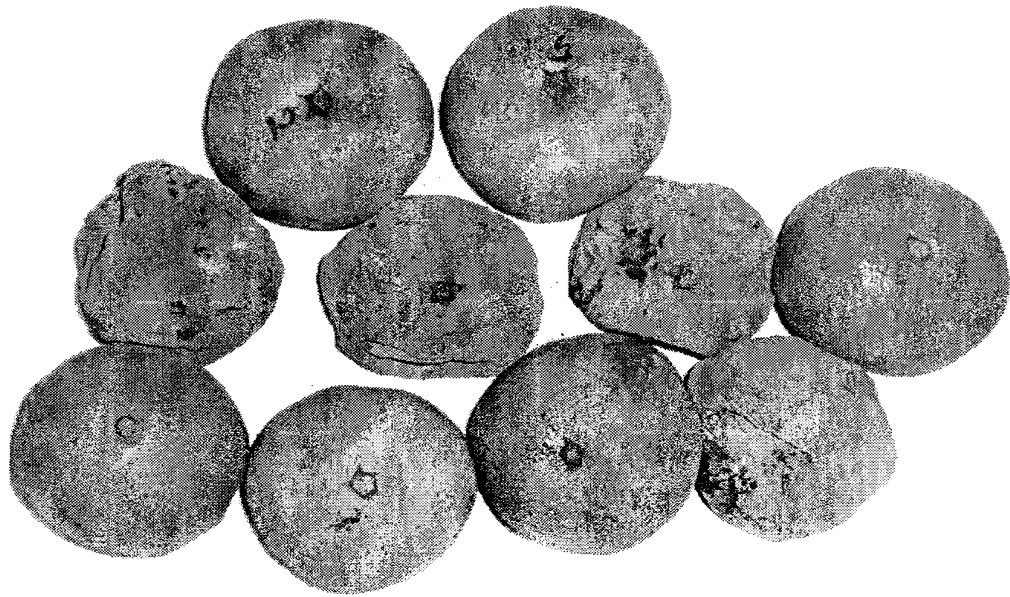
따라서 BAAG와 제올라이트를 포장 원지에 처리하였을 때는 BAAG에 의하여 항균력이 부여되고 제올라이트에 의하여 숙성 호르몬인 에틸렌 가스가 흡착 제거되면서 저장 궤이 변패되기 쉬운 환경이 제거된다. 반면에 BAAG와 제올라이트를 처리하지 않은 일반 포장 봉지에 저장한 궤에서는 에틸렌 가스를 비롯하여 궤의 호흡 작용을 통하여 방출되는 CO₂, O₂ 등의 조절이 이루어지지 않아 궤 조직의 연화를 촉진하여 변패 미생물의 생육을 촉발한 것으로 보인다.

그러나 저장 조건이 MA나 CA와 같은 보다 제어된 환경 하에서 기능성 포장 원지로 제조된 포장 소재에 궤를 포함한 기타 과채류가 포장되어 저장된다면 더욱 우수한 선도 유지 능력을 발현할 수 있을 것으로 추론할 수 있다.

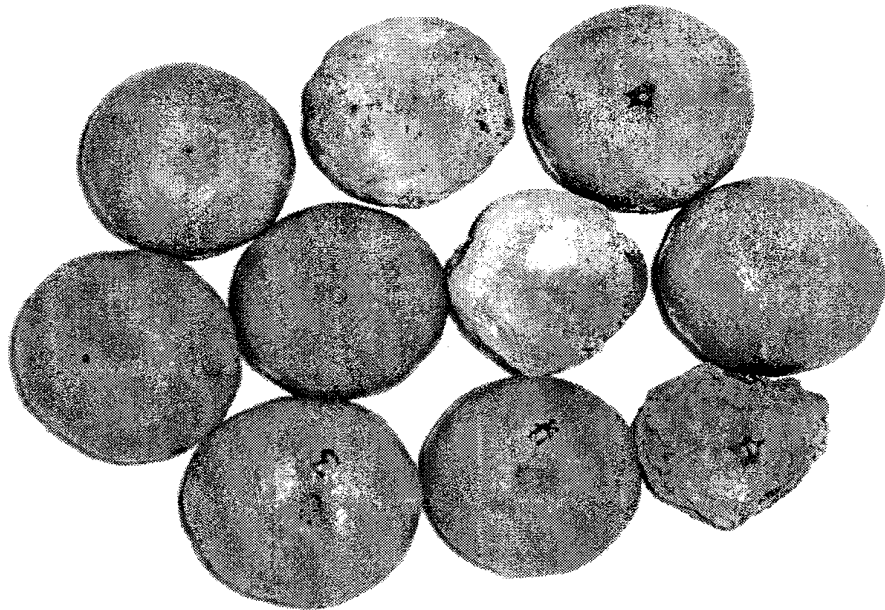
Table 2-6에는 항균 포장 원지로 제조된 포장 봉지(packaging bag)에 포장되어 저장된 궤들의 변패율을 Fig. 2-26과 2-27에 나타난 육안적 평가에 근거하여 나타내었다. 변패율은 포장된 전체 궤의 개수에 대하여 변패된 궤 개수의 비를 백분율(%)로 환산해 놓은 것이다. Fig.2-26과 2-27의 사진에서 살펴본 바와 같이 변패된 궤의 비율은 BAAG와 제올라이트의 첨가 비율이 증가할수록 감소하였다.

Table 2-6. Putrefactive ratio of mandarin oranges in an antimicrobial paper bag for 15 days

	Control	6% BAAG(3)+Zeolite(3)	9% BAAG(4.5)+Zeolite(4.5)	12% BAAG(6)+Zeolite(6)
Putrefactive ratio (%)	50	40	20	0



(a) Control

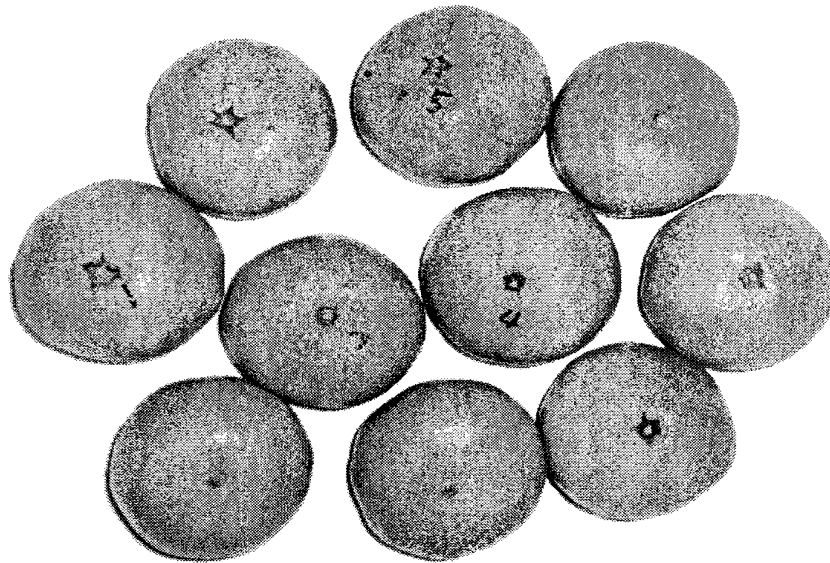


(b) BAAG 3% + Zeolite 3%

Fig. 2-26. Mandarin oranges in an antimicrobial packaging bag stored for 15 days.



(a) BAAG 4.5% + Zeolite 4.5%



(b) BAAG 6% + Zeolite 6%

Fig. 2-26. Mandarin oranges in an antimicrobial packaging bag stored for 15 days.

Fig. 2-28에는 포장 봉지에 저장된 귤이 갖는 생체 중량 감소율(weight loss rate) 변화를 나타낸 그래프이다. 저장 시간의 경과에 따라 BAAG와 제올라이트의 처리량에 관계없이 일률적으로 귤의 생체중 감소가 일어났지만, 7일 정도가 경과하면서 BAAG와 제올라이트의 처리 정도에 따라서 생체중 감소율의 정도가 달라지기 시작하였다. BAAG와 제올라이트가 각각 4.5% 이상 첨가된 포장 봉지에 저장된 귤의 생체중은 무처리와 3%씩 처리된 포장 봉지에 저장된 귤의 생체중에 비하여 감소 정도가 훨씬 작았다. 이는 저장 귤의 변패가 심하게 진행되는 무처리 및 6% 포장 봉지에서 귤 과육 및 과피 조직이 심하게 괴멸되면서 생체중 손실율을 크게 한 것으로 보인다. 이러한 현상은 Fig. 2-26에서 확인할 수 있었다.

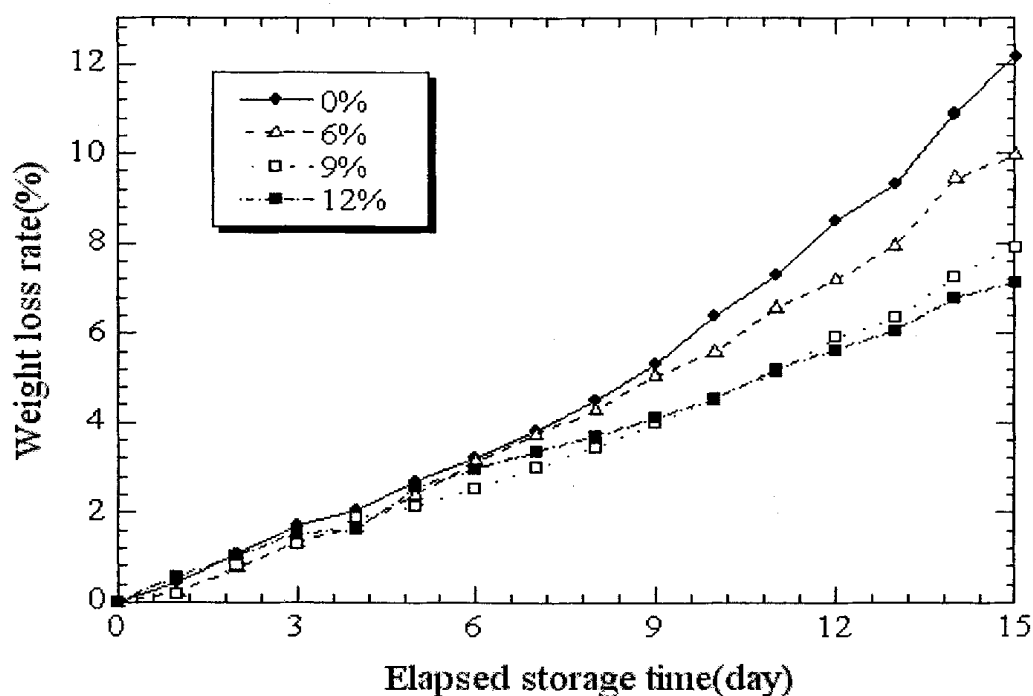


Fig. 2-28. Weight loss rate of mandarin oranges in an antimicrobial packaging bag stored for 15 days.

나) 골판지 상자에 저장된 귤의 선도 평가

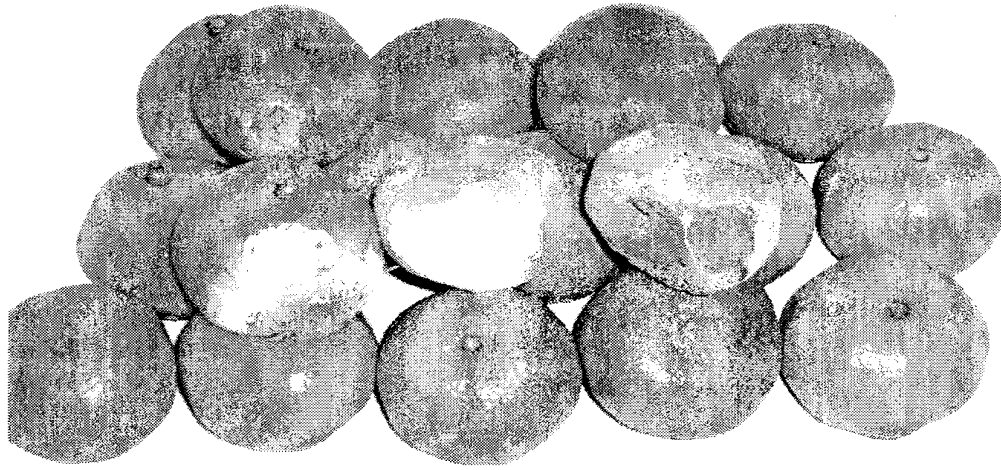
BAAG와 제올라이트를 처리하여 제조한 항균 포장 원지를 골판지 상자의 이면 라이너(inner liner)로 이용하여 골판지 상자를 제작하였다. 골판지 상자의 골 형태(flute type)는 B골을 이용하였고, 크기는 23×23×22 cm로 하였다. 골판지 상자의 선도 유지력을 평가하기 위한 대상 과채류로는 제주산 귤(mandarin orange)을 이용하였고, BAAG과 제올라이트의 처리 조건에 따라 골판지 상자에 각 20개의 귤을 포장하여 12일 동안 저장한 후 귤의 변패 정도 및 생체중 변화율을 조사하였다.

앞서의 포장 봉지 실험에서 같이 무처리 골판지 상자에 저장된 귤이 가장 심한 변패율을 나타내었고, BAAG와 제올라이트의 처리량을 증가시킬수록 변패율의 정도가 줄어들었다. 포장 봉지(packaging bag)에 저장된 귤들에서 비해서 골판지 상자에 저장된 귤의 변패율이 다소 낮은 것을 알 수 있는데, 이는 포장 봉지에 저장된 귤들은 항균 포장지와 직접 접촉하여 변패 미생물의 생육을 직접 억제할 수는 있지만 포장 원지(평균 200 g/m²)로만 구성되어 있어 호흡 및 증산 작용이 빠르게 일어나 조직의 연화를 촉진하였기 때문으로 사료된다. 반면에 골판지 상자에 저장된 귤들은 저장 귤의 개수가 많기 때문에 항균 라이너(antimicrobial liner)와 직접 접촉하지 못하는 귤들이 존재하여 이러한 귤에서부터 변패가 진행된 것으로 보인다.

Table 2-7에 골판지 상자에 저장된 귤의 변패율을 나타내었다. 귤의 변패율이 가장 적게 일어나는 처리 조건은 포장 봉지의 조건과 마찬가지로 BAAG와 제올라이트를 각각 6%씩 처리하여 제조한 골판지 상자였다.

Table 2-7. Putrefactive ratio of mandarin oranges in an antimicrobial corrugated box for 12 days

	Control	6% BAAG(3)+Zeolite(3)	9% BAAG(4.5)+Zeolite(4.5)	12% BAAG(6)+Zeolite(6)
Putrefactive ratio (%)	35	20	10	5

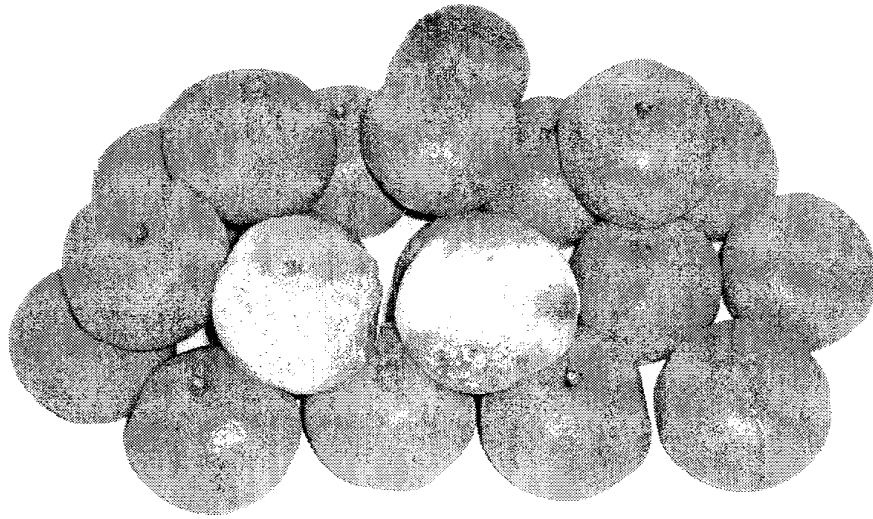


(a) Control



(b) BAAG 3% + Zeolite 3%

Fig. 2-28. Mandarin oranges in an antimicrobial packaging box stored for 12 days.



(a) BAAG 4.5% + Zeolite 4.5%



(b) BAAG 6% + Zeolite 6%

Fig. 2-29. Mandarin oranges in an antimicrobial packaging box stored for 12 days.

Fig. 2-30에서 보는 바와 같이 BAAG와 제올라이트가 각각 4.5% 이상 처리된 이면 라이너로 제조된 골판지 상자에 저장된 귤의 생체중은 무처리와 3% 씩 처리된 골판지 상자 보다 그 감소율이 더 낮았다. 즉, BAAG와 제올라이트로 처리된 이면 라이너로 인하여 귤의 저장성이 훨씬 양호해 졌기 때문에 귤의 수분 함유 능력이 향상된 것으로 판단된다.

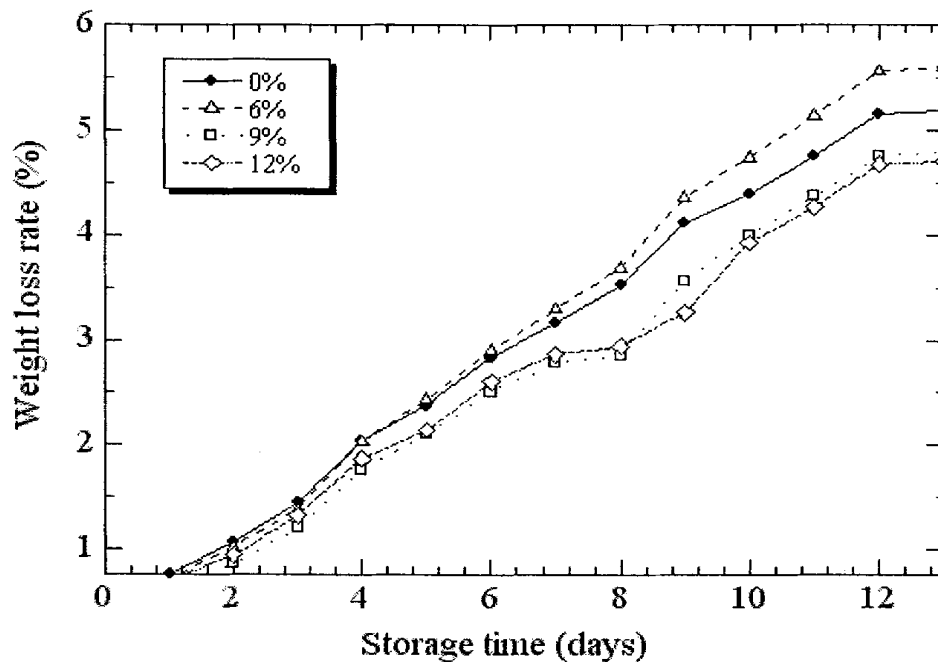


Fig. 2-30. Weight loss rate of mandarin oranges in an antimicrobial box stored for 12 days.

4) 항균 포장 원지의 경제성 분석

자몽 종자 추출물(Grapefruit seed extracts)을 주원료로 한 BAAG를 추출·제조하는데 소요되는 비용과 기능성 포장 원지에 소요되는 비용을 계산하면 다음과 같다.

자몽 종자 추출물을 주원료로 한 BAAG의 가격은 198,000원/kg(순도 100%)이고, 라이너지 제조 비용은 400원/kg(평량 200 g/m² 기준)이다. 기능성 라이너지 제조 시 첨가되는 Ca-PAM과 AKD는 각각 150원/kg과 700원/kg이고, 천

연 제올라이트는 420원/kg이다.

만약 BAAG와 제올라이트가 각각 6%씩 첨가된 평량 200 g/m²인 포장 원지 (혹은 라이너)를 제조한다고 가정한다면, Table 2-8와 같이 지료를 조성할 수 있다. 가로와 세로가 각각 1 m인 항균 라이너 200g(평량 200 g/m²)을 제조하는데 소용되는 비용은 약 3,360원 정도이고, 여기에서 라이너 제조 비용을 제외하면 3,290원의 추가 비용이 소요된다.

Table 2-8. The manufacturing cost of antimicrobial packaging paper

	Addition rate (%)	Production cost(won) based on 200 g/m ²
Liner	87.48	70
BAAG	6	2,376
Zeolite	6	5
AKD	0.5	700
Ca-PAM	0.02	15
Subtotal	100	3,366
Total		(3,360-70) = 3,290원

만약 꿀이나 기타 과채류를 일반 골판지 포장 상자에 저장하였을 때 보통 35-50% 정도의 과채류가 변패되어 폐기된다. 그러나 BAAG와 제올라이트를 처리한 기능성 라이너로 제조한 골판지 상자에 과채류를 저장한다면 폐기되는 과채류의 양을 5% 미만으로 줄일 수 있기 때문에 기능성 포장 원지에 추가되는 비용을 상쇄시킬 수 있을 것으로 판단된다. 즉, 꿀 120개를 넣을 수 있는

꿀 상자(150×60 cm)의 가격은 12,000원/box라고 가정하면, 일반 골판지 상자에서의 꿀 변패율이 35-50%이기 때문에 약 42개 정도의 꿀이 폐기된다. 이것을 손실 비용으로 환산하면 4,200-6,000원의 손실이 발생하게 된다.

기능성 골판지 상자를 제조할 때 추가되는 비용이 3,290원/m²이고, 이것을 150×60 cm의 골판지 상자 제조 비용으로 환산하면 2,961원/m²의 추가 비용이 발생하게 된다. 따라서 일반 포장 상자에 저장된 꿀의 손실 비용이 4,200원이므로 두 비용 사이의 차는 910원이 발생하게 된다. 곧, 기능성 골판지 상자를 사용한다면 저장성의 향상으로 약 1,239-3,039원 정도의 추가 이익이 발생하여 농가 소득 보존에 큰 혜택을 제공할 수 있을 것으로 분석되었다. 뿐만 아니라 기능성 포장 원지나 라이너의 사용으로 인하여 폐기 과채류의 처분 문제도 해결할 수 있을 것으로 예상되어 다양한 경제적 이익을 가져다 줄 수 있을 것으로 기대된다.

4. 결 론

Fig. 2-31은 항균 라이너(antimicrobial liner)로 제작한 골판지 상자 내에서 이루어지는 효과를 정리하였다. 먼저 BAAG에 의하여 과채류 자체나 외부에서 침입할 수 있는 미생물의 생육을 억제할 수 있고, 두 번째로 제올라이트에 의하여 과채류의 호흡 동안에 발생하는 선도 유지에 유해한 가스의 제거가 이루어지고, 마지막으로 AKD와 같은 내수성 약품을 처리하여 과채류가 보유한 수분의 제거가 최소로 이루어지도록 하였다.

결론적으로 BAAG, 제올라이트, 그리고 AKD로 처리된 포장 원지를 이용하여 제작한 포장대(packaging bag)과 골판지 포장 상자는 저장 과채류의 선도를 유지하는 데 탁월한 효과를 발휘하였고, 기능성 첨가제의 처리로 인한 제조 원가의 상승은 폐기 과채류의 양이 감소하면서 상쇄시킬 수 있었다. 따라서 일반 골판지 상자에 저장된 과채류보다는 기능성 골판지 상자에 저장하는 방법이 보다 경제적인 저장 방법이 될 수 있음을 확인하였다.

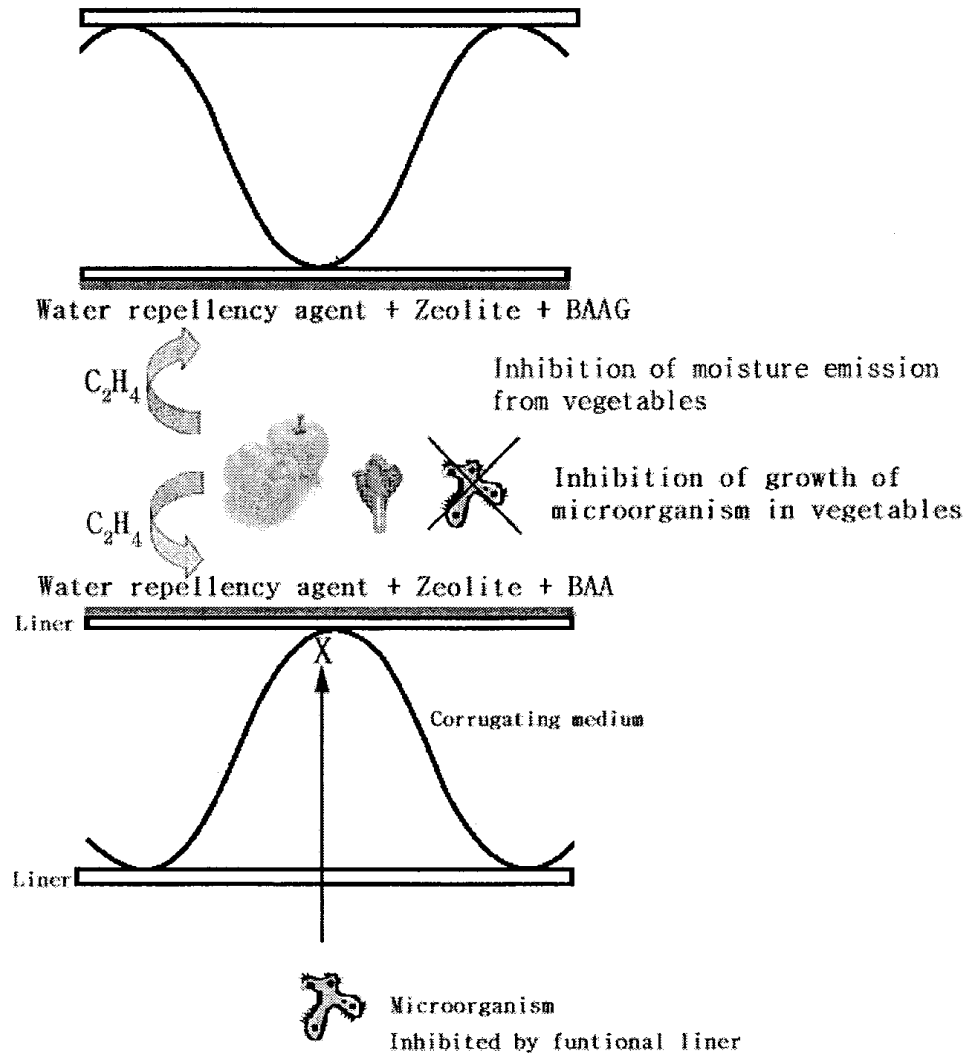


Fig. 2-30. Functional properties of corrugated box treated with BAAG zeolite and water repellency agent.

제 3 절 과채류의 저장·유통 조건의 확립

1. 서 설

과채류는 맛, 색깔 및 향을 즐기는 기호식품인 동시에 무기질과 비타민 그리고 난소화성 고분자 다당류를 섭취할 수 있으므로 건강지향성 식품이라고 할 수가 있다. 따라서 소득 증가와 건강에 대한 관심이 증가하고 있는 시점에서 그 소비가 증가하고 있다. 채소류는 1985~1999년 사이에 연평균 3.3%의 소비 증가율을 나타내었으며, 1999년도 1인당 소비량은 148.0 kg이었다. 과실류는 1985~1999년 사이에 연평균 3.2%의 소비 증가율을 나타내었으며, 1999년도 1인당 소비량은 55.7 kg이었다(한국식품연감, 2001).

과채류는 생리적인 특성상 수확한 다음 저장하거나 유통하는 동안에 호흡작용, 증산작용 등의 생리작용이 활발해질 뿐만 아니라 곰팡이를 비롯한 식물병리 미생물의 오염 및 성장으로 인한 부패가 일어난다. 또한 과채류 자체의 경도가 저하되는 물리적인 변화뿐만 아니라 비타민, 유기산, 당분 등과 같은 영양적인 변화도 동반된다. 또한 이들의 품질에 영향을 미치는 수분, 색소함량 등도 감소함으로써 외관, 맛, 신선도 등의 감소로 인한 가격 하락으로 인한 농민들의 손실이 예상된다 (조성환 등, 1994; Lattanzio 등, 1994). 특히 저장성이 약한 채소는 수급 조절의 어려움으로 인하여 매년 가격의 불안정이 되풀이되고 있다.

과채류의 유통·저장시에 포장은 필수적이므로 포장에 사용되는 포장재가 과채류의 변패 미생물의 생육을 저해할 수 있는 항균물질을 함유하고 있다면 과채류의 저장성이 증대되는 효과를 기대할 수가 있을 것이다. 소비자들의 건강 지향성을 감안한다면 천연항균제가 거부감 없이 받아들여질 것이며, 이를 위하여 식물성 천연항균제에 대한 연구가 진행되었다. 또한 개발된 식물성 천연항균제로 환경친화적인 포장재에 대한 연구가 진행되었으며, 본 연구에서는 개발된 식물성 천연항균제를 사용하여 과채류에 적합한 처리 조건을 설정하고, 천연항균제를 함유한 포장재로 과채류를 포장하고 저장하면서 이들의 저장·유통에 적합한 조건을 설정하고자 하였다.

2. 재료 및 방법

가. 시료

자몽과실체를 건조하고 분쇄한 후, 감압추출장치를 이용하여 glycerine을 추출용매로 추출, 조제하여 자몽종자추출물을 수집하였다. 이 추출물에 lactic acid 5%, citric acid 5%가 되도록 혼합, 균질화하여 조제한 자몽종자추출물제제(BAAG, Botanical antimicrobial agent-GFSE mixture)를 식물성 천연항균제로 선정하여 본 연구의 항균소재 원액으로 사용하였다. 또한 BAAG에 zeolite를 같은 양 첨가한 혼합물을 6%, 9% 및 12%를 첨가하여 항균포장지를 제조하였다. 실험에 사용한 과채류인 방울토마토, 피망, 오이, 단감, 사과, 배 및 감귤은 실험 당일 마산의 시장에서 구입하였다.

나. 식물성 천연항균제의 처리조건 설정

식물성 천연항균제의 항균력을 알아보기 위하여 약 2 L의 식물성 천연항균제 용액에 방울토마토, 오이, 단감, 사과 및 배를 각각 5분 동안 침지하였으며, 침지하는 동안 가끔 저어 주었다. 이때에 방울토마토는 약 50 g을, 오이, 단감, 사과, 피망 및 배는 각각 1개씩을 침지하였다. 침지가 끝난 방울토마토, 단감, 사과, 피망 및 배는 salad spinner를 사용하여 1분간 탈수하였으며, 오이는 바구니에 담아서 1분 정도 방치하여 표면의 물기를 부분적으로 제거한 다음 총균수 측정에 사용하였다. 또한 적절한 침지 시간을 결정하기 위하여 처리 농도로 결정된 식물성 천연항균제 용액에 과채류를 일정한 시간동안 침지하였다.

다. 미생물의 측정

식물성 천연항균제 침지 처리 및 저장 중 과채류의 총균수 및 곰팡이, 효모수는 일정량의 과채류를 취한 다음 Lab blender(LB-400SG, TMC Co., Korea)에 넣고 마쇄하였다. 이중에서 1 mL을 취하여 0.1% peptone수로써 필요한 만큼 희석하였다. 총균수는 희석액 0.1 mL을 plate count agar (Difco Laboratories) 배지에 도말하여 25°C에서 3일간 배양하였고, 곰팡이 및 효모는 potato dextrose agar (Difco Laboratories)배지에 희석액 0.1 mL을 도말한 다음 25°C에서 5일간 배양하여 형성된 colony의 수를 colony forming unit

(CFU/g)로 표시하였다(Kim 등, 2000).

라. 시료의 저장조건

1) MA(Modified atmosphere) 조건 설정을 위한 포장 및 저장

방울토마토와 피망의 MA 조건 설정을 위하여 사용한 필름은 30 μm cast polypropylene (CPP, STC Co., Korea), 20 μm low density polyethylene (LDPE, Daelim Vinyl, Korea), 15 μm polyolefin (MPD, Cryovac, U.S.A.), 30 μm polyolefin (PD961, Cryovac, U.S.A.), 15 μm perforated polyolefin(PY85, Cryovac, U.S.A.) 및 10 μm linear low density polyethylene (LLDPE, Clean Wrap, Korea)였다. 포장의 크기는 20×15 cm 였으며, 방울토마토는 약 300 g, 피망은 2개씩(약 160 g)을 넣었다. 방울토마토는 12°C, 피망은 10°C에서 저장하면서 품질 특성의 변화를 측정하였다.

2) 항균포장지를 이용한 과채류의 포장 및 저장

방울토마토는 15.5×24 cm의 크기의 항균포장지에 약 450 g을 담고 10°C에서 저장하였다. 감귤은 24×24×22 cm 크기의 박스 내면에 항균포장지를 붙인 다음 약 5 kg을 담고 10°C에서 저장하였다. 배는 항균포장지로 싸서 10°C에서 저장하였다.

3) 개발된 기술을 이용한 과채류의 대규모 저장 실험

항균포장지를 이용한 2)의 실험 결과 효과가 큰 것으로 확인된 처리구에 대하여 38×25×20 cm 크기의 박스 내면에 항균포장지를 붙인 다음 약 10 kg의 방울토마토와 감귤을 각각 담고, 5°C의 저온 창고에서 저장하면서 품질특성의 변화를 고찰하였다.

마. 포장 내부의 기체 조성 측정

MA 조건 설정을 위한 필름 포장 내부의 기체 조성 변화를 알아보기 위하여 gas-tight syringe를 사용하여 포장 내부의 기체를 1 mL 취하여 gas chromatography (Model 860D, Young-In Co., Korea)에 주입하여 산소와 이산화탄소의 농도 변화를 조사하였다. 사용한 column은 CTR I (Alltech Associates Inc., U.S.A.)이었으며, 검출기는 TCD였다. 오븐의 온도는 40°C, 인젝터는 70°C, 검출기는 90°C로 하였으며, 운반 기체로 사용한 헬륨의 이동 속도는 40 mL/min로 하였다(Park 등, 1998).

바. 중량 감소율 및 부패율의 측정

과채류의 저장 중 중량 감소율은 초기의 중량에 대한 감소량을 백분율로 환산하여 표시하였다. 또한 부패율은 포장 내부에 있는 과채류 전체에 대하여 부패한 과채류의 수를 백분율로 환산하여 표시하였다.

사. pH, 총산 및 가용성 고형물의 측정

과채류를 blender로 마쇄한 즙액을 가제로 여과한 다음 pH meter (Model 220, Corning Co., USA)를 이용하여 pH를 측정하였고, 총산은 여과액 10 mL를 취한 다음 0.1N NaOH로 pH 8.3이 될 때까지 적정한 후 구연산 %로 나타내었다. 그리고 가용성 고형물은 굴절당도계(Model N1, Atago Co., Japan)로 측정하여 °Brix 농도로 나타내었다.

아. 비타민 C 함량의 측정

비타민 C 측정용 시료액 제조를 위하여 과채류 5 g에 메타인산과 초산 혼합액 15 mL를 넣고 마쇄한 다음 원심 분리하여 상등액을 분리하였으며, 침전물에 다시 메타인산과 초산 혼합액 10 mL 부어서 원심 분리하여 얻은 상등액을 앞의 것과 합한 후에 50 mL까지 희석하였다. 이중에서 20 mL을 취하여 2,6-dichloroindophenol로 적정한 값을 환원형 vitamin C 함량으로 환산하였다 (A.O.A.C., 1984).

자. 색도 측정

시료는 색차계(CR-200, Minolta Chroma Co., Osaka, Japan)를 사용하여 시료 표면의 L, a, b값을 3회 측정하여 평균값으로 표시하였다.

3. 결과 및 고찰

가. 과채류에 식물성 천연항균제(BAAG) 용액 처리 조건 설정

과채류의 표면 미생물 수를 감소시키기 위하여 BAAG 용액에 과채류를 일정 시간 동안 침지한 다음 미생물의 수의 감소 효과를 살펴본 결과는 Table 3-1 과 같았다. 즉 과채류의 종류에 따라 차이는 있으나 BAAG 용액에 침지한 시험구의 총균수가 대조구보다 적었다. 사과와 방울토마토는 1,000 µg/mL, 배, 단감, 오이 및 피망은 500 µg/mL 처리가 적당할 것으로 판단되었다. 이러한 농도로 이들의 적절한 침지 시간을 결정한 결과는 Table 3-2와 같았다. 과채류에 적합한 농도에서 적절한 침지 시간으로는 배, 감, 피망 및 방울토마토는 10분, 사과는 20분, 오이는 30분이었다. 이를 통하여 과채류에 대한 BAAG의 적정 처리 농도와 시간을 결정할 수가 있었다.

Table 3-1. Total microbial count treated with different concentrations of BAAG¹⁾ for 5 min

Treatment	Total microbial count [log CFU/g]					
	Apple	Pear	Persimmon	Cherry tomato	Cucumber	Bell pepper
Control	5.89	5.22	4.75	3.95	5.93	5.38
100 µg/mL	5.76	4.64	4.37	3.48	5.61	4.75
500 µg/mL	5.60	4.20	3.82	3.45	5.50	4.57
1,000 µg/mL	5.30	4.28	3.81	3.20	5.48	4.72

¹⁾ Botanical antimicrobial agent-grapefruit seed extract mixture

Table 3-2. Total microbial count in [log CFU/g] treated with BAAG¹⁾ solutions at different intervals

Produce	Treatment	Dipping time (minute)		
		10	20	30
Apple	Control	6.13	-	-
	1,000 µg/mL	5.67	5.43	5.50
Pear	Control	4.86	-	-
	500 µg/mL	4.20	4.44	4.42
Persimmon	Control	3.90	-	-
	500 µg/mL	3.67	3.83	3.45
Cherry tomato	Control	4.76	-	-
	1,000 µg/mL	3.57	4.01	3.96
Cucumber	Control	6.41	-	-
	500 µg/mL	6.47	6.31	5.99
Bell pepper	Control	5.41	-	-
	500 µg/mL	4.61	4.62	4.82

¹⁾ Botanical antimicrobial agent-grapefruit seed extract mixture

나. 과채류의 MA 저장조건 설정

1) 방울토마토의 MA 저장조건 설정

가) 포장 내부의 기체 조성 변화

방울토마토를 산소와 이산화탄소의 투과성이 다른 필름으로 포장하고 저장하면서 기체 농도를 측정한 결과는 Fig. 3-1과 같다. 즉 포장 재료에 따라서 서로 다른 기체 조성을 나타내었으며, CPP와 PD961을 제외하면 저장 10일에 포장 내부의 기체 조성은 대체적으로 평형에 도달한 것으로 보인다. CPP와 PD961로 포장한 시험구는 저장 기간 중 산소와 이산화탄소 농도가 계속적으로 변화하였으며, PY85로 포장한 시험구는 공기의 조성 과 거의 비슷한 기체 조성을 나타내었다. PY85 포장은 필름에 구멍이 있는 데, 이를 통하여 포장 내부의 공기가 비교적 자유롭게 외부로 통할 수 있었기 때문이라고 생각한다. PD961 포장재로 포장한 시험구는 저장 10일 이후에 산소 및 이산화탄소의 농도가 급격하게 변화하였는데, 이는 포장 내부에 있는 방울토마토의 생리적인 변화가 급격하게 일어났기 때문이라고 생각된다. 산소 농도는 CPP와 PD961로 포장한 시험구가 저장 5일에 3.7%와 5.7%를 나타내어 LDPE와 MPD로 포장한 시험구의 11.6% 및 18.0%에 비하여 낮았다. 이산화탄소의 농도는 CPP로

포장한 시험구가 가장 높은 값을 나타내었으며, 저장 5일에 14.7%를 나타내었고 저장 기간이 경과함에 따라서 지속적으로 증가하여 저장 20일에는 53.1%에 달하였다. Kader(1989)는 산소의 농도가 2~3% 이하로 감소하면 혐기적 호흡에 의한 발효가 일어나서 이취가 발생한다고 하였다. 또한 이산화탄소의 농도가 증가하면 과채류의 호흡이 감소하고, 20% 이상이 되면 산소의 농도나 작물에 따라서는 조직 내에 에탄올과 아세트알데히드가 축적된다고 한다(Kader, 1986). CPP와 PD961은 저장 20일경에 산소 농도가 2% 이하가 되므로 그 이전에는 포장 내부의 산소 농도 저하로 발효가 일어날 가능성이 그다지 없는 것으로 생각된다. 그러나 CPP와 PD961 포장은 저장 20일 이전에 이산화탄소 농도가 20% 이상에 도달하므로 방울토마토의 조직 내에는 에탄올 등이 축적될 수는 있을 것으로 판단된다.

나) 중량감소율

저장 기간 중 방울토마토의 중량 감소율은 Fig. 3-2와 같이 PY85로 포장한 시험구가 가장 현저하였으며 다른 포장재로 포장한 시험구는 저장 20일까지도 1% 부근이어서 중량 감소가 품질에 큰 영향을 미치지 않는 것으로 판단된다. 그러나 PY85로 포장한 시험구는 저장 5일 이전에 5% 이상의 중량이 감소하여 품질에 큰 영향을 받을 것으로 판단된다. 이것은 포장에 있는 구멍을 통하여 방울토마토에 있는 수분이 증산 작용 등으로 쉽게 제거되었기 때문이라고 판단된다. 따라서 포장에 구멍이 있는 포장재를 과채류의 저장에 사용하고 자 할 때에는 구멍의 크기와 수를 조절할 필요가 있다고 생각된다.

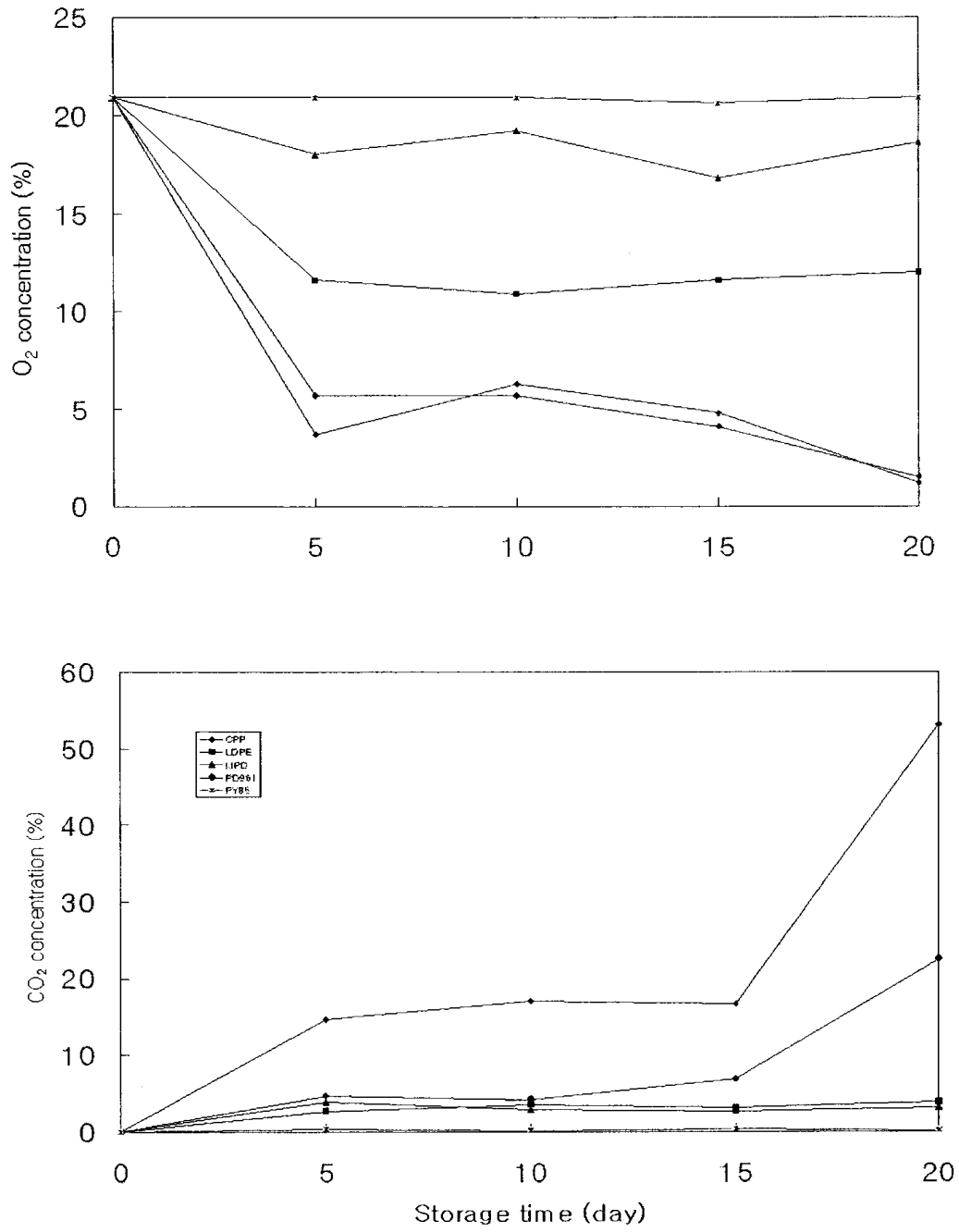


Fig. 3-1. Changes in gas composition of cherry tomato packaged with plastic films during storage at 12°C.

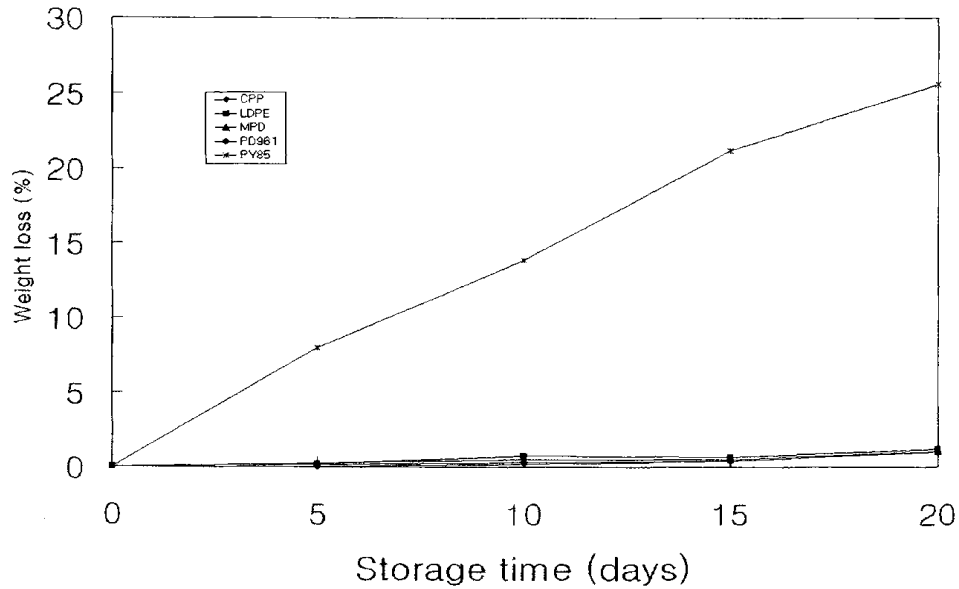


Fig. 3-2. Changes in weight loss of cherry tomato packaged with plastic films during storage at 12°C.

다) 미생물수의 변화

저장 기간 중 포장 내부의 총균수, 효모 및 곰팡이의 수는 Fig. 3-3과 같았다. 즉 포장시에는 총균수가 10^4 CFU/g 부근이었으며, 이들은 대부분 곰팡이나 효모인 것으로 나타났다. 또한 저장 기간이 경과함에 따라서 대체적으로 미생물의 수는 증가하는 것으로 나타났으며, CPP로 포장한 시험구는 저장 5일에는 총균수, 효모 및 곰팡이 수가 가장 적었으나 10일 이후에는 가장 많았다. 즉 저장 20일에는 총균수가 10^8 CFU/g 이었으며, 효모 및 곰팡이 수는 $10^{7.97}$ CFU/g 이었다. 저장 기간 중 총균수와 효모 및 곰팡이의 변화가 거의 유사한 경향을 나타내어 방울토마토의 표면에 증식한 미생물은 주로 효모와 곰팡이일 것으로 생각된다. PY85 포장재로 포장한 방울토마토는 저장 직후보다 저장 5일에 총균수, 효모 및 곰팡이 모두 줄어들었다가 다시 증가하는 경향을 나타내어 다른 포장재로 포장한 시험구와는 다른 경향을 나타내었다. Wall과 Berghage(1996)은 포장이 수분이 줄어드는 것을 막아줄 수는 있지만 포장 내부의 습윤한 환경을 조성함으로써 포장 내부에 있는 과채류가 병에 걸릴 가능성은 높아진다고 하였다. PY85 포장재는 공기의 소통이 원활하여 포장 내부가 습윤할 가능성이 다른 포장보다 상대적으로 낮으므로 미생물 수가 낮을 것

으로 생각된다.

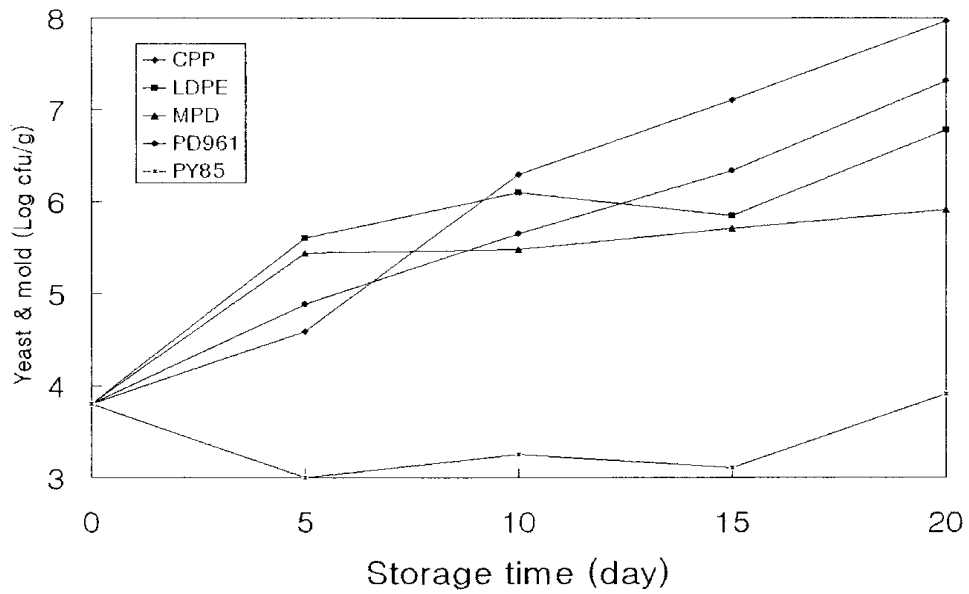
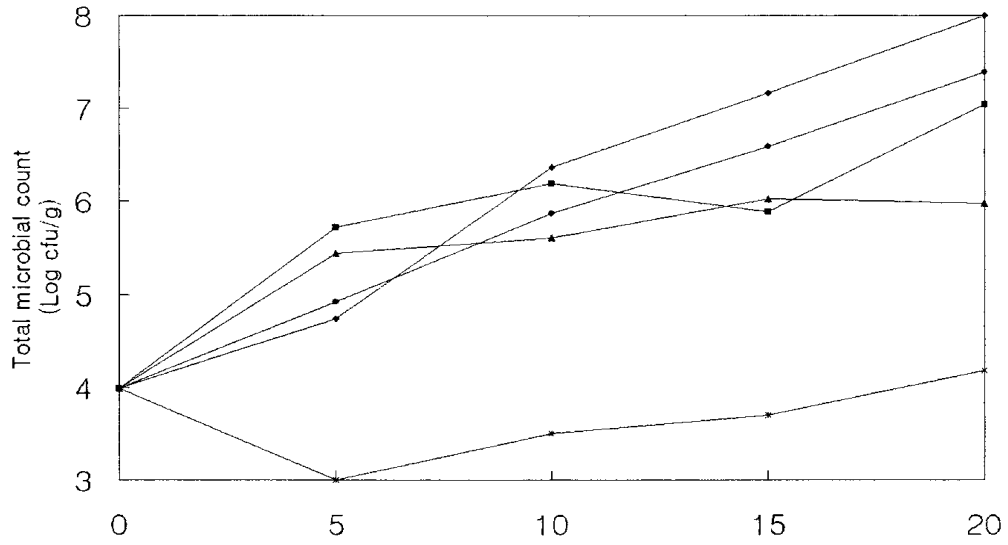


Fig. 3-3. Changes in microbial load of cherry tomato packaged with plastic films during storage at 12°C.

라) pH, 총산 및 가용성 고형물

방울토마토는 포장 직후에 pH 4.09였으며, 저장 기간이 증가함에 따라 다소 증가하여 저장 20일에는 pH 4.21~4.28로 나타났다(Table 3-3). 즉 저장 20일이 경과하더라도 pH의 변화폭은 그다지 크지 않았으며, 포장재 종류에 따른 차이도 그다지 나타나지 않았다. 총산은 PY85 포장재로 포장한 시험구를 제외하면 저장 기간 중 대체적으로 감소하는 것으로 나타났다(Table 3-3). 이와 같이 PY85 포장 내부에 있는 방울토마토의 총산이 증가한 것은 저장 기간이 경과함에 따라 방울토마토의 수분 감소로 인한 고형분의 농축 때문이라고 생각된다.

Table 3-3. Changes in quality characteristics of cherry tomato packaged with plastic films during storage at 12°C.

Quality index	Packaging film*	Storage time (day)				
		Initial	5	10	15	20
pH	CPP		4.14	4.19	4.22	4.21
	LDPE		4.12	4.14	4.17	4.25
	MPD	4.09	4.11	4.19	4.22	4.28
	PD961		4.13	4.16	4.18	4.24
	PY85		4.11	4.12	4.17	4.21
Total acidity (%)	CPP		0.52	0.46	0.46	0.55
	LDPE		0.52	0.50	0.50	0.44
	MPD	0.51	0.51	0.46	0.43	0.42
	PD961		0.51	0.48	0.47	0.51
	PY85		0.57	0.59	0.59	0.62
Soluble solid (°Brix)	CPP		7.2	7.3	7.5	6.8
	LDPE		7.7	7.8	7.6	7.3
	MPD	7.3	7.1	7.2	7.2	6.5
	PD961		7.1	7.4	7.2	6.7
	PY85		8.0	8.6	9.4	9.7

*CPP: 30 µm cast polypropylene; LDPE: 20 µm low density polyethylene; MPD: 15 µm polyolefin; PD961: 30 µm polyolefin; PY85: 15 µm perforated

polyolefin

포장 직후의 가용성 고형물은 7.3 °Brix였으나 포장재의 종류에 따라 저장 기간 경과에 따라 서로 다른 경향을 나타내었다(Table 3-3). 즉 PY85로 포장한 방울토마토는 저장 기간이 경과함에 따라 계속적으로 가용성 고형물의 함량이 증가하여 저장 20일에는 9.7 °Brix에 달하였다. LDPE로 포장한 시험구는 저장 10일까지는 계속적으로 증가하여 7.8 °Brix까지 높아졌으나 그 이후에는 감소하였다. 다른 포장재로 포장한 방울토마토는 저장 기간이 경과하더라도 큰 변화를 보이지 않다가 저장 20일에는 처음보다 가용성 고형물의 함량이 대체적으로 낮았다.

마) 부패율

방울토마토의 저장 중 부패율은 Fig. 3-4와 같이 저장 5일까지는 모든 처리구에서 부패가 발생하지 않았으나 MPD와 PY85포장을 제외하면 10일 이후부터 부패가 발생하기 시작하였다. 저장 15일에 CPP 포장은 44.8%, PD961 포장은 30.0% 및 LDPE 포장은 18.9%에 달하였다. 저장 20일에는 PD961 포장에서 100%의 부패율을 나타내어 포장재 중에서 가장 높은 부패율을 보였고, MPD는 5.3%로 가장 낮은 부패율을 나타내었다.

이상의 결과를 보면 PY85 포장재는 방울토마토의 수분 증발을 억제하지 못하여 중량 감소가 너무 급격하게 일어나 품질 저하가 빨리 왔다. 또한 CPP 포장은 기체의 투과도가 낮아서 포장 내부의 산소 농도가 낮고 이산화탄소 농도가 지나치게 높아서 저장 10일 이후에 총균수 및 효모와 곰팡이 수가 가장 많았으며 부패율 또한 높았다. PD961 포장은 저장 15일 이후에 산소 및 이산화탄소의 농도가 급격하게 변하면서 방울토마토의 생리적인 변화가 일어났음을 추측하게 했고, 총균수 및 곰팡이와 효모수가 급격하게 증가하였으며 부패율 또한 높아졌다. MPD 포장재는 저장 5일 이후부터 비교적 안정된 기체 농도를 유지하였고, 부패율 또한 저장 기간 동안 다른 포장재보다 낮았다. 따라서 방울토마토의 포장에 가장 적절한 포장재는 MPD이며, 이들이 저장 기간 중에 나타낸 산소 농도 16~19%, 이산화탄소 농도 2.5~4.0%가 방울토마토의 품질 특성 유지에 적절할 것으로 보인다.

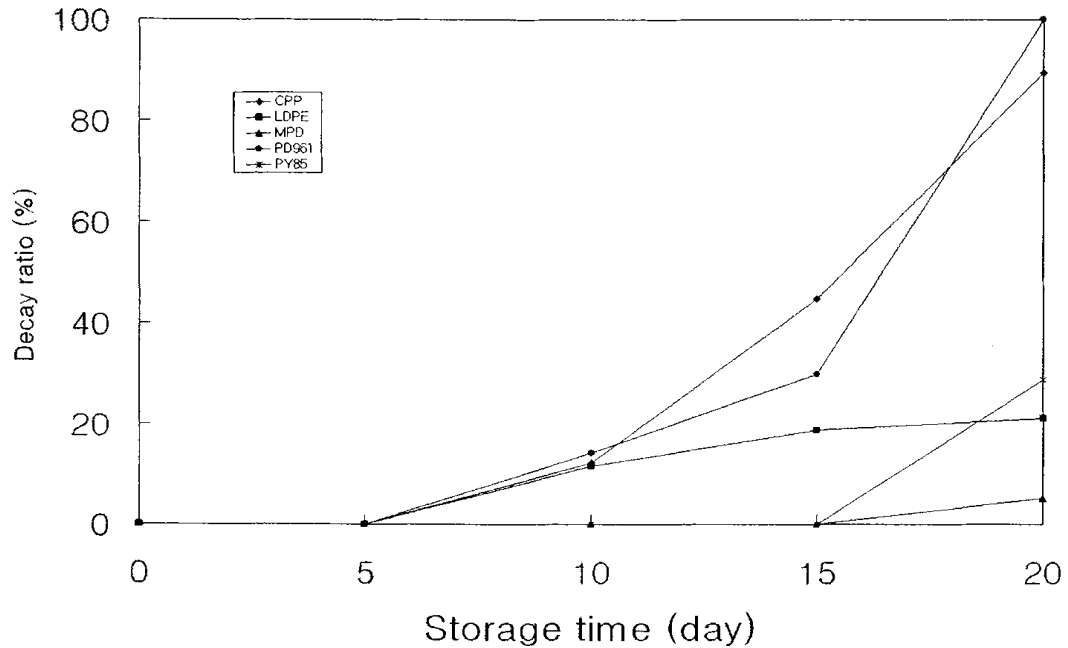


Fig. 3-4. Changes in decay of cherry tomato packaged with plastic films during storage at 12°C.

2) 피망의 MA 저장조건 설정

가) 포장 내부의 기체 조성 변화

저장 기간 중 포장 내부의 산소 농도는 4주까지 대체적으로 감소하였으나 그 이후에는 급격하게 증가하였다(Fig. 3-5). PD961 시험구를 제외한 다른 처리구에서 저장 4주까지 감소하던 산소의 농도가 급격하게 증가한 것은 피망의 생리적인 변화로 인하여 포장 내부의 산소 소비가 줄었기 때문이라고 판단된다. 즉 포장 내부로 투과되어 들어온 산소를 포장 내에 있던 피망이 소비하지 않았기 때문에 포장 내부의 산소 농도가 대기의 산소 조성과의 거의 비슷하게 되었다고 생각된다. LLDPE로 포장한 시험구가 다른 포장재로 포장한 시험구들에 비하여 저장 기간 중 높은 산소 농도와 낮은 이산화탄소의 농도를 나타낸 것은 포장 자체가 완전히 밀봉된 상태가 아니었기 때문이다. 기체에 대한 투과성이 낮은 CPP로 포장한 시험구는 저장 4주에 산소의 농도가 10.4%, 이산화탄소의 농도가 4.5%로 다른 시험구에 비하여 산소의 농도는 낮고, 이산화탄소의 농도는 높았다. 이러한 포장 내부의 기체 조성은 피망의 저장 중 품질 저하에 큰 영향을 줄 것 같지는 않다. 즉 Kader(1989)는 산소의 농도가 2~3%

이하로 감소하면 혐기적 호흡에 의한 발효가 일어나서 이취가 발생하며, 이산화탄소의 농도가 20% 이상되면 산소의 농도나 작물에 따라서는 조직 내에 에탄올과 아세트알데히드가 축적된다고 하였다.

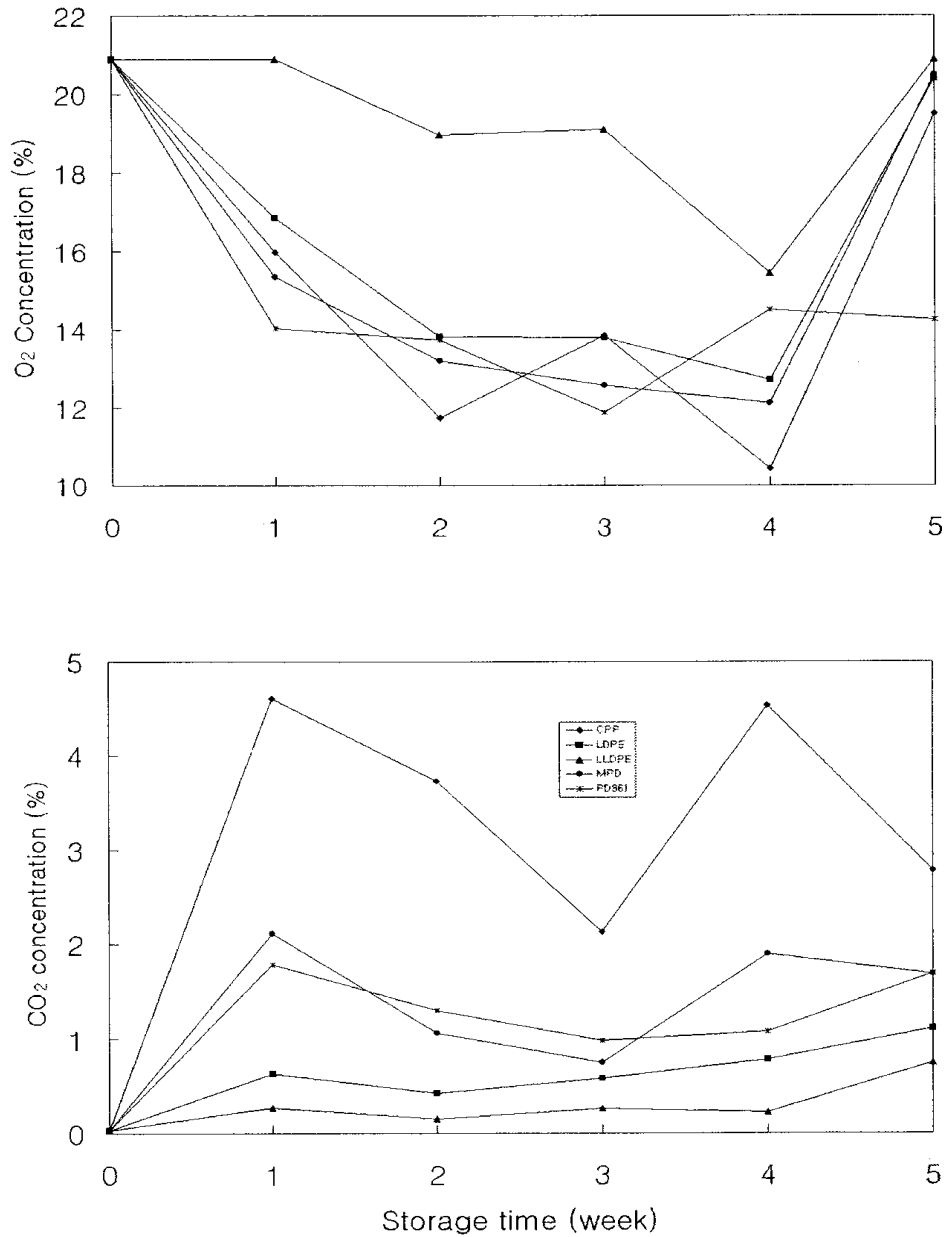


Fig. 3-5. Changes in gas composition of bell pepper packaged with plastic films during storage at 10°C.

CA 저장시에 피망에 적합한 조건은 온도 13℃, 산소 농도 4~8%, 이산화탄소 농도 2~8%로 알려져 있으며, 산소 농도가 2% 이하이고 이산화탄소의 농도가 10% 이상인 경우에는 손상을 입는다고 보고되고 있다(Park 등, 1999). 그러나 Bussel과 Kenigsberger (1975)는 PVC와 PE 필름으로 피망을 포장하여 7~25℃에서 저장한 경우에도 저장 12일까지 산소 농도는 14% 이상, 이산화탄소의 농도는 4% 이하로 나타나 본 실험의 결과와 유사하였다. 즉 필름으로 포장하여 저장하는 경우에는 CA 저장에 적합한 기체 농도를 유지하기는 어려울 것으로 판단된다.

나) 중량감소율

저장 기간 중 피망의 중량 감소율은 Fig. 3-6과 같이 LLDPE로 포장한 시험구가 가장 현저하였으며 다른 포장재로 포장한 시험구는 저장 5주까지도 1.5% 미만이어서 중량 감소가 품질에 큰 영향을 미치지 않는 것으로 판단된다. 즉 피망의 품질을 결정하는 가장 중요한 요소는 조직에서 수분이 감소함으로써 발생하는 위조 현상인데, 과육 최초 무게에 대하여 5%의 수분 감소가 일어났을 때 위조 현상을 처음으로 확인할 수가 있다고 한다(Gonzalez 등, 1993). LLDPE로 포장한 시험구는 완전히 밀봉된 상태가 아니었기 때문에 저장 기간 중 다른 시험구에 비하여 중량 감소가 높았던 것으로 판단된다. LLDPE를 제외하면 LDPE로 포장한 시험구의 중량 감소가 많았으며, CPP로 포장한 시험구의 중량감소가 가장 낮았다.

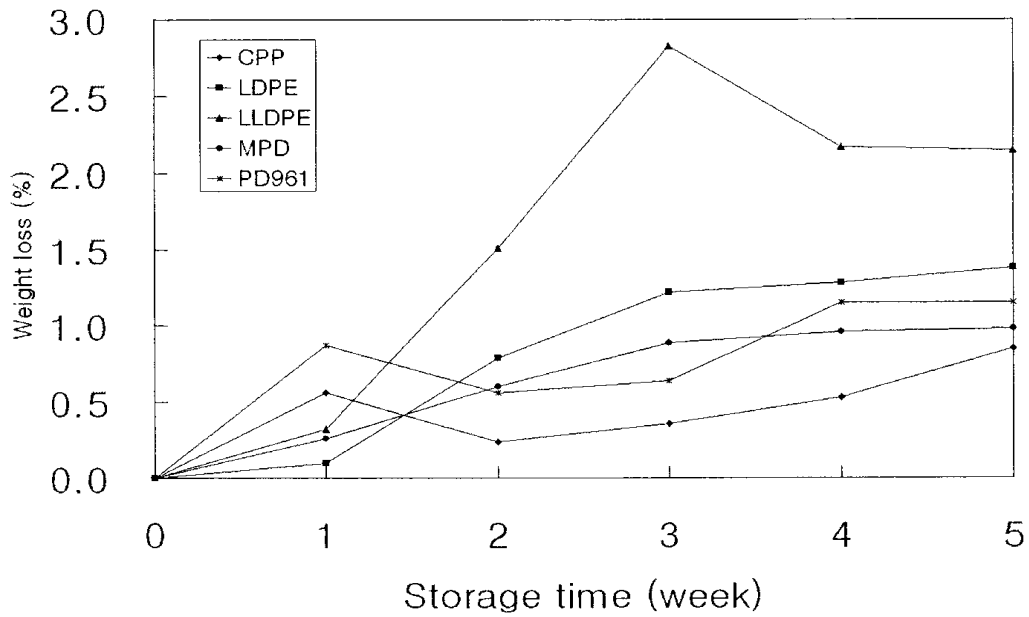


Fig. 3-6. Changes in weight loss of bell pepper packaged with plastic films during storage at 10°C.

다) 미생물 수의 변화

저장 전 피망의 총균수는 $10^{4.53}$ CFU/g, 효모와 곰팡이의 수는 $10^{4.50}$ CFU/g 였는데, 이는 피망의 표면에 있는 미생물의 대부분이 곰팡이와 효모라는 것을 의미한다(Fig. 3-7).

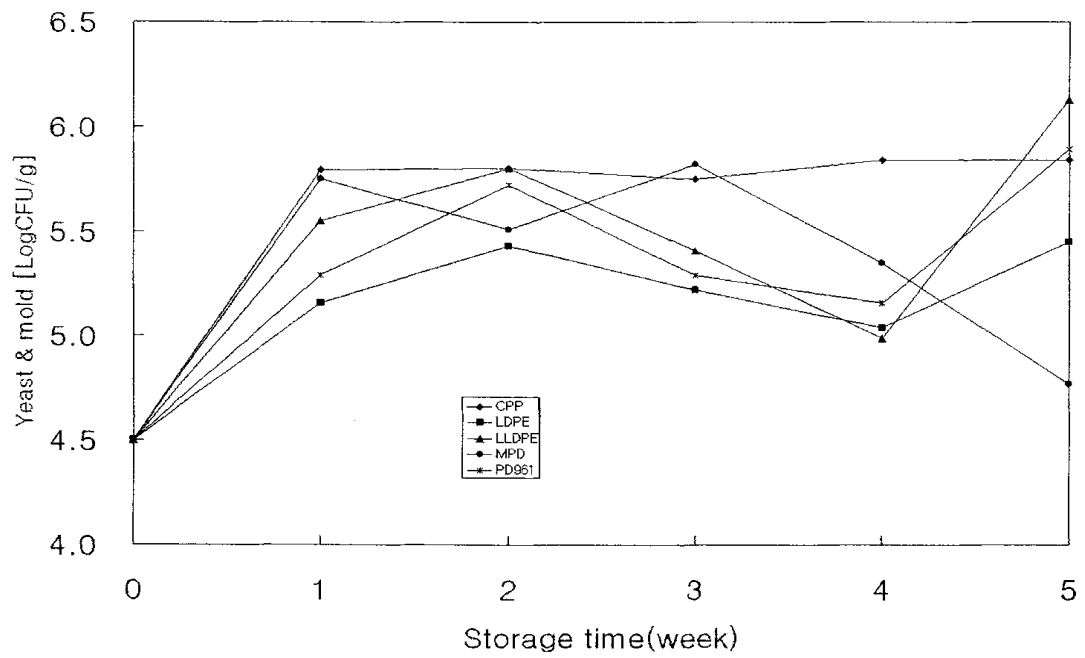
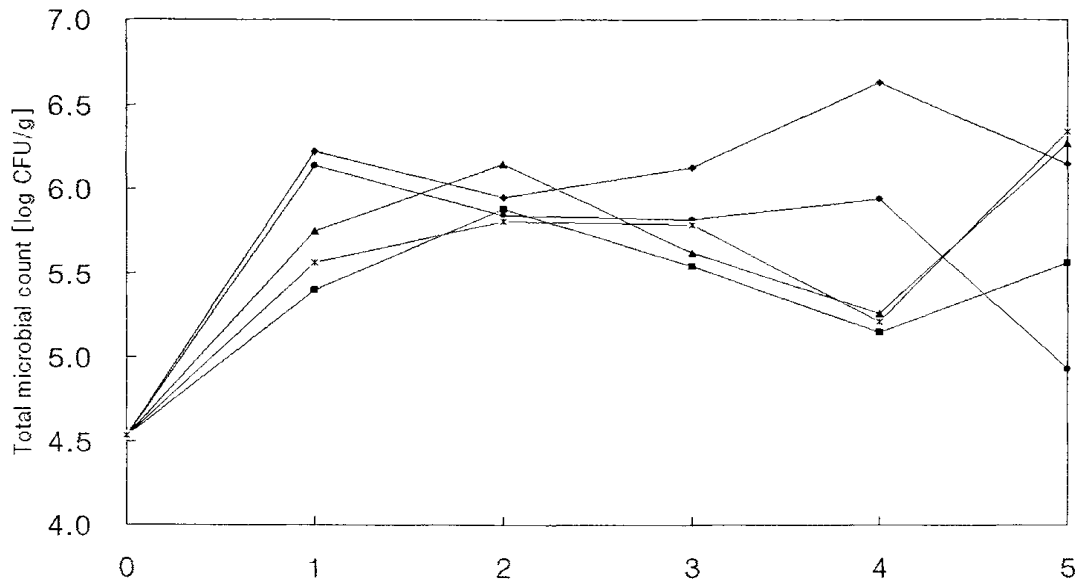


Fig. 3-7. Changes in microbial load of bell pepper packaged with plastic films during storage at 10°C.

총균수는 저장 1~2주 사이에 급격하게 증가하였으며, 그 이후에는 시험구에 따라 다소 차이가 있었다. 특히 CPP와 MPD로 포장한 시험구는 저장 4주까지 총균수가 증가하고 그 이후에는 감소하였으나 다른 시험구는 저장 1~2주까지 증가한 다음 감소하였다. 즉 CPP로 포장한 시험구는 다른 시험구에 비하여 대체적으로 총균수, 효모 및 곰팡이수가 많았는데, 저장 3주 이후에 그 차이가 현저하였다. Brackett(1990)에 의하면 피망의 저장 중 총균수가 $10^{5.7}$ CFU/g이어도 부패 현상이 나타나지 않았다고 하였다. 따라서 저장 4주 CPP 포장의 총균수가 $10^{6.63}$ CFU/g이었으나 육안으로 관찰시에 부패 현상이 관찰되지 않은 점으로 보아 저장 5주까지 미생물에 의한 품질 저하는 그다지 크지 않을 것으로 보인다.

라) 가용성 고형물

피망의 포장 전 가용성 고형물은 4.5 °Brix였으나 그 이후 4주까지는 대체적으로 감소하였으며, 4주에는 4.0 °Brix 이하로 감소하였다(Table 3-4). 피망의 가용성 고형물이 46 g/kg 이었는데, 10°C에서 4주간 저장 후에는 44 g/kg으로 나타나 그 변화는 그다지 크지 않았다(Luo 등, 1996). 본 실험에서도 저장 5주까지 그다지 큰 변화는 없었던 것으로 판단되며, 시험구간의 차이도 크지 않았다.

마) Ascorbic acid 함량과 색도의 변화

저장 전 피망의 ascorbic acid 함량은 0.39 mg/g이었으며, 저장 기간 중 포장에 따라서 다소 증가하다가 감소하는 등의 경향을 나타내었으나 시험구에 따른 차이는 뚜렷하지 않았다(Table 3-4). 저장 기간 중 피망의 색도는 황색도를 나타내는 b 값이 대체적으로 증가하였다(Table 3-4). 저장 1주에는 CPP와 PD961 포장 내부에 약간의 응축수가 있었으나 피망의 외관상 변화는 없었다. 육안으로 관찰시에 PD961과 MPD로 포장한 시험구의 피망은 저장 2주에 부분적으로 갈변현상이 나타나기 시작하는데, 이들 시험구의 b값이 다른 시험구보다 높은 것으로 확인할 수가 있었다. 저장 3주에는 LDPE 포장에서 피망의 일부가 황색으로 변하였으며, 부분적으로는 부패 현상이 나타나기 시작하였다. 저장 4주에는 시험구 대부분에서 부분적으로 갈변 현상이 나타나기 시작하였다.

이상의 결과로 보면 피망의 저장에 적당하다고 알려진 기체 조성인 산소 농도 4~8%, 이산화탄소 농도 2~8%에 도달한 포장재는 없지만 이에 가장 가까운 기체 조성을 나타낸 CPP 포장이 낮은 갈변 등으로 보아 피망의 저장에 가

장 적합한 포장재였다.

Table 3-4. Changes in quality characteristics of bell pepper packaged with plastic films during storage at 12°C.

Quality index	Packaging film*	Storage time (week)					
		Initial	1	2	3	4	5
Soluble solid (°Brix)	CPP		4.0	4.6	4.0	3.7	4.2
	LDPE		4.2	4.0	4.4	3.6	4.0
	LLDPE	4.5	4.2	4.4	4.1	3.9	4.4
	MPD		4.5	4.2	3.7	3.6	4.0
	PD961		4.0	5.4	3.8	3.6	4.2
Color (b)	CPP		17.77	18.50	19.57	20.47	22.93
	LDPE		18.12	18.45	22.54	17.91	23.81
	LLDPE	17.17	18.64	19.47	18.39	21.22	28.26
	MPD		18.38	20.66	21.68	24.33	22.86
	PD961		18.77	21.12	20.54	22.12	21.24
Ascorbic acid (mg/g)	CPP		0.39	0.34	0.42	0.28	0.33
	LDPE		0.34	0.33	0.37	0.49	0.32
	LLDPE	0.39	0.42	0.46	0.35	0.31	0.31
	MPD		0.40	0.41	0.38	0.37	0.37
	PD961		0.37	0.42	0.35	0.44	0.32

*CPP: 30 µm cast polypropylene; LDPE: 20 µm low density polyethylene; MPD: 15 µm polyolefin; PD961: 30 µm polyolefin; LLDPE: 10 µm linear low density polyethylene.

다. 항균포장지를 이용한 과채류의 저장 조건 설정

1) 방울토마토의 저장

가) 중량 감소율

항균포장지로 포장하여 10°C에서 저장한 방울토마토의 중량 감소율은 저장 5일에 6.9~8.2%를 나타내었다(Table 3-5). 이것은 12°C에서 저장 20일에도 중량 감소율이 2% 이하였던 박 등(2002)의 결과와 비교해 보면 짧은 저장 기

간동안에 중량 감소가 많이 일어났다고 생각된다. 이것은 본 실험에 사용한 향균포장지가 종이였기 때문에 박 등(2002)이 사용한 plastic film에 비하여 방울토마토에 있던 수분의 증산이 용이하였기 때문이라고 생각된다. 저장 10일에는 10% 이상의 중량 감소가 일어났으며, 외관적으로는 큰 변화가 없었으나 조직감이 현저하게 감소하였다. 따라서 향균포장지로 과채류를 포장하고자 할 경우에는 박스 형태의 용기 속에 향균포장지를 붙여서 사용하는 것이 바람직할 것으로 판단되었다.

나) pH, 총산 및 가용성 고형물

방울토마토의 포장 직후 pH는 4.05였으며, 저장 15일까지는 큰 변화를 나타내지 않았으나 20일에는 처음보다 pH 0.1 정도 높은 값을 나타내었다(Table 3-5). 포장 직후에는 총산이 0.6%였으나 저장 5일에는 0.46~0.55%로 낮아졌다. 그 이후 저장 20일까지는 저장 5일과 비교하여 큰 변화를 나타내지는 않았으며, 시험구간에도 차이가 없었다. 가용성 고형물은 포장 직후에 6.0 °Brix였으나 저장 5일에 5.0~5.2 °Brix로 감소하였는데, 이는 총산 변화와 비슷한 경향이다. 이로서 10°C에서 저장시 방울토마토의 품질 변화는 저장 초기에 급격하게 일어날 수도 있을 것으로 생각된다. 저장 15일 이후 가용성 고형물의 함량이 증가하는 것은 수분 함량 감소에 따른 것으로 판단된다.

다) 미생물수의 변화

저장 5일에는 모든 시험구가 포장 직후에 비하여 총균수, 효모 및 곰팡이수가 다소 낮았다(Table 3-5). 또한 6%와 9% 향균포장지로 포장한 시험구는 대조구보다 미생물 수가 다소 낮게 나타나 포장지에 들어있는 향균 물질이 미생물의 생육에 영향을 미치는 것으로 판단된다. 저장 기간 중 대조구와 6% 향균포장지로 포장한 시험구는 9% 향균포장지로 포장한 시험구와는 다른 경향을 나타내었다. 즉 대조구와 6% 향균포장지로 포장한 시험구는 저장 10~15일에 최대값을 나타낸 다음 감소하였으나 9% 향균포장지로 포장한 시험구는 저장 5일에 미생물 수가 가장 낮은 값을 나타내다가 저장 기간이 경과함에 따라 점차적으로 증가하였다.

Table 3-5. Changes in quality characteristics of cherry tomato packaged with antimicrobial packaging paper during storage at 10°C.

Quality index	Packaging paper*	Storage time (day)				
		Initial	5	10	15	20
Weight loss(%)	Control		6.9	11.8	16.3	19.3
	6%	0	8.2	14.7	16.6	21.6
	9%		7.3	13.3	16.1	20.6
pH	Control		3.98	3.99	4.04	4.14
	6%	4.05	3.99	4.02	4.08	4.12
	9%		4.00	4.05	4.05	4.14
Total acidity (%)	Control		0.55	0.47	0.52	0.52
	6%	0.60	0.47	0.49	0.52	0.51
	9%		0.46	0.51	0.54	0.50
Soluble solid (°Brix)	Control		5.0	5.2	5.7	6.2
	6%	6.0	5.2	5.2	5.7	6.0
	9%		5.1	5.2	5.6	6.2
Total microbial count [log CFU/g]	Control		3.73	4.37	3.99	3.63
	6%	3.97	3.29	3.78	3.95	3.72
	9%		3.39	3.57	3.58	4.03
Yeast & mold [log CFU/g]	Control		3.56	4.17	3.87	3.69
	6%	3.97	3.18	3.94	3.93	3.61
	9%		3.36	3.48	3.55	3.81

* Mixture of BAAG (Botanical antimicrobial agent-GFSE mixture) and zeolite in same ratio was added to make antimicrobial packaging paper.

라) 부패율

방울토마토의 저장 중 부패율은 Fig. 3-8과 같다. 즉 저장 10일까지는 모든 시험구에서 부패가 발생하지 않았으나 그 이후로는 방울토마토가 부패하기 시작하였다. 대조구에서 가장 부패가 많이 발생하였으며, 6% 항균포장지가 가장 부패가 덜하였다. 즉 저장 15일에는 6% 항균포장지로 포장한 시험구는 2.1%,

9% 항균포장지는 4.5%, 대조구는 12.9%의 부패율을 나타내었다. 저장 20일에도 6% 항균포장지는 5.4%의 부패율을 나타내었으나 대조구는 14.8%의 부패율을 나타내어 항균포장지로 방울토마토의 포장 및 저장은 효과가 있는 것으로 생각되었다.

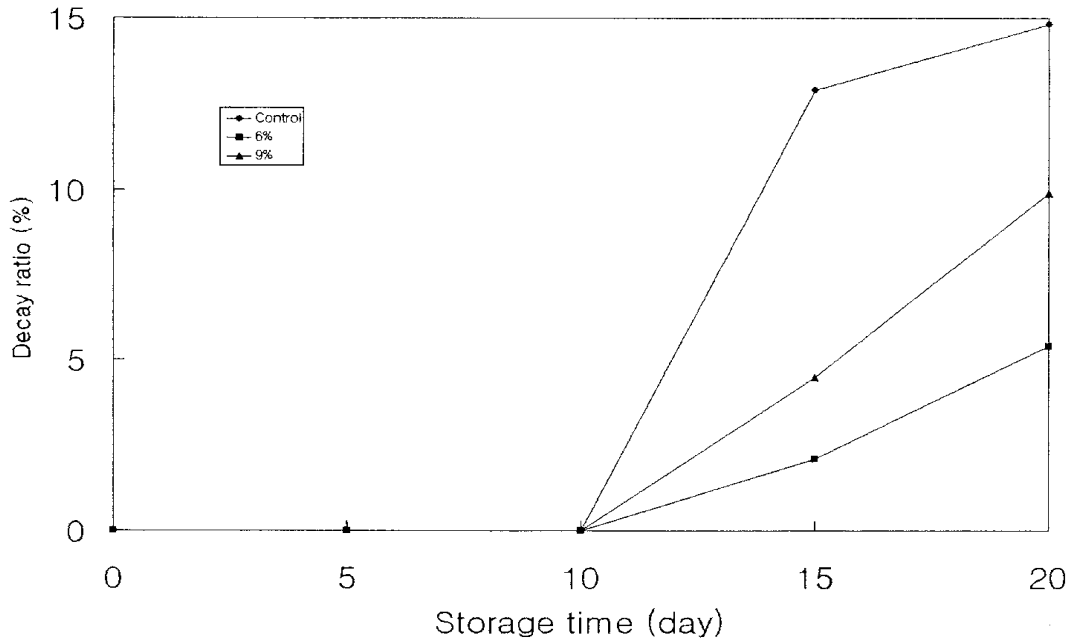


Fig. 3-8. Changes in decay ratio of cherry tomato packaged with antimicrobial packaging paper during storage at 10°C

2) 배의 저장

가) 중량 감소율

항균포장지로 배를 하나씩 포장한 다음 10°C에서 저장하면서 측정한 배의 중량 감소율은 Table 3-6과 같았다. 즉 저장 1주일에는 1.56~2.00% 였으며, 저장 기간이 경과함에 따라 배에 있는 수분의 증산으로 인하여 중량감소율이 증가하였다. 또한 육안으로 관찰시 저장 5주일 경에는 부분적으로 위조 현상이 관찰되어 상품성이 없어질 것으로 판단하였다. 시험구간에 중량감소율의 차이는 그다지 크게 나타나지 않았으며, 저장 20일까지의 중량 감소율도 7.30% 이하로 나타나 배의 포장시에 항균포장지로 싸고 골판지 박스에 담으면 중량 감소는 품질에 큰 영향을 주지는 않을 것으로 판단된다.

Table 3-6. Changes in quality characteristics of pear packaged with antimicrobial packaging paper during storage at 10°C.

Quality index	Packaging paper*	Storage time (week)				
		Initial	1	2	3	5
Weight loss(%)	Control	0	1.73	2.93	4.65	6.22
	6%		2.00	3.05	5.39	7.30
	9%		1.56	3.42	5.50	6.20
	12%		1.69	2.99	5.59	7.28
Soluble solid (°Brix)	Control	13.0	11.1	12.3	11.5	12.7
	6%		11.4	12.5	12.1	12.6
	9%		13.5	11.5	13.2	11.7
	12%		12.4	12.7	11.5	13.7
Color (b)	Control	6.10	8.56	8.49	8.78	7.91
	6%		8.07	7.38	7.09	7.96
	9%		8.59	8.90	7.82	6.54
	12%		8.57	8.07	9.38	6.83
Total microbial count [log CFU/g]	Control	5.17	5.72	5.05	5.03	4.85
	6%		6.04	5.21	5.42	4.91
	9%		5.22	4.99	5.46	4.92
	12%		5.30	4.42	5.62	4.82
Yeast & mold [log CFU/g]	Control	5.10	5.60	4.81	4.91	4.76
	6%		5.57	5.19	5.31	4.88
	9%		5.17	4.87	5.20	4.84
	12%		5.22	4.36	5.63	4.79

* Mixture of BAAG (Botanical antimicrobial agent-GFSE mixture) and zeolite in same ratio was added to make antimicrobial packaging paper.

나) 가용성 고형물 및 색도 변화

포장 직후의 가용성 고형물은 13.0 °Brix였으며, 저장 기간이 경과함에 따라 대체적으로 감소하였다(Table 3-6). 항균성 포장지로 포장한 시험구의 가용성

고형물이 대조구와 비슷하거나 다소 높은 것으로 나타나 항균포장지로 포장하는 것이 배의 품질에 큰 영향을 주지는 않을 것으로 판단된다. 배 절단면의 노란 정도(yellowness)를 나타내는 b값을 측정한 결과 포장 직후에는 6.10이었는데 비하여 저장 1주 후에는 8.07~8.59로 나타났다(Table 3-6). 이는 저장 1주동안 배의 내부에 갈변이 다소 진행되었기 때문이라고 생각되며, 저장 3주까지는 거의 변화가 없었으나 5주일에는 9%, 12% 항균포장지로 포장한 시험구의 값이 감소하였다.

다) 미생물 수의 변화

포장 직후 배의 총균수는 $10^{5.17}$ CFU/g이고, 효모 및 곰팡이 수는 $10^{5.10}$ CFU/g로 나타나 배의 표면에 있는 미생물은 주로 효모 및 곰팡이인 것으로 나타났다(Table 3-6). 저장 1주일에는 포장 직후에 비하여 미생물 수가 증가한 것으로 나타났다. 이는 저장 초기에 미생물수가 감소한 방울토마토와는 다소 다른 결과였다. 그러나 저장 기간이 경과함에 따라 미생물 수는 다소 감소하는 것으로 나타났다. 항균포장지로 포장한 경우에는 저장 2주까지는 대조구에 비하여 총균수가 낮은 것으로 나타났으나 그 이후에는 오히려 대조구보다 높아져 항균포장지의 사용 기간이 제한적일 것으로 판단된다.

3) 감귤의 저장

가) 중량 감소율

콜판지 박스의 내부에 항균포장지를 붙인 다음 약 5 kg의 감귤을 담아서 10℃에서 저장하는 동안 중량 감소율은 Table 3-7과 같았다. 즉 저장 기간이 경과함에 따라 감귤의 무게는 줄어들었으나 시험구간의 차이는 그다지 크지 않았다. 이러한 중량 감소는 수확 후에도 계속되는 호흡작용에 의한 성분변화와 과피로부터 수분이 증발하기 때문이다(윤창훈, 1991). 저장 4주에는 8.97~10.84%의 중량 감소가 일어났으며, 9% 항균포장지로 포장한 시험구의 중량 감소가 가장 많이 일어났다.

나) pH, 총산, 가용성 고형물 변화

포장직후 감귤의 pH는 3.77이었으며, 저장 기간이 경과함에 따라 대체적으로 증가하였으나 그 차이는 그다지 크지 않았다(Table 3-7). 이러한 pH의 증가는 저장 기간 중 감귤의 호흡의 기질로서 산이 주로 소비되기 때문이다(윤창훈, 1991). 또한 이것은 총산에도 영향을 줄 것으로 생각된다.

Table 3-7. Changes in quality characteristics of orange packaged with antimicrobial packaging paper during storage at 10°C.

Quality index	Packaging paper *	Storage time (week)				
		Initial	1	2	3	4
Weight loss(%)	Control	0	1.65	3.20	6.75	9.58
	6%		1.25	3.57	6.08	8.97
	9%		1.47	2.70	6.33	10.84
	12%		1.50	2.69	5.60	9.33
pH	Control	3.77	4.07	4.01	3.95	3.86
	6%		4.04	3.95	3.90	3.94
	9%		3.76	3.94	3.98	4.04
	12%		3.68	3.89	4.01	3.91
Total acidity (%)	Control	0.78	0.51	0.55	0.57	0.50
	6%		0.60	0.63	0.62	0.54
	9%		0.88	0.60	0.58	0.45
	12%		0.81	0.71	0.66	0.54
Soluble solid (°Brix)	Control	11.1	10.2	11.5	11.1	11.1
	6%		11.4	10.6	11.3	11.5
	9%		10.0	11.3	10.4	11.0
	12%		11.0	11.6	10.3	10.9
Total microbial count [log CFU/g]	Control	5.03	4.93	4.66	7.20	7.39
	6%		5.13	4.95	6.74	7.01
	9%		4.93	4.00	6.29	6.08
	12%		4.91	4.50	7.07	6.01
Yeast & mold [log CFU/g]	Control	4.69	4.86	4.76	6.92	7.27
	6%		4.82	4.90	6.55	5.87
	9%		4.40	4.30	6.85	5.77
	12%		4.67	4.53	6.46	5.75

* Mixture of BAAG (Botanical antimicrobial agent-GFSE mixture) and zeolite in same ratio was added to make antimicrobial packaging paper.

즉 포장 직후에는 총산이 0.78%였으나 저장 기간이 경과함에 따라 pH의 증가와는 반대로 대체적으로 감소하였다. 이는 감귤의 저장 중 과육 부분에서 총산이 점차 감소하였다는 박 등(1972)의 결과와 유사하였다. 감귤의 포장 직후

의 가용성 고형물은 11.1 °Brix였으며, 저장 기간 동안에도 큰 변화가 없었으며, 시험구간의 차이도 거의 나타나지 않았다. 감귤은 저장 기간 중 호흡작용에 주로 산이 이용되며, 당은 그다지 많이 이용되지 않는다는 윤 등(1991)의 결과로 보아 감귤의 당과 같은 가용성 고형물의 양은 그다지 큰 변화가 없는 것으로 판단된다.

다) 미생물 수의 변화

감귤의 저장 전 총균수는 $10^{5.03}$ CFU/g 이었으며, 효모 및 곰팡이는 $10^{4.69}$ CFU/g 이었다(Table 3-7). 즉 감귤의 표피에 있는 미생물의 대부분은 효모와 곰팡이였으며, 저장 2주까지는 저장 전과 큰 차이를 보이지 않았다. 그러나 저장 3주에는 10^2 CFU/g 이상 미생물 수가 증가하였다. 즉 저장 3주부터는 감귤의 표면에 효모, 곰팡이와 같은 미생물이 급격하게 증가함으로써 부패가 촉진될 것으로 생각된다. 대조구는 저장 4주에 $10^{7.39}$ CFU/g의 총균수를 나타내어 다른 시험구에 비하여 높았으며, 12% 항균포장지로 포장한 시험구의 총균수는 $10^{6.01}$ CFU/g으로 가장 낮았다.

라) 부패율

감귤은 저장 1주부터 부패한 과육이 발생하기 시작하였으며, 대조구와 항균포장지로 포장한 시험구 모두에서 발생하였다(Fig. 3-9). 저장 2주까지는 모든 시험구의 부패율의 증가에 큰 차이가 없었으나 저장 3주에는 대조구가 다른 시험구에 비하여 급격하게 증가하였다. 이는 항균포장지의 미생물 억제작용이 저장 3주 이후에 현저하였던 것으로 판단된다. 또한 저장 4주의 감귤의 부패율을 보면 12% 항균포장지로 포장한 시험구는 18.0%인데 비하여, 대조구는 34.7%로 나타났다. 따라서 대규모 저장 시험시에는 12% 항균포장지를 사용하도록 하였다.

라. 개발된 기술을 이용한 과채류의 대규모 저장 실험

항균포장지로 포장시 저장 효과가 있는 것으로 나타난 처리구에 대하여 대규모 저장 시험을 실시하였다. 즉 감귤은 12% 항균포장지로 방울토마토는 6% 항균포장지로 된 박스를 만든 다음 저장시의 품질은 다음과 같았다.

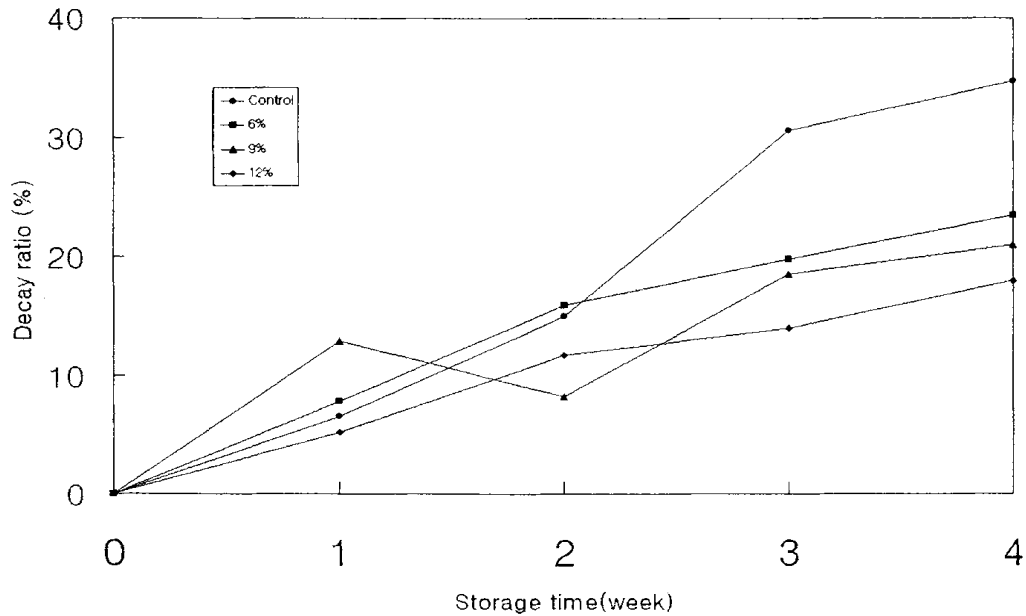


Fig. 3-9. Changes in decay ratio of orange packaged with antimicrobial packaging paper during storage at 10°C.

1) 방울토마토의 저장

가) 중량 감소율

방울토마토의 저장 중 중량감소율은 대조구와 항균포장지로 포장한 시험구에서 큰 차이를 나타내지는 않았다(Table 3-8). 또한 포장지로 포장했을 경우 저장 5일에 6.9~8.2%의 중량 감소를 나타낸 결과(Table 3-5)와 비교한다면 박스 형태로 저장한 본 실험에서의 중량 감소율은 40일에도 3% 이하로 나타났다. 저장 온도를 감안하더라도 항균포장지를 골판지 박스의 내부에 붙인 다음 방울토마토의 저장에 사용하는 것이 바람직할 것으로 판단된다.

나) pH, 총산 및 가용성 고형물

저장 기간이 경과함에 따라 pH는 처음보다 0.1~0.2 정도 증가하였으나 시험구간에 차이는 거의 나타나지 않았으며, 총산도 저장 기간에 따른 변화는 거의 없는 것으로 판단된다(Table 3-8). 가용성 고형물은 저장 10일에 증가하였다가 그 이후로는 큰 변화를 나타내지 않았다. 이로서 가용성 고형물 함량이 방울토마토의 저장중 품질에 큰 영향을 미치지 않는 것으로 판단된다.

Table 3-8. Changes in quality characteristics of cherry tomato packaged with antimicrobial packaging paper during storage at 5°C.

Quality index	Packaging paper*	Storage time (day)				
		Initial	10	20	30	40
Weight loss(%)	Control	0	1.48	1.88	2.26	2.72
	6%		1.32	1.58	1.99	2.47
pH	Control	4.08	4.12	4.30	4.25	4.15
	6%		4.14	4.29	4.27	4.11
Total acidity (%)	Control	0.40	0.43	0.42	0.39	0.40
	6%		0.41	0.39	0.37	0.39
Soluble solid (°Brix)	Control	5.5	5.8	5.6	5.8	5.8
	6%		5.8	5.6	5.7	5.7
Total microbial count [log CFU/g]	Control	2.87	3.54	3.86	4.53	5.11
	6%		3.15	3.54	3.86	4.98
Yeast & mold [log CFU/g]	Control	2.76	3.48	3.78	4.50	5.06
	6%		3.12	3.48	3.78	4.89

* Mixture of BAAG (Botanical antimicrobial agent-GFSE mixture) and zeolite in same ratio was added to make antimicrobial packaging paper.

다) 미생물수

포장 직후 방울토마토의 총균수는 $10^{2.87}$ CFU/g이었으며, 효모 및 곰팡이는 $10^{2.76}$ CFU/g이었다(Table 3-8). 이로써 방울토마토에 있는 대부분의 미생물이 효모 및 곰팡이라는 것을 알 수 있었으며, 저장 기간이 경과함에 따라 총균수와 효모 및 곰팡이수는 지속적으로 증가하였다. 대조구에 비하여 6% 항균 포장지 박스로 포장한 방울토마토의 미생물수가 적었다.

라) 부패율

저장 20일까지는 대조구와 6% 항균포장지로 포장한 방울토마토 모두에서 부패가 발생하지 않았다(Fig. 3-10). 저장 30일에는 대조구가 11.5%, 항균포장지로 포장한 시험구는 1.5%로 10배정도 부패율의 차이를 나타내어 항균포장지로 포장한 시험구에서 부패가 억제되는 효과가 확인되었다. 그러나 저장 40일에는 대조구는 100%가 부패하였고, 항균포장지로 포장한 시험구도 95%의 부패율을 보여 5℃에서 방울토마토의 저장은 30일 이상이 어려울 것으로 판단했다.

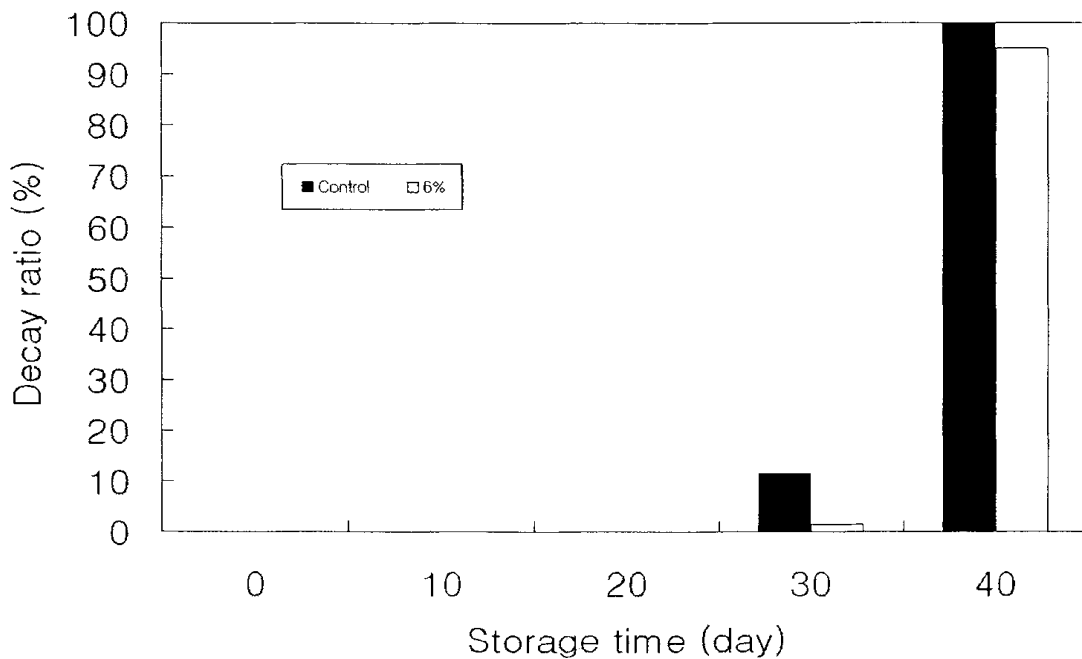


Fig. 3-10. Changes in decay ratio of cherry tomato packaged with antimicrobial packaging paper during storage at 5℃.

2) 감귤의 저장

가) 중량 감소율

감귤의 저장 중 중량 감소율은 저장 40일에도 2% 미만으로 나타나 중량 감소가 감귤의 저장 중 품질에 영향을 그다지 미치지 않는 것으로 판단된다(Table 3-9). 저장 온도가 10℃일 때에는 저장 3주에 중량 감소율이 5% 이상이었으나(Table 3-7) 5℃에서의 중량 감소율은 저장 20일에 1% 정도였다.

Table 3-9. Changes in quality characteristics of orange packaged with antimicrobial packaging paper during storage at 5°C.

Quality index	Packaging paper*	Storage time (day)				
		Initial	10	20	30	40
Weight loss(%)	Control	0	0.70	1.07	1.28	1.57
	12%		0.49	0.71	1.12	1.66
pH	Control	3.78	3.64	3.70	3.57	4.25
	12%		3.75	3.75	3.65	3.98
Total acidity (%)	Control	0.68	0.61	0.64	0.60	0.50
	12%		0.65	0.64	0.61	0.53
Soluble solid (°Brix)	Control	10.7	11.4	10.1	11.6	7.4
	12%		10.5	10.5	11.4	8.0
Total microbial count [log CFU/g]	Control	4.01	5.00	5.31	5.26	6.12
	12%		4.33	4.73	4.46	5.53
Yeast & mold [log CFU/g]	Control	3.99	4.77	5.20	5.13	6.09
	12%		4.13	4.61	4.11	5.32

* Mixture of BAAG (Botanical antimicrobial agent-GFSE mixture) and zeolite in same ratio was added to make antimicrobial packaging paper.

나) pH, 총산 및 가용성 고형물

저장 30일까지 감귤의 pH는 대체적으로 감소하였으나 저장 40일에는 증가하였다(Table 3-9). 즉 저장 30일까지는 pH에 영향을 주는 유기산 함량의 변화가 그다지 크지 않았다고 생각되는데, 이는 총산도 이 기간 동안 큰 변화를 나타내지 않은 결과와 대체로 일치하고 있다. 총산은 저장 30일과 비교시 저장 40일에 0.08~0.1% 감소하였다. 가용성 고형물도 저장 30일까지는 저장 초

기와 큰 차이를 나타내지 않았으나 저장 40일에는 저장 30일에 비하여 3.0 °Brix 이상 감소하였다. 또한 대조구에 비하여 12% 항균포장지로 포장한 시험구는 가용성 고형물 함량이 높았다.

다) 미생물수

포장 직후 감귤의 총균수는 $10^{4.01}$ CFU/g이었으며, 효모 및 곰팡이는 $10^{3.99}$ CFU/g이었다(Table 3-9). 이로써 감귤에 있는 대부분의 미생물이 효모 및 곰팡이라는 것을 알 수 있었으며, 저장 기간이 경과함에 따라 총균수와 효모 및 곰팡이수는 지속적으로 증가하였다. 대조구에 비하여 12% 항균포장지 박스로 포장한 감귤의 미생물수가 적었다.

라) 부패율

감귤은 저장 10일까지는 부패가 발생하지는 않았으나 대조구는 저장 20일에 부패가 발생하였으며, 12% 항균포장지 박스에 포장한 시험구는 저장 30일에 부패가 발생하였다(Fig. 3-11). 저장 30일에 대조구는 11.3%, 12% 항균포장지 박스로 포장한 시험구는 5.3%로 나타나 항균 포장지 박스 포장이 부패율을 억제하는 효과가 있는 것으로 판단된다.

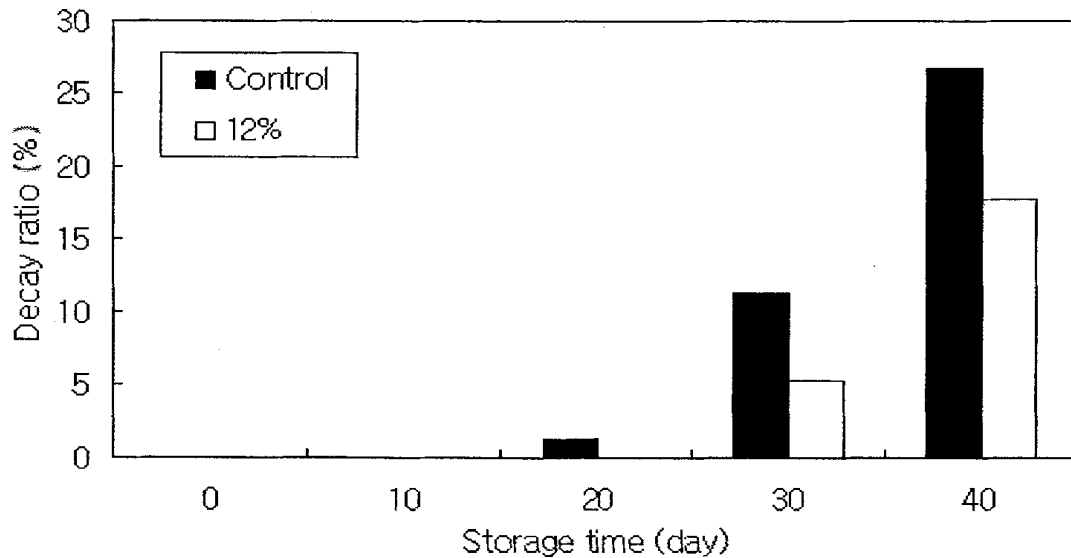


Fig. 3-11. Changes in decay ratio of orange packaged with antimicrobial packaging paper during storage at 5°C.

4. 결 론

식물성 천연항균제(BAAG)를 사용하여 과채류에 적합한 처리 조건을 설정하고, 이를 이용하여 환경친화적인 포장재로 과채류를 포장하고 저장하면서 이들의 저장·유통에 적합한 조건을 설정하고자 하였다. 과채류의 표면 미생물 수를 감소시키기 위하여 BAAG 용액에 과채류를 일정시간 동안 침지한 결과 사과와 방울토마토는 1,000 µg/mL, 배, 단감, 오이 및 피망은 500 µg/mL 처리가 적당하였다. 이러한 농도에서 적절한 침지 시간은 배, 감 및 방울토마토는 10분, 사과는 20분, 오이는 30분이었다. 방울토마토와 피망에 적합한 MA 조건을 설정하기 위하여 30 µm cast polypropylene (CPP, STC Co., Korea), 20 µm low density polyethylene (LDPE, Daelim Vinyl, Korea), 15 µm polyolefin (MPD, Cryovac, U.S.A.), 30 µm polyolefin (PD961, Cryovac, U.S.A.), 15 µm perforated polyolefin(PY85, Cryovac, U.S.A.) 및 10 µm linear low density polyethylene (LLDPE, Clean Wrap, Korea)으로 포장하여 저장하면서 품질 변화를 측정하였다. 방울토마토의 포장에 가장 적절한 포장재는 MPD였으며, 이들이 저장 기간 중에 나타낸 산소 농도 16~19%, 이산화탄소 농도 2.5~4.0%였다. 피망은 CPP 포장이 품질 유지에 가장 적절하였으며, 산소 농도 12~14%, 이산화탄소 농도 2~5%였다. BAAG와 zeolite를 같은 양 섞어서 만든 항균포장지로 방울토마토를 12°C에서 저장한 결과 20일에 6% 항균포장지는 5.4%, 9% 항균포장지는 9.9%, 대조구는 14.8%의 부패율을 나타내어 6% 항균포장지 포장이 가장 효과적이었다. 감귤은 저장 1주부터 부패한 과육이 발생하기 시작하였으며, 저장 3주에는 대조구가 다른 시험구에 비하여 급격하게 증가하였다. 저장 4주 감귤의 부패율은 12% 항균포장지로 포장한 시험구는 18.0%, 9% 항균 포장지는 21.0%, 6% 항균포장지는 23.5%, 대조구는 34.7%로 나타났다. 항균포장지 시험결과 방울토마토는 6% 항균포장지, 감귤은 12% 항균포장지가 효과가 큰 것으로 나타나 골판지 박스 내부에 이들을 붙이고, 10 kg씩을 담은 다음 5°C 저온 창고에서 저장한 결과 대조구에 비하여 6% 항균포장지 박스로 포장한 방울토마토의 총균수, 효모 및 곰팡이 수가 적었다. 저장 20일까지는 대조구와 6% 항균포장지로 포장한 방울토마토 모두에서 부패가 발생하지 않았으나 30일에는 대조구가 11.5%, 항균포장지로 포장한 시험구는 1.5%로 10배정도 부패율의 차이를 나타내어 항균포장지로 포장한 시험구에서 부패가 억제되는 효과가 확인되었다. 감귤은 저장 10일까지는 12% 항균포장지로 포장한 시험구에서는 부패가 발생하지는 않았으나 대조구는 저

장 20일에 부패가 발생하였으며, 30일에 대조구는 11.3%, 12% 항균포장지 박스로 포장한 시험구는 5.3%로 나타나 항균 포장지 박스 포장이 부패율을 억제하는 효과가 있는 것으로 판단된다.

제 4 장 목표 달성도 및 관련 분야에의 기여도

제 1절 연구 개발 목표의 달성도

천연 식물성 향균 소재를 처리한 신소재 포장재 개발을 최종 목표로 하여 추진한 연구 과제는 Table 4-1에 정리된 바와 같이 연도별 연구 목표에 근거하여 성공적으로 수행할 수 있었다.

Table 4-1. Achievement of the research aims based on the annual plan

구 분	평가의 착안점 및 성취도	
	착안 사항	성취도
1차년도 (2001)	<ul style="list-style-type: none"> ○ 식물성 천연항균물질의 조제 및 향균작용 검사 ○ 항균물질의 안전성 평가 ○ 과채류 변패 미생물의 생리 및 형태적 특성에 미치는 BAAG의 영향 ○ 저장과채류에 대한 BAAG의 최적 처리 및 MA저장 조건 설정 ○ 항균물질의 펄프 섬유내 최적 정착 기작 구명 	<ul style="list-style-type: none"> ○ 우수한 항균력을 발현하는 GFSE를 주원료로 한 BAAG를 조제하여 BAAG의 안전성과 미생물에 미치는 영향 확인 ○ BAAG를 포장 원지의 섬유 네트워크 내에 효과적으로 보류시킬 수 있는 정착 기작 확인 ○ 골판지 포장 상자에 과채류를 저장하기에 적합한 BAAG의 최적 처리 조건과 MA 저장 조건 설정

구 분	평가의 착안점 및 성취도	
	착안 사항	성취도
2차년도 (2002)	<ul style="list-style-type: none"> ○ 항균물질의 분리 및 동정 ○ BAAG의 포장 원지내 보류 정도 및 항균성 검사 ○ 항균 포장지의 제조 - 물성 시험 및 항균지속시간 검사 ○ BAAG를 처리한 과채류에 적합한 저장 조건 및 개발된 기술을 이용한 과채류의 대규모 저장 조건 설정 	<ul style="list-style-type: none"> ○ BAAG 중의 항균 물질을 분리 및 동정하여 항균 기작을 확인 ○ BAAG와 제올라이트, AKD를 처리한 기능성 포장 원지를 개발하여 저장 과채류의 선도를 유지할 수 있는 효능 입증하고, 항균 포장 원지의 물성 변화를 조사 ○ BAAG를 처리한 과채류의 최적 저장 조건을 설정하고, 기능성 골판지 포장 상자를 이용한 과채류의 대규모 저장 조건을 설정
최종 성과	<ul style="list-style-type: none"> ○ 과채류에 적용 가능한 천연 항균 물질의 개발 ○ 항균 기능을 지닌 환경친화형 포장지의 개발 ○ 연구 결과를 다른 과채류에 적용 가능성 	<ul style="list-style-type: none"> ○ 과채류의 선도 유지에 필요한 천연 식물성 항균 소재 개발 - BAAG ○ 천연 식물성 항균 소재를 처리한 고기능성 포장 원지 개발 - 저장 과채류의 선도 유지에 탁월한 효능 발현

제 2 절 관련 분야 기술 발전에의 기여도

최근 식품 위생에 대한 관심이 고조되면서 인체에 무해한 천연 식물성 항균 소재에 대한 관심이 증폭되고 있다. 본 연구를 통해 개발된 BAAG 제조 기술은 기존의 자몽종자추출물이 갖는 항균 성능을 더욱 향상시킨 새로운 기술이라 할 수 있다. 이러한 천연 식물성 항균제는 인체에 무해하기 때문에 식품 위생에 대한 관심이 고조되고 이 시점에 적절하게 활용만 한다면 상품 가치가 높은 항균제로 사용될 수 있을 것으로 기대된다.

일반적으로 국내 포장 원지의 제조에 사용되는 원료는 미표백 크라프트 펄프(Unbleached Kraft Pulp, UBKP)와 OCC (Old Corrugated Container, OCC)가 주류를 이루고 있다. UBKP는 높은 강도를 원하는 포장 소재에 사용되는 고급 원료이지만, OCC는 자원 재활용 차원에서 골판지 상자용 원지 제조에 주로 사용되는 저급 원료이다. 국내 제지회사에서는 생산비용을 낮추기 위하여 UBKP 대신에 국내에서 수집된 KOCC (Korea Old Corrugated Container)를 주로 사용하고, 일부에서는 강도 보강을 목적으로 AOCC (America Old Corrugated Container)를 일부 혼입하여 사용한다. 결국 OCC 고지를 주원료 사용하는 골판지용 원지는 강도 요소만 중요하게 취급되어 왔고, 지함 제작업자의 입장에서 일정 수준 이상의 강도가 나오고 구입 단가만 저렴하다면 쉽게 구입하여 사용하고 있는 실정이다.

2004년부터는 지류 수입에 드는 관세가 철폐되면서 포장 원지를 포함한 고품질의 외산 지류가 국내에서 생산되는 지류의 시장 가격보다도 훨씬 저렴하게 들어올 가능성이 높다. 이 때 경쟁력이 없는 국내 지류 혹은 지함 생산업체는 수입 지류 및 지함 제품의 저가 공세에 부딪혀 어려움에 직면하게 될 것은 자명한 사실이다. 따라서 국내의 지류, 특히 포장 원지 혹은 지함 생산업체에서는 시장 경쟁에서 살아남기 위해서는 기존 제품과 차별화된 제품을 개발하지 않는다면 연쇄 도산의 위기에 직면하게 될 것이다.

본 연구에서 개발한 기능성 포장 원지는 시장 경쟁력 면에서 취약한 국내 포장 원지(혹은 원단) 생산업체의 경쟁력을 고양시키는데 큰 일조를 할 수 있을 것으로 기대된다. 물론 기능성 포장 원지 생산에 있어서 m^2 당 약 3,290원의 추가 비용이 소요되겠지만 기능성 포장 원지의 사용으로 인해 포장 과채류, 의약품, 식품 등의 변패로 인한 폐기 물품의 양을 줄일 수 있어 포장 원지의 가격 상승분을 상쇄하고도 추가 이익을 발생시킬 수 있다.

앞으로는 단순히 포장 원지나 포장 기능만을 갖는 지함만을 생산해서는 시장 경쟁에서 이길 수 없다. 단순 포장 원지에 부가가치를 창출할 수 있는 기능

성을 추가하여야만 시장 경쟁에서 살아남을 수 있을 것이다. 본 연구에서 개발한 항균 기능 및 가스 조절 기능을 갖는 기능성 포장 원지는 국내 포장 원지 생산업체의 경쟁력 고양에 큰 일조를 할 수 있을 것으로 기대된다.

제 5 장 연구 개발 결과의 활용 계획

제 1 절 추가 연구의 필요성

BAAG의 안전성과 높은 항균 활성을 이용한 지류 포장 소재 개발 연구는 국내의 포장 원지 생산업체에 높은 부가가치를 창출할 수 있는 기능성 포장 원지 개발을 위한 동기를 부여할 것이다. 그러나 현재까지의 연구는 실험실적 수준에서 우수한 효능을 발휘하는 포장 소재를 성공적으로 개발하였지만 포장 원지를 생산하는 현장 전문가들과의 논의 과정에서 몇 가지 변수들을 고려하여야만 경쟁력 있는 제품을 생산할 수 있을 것으로 판단되었다.

포장 원지를 생산하는 제지 공장들은 일부 대형 업체를 제외하고는 일반 백상지나 아트지 생산하는 업체에 비하면 매우 영세한 사업 규모를 가지고 있다. 이들 영세업체들에서는 생산비용 측면에서 초지 공정(papermaking process)의 오염 물질을 다량 함유하고 있는 KOCC를 주원료로 사용할 뿐만 아니라 초지 공정의 용수 내에서도 미생물들이 생육하고 있기 때문에 천연 항균제의 효능을 떨어뜨릴 수 있는 가능성을 안고 있다.

따라서 BAAG, 재올라이트 및 발수제 처리를 병용하여 기능성 포장 원지의 양산 체제를 구축하기 위해서는 포장 원지의 생산 공정에 부합하는 조건을 탐색하는 연구가 추가적으로 수행되어야 할 필요가 있다. 특히 수분이 다량 함유된 과채류의 포장에서는 과채류의 수분이 포장 원지에 흡수되어 포장 봉지나 골판지 포장 상자의 강도를 저하시키고 동시에 과채류의 선도를 떨어뜨릴 수 있으므로 저장 동안 과채류의 수분손실을 최소화 하면서 항균 및 기타 기능적 성질이 그대로 발현될 수 있게 하는 포장 원지의 개발과 관련된 연구가 반드시 수행되어야 할 것이다.

현재 기능성 포장 원지를 생산하는데 있어서 생산 단가에 가장 많은 부분을 차지하는 것은 BAAG 제조 비용이다. 따라서 BAAG 외에도 인체에 무해하면서도 우수한 항균력을 발휘하는 천연 식물성 항균제제를 개발하여 기능성 포장 원지의 생산 단가를 낮출 필요가 있다.

제 2 절 타 연구에의 응용 및 기업화 추진 방안

천연 식물성 항균제를 이용한 기능성 포장 원지의 제조 기술은 기능성 종이

의 제조에도 응용 가능하다. 일회용 식품(햄버거, 피자, 제과, 제빵 등)의 포장지, 유아용 필기 및 도화 용지, 기타 위생에 관련된 종이 등의 제조에 인체에 무해한 것으로 입증된 BAAG나 기타 효능이 입증된 식물성 항균제를 처리하여 고부가가치 기능성 종이를 제조할 수 있을 것으로 기대된다.

개발 결과의 기업화를 위해서는 몇 가지 상황을 고려한 후 아래와 같이 추진할 수 있다. 먼저 BAAG를 이용한 항균 포장 원지 제조 기술은 포장 원지 제조업체가 안고 있는 몇 가지 문제점만 해결된다면 양산 체제가 가능할 것으로 보고 있다. 앞서 지적한 바와 같이 2004년부터는 수입 지류에 부과되는 관세가 완전히 철폐되면서 국내의 포장 원지 생산업체들은 생존의 위협에 직면해 있다. 따라서 국내 업체들은 수입 원지와 경쟁력에서 이기기 위하여 현재 새로운 고부가가치 지종에 대한 관심이 매우 높다. 이러한 요구에 부응하기 위하여 본 연구에서 개발된 기능성 포장 원지 제조 기술을 국내외의 포장 및 제지 관련 학술 세미나와 국내외 펄프·종이공학회 등의 심포지엄을 통하여 공개 발표함으로써 관련 기술을 홍보할 예정이다. 여기에서 연구 결과에 관심을 보이는 제지업체를 선정하여 현장 적용에 필요한 기술적 고려 사항을 해결한 후 항균 포장 원지 생산을 위한 양산 체제를 구축할 수 있다. 이들 포장 원지는 국내 지함 제작용체나 해외 지함 제작용체에 판매할 수 있도록 판매망을 구축한다면 기능성 포장 원지 생산으로 인한 지속적 수익 창출이 가능할 것으로 기대된다.

예를 들면, 생산된 항균 포장 원지를 이용하여 포장지나 골판지 포장 상자를 제작하여 농산물, 식품 등의 포장에 이용될 수 있도록 농촌진흥청, 농협협동조합, 농민회, 농촌기술연구원 등의 협조를 얻어 사용을 적극 독려한다면 항균 포장 원지의 수요를 극대화할 수 있을 것이다.

뿐만 아니라 본 연구 결과에 대한 국내·외 특허를 신청하여 재산권을 확보한 후 관련 기술에 대하여 관심을 보이는 업체에게 기능성 포장지 제조 기술을 전수하고 기술료를 받을 수 있다.

항균 포장 원지의 양산이 순조롭게 이루어진다면 포장 원지에 항균 성능을 부여하는데 사용된 BAAG의 수요도 함께 창출되기 때문에 관련 기술의 활용도 극대화될 수 있고, BAAG 외에도 우수한 항균 효능을 발현하는 항균제재를 개발하기 위한 연구도 더욱 가속화될 것으로 예상된다.

제 6 장 해외 연구 자료

기능성 포장지나 기능성 골판지 개발과 관련된 자료는 해당 기업의 핵심 기술에 해당되기 때문에 기술 자료를 참고하기가 매우 어렵다. 단순히 각 기업이 판매하고 있는 기능성 골판지 상자의 용도를 중심으로 나누어 보면 아래의 Table 6-1과 같이 분류할 수 있다(Shin, 2002).

Table 6-1. Classification of commercial functional corrugated container

종 류	특징 및 적용분야
가스 제어 골판지	<ul style="list-style-type: none"> · 골판지 원지에 선도 보존제나 항균제를 코팅/세라믹을 혼입한 PE, PP 등의 필름용 골판지 원지에 라미네이팅 / 골판지 원지 제조시 에틸렌 가스 흡착제(세라믹, 활성탄 등)를 내첨 · 외부가스의 침입 억제, 상자 내부물 낮은 산소율, 높은 탄산가스율 상태로 유지(선도유지 골판지용)
내유성(耐油性) 골판지	<ul style="list-style-type: none"> · 라이너에 내유지성 약품을 도포하거나 수지를 적층가공 · 배어링 등의 정밀기계부품 포장재 사용
방청 골판지	<ul style="list-style-type: none"> · 가스 흡착 작용을 가진 약제를 골판지 원지에 처리 / PE 등의 필름을 방청 라이너와 라미네이팅 / 골판지 원지를 기화성 방청제에 합침 · 철제류의 방청, 비철금속류의 방식 포장에 적용
단열 골판지	<ul style="list-style-type: none"> · 알루미늄 호일, 알루미늄 증착 필름을 라이너에 라미네이팅 / 발포수지 시트를 라이너에 라미네이팅 / 수지 등을 골심지 안에 주입하여 발포 · 산소투과량 억제, 열의 전도?대류?복사 등을 방지 · 청과물의 선도유지 또는 보냉가공식품, 목수 의약품 포장에 사용
내수 골판지	<ul style="list-style-type: none"> · 장시간 침수하여도 강도가 유지되는 골판지 · 라이너 또는 골심지에 발수제, 왁스코팅하거나 PE, PET 필름 또는 알루미늄 호일을 라미네이팅 / 골판지를 왁스나 수지에 침지처리 · 수분이 많은 야채류 및 냉동 수산가공품, 저온유통되는 유제품, 음료수 포장에 많이 사용

제 7 장 인용문헌

- A.O.A.C. *Official Methods of Analysis*, 14th ed., Association of Official Analytical Chemists, Inc., U. S. A. p. 844-845 (1984).
- Adebola O. Oyedeji, Olusegun Ekundayo, Olayide N. Olawore, Bolanle A. Adeniyi, and Wilfried A. Koenig, Antimicrobial activity of the essential oils of five Eucalyptus species growing in Nigeria. *Fitoterapia*, 70, 526-528 (1999).
- Adel M. Mahasneh and Ahmad A. El-Oqlah, Antimicrobial activity of extracts of herbal plants used in the traditional medicine of Jordan. *Journal of Ethnopharmacology*, 64, 271-276 (1999).
- Amin, M. K. and Draughon, F. A., Infection of shell eggs with *Yersinia Enterocolitica*. *Journal of Food protection*, 53(10), 826-830 (1990).
- Anderson, M. E. and Marshall, R. T., Interaction of concentration and temperature of acetic acid solution on reduction of various species of microorganisms on beef surfaces. *J. Food Protect.*, 52, 312 (1989).
- Antoine, J. C. and Donawa, A. L., The spoilage of UHT-treated chocolate milk by ermoduric bacteria. *Journal of Food protection*, 53(12), 1050-1051 (1990).
- Au, C.O. and Thorn, I., *Applications of Wet-End Paper Chemistry*, Blackie Academic & Professional, pp13-26 (1995).
- Baer, A. W., Kirby, W. M. M., Sherris, J. C. and Turck, M., Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. Reprinted from Technical Bulletin of the registry of Medical Technologists, 36(3), 493-497 (1966).
- Bailey, A. V., Delucca, A. J., and Moreau, J. P. Antimicrobial properties of some erucic acid acid derivatives. *J. Am. Oil Soc.*, 66, 932 (1989).
- Baranowski, J. D., Davidson, P. M., Nagel, C. W., and Branen, A. L., Inhibition of *Saccharomyces cerevisiae* by naturally occurring hydroxycinnamates. *Journal of Food Science*, 45, 592-594 (1980).
- Barrer, R. M., Porous Crystals; A Perspective: In Proc. 7th Int. Zeolite Conference, Y. Murakami, A. Iijima and J. W. Ward eds., Kodansha, Tokyo, pp 1080-1091 (1986).
- Barranowski, J. D. Davidson, P. M., Nagel, C. W., and Branen, A. L., Inhibition of *Saccharomyces cerevisiae* by naturally occurring

- hydroxycinnamates. *Journal of Food science*, 45, (1980).
- Bean, N. H., PH. D., Griffin, P. M., M. D., Goulding, J. S. and Ivey, C. B.. Food-borne disease outbreaks, 5-year summary, 1983-1987. *J. Food Prot.*, 53(8), 711-728 (1990).
- Berry, E. D., Liewen, M. B., Mandigo, R. W., and Hutkins, R. W., Inhibition of *Listeria monocytogenes* by bacteriocin producing *Pediococcus* during the manufacture of fermented semidry sausage. *J. Food Protect.*, 53, 194 (1990).
- Bestr, B. H. and Lombord, S. H., Influence of lysozyme on selected bacteria associated with gouda cheese. *J. Food Protect.*, 53, 306 (1990).
- Beuchat, L. R. and Golden, D. A., Antimicrobials occurring naturally in foods. *Food Technol*, 43, 134 (1989).
- Board, R. G., The micro biology of the hen,s egg. In "Advances in Applied Microbiology, Vol.II."ed. D. Perlman. Academic Press, New York (1969).
- Brackett, R.E. Influence of modified atmosphere packaging on the microflora and quality of fresh bell peppers. *J. Food Protection*. 53, 255-257 (1990).
- Branch, A., Starkey, D. H., and Power, E. E., Diversifications in the tube dilution test for antibiotic sensitivity of microorganisms. *Applied Microbiology*, 13(3), 469-473 (1965).
- Branen, A. L., Go, H. C., and Genske, R. P., Purification and properties of antimicrobial substances produced by *Streptococcus ciacetilacts* and *Leuconostoc citrovorum*. *J. Food Sci.*, 40, 446 (1975).
- Breene, W. M., Nutritional and medicinal value of specialty mushrooms. *J. Food Prot.*, 53(10), 883-894 (1990).
- Briozzo, J., Nunez, L., Chirife, J., Herszage, L., and D,Aquino, M., Antimicrobial activity of clove oil dispersed in a concentrated sugar solution *J. Appl. Bacteriol.*, 66, 69 (1989).
- Buchanan, R. L. and Spephered, A. J., Inhibition of *Aspegillus parasiticus* by thymol. *J. Food Sci.*, 46, 976 (1981).
- Bullerman, L. B. and Seier, S. A., Inhibition of growth and aflatoxin production by cinnamon and clove oils-Cinamic and eugenol. *J. Food Sci.*, 42, 1107 (1977).
- Bussel, J. and Kenigsberger, Z. Packaging green bell peppers in

- selected permeability films. *J. Food Sci.*, 40, 1300-1303 (1975).
- Chai, T. C., Han, T. J., Cockey, R. R. and Henry, P. C., Microbiological studies of chesapeake bay soft-shell clams (*Mya arenaria*). *J. Food Prot.*, 53(12), 1052-1057 (1990).
- Chipley, J. R., Story, L. D., and Kabara, J. J., Inhibition of *Aspergillus* growth and xtracellular aflatoxin accumulation by sorbic acid and derivatives of fatty acids. *J. Food Safety*, 2, 109 (1981).
- Cho, B.M., Market Trend of corrugated cardboard industry, *Packaging World*, Sept. 2002, pp60-68.
- Cho, J. Y., Kim, H. K., Ma, S. J., Moon, J. H. and Park, K. H., Isolation and isolation and identification of azelaic acid and 3,4-dihydroxybenzoic acid from buckwheat hull as antimicrobial substances. *Food Sci. Biotechnol.*, 9(5), 313-316 (2000).
- Cho, S. H., Lee, S. Y. and Seo, I. W. Preservative effect of natural antimicrobial agent on agricultura products and their processed Foods. *Res. Rept. RDA.*, 35, (1992).
- Cordray, J. C. and Huffman, D. L., Comparison of three methods for estimating surface bacteria on pork carcasses. *Journal of Food Protection*, 45(7), 582-584 (1985).
- Cutter, C. N., Antimicrobial effect of herb extracts against *Escherichia coli* O157, H7, *Listeria monocytogenes*, and *Salmonella* typhimurium associated with beef. *Journal of Food protection*, 63(5), 601-607 (2000).
- D'Aoust,, J. Y., Daley, E., and Sewell, A. M., Performance of the microplate bactracetm ELISA technique for detection of food-borne *Salmonella*. *Journal of Food protection*, 53(10), 841-845 (1990).
- Epling, L. K. and Carpenter, J. A., Antibiotic resistance of *Salmonella* isolated from pork carcasses in northeast georgia. *Journal of Food protection*, 53(3), 253-254 (1990).
- Epling, L. K. and Carpenter, J. A., Antibiotic resistance of *Salmonella* isolated from pork carcasses in northeast georgia. *Journal of Food protection*, 53(3), 253-254 (1990).
- Fabian, F. W. and Graham, H. T., Viability of thermophilic bacteria in the presence of varying concentrations of acids, sodium chloride, and sugars. *Food Technol.*, 7, 212 (1953).
- Farag, R. S., Daw, Z. Y., Heweda, F. M. and El-Baroty G. S. A., Antimicrobial activity of some Egyptian spice essential oils. *Journal*

- of Food Protection, 52, (1989).
- Fields, M. L., Tantratian, S. and Baldwin, R. E., Production of bacterial and yeast biomass in ground corn cob and ground corn stalk media. *Journal of Food protection*, 54(2), 117-120 (1991).
- Fromtling, R. A. and Bulmer, G. S., In vitro effect of aqueous extract of garlic (*Allium sativum*) on the growth and viability of *Cryptococcus neofor*.
- Garg, N., Churey, J. J., and Splittstoesser, D. F., Effect of processing conditions on the microflora of fresh-cut vegetables. *Journal of Food Protection*, 53(8), 701-703 (1990).
- Gazzar, F. E., Rusul, G., and Marth, E. H., Growth and aflatoxin production by *Aspergillus parasiticus* NRRL 2999 in the presence of lactic acid and at different initial pH values. *J. Food Protect.*, 50, 940 (1987).
- Gonzalez. G and Tiznado. M. Postharvest physiology of bell peppers stored in low density polyethylene bags. 26, 450-455 (1993).
- Griffiths, M. W., Toxin production by psychrotrophic *Bacillus spp.* present in milk. *Journal of Food protection*, 53(9), 790-792 (1990).
- Hans Blom, Tone Katla, Askild Holck, Knut Sletten, Lars Axelsson, and Helge Holo, Characterization, production, and purification of leucocin H, a two-peptide bacteriocin from *Leuconostoc* MF215B. *Current Microbiology*, 39, 43-48 (1999).
- Harben, The Industrial Minerals HandyBook. Industrial Minerals Information LTD., pp 250-260(1995).
- Harris, P. L. and Cuppett, S. L., Effect of selected antioxidants on the activity of a mixture of crude *Pseudomonas* lipases. *Journal of Food protection*, 54(2), 133-135 (1991).
- Hashem, A. R., Fungal flora of barley sees on saudi arabia and its control. *Journal of Food protection*, 53(9), 786-789 (1990).
- Hughey, V. L. and Johnson, E. A., Antimicrobial activity of lysozyme against bacteria involved in food spilage and food-borne disease. *Appl. Environ. Microbiol.* 53, 2165(1987).
- Hur, J. W., Hyun, H. H., Pyun, Y. R., Kim, T. S., Yeo, I. H. and Paik, H. D., Identification and partial characterization of lacticin BH5, a bacteriocin produced by *Lactcoccus lactis* BH5 isolated from Kimchi. *Journal of Food Protection*, 63(12), 1707-1712 (2000).

- Jay, J. M., Food preservation with chemicals. In "Modern Food Microbiology," 3rd ed., p.257. Van Nostrand Reinhold Co., New York. (1986).
- John H. Powers, Dardjo Somaatmadja, Dan E. Pratt, and Mostafa K. Hamdy, Action of anthocyanin pigments and related compounds on the growth of certain microorganism. Food Technology Department, University of Georgia athn, Georgia. May 18, 626-631 (1960).
- Kader, A.A. Biochemical and physiological basis for effects of controlled and modified atmospheres on fruits and vegetables. *Food Technol.*, 40, 99-104 (1986).
- Kader, A.A., Zagory, D. and Kerbel, E.L. Modified atmosphere packaging of fruits and vegetables. *CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 28, 1-30 (1989).
- Kariba, R. M. and Houghton, P. J., Antimicrobial activity of *Newtonia hildedrandtii* , *Fitoteraepia*, 71, 415-417 (2001).
- Karkpinar, M., Inhibitory effects of anethole and eugenol on the growth and toxin production of *Aspergillus parasiticus*. *International J. Food Microbiol*, 10, 193 (1990).
- Karunaratne, A. and Bullerman, L. B., Inter-active effects of spore load and temperature on aflatoxin production. *Journal of Food protection*, 53(3), 227-229 (1990).
- Karunaratne, A., Wezenberg, E. and Bullerman, L. B., Inhibition of mold growth and aflatoxin production by *Lactobacillus spp.* *Journal of Food protection*, 53(3), 230-236 (1990).
- Khalil Ettayeb, Jamal El Yamani, and Badr-Din Rossi-Hassani , Synergistic effects of nisin and thymol on antimicrobial activities in *Listeria monocytogenes* and *Bacillus subtilis*. *FEMS Microbiology Letters*, 183, 191-195 (2000).
- Kim, S. H., Lee, J. W., Lee, H. S. and Hahm, K. S. Component analysis and determination of bioactivity of oriental therapeutic drug for Hepatitis B. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol*, 20(6), 699-703(1992).
- Kim, Y. M., Lee, N. K., Park, H. D. and Lee, D. S., Migration of bacteriocin from bacteriocin-coated film and its antimicrobial activity. *Food Sci Biotechnol*, 9(5), 325-329 (2000).
- Kim, Y.M., Lee, S.B., Cho, S.H. and Lee, D.S. Fabrication of

- polyethylene films coated with antimicrobials in a binder and their application to modified atmosphere packaging of strawberries. *Korean J. Postharvest Sci. Technol.*, 7, 12-18 (2000).
- Ko, K. H., Antimicrobial effect short-chain fatty acids against *Saccharomyces cerevisiae*, *Food and Biotechnology*, 5(1), 42-47 (1996).
- Kumar S. enkitanrayyanan, Tong Zhao, and Michael P. Doyle, Antibacterial effect of lactoferricin B on *Escherichia coli* O157. H7 in Ground Beef. *Journal of food protection*, 62(7), (1999).
- Kurita, N., Miyaji, M., Kurane, R., Takahara, Y., and Ichimura, K., Antifungal activity and molecular orbital energies of aldehyde compounds from oils of higher plants. *Biol. Chem.*, 43, 2365 (1979).
- Lattanzio, V, Cardianli, A and Palmieri, S. The role of phenolics in the postharvest physiology of fruits and vegetables, browning reactions and fungal diseases. *Ital. J. Food Sci.* 6, 3-22 (1994).
- Laura L. Zaika and John C. Kissinger, Inhibitory and stimulatory effects organo on *Lactobacillus Plantarum* and *Pediococcus cerevisiae*. *Journal of Food science* 46 1205-1210 (1981).
- Lee, D. S., Hwang, Y. I. and Cho, s. h., Developing antimicrobial packaging film for curled Lettuce and Soybean sporuts. *Food Sci. Biotechnol*, 7(2), 117-121 (1998).
- Lee, G. Y, Antifungal Activity of Trimethylenetriamine, Benzoin and Fennel Oil. *The Journal of catholic Medical College*, 14, 379-390 (1968).
- Levlin J-E., *Pulp and Paper Testing*, Papermaking Sci. & Technology Series, PPI and TAPPI Press, pp137-163 (2000).
- Lin Chla Min, Kim, J. M., Du Wen Xlan, and Wei Cheng I, Bactericidal activity of isothiocyanate against pathogens on fresh produce. *Journal of Food protection*, 63(1), 25-30 (2000).
- Luo, Y. and Mikitze, L.J. Extension of postharvest life of bell peppers with low oxygen. *J. Sci. Food Agric.*, 70, 115-119 (1996).
- Marwan, A. G. and Nagel, C. W., Microbial inhibitors in cranberries. *J. Food Sci*, 51, 1009 (1986).
- Masako Nanayama, Antibacterial actions of citric acid in Umebosi (Salted Japanese apricot) and Bainikuekisu (Concentrate of Japanese apricot juice). *Jpn. J. Food Microbiol.*, 12(4), 211-217 (1996).

- Masako Toda and Tadakatsu Shimamura , Antimicrobial activity of tea. *Jpn. J. Food Microbiol.*, 12(4), 227-234 (1996).
- Mbandi, E. and Shelef, L. A., Enhanced inhibition of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella enteritidis* in meat by combinations of sodium lactate and diacetate. *Journal of Food Protection*, 64(5), 640-644 (2001).
- Mead, G. C., Barrow, P. A., Hinton, M. H., Humbert, F., Impey, C. S., Lahellec, C. R., Mulder, W. A., Stavric, W. S., and Stern, N. J., Recommended assay for treatment of chicks to prevent *Salmonella* colonization by 'Competitive Exclusion'. *Journal of Food protection*, 52(7), 500-502 (1989).
- Meyer, R. S., Grant, M. A., Luedecke, L. O. and Leung, H. K., Effects of pH and water activity on microbiological stability of salad dressing. *Journal of Food protection*, 52(7), 477-479 (1989).
- Michael K. Woolford, Microbiological screening of food preservatives, cold sterilants and specific antimicrobial agents as potential silage. *J. Sci. Food Agric*, 26, 229-237 (1975).
- Mills, J. T., Ecology of mycotoxigenic *Fusarium* species on cereal seeds. *J. Food Prot.*, 52(10), 737-742 (1989).
- Morissette, C., Goulet, J., and Lamoureux, G., simple and rapid inhibition enzyme immunoassay for the detection of staphylococcal enterotoxin B in foods. *Journal of Food protection*, 53(10), 834-840 (1990).
- Nandini Natrajan, and Brain W. Sheldon , Inhibition of *Salmomella* on skin using protein and polysaccharide-based films containing a nisin formulation. *Journal of Food Protection*, 63(9), 1268-1272 (2000).
- Neiman, C., Influence of trace amounts of fatty acids on the growth of microorganisms. *Bacteriol. Rev.*, 18, 147 (1954).
- Niskanen, K., Paper Physics, Papermaking Sci. & Technology Series, PPI and TAPPI Press, pp55-88 (2000).
- O'gara, E. A., Hill, D. J. and Maslin, D. J., Activies of Garlic powder, and their diallyl constituents against *Helicobacter pylori*. *Applied and Environmental Microbiology*, May 66(5), 2269-2273 (2000).
- Oram, J. D. and Reiter, B., Inhibition of bacteria by lactoferrin and other airon cheating agents. *Biochem. Biophys. Acta.* 170, 351 (1968).
- Park, K.W., Kang, H.M., Kim, D.M. and Park, H.W. Effects of the packaging films and storage temperatures on modified atmosphere

- storage of ripe tomato. *J. Kor. Hort. Sci.*, 40, 643-646 (1999).
- Park, W.P., Yoo, J.I. and Cho, S.H. Plastic films effect the storage quality of green chili pepper. *Korean J. Postharvest Sci. Technol.*, 5, 207-210 (1998).
- Patrica Cerrutti, Srella M. Alzamora, and Susana L. Vidaales, Vanillin as an antimicrobial for producing shelf-stable strawberry puree. *Journal of Foods Science*, 62(3), 608-610 (1997).
- Paulapuro, H., Paper and Board Grades, Papermaking Sci. & Technology Series, PPI and TAPPI Press, pp55-74 (2000).
- Powers, E. M. and Berkowitz, D., Efficacy of an oxygen scavenger to modify the atmosphere and prevent mold growth on meal, ready-to-eat pouched bread. *Journal of Food protection*, 53(9), 767-771 (1990).
- Powers, J. J., Somaatmadja, D., Pratt, D. E., and Hamdy, M. K., Anthocyanins. II. Action of anthocyanin pigments and related compounds on the growth of certain microorganisms. *Food Technol.*, 14, 626 (1960).
- Rath, M. and Pauling, L., Lipoprotein(a) is a surrogate for ascorbate. *Proc. Natl. Acad. sci. USA*, 87, 6204-6207 (1990).
- Reddy, K. A. and Marth, E. H., Reducing the sodium content of foods. *Journal of Food protection*, 54(2), 138-150 (1991).
- Ross, Z. M. O'gara, E. A., Hill, D. J., Sleightholme, H. V. and Maslin D. J., Antimicrobial properties of Garlic oil against human enteric bacteria, Evaluation of methodologies and comparisons with Garlic oil sulfides and Garlic powder, *Applied and Environmental Microbiology*, Jan 67(1) 475-480 (2001).
- Salmeron, J. Jordano, R., and Pozo R., Antimycotic and antiaflatoxigenic activity of oregano(*Organum vulgare*, l) and Thyme(*Thymus vulgaris*, l). *Journal of Food Protection*, 53, 697-700 (1990).
- Savolainen, A., Paper and Paperboard Converting, Papermaking Sci. & Technology Series, PPI and TAPPI Press, pp244-280 (2000)
- Shelef, L. A., Mohammed, S., Tan, W., and Webber, M. L., Rapid optical measurements of microbial contamination in raw ground beef and effects of citrate and lactate. *Journal of Food protection*, 60(6), 673-676 (1997).
- Shelef, L. A., Naglik, O. A., and Bogen, D. W., Sensitivity of some common food-brone bacteria to the spices sage, Rosemary, and

- Allspice. J. Food Sci., 45, 1042-1045 (1980).
- Shiho Sakamoto, Kyoko Sato, Tamio Maitani and Takashi Yamada, Analysis of components in natural food additive "Grapefruit seed extract" by HPLC and LC/MS. Bull. Natl. Inst. Health Sci., 114, 38-42 (1996).
- Shin, J. S., Development project of functional corrugated cardboard, Packaging World, Sept. 2002, pp69-73.
- Singh, H. B. and Singh, U. P., Inhibition of growth and sclerotium formation in *Rhizocronia solani* by garlic oil. Mycologia, 72, 1022 (1980).
- Sokari, T. G. and Anozie, S. O., Occurrence of enterotoxin producing strains of *Staphylococcus aureus* in meat and related samples from traditional markets in Nigeria. J. Food Prot., 53(12), 1069-1070 (1990).
- Spelhaug, S. R., and Harlander, S. K., Inhibition of food borne bacterial pathogens by bacteriocins from *Lactococcus latis* and *Pediococcus pentosaceus*. J. Food Protect., 52 856 (1989).
- Stephan J. Sokollek, Christian Hertel, and Walter P. Hammes, Cultivation and preservation of vinegar Bacteria. Journal of Biotechnology, 60, 195-206 (1998).
- Tansey, M. R., Inhibition of fungal growth by garlic extract. Mycologia, 67, 409 (1975).
- TAPPI Standard Method T 200 sp-96 Laboratory beating of pulp (Valley beater method).
- TAPPI Standard Method T 205 sp-95 Forming handsheets for physical tests of pulp.
- TAPPI Standard Method T 220 sp-96 Physical testing of pulp handsheets.
- TAPPI Standard Method T 448 om-98 Water vapor transmission rate of paper and paperboard at 20°C and 50% RH.
- Thomson, J. E., Banwart, G. J., Sanders, D. H., and Mercuri, A. J., Effect of chlorine, antibiotics, β -propiolactone, acids, and washing on *Salmonella typhimurium* on eviscerated fryer chickens. Poultry Sci. 46, 146 (1967).
- Tiordan, D. C. R., Sapers G. M., and Annous, B. A., The survival of *Escherichia coli* O157, H7 in the presence of *Penicillium expansum* and

- Glomerella cingulata* in woundss on apple surfaces. *Journal of Food protection*, 63(12), 1637-1642 (2000).
- Todd, E. C. D., Foodborne and waterborne disease in Canada-1984 annual Summary. *J. Food Prot.*, 52(7), 503-511 (1989).
- Tsay, W. I. and Chou, C. C., Influence of potassium sorbate on the growth of *Yersinia enterocolitica*. *Journal of Food protection*, 52(10), 723-726 (1989).
- VanDemark, P. J. and Batzing, B. L., "The Microbes. An Introduction to Their Nature and Importance." Benjamin/Cummings Pub . Co., MenloPark, Calif. (1987).
- Wagner, M. K. and Busta, F. F., Inhibitory effects of various salts and/or ionic strengths on growth from *Clostridium botulinum* 52a spores or vegetative cells. *Journal of Food Protection*, 45(5), 421-428 (1985).
- Wall, M. and Berghage Prolonging the shelf life of fresh green chile peppers through modified atmosphere packaging and low temperature storage. *J. Food Qual.*, 19, 467-477 (1996).
- Wirjantoro, T. I., Lewis, M. J., Grandison, A. S., Williams, G. C. and Del- ves-Broughton, J., The effect nisin on the keeping quality of reduced heat-treated milks. *Journal of Food Protection*, 64(2), 213-219 (2001).
- Woolford, M. K., Microbiological screening of food preservatives, cold sterilants and specific antimicrobial agents as potential silage additives. *J. Sci. Food Agric.*, 26, 229 (1975).
- Zaika, L. L. and Kissinger, J. C., Inhibitory and stimulatory effects of oregano on *Lactobacillus Plantarum* and *Pediococcus Cerevisiae*. *Journal of Food Science*, 46, 1205-1210 (1981).
- Zaika, L. L., Spices and herbs; their antimicrobial activity and it,s determination. *J. Food Safety*, 9, 97 (1988).
- Zaika, L. L., Zell, T. E., Paumbo, S. A. and Smith, J. L., Effect of spices and salt on fermentation of Labanon Bologna-Type sausage. *J. Food Sci.*, 43, 186-189 (1978).
- 강동현, 식품 병원균인 *Escherichia coli* O157,H7의 중요성. *J.Fd hyg. Safety*, 12(4) 367-378 (1997).
- 강성구, 갓(*Brassica juncea*)의 향균물질의 분리 및 향균성. *한국영양식량학회 지*, 24(5), 695-701 (1995).

- 강성구, 김용두, 최옥자. 동백(*Camellia japonica* L.)유박 추출물의 항균활성. 한국식품영양과학회지, 27(2), 232-238 (1998).
- 강성국, 정희중, 무화과 잎의 용매분획 및 항미생물 활성. 한국농화학회지, 38(4), 289-292 (1995).
- 강신주, 이해성, 식용 야채류의 항균작용에 관한 연구. 경북대학사범대학 교육연구집, 19, 129 (1977).
- 강정미, 차인호, 이영근, 류홍수, 어성초 휘발성 정유성분이 동정과 분획물의 향특성 및 항균활성 (II.Prep-HPLC에 의한 분획물의 향특성과 항균활성). 한국식품영양과학회지, 26(2), 214-221 (1997).
- 곽이성, 김미주, 안대진, 이종철, 일부 식품부패성 미생물에 대한 항균활성. 식품안전위생학회지, 15(1), 36-40 (2000).
- 곽이성, 양재원, 이광승, 일부 병원성 미생물에 대해 항균활성 보이는 생약의 탐색. 한국식품위생학회지, 8(3), 141-145 (1993).
- 국주희, 마승진, 박근형, 솔잎에서 항미생물 활성을 갖는 benzoic acid의 분리 및 동정. 한국식품과학회지, 29(2), 204-210 (1997).
- 권종호, 변명우, 조한옥, 최종옥, 시금치 분말의 품질안정성에 대한 살균처리의 영향. 한국식품과학회지, 26(2), 167-171 (1994).
- 김교창, 김홍수, 도대홍, 조제민, *Pseudomonas* sp.에 의한 채소병원균의 생물학적 억제. 한국식품영양과학지, 20(3), 263-270 (1992).
- 김근영, 정동옥, 정희중, 어성초의 화학성분 및 항미생물 활성. 한국식품과학회지, 29(3), 400-406 (1997).
- 김금숙, 성재덕, 박승용, 오세량, 곽용호, 방울비짜루(*Asparagus oligoclonos*)로부터 분리한 스테로이드 사포닌의 항균활성. 한국농화학회지, 43(2), 1336-140 (2000).
- 김명희, 오세옥, 홍상필, 윤석권, 키토산 및 키토산 올리고당의 김치관련 미생물에 대한 항균 특성. 한국식품과학회지, 30(6), 1439-1447 (1998).
- 김미정, 변명우, 장명숙, 대나무(신의대)잎의 생리활성 및 항균성 효과. 한국영양식량학회지, 25(1), 135-142 (1996).
- 김병각, 정희수, 정경수, 양문식, 한국산 담자균류의 항암성분에 관한 연구. 한국균학회지, 8, 107 (1980).
- 김선재, 박근형, 부추의 항미생물성 활성물질. 한국식품과학회지, 28(3), 604-608 (1996).
- 김수일, 하영선, Studies on the noodle making properties and the shelf-life of dried arrowroot. *Journal of Industrial Technology*, 9, 75-85 (1990).
- 김옥미, 김미경, 이승연, 이갑량, 김순동, 향신료 에탄올 추출물이 김치에서 분

- 리한 *Lactobacillus plantarum*과 *Leuconostoc mesenteroides*의 항균성에 미치는 영향. 한국식품영양과학회지, 27(3), 455-460 (1998).
- 김옥미, 김미경, 이승연, 이갑량, 김순동, 향신료 에탄올 추출물이 김치에서 분리한 *Lactobacillus plantarum*과 *Leuconostoc mesenteroides*의 항균성에 미치는 영향. 한국식품영양과학회지, 27(3), 455-460 (1998).
- 김윤근, 조종수, 문창국, 구상나무 리그난류의 항균활성. 한국식품과학회지, 31(1), 260-262 (1999).
- 김현수, 털새동부 추출물의 항균효과 및 특성. 한국식품영양과학회지, 7(5), 993-999 (1999).
- 김홍식, 조광현, 편축 추출물의 항진균 작용에 관한 연구. 한국균학회지, 8, 1 (1980).
- 남상해, 양민석, 산국 추출물의 항균력. 한국농화학회지, 38(3), 269-272 (1995).
- 노현정, 신용서, 이갑상, 신미경, 녹차 물 추출물이 쌀밥의 품질 및 저장성 향상에 미치는 효과, 한국식품과학회지, 28(3), 417-420 (1996).
- 류병호, 박춘옥, 녹차 추출물에 의한 쥐표피의 효소에 대한 항산화 효과 한국식품과학회지, 29(2), 355-361 (1997).
- 류춘선, 김영배. 황한준, 홍콩으로부터 분리한 *Monascus* 균주의 항균효과. 식품안전위생학회지, 10(4), 271-277 (1995).
- 마승진, 고병섭, 박근형, 두릅수피에서 항미생물활성을 갖는 3,4-dihydroxybenzoic acid의 분리. 한국식품과학회지, 27(5), 807-812 (1995).
- 마승진, 국주희, 고병섭, 박근형, 두릅수피에서 항미생물 활성을 갖는 3,4-Dihydroxycinnamic Acid의 분리. 한국식품과학회지, 28(3), 600-603 (1996).
- 마승진, 국주희, 고병섭, 박근형, 두릅에서 항미생물 활성을 갖는 4-hydroxycinnamic acid의 분리 및 동정. 한국농화학회지, 39(4), 265-267 (1996).
- 목종수, 감영목, 김신희, 장동석, 단삼 추출물의 항균특성. 식품안전위생학회지, 10(1), 23-28 (1995).
- 목종수, 박옥연, 김영목, 장동석, 용매와 추출조건에 따른 단삼(*Salvia miltiorrhiza*) 추출 물의 항균력. 한국영양식량학회지, 23(6), 1001-1007 (1994).
- 박노풍, 최언호, 변광의, 백자훈 감귤류의 저장에 관한 연구. 한국식품과학회지, 4, 285-290 (1972).
- 박석규, 박종철, 쪽의 추출물 및 Coumaric Acid의 항균활성. 한국생물공학회

- 지, 9(5), 506-511 (1994).
- 박승우, 우철주, 정신교, 정기택, 환삼덩굴의 용매분획별 항균성 및 항산화성. 한국식품과학회지, 26(4), 464-470 (1994).
- 박승우, 우철주, 정신교, 정기택, 환삼덩굴의 용매분획별 항균성 및 항산화성. 한국식품과학회지, 26(4), 464-470 (1994).
- 박우포, 조성환, 김철환 포장 조건에 따른 방울토마토의 저장 중 품질 특성 변화. 한국식품저장유통학회지, 9, 121-125 (2002).
- 박옥연, 김영목, 김신희, 장동석, 상백피 추출물의 항균력 및 최적추출조건 검토. 식품안전위생학회지, 10(3), 139-145 (1995).
- 박옥연, 장동석, 조학래, 한약재 추출물의 항균효과 검색, 한국영양식량학회지, 21(1), 91-96 (1992).
- 박재림, 김정옥, 강혜윤, 김운영 천화정, 방아(*Agastache rugosa* O. Kuntze)로부터 동정된 estragole과 방아추출물의 항균효과. 식품안전위생학회지, 10(3), 181-187 (1995).
- 박종현, 유진영, 신옥호, 신현경, 이성준, 박관화, 분지 올리고당이 장내 주요 세균의 생육에 미치는 영향. 한국산업미생물학회지, 20(3), 237-242 (1992).
- 박희연, 이창국, 박원기, 이우호, 새뱅이(*Caridina denticulata denticulata*) 추출물의 항균효과. 한국식품영양과학회지, 26(1), 54-59 (1997).
- 山本泰, 東和男, 好井久雄, 酵母 對する 醋酸の生育抑制作用, 日本食品工業學會誌, 31, 772 (1984).
- 상기남, 천연 제올라이트. 광산지질, 9, pp166-167(1976).
- 서권일, 김홍출, 심기환, 용매의 분획에 따른 겨자 물추출물의 항균성. 농산물저장유통학회지, 4(3), 295-300 (1997).
- 송중호, 권혁동, 이원구, 박인호, 청미래덩굴 뿌리에서 추출한 순차분획물의 항균활성과 성분분석. 한국식품영양과학회지, 27(4), 574-584 (1998).
- 신동화, 김문숙, 한지숙, 국내산 약용식물 추출물에 대한 항균성 검색과 농도별 및 분획별 항균특성. 한국식품과학회지, 29(4), 808-816 (1997).
- 신동화, 천연 항균성 물질의 연구현황과 식품가공에의 이용. 식품과학과 산업, 23(4), 68-77 (1990).
- 신동화, 한지숙, 김문숙, 방기 및 감초의 에탄올 추출물이 *Listeria monocytogenes*의 증식 억제에 미치는 영향. 한국식품과학회지, 26(5), 627-632 (1994).
- 신옥호, 유시승, 이완규, 신현경, 방기(*Sinomenium acutum*)의 물추출물이 주요 장내 미생물의 생육에 미치는 영향. 한국산업미생물학회지, 20(5), 491-497 (1992).

- 신현경, 신옥호, 구영조, 감자 단백질이 *Clostridium perfringens* 및 주요 장내 미생물의 생육에 미치는 영향. 한국식품영양과학지, 20(3), 249-256 (1992).
- 안병용, 썩으로부터 추출한 정유의 항균효과. 한국식품위생학회지, 7(4), 157-160 (1992)
- 안은숙, 김문숙, 신동화, 식용 식물로부터 얻은 추출물의 두부, 어묵, 막걸리 변질균에 대한 항균성 검색. 한국식품과학회지, 26(6), 733-739 (1994).
- 안은숙, 김문숙, 신동화, 식용 식물로부터 얻은 추출물의 두부, 어묵, 막걸리 변질균에 대한 항균성 검색. 한국식품과학회지, 26(6), 733-739 (1994).
- 양민석, 하영래, 남상해, 최상욱, 장대식, 국내 자생식물의 항균활성. 한국농화학회지, 38(6), 584-589 (1995).
- 양민석, 하영래, 남상해, 최상욱, 장대식, 국내 자생식물의 항균활성. 한국농화학회지, 38(6), 584-589 (1995).
- 양민석, 하영래, 남상해, 최상욱, 장대식, 국내 자생식물의 항균활성. 한국농화학회지, 38(6), 584-589 (1995).
- 여생규, 안철우, 김인수, 박영범, 박영호, 김선봉, 녹차, 오롱차 및 홍차 추출물의 항균효과. 한국영양식량학회지, 24(2), 293-298 (1995).
- 여생규, 안철우, 김인수, 박영범, 박영호, 김선봉, 녹차, 오롱차 및 홍차 추출물의 항균효과. J. Korean Soc., Food Nutr. 24(2), 293-298 (1995).
- 오덕환, 이미경, 박부길, 식품유해균에 대한 차류 추출물의 항균효과. 한국식품영양과학회지, 28(1), 100-106 (1999),
- 오덕환, 함승시, 박부길, 안 철, 유진영, 식품부패 및 병원성미생물에 대한 천연 약용식물 추출물에 항균효과. 한국식품과학회지, 30(4), 957-963 (1998).
- 윤창훈 제주산 온주밀감의 CA저장에 관한 연구. 한국농화학회지, 34, 14-20 (1991).
- 이기동, 김정숙, 배재오, 윤형식, 썩(산썩)의 물 추출물과 에테르 추출물의 항산화 효과. 한국영양식량학회지, 21(1), 17-22 (1992).
- 이병완, 신동화, 식품 부패미생물에 대한 천연 항균성물질의 농도별 및 분획별 항균 특성. 한국식품과학회지, 23(2), 205-211(1991).
- 이상덕, 양재승, 정재홍, 성창근, 오만진, 된장추출물의 항균활성. 한국식품영양과학지, 28(6), 1230-1238 (1999).
- 이성기, Lysozyme 및 Glycine의 첨가가 막걸리의 품질에 미치는 영향. 한국식품개발연구원, 식품기술, 3(2), 35-40 (1990).
- 이숙경, 대나무 기름의 항균효과. 식품안전위생학회지, 15(1), 55-59 (2000).
- 이신호, 임용숙, 오미자추출물의 *Listeria monocytogenes*에 대한 항균효과.

- 한국산업미생물학회지, 25(5), 442-447 (1997).
- 이신호, 임용숙. 오미자(*Schizandra chinensis*)의 병원성 미생물에 대한 항균 효과. 한국식품영양과학회지, 27(2), 239-243 (1998).
- 이인란, 박홍, 황금탕의 항균작용. 생약학회지, 18, 249 (1987).
- 이정준, 김성훈, 장병식, 이중복, 허철성, 김태중, 백영진, 약용식물 추출물의 *Helicobacter pylori*에 대한 항균활성. 한국식품과학회지, 31(3), 764-770 (1999).
- 이정희, 이서래, 식물성 식품중 페놀성 물질의 몇가지 생리활성. 한국식품과학회지, 26(3), 317-323 (1994).
- 이종욱, 신두호, 윤인화, 한판주 한국산 감귤류의 가공특성에 관한 연구. 한국농화학회지, 22, 28-32 (1979).
- 이향희, 강성국, 임종환, 고구마의 품종별 항산화성과 향미생물 특성. 한국식품과학회지, 31(4), 1090-1095 (1999).
- 임상빈, 김수현, 고영환, 오창경, 오명철, 고용구, 박제석, 초임계이산화탄소에 의한 톱과 알로에 추출물의 수율 및 항균활성. 한국식품과학회지, 27(1), 69-73 (1995).
- 임태현, 이정옥, 정태현, 차병진, 복숭아 미아라과로부터 분리한 방선균의 항균활성 및 동정. 한국산업미생물학회지, 28(3), 161-166 (2000).
- 장대식, 박기훈, 이종록, 하태정, 박윤배, 남상해, 양민석, 지칭개, 구조철 및 산국에서 분리한 Sesquiterpene lactones의 항균활성. 한국농화학회지, 42(2), 176-179 (1999).
- 장대식, 박기훈, 이종록, 하태정, 박윤배, 남상해, 양민석, 지칭개, 구조철 및 산국에서 분리한 uiterpene lactones의 항균활성. 한국농화학회지, 24(2), 176-179 (1999).
- 장대식, 박기훈, 최상욱, 남상해, 양민석, 구조철 꽃의 항균성 물질. 한국농화학회지, 40(1), 85-88 (1997).
- 전태욱, 김진호, 박기문, 참치백자로부터 추출한 Protamine의 특성 및 항균활성. 한국식품과학회지, 31(2), 540-546 (1999).
- 정순경. 이숙지, 정윤정, 박우포, 이동선, 조성환, 시설채소산물의 선도유지를 위한 국산약육식물추출물의 항균특성. Kor. J. Posthavest Sci. Technol, 5(1), 13-21 (1998).
- 정창기, 박완규, 유익제, 박기문, 최춘언, 카레 향신료 정유성분의 항균성. 한국식품과학회지, 22(6), 716-719 (1990).
- 정해정, 고추씨 기름에 대한 다류 에탄올 추출물의 항산화 효과. 한국식품영양과학지, 28(6), 1316-1320 (1999).
- 조병헌, Trithioformaldehyde, Benzakaniline 및 초피나무 추출물의 항진균

- 작용. 카톨릭 대학 의학부 논문집, 10, 65-76 (1966).
- 조성환, 이상열, 김재원, 고경혁, 서일원, Grapefruit 종자추출물의 항균력 검색. J. Food Hyg. safety, 10(1), 33-39(1995).
- 조성환, 정진환, 류충호 천연 항균제처리를 병용한 과채류의 자연 저온저장기술 개발에 관한 연구. 한국영양식량학회지, 23, 315-321 (1994).
- 조순영, 유병진, 장미화, 이수정, 성낙주, 이응호, 수산 미이용자원 중에 존재하는 항균성 물질의 검색. 한국식품과학회지, 26(3), 261-265 (1994).
- 조순영, 유병진, 방미화, 이수정, 성낙주, 이응호, 수산 미이용자원 중에 존재하는 항균성 물질의 검색. 한국식품과학회지, 26(3), 261-265 (1994).
- 조영수, 식중독 유발균에 대한 홍삼성분의 항균 및 살균 작용에 관한연구. 한국인삼연구연구원 연구 최종보고서 (1996).
- 주현규, 김덕용, 성하진, 조원대, 최신 식품 저장학, 수학사 (1981).
- 차재영, 김현정, 정정환, 조영수, 꾸지뽕나무(*Cudrania tricuspidata*)의 폴리페놀 화합물 함량과 항산화 활성, 한국식품영양과학지. 28(6), 1310-1315 (1999).
- 최무영, 최은정, 이 은, 임태진, 차배천, 박희준, 솔잎 추출물의 항균성 검색. 한국산업미생물학회지, 25(3), 293-297 (1997).
- 최옥범, 유경수, 박근형, 밤잎차 물추출물의 항산화 및 항미생물효과. 한국식품과학회지, 31(4), 1128-1131 (1999).
- 한국식품연감 농수축산신문 pp. 121-127 (2001).
- 한복진, 이상규, 신현경, 목통(*Akebia quinata* Decaisne)의 물추출물이 *Clostridium perfringens* 및 주요 장내미생물의 생육에 미치는 영향. 한국산업미생물학회지, 23(6), 633-640 (1995).
- 한지숙, 신동화, 윤세억, 김문숙, *Listeria monocytogenes*의 증식을 억제하는 식용 가능한 식물 추출물의 검색. 한국식품과학회지, 26(5), 545-551 (1994).
- 현진원, 최응철, 김병각, 한국산 고등균류의 성분 연구(제67보), 영지버섯 자실체의 항암성분, 한국균학회지, 18, 58 (1990).