

친환경 꽃감 제조를 위한 천연물질의 개발

허상선*

중부대학교

적 요

○ 국내 전통식품의 하나인 꽃감 산업의 지속적인 성장을 위해서는 중국산 꽃감과 차별화를 위한 새로운 가공기술이 확립되어야 하며 이는 최근에 문제시 되고 있는 친환경적인 꽃감의 건조 기술을 확립함이 그 첫 해결책이라 할 수 있다.

○ 본 실험에서는 국내 꽃감 건조 기술의 새로운 역사를 개척할 수 있는 친환경적인 꽃감 건조기술을 확립하여 국민 소득 증가와 먹거리에 대한 안정성 확보에 대한 소비자 요구를 충족하고 국내 시장은 물론 수출 시장에서도 유망식품으로 성장할 수 있는 기반을 이루고자 한다.

○ 이를 위해 우선 꽃감으로부터 꽃감 오염균 15종을 분리함과 아울러 꽃감 주요 오염균을 조사하였다. 그 결과 분리된 꽃감 오염균은 곰팡이류 3종, 효모 2종, 세균류 10종이었으며, 이중 꽃감 품질저하에 가장 큰 영향을 미치는 것으로 추정되는 오염균으로 푸른곰팡이의 일종인 *Penicillium* sp.인 것으로 분석되었다.

○ 따라서, 본 연구에서는 천연 식물 자원 80여종으로부터 이들 꽃감 오염균에 활성이 우수한 천연 생약 추출물이 무엇인지 선별하였으며, 선별된 천연 추출물은 정향, 계피, 감초 및 감잎 등 약 4종이었다.

* 연구자는 친환경적 꽃감 건조기술의 확립을 위한 연구를 통해 항균활성이 우수한 생약추출물을 선별함으로써, 국내 대부분의 꽃감생산농가가 사용하지만 유해성 논란이 있는 유향 훈증법을 대체할 친환경 훈연제 개발 가능성을 도출했다.

○ 한편 기 분리된 15종의 균주에 대한 형태적 특성을 분석하였고 16S rDNA 염기배열 분리법에 의해 이들 꽃감 오염균의 동정을 한 결과 곰팡이류는 *Penicillium* sp., *Cladosporium* sp. 및 *Aspergillus* sp.이었고 효모류는 *Citeromyces matritensis*, *Metschnikowia* sp.이었다. 한편 세균류의 경우는 *Acinetobacter* sp. 및 *Microbacterium* sp.로 동정되었다.

○ 이중 꽃감에 치명적인 오염을 초래하는 균은 곰팡이류 중 *Penicillium* sp.로 규명되었으며, 선별된 4종의 천연 추출물을 포함한 80여종의 천연 추출물에 대해 동정된 균주인 7개 균주에 대한 항균활성 실험을 하였다. 특히 *Penicillium* sp.대한 항진균력 실험을 중점적으로 실시하였다.

○ 이러한 실험을 통해 꽃감 오염을 초래하는 7개 균주에 대해 가장 활성이 우수한 천연 식물 추출물은 감잎, 정향, 계피 및 감초의 순으로 밝혀졌고, 시판 합성 항진균제와의 활성 정도를 비교한 결과 정향추출물(50% 에탄올 추출)을 30 μ L loading하였을 때 대조구로 사용된 Nystatin(1.5 μ g/mL)과 Mycoazole(10 μ g/mL)의 stock solution을 각각 50 μ L loading하였을 때와 유사한 높은 항진균활성이 나타났다.

○ 본 실험에서는 꽃감 건조에 사용될 천연 약용식물로 감잎, 정향, 계피 및 감초를 최종적인 선별자원으로 확정하였으며, 꽃감 건조에 활용된 천연 활성제를 제조하고 이를 직접 필드에 적용하기 위해 우선 선별자원과 자몽추출물 총 5종의 추출물에 대한 배합비를 설정하였다. 그 결과 우수한 활성을 가지는 천연 복합 활성제의 최종적인 혼합비는 감잎 18.18%, 정향 9.90%, 계피 9.09%, 감초 4.55%, 자몽종자출물 4.55% 및 일반 식초 54.54%임을 확인하였다.

○ 이에 본 실험에서는 충북 영동군 영동읍, 충북 영동군 상촌면 궁촌리, 충북 영동군 황간면 남성리 및 충남 금산군 추부면 대학로 101번지 등 4개 지역을 선정하여 필드시험을 시행하였다.

○ 필드 시험의 정확성을 기하기 위해 꽃감 건조시스템을 직접 제작하여 4개 지역별로 각각 대조구 및 시험구로 하여 각 지역별로 600개의 탈피 감을 건조 시스템에 설치한 후 2010년 11월 5일부터 2011년 1월 7일까지 시험을 실시하였다.

○ 본 연구에서 도출된 유효훈증 대체제인 천연살포액은 총 5회에 걸쳐 살포하였으며, 꽃감의 건조 기간 중 지역별로 시험구와 대조구에 대한 꽃감의 물리·화학적 특성을 분석하였다.

○ 그 결과 대조구 및 시험구에 있어 무게 변화, 수분함량 변화, 고형성분의 변화, pH 변화 및 조직감 특성 등 5항목에 대한 꽃감의 각 품질 특성 분석을 실시한 결과 큰 변화가 없는 것으로 나타났다.

○ 하지만, 색도변화에 있어 시험구의 경우 대조구에 비해 건조 3일차까지는 명도가 다소 낮은 값을 보였는데 이는 본 연구에서 선발된 천연 생약 추출물인 정향, 감초 등의 특유한 색깔이 꽃감에 흡착됨으로써 발생된 것으로 판단되었다.

○ 한편, 미생물 수의 경우 각 4개 지역 별로 세균수는 시험구가 대조구에 비해 다소 낮게 나타났으나 꽃감 주 오염균인 곰팡이의 경우 중부대 캠퍼스내 온실에서 건조한 꽃감의 경우 대조구는 시험구에 비해 월등히 곰팡이 수가 많은 것으로 조사되었다.

○ 이는 타 지역에 비해 중부대학내 온실의 경우 습도가 비교적 높아 대조구의 경우 건조 2주차부터 육안으로 곰팡이를 파악할 수 있을 만큼 곰팡이가 증식하였다. 이에 비해 영동군 시험구는 저장 3주까지는 곰팡이가 증식하지 못하였고 건조 5주부터 일부분의 꽃감에 곰팡이가 증식한 것으로 나타났는데 이는 대조구로부터 오염이 된 것으로 밝혀졌다.

○ 따라서, 이러한 일련의 포장실험을 통해 본 연구에서 도출하고자 하는 환경친화형 꽃감 제조를 위한 천연 훈연제를 개발할 수 있을 것으로 기대되었다.

I. 연구목적

○ 세계 감 재배 면적은(자료 : FAO) 2005년 현재 729천ha로 중국이 세계 재배면적의 91%를 차지하고 있으며 우리나라가 세계 2위의 감 재배국으로 자리 매김하고 있다. 2007년 현재 국내 감 재배 면적은 12,530ha, 생산량은 146,233M/T이며, 꽃감의 생산량은 2008년 현재 10,469톤으로 최종 소비자들을 대상으로 한 시장규모는 2,531억원 정도로 추정되고 있다(자료 : 농산물품질관리원).

○ 이러한 꽃감 생산 증가와 시장 규모의 확대는 국내 지역 농가 및 관련 산업 발전을 꾀할 수 있는 원동력 뿐아니라 농가수익의 주요한 수입원으로 대두되고 있다. 하지만 현재 중국 꽃감의 수입물량은 2004년에는 5,753톤, 2005년에는 3,392톤의 꽃감이 수입돼 1997년 대비 5.3배로 급증하였고 유통가격도 kg당 3,500원으로 국내

산 꽃감의 30% 수준에 불과한 실정이다. 이러한 무분별한 중국 농산물 및 가공품의 지속적인 국내 유입은 국내 꽃감산업의 기반을 흔드는 위협 요소로 작용하고 있는 실정이다

○ 꽃감은 대부분 천일건조로 제조되고 있는데 건조기간 중이나 건조 후에도 이물질 혼입, 변색, 곰팡이 증식 등에 의한 품질저하나 저장 및 유통 중 미생물에 의한 오염, 조직의 경화 및 변색 등으로 품질이 급속히 떨어지게 된다. 이러한 꽃감의 품질열화를 방지하고 저장성을 증진시키기 위한 목적으로 꽃감을 생산함에 있어 감을 박피 후 유향 훈증처리 하고 있는 실정이다.

○ 그러나 꽃감 제조에 있어 유향의 훈증처리는 유향이 타면서 나오는 이산화황(아황산무수물, SO₂)이 인체에 악영향을 미치고 있는 것으로 알려지고 있으며, 특히 천식환자 등에게 치명적인 해를 줄 수 있는 것으로 밝혀져 국내의 경우 유향의 사용을 식품첨가물 법규에 의해 제한된 실정이다. 하지만 국내 꽃감생산에 있어 대부분의 농가는 유향 훈증을 통해 꽃감을 생산하고 있어 유향훈증에 따른 유해성 논란이 끊임없이 야기되고 있다.

○ 따라서 국내 꽃감산업의 지속적인 성장과 아울러 국내 농가수입원의 증대를 위해서는 국내산 꽃감의 품질향상을 통하여 국내산의 상품성 제고와 동시에 품질이 낮은 중국산의 시장 유통량 및 가공식품 원료 투입량을 최소화하는 것이 중요하다.

○ 이를 위해서 조속히 해결해야 할 기술적 부분은 바로 중국산 꽃감과 차별화를 위한 새로운 가공기술의 하나인 유향 훈증 기술을 탈피한 친환경적인 꽃감의 건조기술이다. 이러한 기술의 개발은 꽃감의 수입 감소 및 수출 증대를 통한 무역수지 개선효과도 부수적으로 거둘 수 있는 방안이 될 수 있다.

○ 이에 본 연구에서는 꽃감산업이 전통 식품산업의 일부분으로서 지속적으로 발전시키고 국민 소득 증가와 먹거리에 대한 안전성 확보에 대한 소비자 요구 충족을 위해 꽃감 생산에 있어 훈증 대체 기술 개발을 통해 국내 시장은 물론 수출시장에서도 유망식품으로 성장할 수 있는 기반을 이루고자 한다.

II. 연구방법과 내용

1. 실험재료

○ 실험에 사용된 천연 약용식물은 금산 약용센터 및 서울 경동한약시장에서 구입하여 실험에 이용하였다. 이들 수집된 시료의 학명 및 과명은 표 1에 나타난 바와 같다. 수집된 약용식물은 50℃에서 2일간 건조기에서 건조시킨 후 마쇄하여 분말로 만들고 나서 각각의 분말시료 20g씩을 취하여 500ml Erlenmeyer flask에 넣고 에탄올과 물을 혼합한 용액에 잘 흔든 후에 실온 암실 하에 방치 하였다. 5일 후 감압 여과하고 회전진공농축기(N-1001S-WD)로 40℃에서 감압 농축하여 에탄올 조추출물을 얻어 생물검정 시료로 이용하였다(그림1).

○ 꽃감으로부터 균 분리에 사용한 배지는 PDA, NB, YPD, YM, MRS, Czapeck agar, LB배지이며, 꽃감오염 분리균의 생육 및 보존 배지는 곰팡이의 경우 PDA를 사용하였으며, 세균은 LB배지, 효모는 YM배지를 사용하였다. 균 배양은 28℃에서 약 2~7일 배양 하였다. 이때 사용된 각 배지의 특성은 표 2와 같다.

○ 꽃감으로부터 균 분리를 위해 사용된 꽃감은 충북 영동지역에서 생산된 꽃감을 2010년 7월에 구매하여 정상꽃감으로 사용하였다. 오염꽃감의 경우 인위적으로 실험실에서 오염시켜 사용하였다.

○ 필드 실험을 통한 선발자원의 항진균 활성 검증을 위해 2010년 11월에 수확한 충북영동지역의 감을 약 3,000개 구입하여 사용하였다.

2. 실험방법

가. 추출물의 제조 및 수율 측정

80종의 약용식물들의 추출 및 수율 측정은 다음과 같이 실시하였다. 각각의 약용식물 분말시료에 물과 99% 에탄올의 비율을 1: 1의 비율로 조제 한 후 용매와 시료의 비율을 4:1의 비율로 첨가하여 30℃에서 200rpm으로 12시간 동안 진탕하면서 추출하였다. 이 추출액을 16,000×g로 10분간 원심 분리하여 상등액을 취한 후 이를 Whatman No.2로 여과한 후 추출 시료로 하였다. 각 추출물들의 수율은 동결건조 시

켜서 건물 중량을 구한 다음 추출액 조제에 사용한 원료 건물량에 대한 백분율로 계산하였다.

나. 오염 곳감으로부터의 균 분리

○ 오염 곳감으로부터 균을 분리하기 위해 믹서기(HR-2094)로 분쇄한 곳감을 0.85% NaCl를 이용하여 단계 희석하였다. 즉 각각의 배지에 희석액 0.1 ml를 도달한 후 25°C incubator(DS-BIP250)에서 3일간 배양하였다. 이때 균분리용 배지로는 LB, MRS, NB, YM, YPD, Czapek-Dox 및 PDA를 사용하였다. 한편, 배양 후 각 배지에 나타난 콜로니의 모양, 크기, 색택, 광택 등 형태적 특징을 관찰 확인하였으며, 다른 균주로 예상되는 각각의 균주들은 tooth-picking하였다. 균 분리를 위해 곳감 원료로부터 세균의 생육을 억제하면서 효율적인 곰팡이를 스크리닝하기 위해 항생제 첨가 배지와 무첨가 배지로 나누어 실험을 하였으며, 이때 사용된 항생제는 streptomycin sulfate salt(Sigma, S6501)이었으며 배지 1ml당 50 μ g이 되도록 첨가하였다.

다. 전자 현미경을 이용한 형태 관찰

○ 분리균주를 YEME 배지에 도달하여 28°C에서 14일간 배양한 후 8% glutaraldehyde 용액으로 1일 고정시키고 포자 형성이 잘된 부분을 채취하여 P₂O₅가 들어 있는 밀폐용기에 넣어 -20°C에서 3일간 건조하고 알곤가스 chamber 속에서 gold coating한 다음 주사 전자현미경으로 포자사슬을 관찰하였다.

라. 곳감 주요 오염균의 동정

○ 오염된 곳감으로 분리된 균주들 중 곳감 오염의 주된 균주의 동정을 위해 다음과 같은 방법을 사용하였다.

(1) 16S rDNA 염기배열 분리

Genomic DNA는 Pitcher 등의 방법에 따라 추출했으며 YEME 배지에서 배양한 균체에 100 μ l의 TE buffer (pH 8.0)와 lysozyme(50mg/ml Sigma, Ltd.)를 처리한 다음 37°C에서 overnight시켰다. 원심분리 후 상층액만 분리한 다음 chloroform-isoamyl alcohol(25:1, v/v)로 추출하여 chromosomal DNA는 isopropanol로 침전시킨 후 70%ethanol(v/v)로 세척한 다음 진공 건조시켰다. 이 DNA시료를 90 μ l의 TE buffer(pH

8.0)와 10 μ l의 Rnase A(10mg/ml Sigma) 를 첨가한 후 37 $^{\circ}$ C에서 2시간동안 반응시킨 다음 phenol/chloroform을 처리하여 추출한 뒤 0.8 Mlithium chloride가 포함된 ethanol을 3배의 부피로 첨가하여 침전시킨 다음 70% ethanol로 세척하고 건조시킨 다음 16S ribosomal DNA sequencing에 사용하였다.

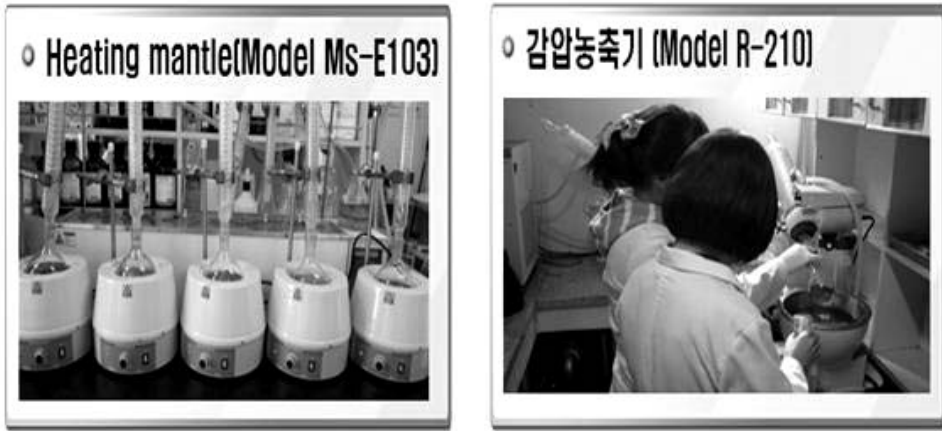


사진 1. 추출 및 농축실험

(2) 16S ribosomal DNA 염기서열 결정(sequencing)

분리균주의 16S ribosomal DNA 염기서열 결정은 다음과 같은 방법으로 수행하였다. 본 실험균주의 chromosomal DNA를 분리한 다음 16S rRNA sequencing에 사용하는 universal한 primer인 27F(5' -AGAGTTTGATCATGGCTCAG-3')와 1492R(5' -GGATACCTTGTTACGACTT-3') primer를 사용하여 94 $^{\circ}$ C에서 1분간 denaturation, 60 $^{\circ}$ C에서 1분간 annealing, 72 $^{\circ}$ C에서 1분 30초 동안 polymerization시키는 조건에서 PCR로 증폭하였다. 증폭된 PCR 결과물을 0.8% agarose gel electrophoresis를 수행한 후 약1400 bp의 16S ribosomal DNA를 분리 정제하여 ABI PRISM 3700 DNA Analyzer를 이용하여 염기 서열을 분석하였다. 그 결과는 BLASTN 프로그램을 이용하여 GENE BANK 와 RDP(RNA database project)의 ribosomal RNA sequencing과 비교하여 동정하였다.

표 1. 본 실험에 사용된 천연 약용식물





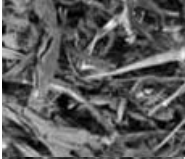



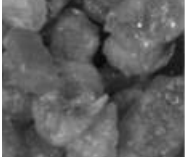
번호	이름	학 명	사용부위	비고(사진)
1	곽향	<i>Agastache rugosa</i> (Fischer et Meyer) O. Kuntze	전초	
2	질경이	<i>Plantago asiatica</i> L.	전초	
3	도꼬마리	<i>Xanthium strumarium</i> Linne	열매	
4	녹차잎	<i>Camellia sinensis</i> L.	잎	
5	민들레	<i>Taraxacum platycarpum</i> Dahlst.	전초	
6	한련초	<i>Eclipta prostrata</i> L.	전초	
7	어성초	<i>Houttuynia cordata</i> Thunb.	전초	
8	홍화	<i>Carthamus tinctorius</i> L.	꽃	
9	용안육	<i>Dimocarpus longan</i> Lour	열매	

표 1. 계속

번호	이름	학 명	사용부위	비고(사진)
10	삼백초	<i>Saururus chinensis</i> BAILL.	잎	
11	함초	<i>Salicornia herbacea</i> (L.) L.	가지	
12	하수오	<i>Polygonum multiflorum</i> Thunberg	뿌리	
13	야관문	<i>Lespedeza cuneata</i> G. Don	전초	
14	물프레나무	<i>Fraxinus rhynchophylla</i> Hance	껍질	
15	산청목	<i>Acer tegmentosum</i> Maximowocz	나무	
16	인진쑥	<i>Artemisia capillaris</i> Thunberg	전초	
17	박하	<i>Mentha arvensis</i> Linne var. <i>piperascens</i> Malinvaud	전초	
18	익모초	<i>Leonurus japonicus</i> Houtt.	전초	

표 1. 계속

번호	이름	학 명	사용부위	비고(사진)
19	뽕잎	<i>Fatoua villosa</i> (Thunberg) Nakai	잎	
20	뽕나무	<i>Morus alba</i> L.	가지	
21	생강나무	<i>Lindera obtusiloba</i> Blume	나무	
22	복분자	<i>Rubus coreanus</i> Miquel	열매	
23	겨우살이	<i>Viscum album</i> var. <i>coloratum</i>	가지, 잎	
24	구기자	<i>Lycium chinense</i> MILL	열매	
25	고삼	<i>Sophora flavescens</i> Aiton, <i>Sophorae flavescens</i> Leguminosae	뿌리	
26	구절초	<i>Chrysanthemum zawadskii</i> Herb. var. <i>latilobum</i> (Maxim.) Kitamura	전초	
27	갈근	<i>Pueraria lobata</i> (Willd.) Ohwi <i>Pueraria thunbergii</i> (Siebold & Zucc.) Benth.	뿌리	

표 1. 계속

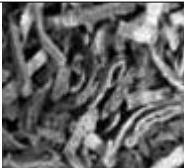
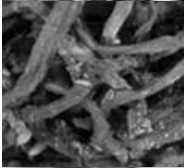







번호	이름	학 명	사용부위	비고(사진)
28	진피	Citrus unshiu Markovich	껍질	
29	등글레 (자연산)	Polygonatum odoratum(MILLER) var. pluriflorum Ohwi	뿌리	
30	등글레 (자연산)	Polygonatum odoratum(MILLER) var. pluriflorum Ohwi	뿌리	
31	두충	Eucommia ulmoides Oliv.	수피	
32	금은화	Lonicera japonica Thunberg	꽃, 잎	
33	유근피	Ulmus pumila L.	수피	
34	계내금	Gallus domesticus BRISSON	내막	
35	강활	Angelica Koreanum (Max.) Kitagawa. Angelica Koreana.	뿌리	
36	건강	Zingiber officinale Roscoe	뿌리	

표 1. 계속

번호	이름	학 명	사용부위	비고(사진)
37	도라지	<i>Platycodon grandiflorum</i> (Jacq) Nakai	뿌리	
38	조릿대 (경북영천)	<i>Sasa borealis</i> (Hack.) Makino	줄기, 잎	
39	죽엽 (산죽엽)	<i>Sasa borealis</i> (Hack.) Makino	줄기, 잎	
40	구지뽕나무	chinese osage orange	가지	
41	마가목	<i>Sorbus commixta</i> Hedlund.	껍질	
42	계피	<i>Cinnamomum aromaticum</i> Nees	수피	
43	감초	<i>Glycyrrhiza uralensis</i> Fisch	뿌리	
44	찔레	<i>Rosa multiflora</i> Thunberg	뿌리	
45	형개	<i>Schizonepeta tenuifolia</i> var. <i>japonica</i> (Maxim.) Kitag.	줄기, 잎	

표 1. 계속










번호	이름	학 명	사용부위	비고(사진)
46	토사자	<i>Cuscuta chinensis</i> Lam.	씨앗	
47	헛개나무	<i>Hovenia dulcis</i> Thunberg	나무	
48	천궁	<i>Cnidium officinale</i> Makino	뿌리	
49	속단	<i>Phlomis umbrosa</i> Turcz.	줄기	
50	작약 (경북의성)	<i>Paeonia lactiflora</i> Pall.	뿌리	
51	적작약 (경북의성)	<i>Paeonia obovata</i> Maxim.	뿌리	
52	백작약	<i>Paeonia lactiflora</i> Pall.	뿌리	
53	울무	<i>Coix lacryma-jobi</i> L. var. <i>mayuen</i> Stapf	씨앗	
54	치자	<i>Gardenia jasminoides</i> Ellis	열매	

표 1. 계속

번호	이름	학명	사용부위	비고(사진)
55	토복령	<i>Smilax china</i> L.	뿌리	
56	우슬	<i>Achyranthes japonica</i> Nakai	뿌리	
57	측백엽	<i>Thuja orientalis</i> L, <i>Biota orientalis</i> (L.) Endl.	잎	
58	황기	<i>Astragalus membranaceus</i> Bunge	뿌리	
59	오갈피	<i>Acanthopanax sessiliflorum</i> Seeman	가지	
60	소리쟁이	<i>Rumex crispus</i> L.	뿌리	
61	지유	<i>sanguisorba officinalis</i> L.	뿌리	
62	산사	<i>Crataegus pinnatifida</i> Bunge	열매	
63	모과	<i>Chaenomeles sinensis</i> Koehne	열매	

표 1. 계속

번호	이름	학 명	사용부위	비고(사진)
64	천화분	<i>Trichosanthes kirilowii</i> Maxim, <i>Trichosanthes japonica</i> Regel	뿌리	
65	인동	<i>Lonicera japonica</i> Thunberg	줄기, 잎	
66	뽕나무	<i>Morus alba</i> L.	뿌리	
67	솔잎 (경북청송)	<i>Pinus densiflora</i> Siebold & Zucc.	잎	
68	솔잎 (충남금산)	<i>Pinus densiflora</i> Siebold & Zucc.	잎	
69	연자육	<i>Nelumbo nucifera</i> Gaertn.	열매	
70	달맞이꽃	<i>Oenothera biennis</i> L.	씨앗	
71	엄나무	<i>Kalopanax pictum</i> var. <i>chinense</i>	나무	
72	독활	<i>Aralia cordata</i> var. <i>continentalis</i> (Kitag.) Y.C.Chu	뿌리	

표 1. 계속


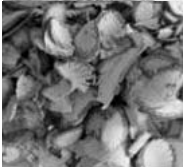
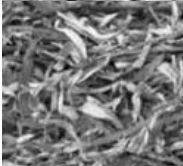





번호	이름	학명	사용부위	비고(사진)
73	사상자	<i>Torilis japonica</i> (Houtt.) DC.	열매	
74	목통	<i>Akebia quinata</i> Dence.	줄기	
75	약쑥	<i>Artemisia princeps</i> Pomp. Hara	전초	
76	천수국	<i>Tagetes erecta</i>	열매	
77	대황	<i>Rheum palmatum</i> Linne	뿌리, 줄기	
78	아위	<i>Ferula assafoetida</i> Linn	뿌리	
79	황정	<i>Polygonatum sibiricum</i> Redt.	뿌리	
80	정향	<i>Actinidia polygama</i> (Sieb. et Zucc) Maxim.	뿌리	

표 2. 본 연구에 사용된 배지의 특성

배지 종류	배지 성분	무게
Czapeck agar	Saccharose	30.0g
	Dipotassium phosphate	1.0g
	KCl	0.5g
	Sodium nitrate	2.0g
	Monopotassium phosphate	0.5g
	Ferrous Sulfate	0.01g
	Agar	15.0g
MRS Broth agar	Proteose Peptone NO.3	10.0g
	Beef Extract	10.0g
	Yeast Extract	5.0g
	Dextrose	200.0g
	Polysorbate 80	1.0g
	Ammonium Citrate	2.0g
	Sodium Acetate	5.0g
	Magnesium Sulfate	0.1g
	Manganese Sulfate	0.05g
Dipotassium Phosphate	15.0g	
Nutrient Broth agar	Agar	
	Beef Extract	3.0g
	Peptone	5.0g
YPD	Agar	15.0g
	Yeast Extract	10.0g
	Dextrose	20.0g
	Bacto Peptone	20.0g
PDA(Potato dextrose broth)	Agar	15.0g
	Potato starch	4.0g
	Dextrose	20.0g
LB (Luria bertani) agar	Agar	15.0g
	Sodium chloride	10.0g
	Yeast Extract	5.0g
	Tryptone	10.0g
YM(Yeast Malt) agar	Agar	15.0g
	Peptone	5.0g
	Malt Extract	3.0g
	Yeast Extract	3.0g

마. 추출물별 항균성 검정

○ 천연 약용식물로부터 추출된 각 추출물의 항균성 검사는 paper disc방법으로 하였다. 1차 스크리닝과정에서는 시험용 평판배지는 한천배지를 멸균 후 직경 9cm인 petri dish에 25ml씩 분주하여 clean bench에서 고화한 plate 위에 각 균주의 배양액 100 μ l를 도말하였다. 각 추출물을 멸균된 disc(직경 8mm, Toyo Seisakusho Co., Tokyo, Japan)에 흡수, 건조시켜 균주가 도말된 plate 표면에 올려놓은 후 37 $^{\circ}$ C의 인큐베이터에서 24시간 배양하여 disc 주위에 생성된 clear zone의 직경(mm)으로 항균활성을 측정하였다.

2차 스크리닝과정에서 곰팡이의 포자 현탁액제조는 감자 한천배지 고체 평판배지상에서 배양(28 $^{\circ}$ C, 7일)하여 성숙된 포자를 형성한 후 0.85% 생리식염수 15ml를 첨가하여 유리구슬(6mm)을 15개/plate 첨가하여 부드럽게 포자현탁액을 회수하여 항진균 활성 측정에 종균으로 사용하였다.

곰팡이에 대한 항진균 활성은 푸른곰팡이를 도말하여 배양한 plate에서 균주를 취하여 농도가 약 $10^6 \sim 10^7$ cfu/ml로 희석된 균주 현탁액 10ml를 감자 한천배지(Difco) 250ml 잘 혼합한 후 Square petri dish에 넣어 중층배지를 제조한 뒤 멸균된 paper disk(8mm, D1212603, ADVANTEC)에 각각의 천연물을 loading하여 항진균력을 측정하였다.

○ 꽃감 오염균에 활성이 높은 각 추출물에 대한 생리활성물질의 분리는 선별된 각 추출물의 CHCl_3 분획물(30g)을 실리카겔을 이용하여 open column chromatography를 실시하였다. 먼저 실리카겔을 glass column에 충전한 후 용매를 용출시키면서 평형화시켰다. CHCl_3 층 분획물을 실리카겔에 흡착시킨 후 실리카겔이 충전된 column에 loading하고 CHCl_3 :EtOAc(15:1)부터 EtOAc:MeOH (1:1)혼합용매로 200ml씩 용출시켜 얻은 분획물들을 TLC를 이용하여 분석하였다. 이때 사용한 전개용매는 CHCl_3 :EtOAc(8 :1)이며 spot은 UV-Lamp로 확인한 후 10%의 H_2SO_4 로 발색하여 확인하였다. 분획물의 분리는 Recycling preparative HPLC를 사용하여 분리하였다. 한편, 분리된 활성물질의 순도는 HPLC를 이용하여 확인하였고 분자량은 GC-MS를 이용하여 확인하였으며, 구조는 NMR를 이용하여 확인하였다.

3. 꽃감의 물리·화학적 특성 분석

가. **중량변화 및 수분함량**: 중량변화는 각 지역 대조구와 처리구의 초기 중량에서 매회 중량을 측정하였으며, 수분함량은 적외선 수분측정기 (MB45 Moisture Analyzer, OHAUS, U.S.A)로 시료 5~5.5g를 110℃에서 60min의 조건으로 측정하였다.

나. **가용성 고형분**: 가용성 고형분은(soluble solid content; SSC)은 지역 처리구 당 6개의 꽃감을 취하여 마쇄한 후 스토마커(ROLLER MASHER, Shimakyu Food Tech, Japan)로 3분간 균질화한 뒤 시료를 거즈(4겹)로 여과하여 맑은 액을 취해 굴절 당도계 (Atago, 0~10%, Japen)를 이용하였다.

다. **pH**: 균질화한 시료를 거즈(4겹)로 여과하여 맑은 액을 취해 pH meter기 (Sartorius, DocuMeter, Germany)로 측정하였다.

라. **색도**: 각 지역 6개의 꽃감을 취하여 잘게 마쇄한 후 40g을 취하여 petri dish에 고르게 분말한 후 색차계(Colori meter, JC801S, Japan)를 이용하여 L(lightness), a(redness), b(yellowness)로 나타내었다.

마. **물성 측정**: 꽃감의 건조과정중 꽃감의 물성 변화는 각 시기별로 수집된 각각의 꽃감을 2×2×cm²로 자른 후 Texture analyzer(Model TA, UK)를 이용하여 5회 반복 측정하여 그 평균값을 취하였다. 이때 Texture analyzer의 측정 조건은 pre test speed는 2.0mm/s, test speed는 1.0mm/s, post test speed는 5.0mm/s, distance는 5.0mm, time은 5.0sec로 rod는 20mm로 하였다. TPA에 의한 parameter로 경도, 파쇄성, 부착성, 응집성, 씹힘성 등을 측정하였다.

4. 포장 실험

○ 꽃감 건조 중 본 연구에서 선발된 천연 추출물의 꽃감 오염균에 대한 활성을 분석하고자 영동군 3개 지역과 중부대 온실을 선정하여 포장실험을 실시하였다.

○ 실증실험을 위한 4개 지역은 그림 1에 보는 바와 같이 충북 영동군 영동읍, 충북 영동

군 상촌면 궁촌리, 충북 영동군 황간면 남성리 및 금산군 추부면 대학로 101번지에 위치한 중부대학교 온실로 하였다.

○ 선정된 지역을 대상으로 하여 2010년 11월 5일부터 2011년 1월 7일까지 필드 실험을 수행하였으며 곳감 건조 초기 약 400ml을 살포한 후 일주일 간격으로 대조구와 처리구를 수집한 후 각 샘플을 수거한 후 천연 추출물의 살포에 따른 곳감의 오염도 및 곳감의 물리·화학적 특성을 분석하였다.

5. 통계분석

○ 각 항목에 따른 실험결과는 SPSS PC+를 사용하여 평균치와 표준편차를 산출하였고 평균치간 유의성은 T-test 와 One-way ANOVA (analysis of variance)를 실시하고 다군간의 차이는 Duncan's multiple range test에 의해 $P < 0.05$ 수준에서 사후검정을 실시하였으며 그 결과를 $\text{mean} \pm \text{S.E.}$ (standard error)로 표시하였다.

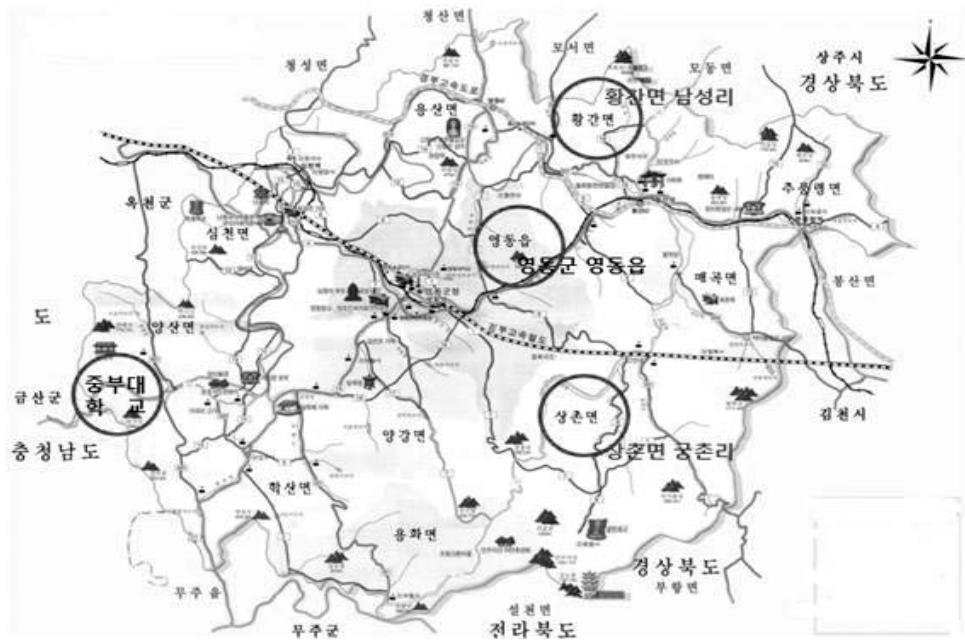


그림 1. 곳감 건조 중 실증 실험을 위한 포장 지역

Ⅲ. 연구결과 및 현장 적용사례

1. 각 약용식물의 추출 수율

○ 80여종의 약용 식물에 대하여 에탄올로 추출한 후 이들의 추출 수율을 측정한 결과를 표 3에 나타내었다. 총 80여종 약용식물 중 사용된 부위에 있어 잎이나 뿌리 등의 경우 추출량이 약 20% 내외, 근 이나 나뭇가지의 경우는 10% 내외로 나타났다. 전반적으로 대부분 약용식물의 추출량은 낮은 편으로 분석되었다. 따라서 천연 약용식물의 대량 생산을 위해서는 무엇보다도 추출 수율을 높이기 위한 전처리 효과나 추출 온도 및 시간의 영향 등이 추가로 분석되어야 할 것으로 사료되었다.

2. 오염 꽃감으로부터 균 분리

가. 수집 꽃감의 상재균수

○ 꽃감으로부터 균 분리를 위해 본 실험에서는 2010년 7월에 영동군에서 구매한 오염 꽃감 뿐만 아니라 연구진 자체에서 4종의 꽃감을 구입하여 정상 꽃감 및 오염 꽃감으로부터 균을 분리하였다.

○ 그림 3에 나타난 바와 같이 식용이 불가능한 오염 꽃감과 일반 정상 꽃감으로부터 분리된 꽃감의 상재균수 결과는 표 4에 나타내었다. 사용된 7개의 배지 종류에 따라 분리된 꽃감의 균수는 정상 꽃감은 약 $5.18 \times 10^2 \sim 2.31 \times 10^4$ CFU/ml이었으며, 표면 및 내부가 상당히 오염된 꽃감 샘플의 경우 약 $2.50 \times 10^6 \sim 1.68 \times 10^7$ CFU/ml 정도 분포하는 것으로 나타났다.

○ 오염 꽃감의 경우 정상 꽃감에 비해 오염균의 수가 약 1,000배 정도 많이 꽃감에 상재하는 것으로 분석이 되었다.

나. 꽃감 상재 오염균 분리

○ 곰팡이, 세균, 효모 등 총 7종의 배지를 이용하여 꽃감으로부터 오염균을 분리한 결과는 표 5에 나타내었다. 각 분리배지에 나타난 콜로니의 색, 모양, 두께, 광택 등의 성상을 육안으로 확인하여 다른 종으로 예상되는 균은 멸균된 이쭉시개로 tooth-picking 하여

표 3. 천연 약용식물의 추출량

(단위 : %)

번호	이름	추출량	번호	이름	추출량
1	곽향	15	41	마가목	18
2	질경이	17	42	계피	18
3	도꼬마리	11	43	감초	8
4	녹차잎	8	44	찔레	8
5	민들레	12	45	형개	6
6	한련초	19	46	토사자	5
7	어성초	15	47	헛개나무	16
8	홍화	18	48	천궁	8
9	용안육	8	49	속단	23
10	삼백초	12	50	작약(경북의성)	7
11	함초	12	51	적작약(경북의성)	18
12	하수오	15	52	백작약	10
13	야관문	12	53	울무	11
14	물프레나무	8	54	치자	9
15	산청목	12	55	토복령	10
16	인진쑈	15	56	우슬	8
17	박하	28	57	측백엽	22
18	익모초	13	58	황기	14
19	뽕잎	5	59	오갈피	7
20	뽕나무	9	60	소라쟁이	7
21	생강나무	7	61	지유	1
22	복분자	12	62	산사	8
23	겨우살이	4	63	모과	11
24	구기자	18	64	천화분	5
25	고삼	5	65	인동	20
26	구절초	2	66	뽕나무	3
27	갈근	13	67	솔잎(경북청송)	12
28	진피	10	68	솔잎(충남금산)	31
29	둥글레(자연산)	20	69	연자육	10
30	둥글레(강원영월)	13	70	달맞이꽃	11
31	두충	16	71	엄나무	8
32	금은화	12	72	독활	16
33	유근피	5	73	사상자	21
34	계내금	8	74	떡통	24
35	강활	12	75	약쑈	25
36	건강	11	76	천수국	15
37	도라지	21	77	대황	10
38	조릿대(경북영천)	20	78	아위	9
39	죽엽(산죽엽)	12	79	황정	5
40	구지뽕나무	12	80	정향	12

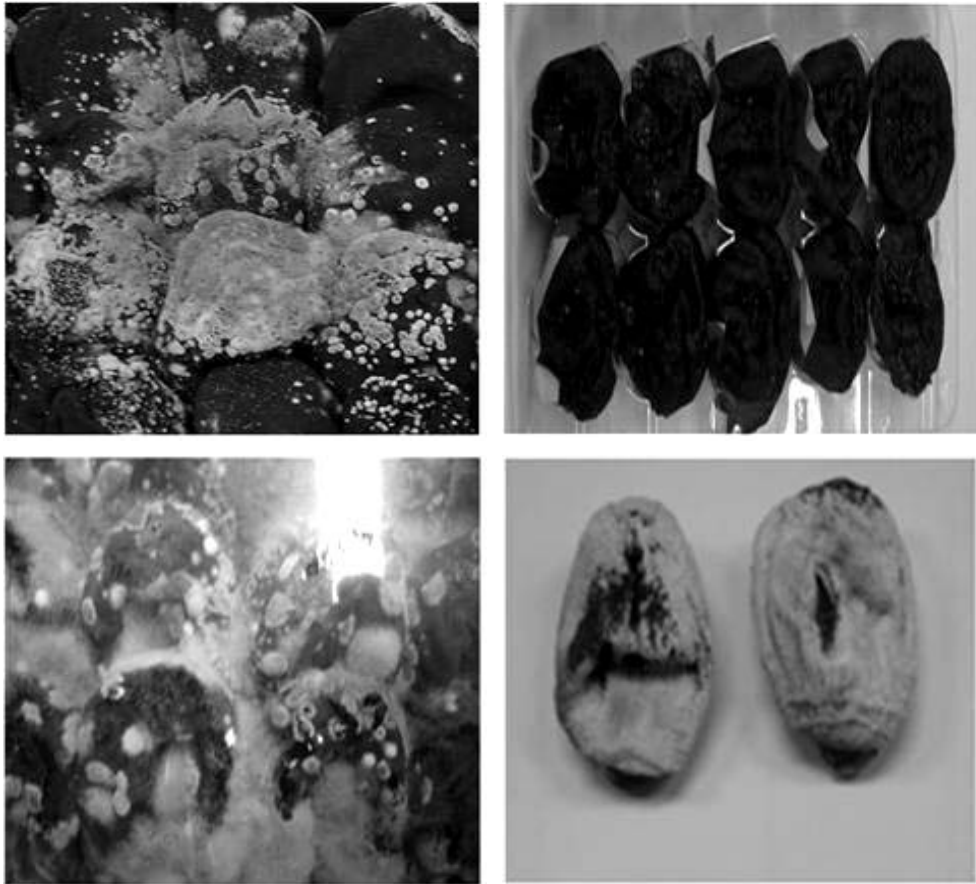


사진 2. 본 실험에 사용된 정상 및 오염 꽃감

표 4. 배지 종류에 따른 꽃감 오염균수

(단위: CFU/g)

No.	배지종류	오염 꽃감 ¹⁾	정상 꽃감
1	YM	6.13×10^6	2.07×10^3
2	YPD	7.48×10^6	1.73×10^4
3	PDA	1.17×10^6	1.73×10^3
4	LB	4.16×10^6	2.31×10^4
5	Czapeck dox	2.50×10^6	1.21×10^3
6	MRS	7.66×10^6	5.52×10^3
7	NB	1.68×10^7	5.18×10^2

¹⁾ 표면 푸른곰팡이를 걷어낸 후의 균수이므로 실제로는 10^7 - 10^8 CFU/mL 이상으로 추정됨.

표 5. 배지 종류별 콧감 상재 오염균 분리

No.	정상 콧감	오염 콧감
1	YM-4종	YM-4종
2	YPD-8종	YPD-5종
3	PDA-5	PDA-4종
4	LB-7종	LB-4종
5	Czapeck dox-4종	Czapeck dox-2종
6	MRS-6종	MRS-4종
7	NB-3종	NB-3종

분리배지에 이식하였다.

○ 각 배지별로 다를 것으로 예상되는 균을 종류별로 tooth-picking한 결과 각각의 분리배지에서 2~8종의 다른 균들이 관찰되었다.

다. 분리된 오염균의 형태적 특성

○ 각 배지별 정상 및 오염콧감으로부터의 오염균의 형태적 특성은 사진 3에 나타났다. 표 6에서 보는 바와 같이 콧감으로부터 분리한 오염균의 각 비율은 정상 콧감에서는 푸른곰팡이가 배지 종류에 따라 $3.09 \times 10^2 \sim 6.18 \times 10^3$ CFU/g로 가장 많은 비율을 차지하는 것으로 나타났다. 다음으로는 효모가 $3.00 \times 10^2 \sim 3.45 \times 10^3$, 기타 세균 종류가 $1.80 \times 10^2 \sim 3.09 \times 10^3$ 로 나타났다. 따라서 정상 콧감의 주 오염균은 푸른곰팡이 >효모 >기타 세균류인 것으로 나타났다.

○ 오염 콧감의 경우 푸른곰팡이 1종이 주 오염균으로 나타났고, 그 다음으로 연보라색과 흰색의 효모인 것으로 나타났다. 연보라색 효모의 경우 $2.41 \times 10^5 \sim 3.8 \times 10^6$ CFU/g, 흰색 효모는 $1.00 \times 10^5 \sim 3.8 \times 10^6$ CFU/g로 나타났다.

○ 본 실험결과 오염콧감의 주 오염균은 푸른곰팡이 >효모 2종(연보라색, 흰색)인 것으로 나타났고 콧감의 건조 혹은 저장 중 콧감의 품질에 가장 큰 영향을 미치는 오염균은 푸른곰팡이로 잠정적으로 결론을 내릴 수 있을 것으로 추정하였다.

○ 이는 오염 초기 곰팡이의 증식으로 인해 콧감이 부패하기 시작하며, 부패가 진행되어진 후 수분 흡습으로 인한 수분활성도의 증가로 인해 콧감에 내재되어 있던 효모와 세균의 수가 급격하게 증가되어 콧감이 연화되어지고 이에 따라 변패가 진행되는 것으로 사료되어

진다.

○ 한편, 주사 전자현미경을 이용하여 콧감 오염의 주 원인균인 푸른곰팡이의 포자사슬을 관찰하여 사진 3에 나타내었다.

○ 따라서 본 실험에서는 각 배지별 분리 균주 중 상이하게 관찰되는 균을 채취한 후 곰팡이의 경우 K2-1, K-1, K-3, 효모의 경우 H2-1, H2-2, 세균의 경우 S-1, S-2, S-3, S-4, S-5, S-6, SC-1, S2-1, S2-2, S2-3로 각각 넘버링을 하여 그 결과를 표 6에 나타내었다.

○ 표 6에서 보는 바와 같이 곰팡이의 경우 K2-1인 푸른 곰팡이로 추정되며, 효모의 경우 H2-1은 아이보리색 효모, H2-2은 연보라색 효모로 추정되었다. 세균의 경우 약 10개의 균주가 분리되었으며 S-3는 흰색 주름, S-4는 바실러스 계통, S-5는 바실러스 계통으로 S-4와 유사하였고 S2-1은 가운데 부분이 둥근 광택을 띠고 길모양은 곰팡이와 비슷하였다.

○ 특히 S2-2의 경우 다른 세균과 달리 노란색 광택을 띠고 있는 것으로 분석되었으며, S2-3 및 SC-1은 곰팡이처럼 보이는 세균으로 흰색을 띠고 있는 것으로 분석되었다.

3. 추출물의 항균 및 항진균력 활성

가. 천연 약용식물의 항균 및 항진균성

○ 본 실험에 사용된 80여종의 천연 약용식물의 추출물로부터 콧감 오염균에 대한 항균 및 항진균성을 분석하여 그 결과를 표 7에 나타내었다.

○ 본 실험에서 선발된 80여종 천연 약용식물 추출물 중 오염 콧감에서 분리된 17종의 균에 대해 항균력을 가지는 추출물은 약 47개인 것으로 분석되었다. 하지만 항균력을 보유한 천연 추출물의 경우 분리균에 대해 포괄적으로 활성을 가진 천연물은 6~7종류로 분석되었다.

○ 전반적으로 항균력을 가지는 약 47개의 추출물들은 대부분 세균에 대한 활성이 우수한 것으로 분석되었으며, 콧감의 주 오염균인 푸른곰팡이에 대한 항진균활성을 나타내는 천연 추출물은 감잎, 정향, 감초, 계피등 4개 추출물로 분석되었다.

○ 감잎의 경우 콧감 주 오염균에 대한 활성이 우수하였으며, 항균 및 항진균활성이 우수한 천연 추출물은 정향추출물로 분석되었으며, 세균의 경우 50% EtOH 오미자 추출물

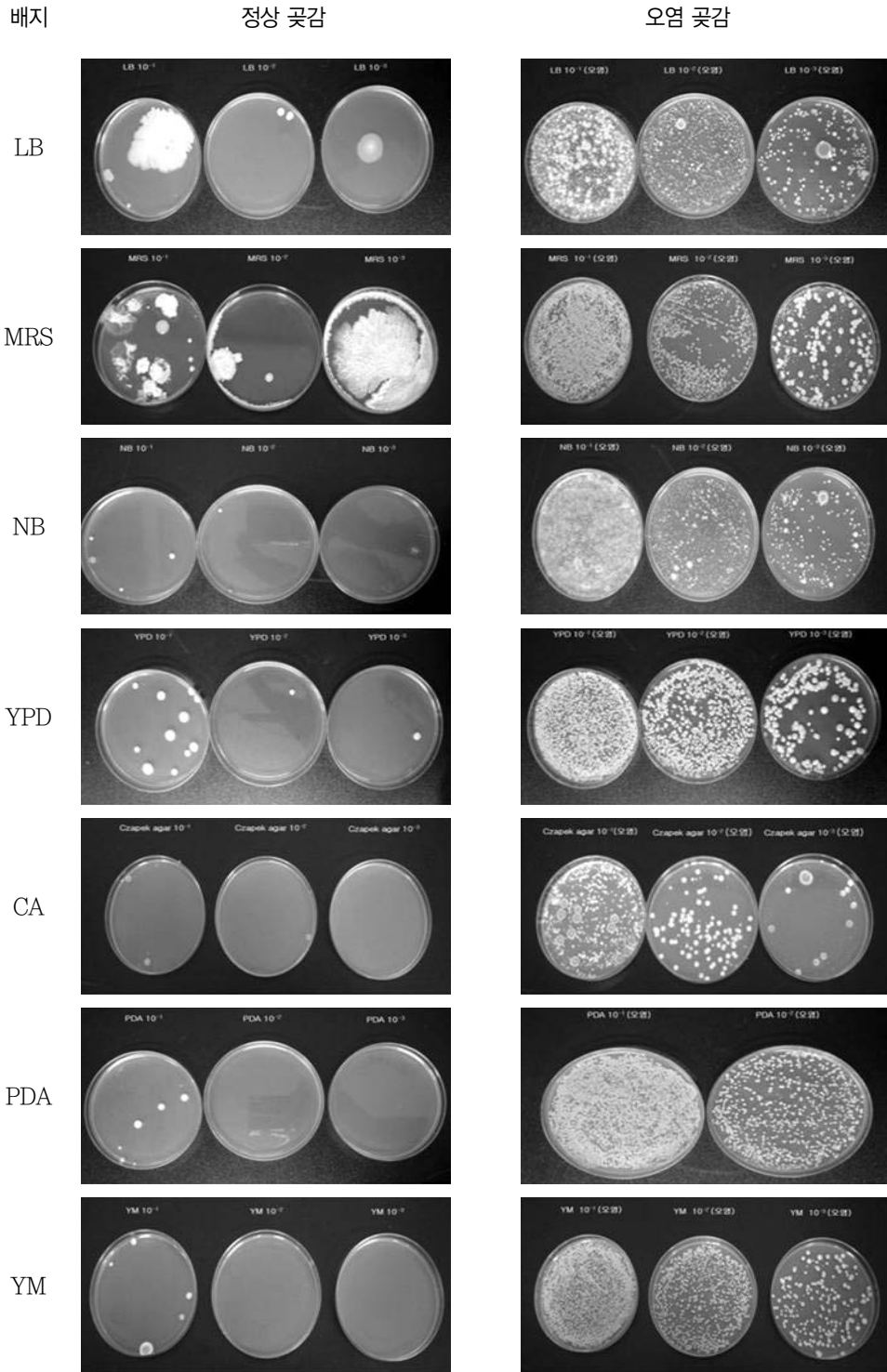


사진 3. 배지 종류에 따른 꽃감 오염균의 성장

표 6. 배지 종류별 꽃감 상재 주 오염균 수

No.	정상 꽃감으로부터 분리된 주 오염균수(CFU/g)					
1	YM	곰팡이/푸른	효모/흰색	효모/연보라		
		3.09×10^3	6.18×10^2	6.18×10^2		
2	YPD	곰팡이/푸른	효모/흰색	세균/흰색	세균/노란색	세균/주름
		1.02×10^3	1.37×10^3	1.80×10^2	3.45×10^2	3.45×10^2
3	PDA	세균/크림색,주름	효모/연보라	세균/흰색	곰팡이/푸른	
		6.18×10^2	6.18×10^2	3.09×10^2	3.09×10^2	
4	LB	푸른곰팡이	효모/흰색	세균/주름, 흰색	세균/노란색	
		6.18×10^3	3.09×10^3	3.09×10^3		
5	Cza	곰팡이/푸른	효모/흰색			
		6.38×10^2	3.00×10^2			
6	MRS	세균/아이보리	효모/흰색	세균/노란색	세균/흰색	
		3.45×10^4	3.45×10^3	3.09×10^3	3.45×10^2	
7	NB	곰팡이/푸른	효모/흰색	세균/아이보리		
		3.45×10^3	3.45×10^2	3.45×10^2		
No.	오염 꽃감으로부터 분리된 주 오염균수(CFU/g)					
1	YM	곰팡이/푸른	효모/연보라	효모/흰색		
		4.14×10^5	3.05×10^6	2.67×10^6		
2	YPD	곰팡이/푸른	효모/연보라	효모/흰색		
		3.10×10^5	1.31×10^6	1.03×10^6		
3	PDA	곰팡이/푸른	효모/연보라	효모/흰색		
		1.52×10^5	2.41×10^5	1.00×10^5		
4	LB	곰팡이/푸른	효모/흰색	효모/연보라		
		2.0×10^4	2.0×10^6	2.0×10^6		
5	Cza	곰팡이/푸른	효모/흰색			
		4.48×10^5	1.69×10^6			
6	MRS	곰팡이/푸른	효모/연보라	효모/흰색		
		2.16×10^5	3.8×10^6	3.8×10^6		
7	NB	곰팡이/푸른	효모/흰색	효모/연보라		
		3.09×10^5	3.45×10^6	3.45×10^6		

※ 오염꽃감의 푸른곰팡이 균수 - 원활한 균분리를 위해 표면 푸른 곰팡이를 대부분 걷어내어 실제 푸른 곰팡이의 오염균수는 107-108CFU/mL이상일 것으로 추정됨.

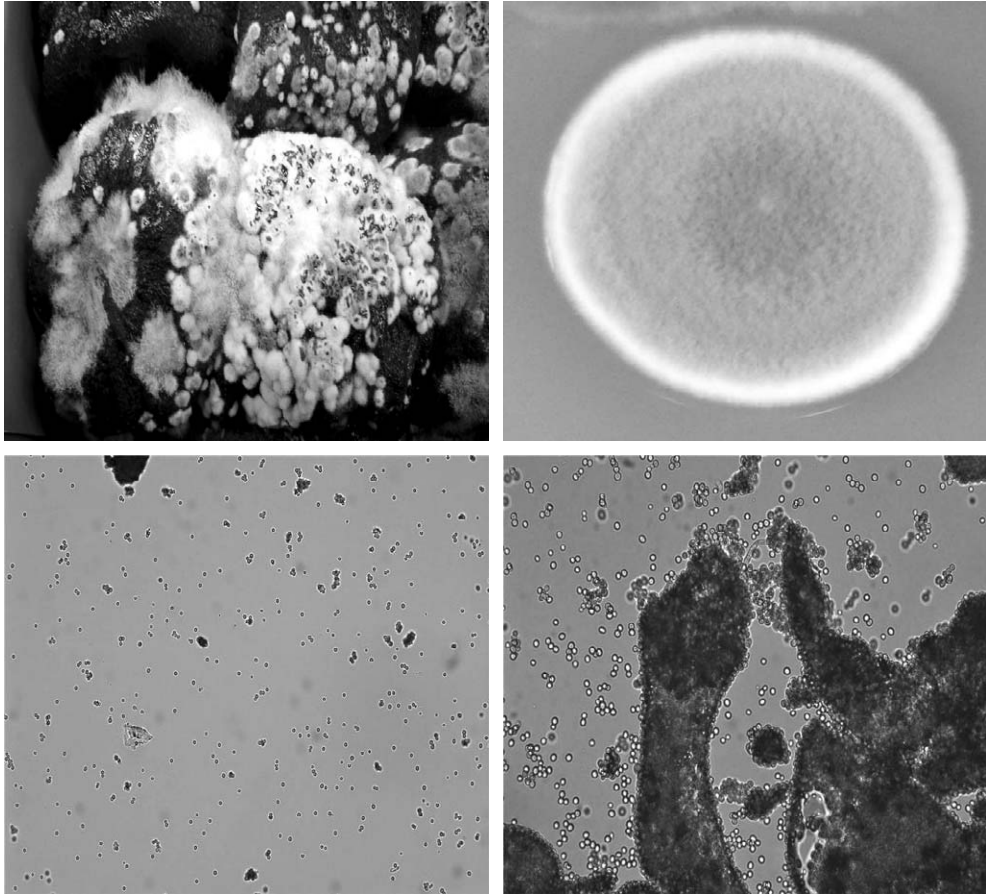


사진 4. 꽃감 주 오염균인 푸른곰팡이에 대한 현미경 사진
(상단 왼쪽: 오염꽃감의 푸른 곰팡이, 상단 오른쪽: 콜로니, 하단: 푸른곰팡이 포자 사진)

의 항균력이 가장 우수하였다.

○ 정향 추출물의 경우 표 6에서 보는 바와 같이 K2-1, K-3 및 K-1균에 대해 clear zone이 20mm, 24mm, 51mm로 나타나 곰팡이균에 대한 항진균력이 매우 우수한 것으로 조사되었다. 특히, 정향 추출물은 본 실험에서 사용된 80여종의 천연 약용식물의 경우 H2-1, H2-2균 및 세균류등에 대해서도 광범위한 항진균 및 항세균활성을 가지는 것으로 나타나 꽃감 오염균 방제에 폭넓게 이용될 수 있을 것으로 사료되었다.

표 7. 오염 꽃감으로부터 분리된 균주의 형태적 특성




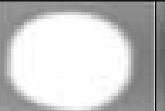



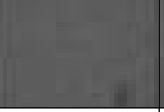
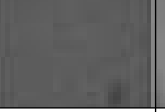
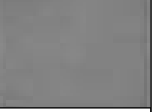









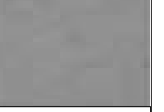



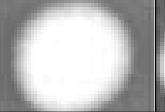






균종류	곰팡이			효모	
분리균주	K2-1	K-1	K-3	H2-1	H2-2
클로닝					
현미경					
특 징	푸른곰팡이	검은색	연한 갈색	아이 보리색 효모	연보라 효모
균종류	세 균				
분리균주	S-1	S-2	S-3	S-4	S-5
클로닝					
현미경					
특 징	아이 보리 광택	아이 보리 광택	흰색 주름	바실러스 계통 주름	바실러스 계통 외형 S-4 와 유사
균종류	세 균				
분리균주	S-6	S2-1	S2-2	S2-3	SC-1
클로닝					
현미경					
특 징	연노란색 광택 없음	가운데 부분 둥근 광택 겉모양 곰팡이와 유사	노랑색 광택 있음	곰팡이 형태의 세균 가운데 부분 흰색 진함	색 희고 곰팡이와 유사

표 8. 천연 약용식물 추출물의 향균성

(단위 : mm)

약재명	brix (%)	K2-1	K-3	K-1	S-1	S-2	S-3	S-4	S-5	S-6	S2-1	S2-2	S2-3	SC-1	H2-1	H2-2
1. 곽향 (국내산)	6															
2. 질경이 (자연산)	10															
3. 도꼬마리 (경북영천)	6															
4. 녹차잎 (경남하동)	9															
5. 민들레 (자연산)	23															
6. 한련초 (경북영천)	7															
7. 어성초 (경북영천)	10															
8. 홍화 (국내산)	12															
9. 용안육 (베트남)	18															
10. 삼백초 (경북영천)	9															
11. 함초 (전남신안)	13															
12. 감잎 (경북영천)	15	14								11						
13. 야관문 (자연산)	13															
14. 뽕잎 (강원영월)	27					10						11				
15. 산청목 (강원화천)	5															
16. 인진쑥 (강원화천)	17															
17. 박하 (국내산)	18															
18. 익모초 (경북영천)	9															
19. 물푸레나무껍질(자연산)	22					15										
20. 상지 (경북영천)	6															
21. 생강나무 (자연산)	5															
22. 복분자 (경북의성)	16					12				44	13			13		
23. 겨우살이 (자연산)	9															
24. 구기자 (충남청양)	29											20				
25. 고삼 (국내산)	13											8.5				
26. 구절초 (경북영천)	11															
27. 갈근 (강원영월)	17															
28. 진피 (남제주)	29										21					
29. 둥글레 (자연산)	40															
30. 강활 (국내산)	19					8.5				13		8.5				
31. 두충 (강원영월)	16														11	
32. 금은화 (국내산)	13					10										
33. 유근피 (강원화천)	13															
34. 계내금 (경북영천)	5															
35. 둥글레 (강원영월)	32															
36. 건강 (강원)	16															
37. 도라지 (경북영천)	39															
38. 조릿대 (경북영천)	10															
39. 당귀 (경북영천)	31															
40. 구지뽕뿌리 (자연산)	11					9				9		9				

표 8. 계속

(단위 : mm)

약재명	brix (%)	K2-1	K-3	K-1	S-1	S-2	S-3	S-4	S-5	S-6	S2-1	S2-2	S2-3	SC-1	H2-1	H2-2
41. 마가목 (강원화천)	14									11						
42. 계 피 (베트남)	21	12				9.5										
43. 감 초 (우즈베키스탄)	48	9								17					8.5	
44. 짚레뿌리 (자연산)	11									11						
45. 형 개 (경북의성)	10															
46. 토사자 (수입)	6					13	9	9	9		9	14				
47. 헛개나무 (강원영월)	7															
48. 천 궁 (경북영천)	38	9				10					10			10	8.5	
49. 속 단 (강원)	26.6															
50. 작 약 (경북의성)	32									14						
51. 황 금 (국내산)	32															
52. 천 초 (전남)	8															
53. 현미울무 (경북영천)	5															
54. 치 자 (경북영천)	7															
55. 토복령 (자연산)	10				9											
56. 우 슬 (자연산)	32										13		10	11		
57. 측백엽 (자연산)	9															
58. 황 기 (충북제천)	29.8															
59. 오가피가지 (강원영월)	8															
60. 소리쟁이 (자연산)	25									13						
61. 지 유 (국내산)	32									16						
62. 산사열매 (강원영월)	9.2															
63. 모 과 (경북영천)	27									11						
64. 천화분(국내산)	11															
65. 인 동 (국내산)	5															
66. 뽕나무뿌리 (경북영천)	8									11						
67. 솔 잎 (경북청송)	19									8.5						
68. 적작약 (경북의성)	27									10						
69. 연자육 (베트남)	26									8.5						
70. 달맞이씨 (수입)	11															
71. 엄나무 (강원영월)	7															
72. 독활 (국내산)	11															
73. 사상자 (자연산)	5															
74. 목통 (경북영천)	9															
75. 약쭈	6															
76. 천수국	17															
77. 대 황	28										15					
78. 아 위	5					9	13	8.5	8.5			8.5	17	8.5		
79. 황 정	21															
80. 정 향	48	20	24	51	13	9		10	10		16	11	17		34	15

나. 꽃감 주 오염균인 푸른곰팡이에 대한 항진균력

○ 본 실험에서 선발된 80여종의 천연 약용식물 추출물이 꽃감 주 오염균인 푸른 곰팡이에 대한 항진균력을 측정하여 그 결과를 사진 4에 나타내었다.

○ 그림 5에서 나타난 바와 같이 감잎, 정향, 계피, 감초에서 푸른 곰팡이에 대한 항진균력이 우수한 것으로 분석되었다.

○ 즉, 이들 추출물량 50 μ L에 대해 정향, 감잎 추출물의 clear zone은 12mm, 계피 추출물은 10mm, 감초 추출물은 9mm의 clear zone크기를 보였다.

4. 오염 꽃감으로부터 분리된 균주의 동정

○ 오염 꽃감으로부터 분리된 균주의 동정 결과를 표 8에 나타내었다. 효모 및 곰팡이 균주의 경우 각 균주의 26S D1/D2 및 ITS 영역의 염기서열을 조사하여 NCBI의 GenBank (효모균주)/CBS DB(곰팡이균주)에 등록된 균주의 염기서열과 비교해 본 결과 H2-1, H2-2 는 *Citeromyces matritensis*, *Metschnikowia* sp.로 동정되었다.

○ 곰팡이류인 K-1, K2-1 및 K-3은 검은곰팡이(*Cladosporium* sp.), 푸른곰팡이(*Penicillium* sp.) 및 누룩곰팡이(*Aspergillus* sp.)로 각각 동정되었다.

○ 세균류의 경우 각 균주의 16S rRNA 유전자 염기서열을 조사하여 NCBI의

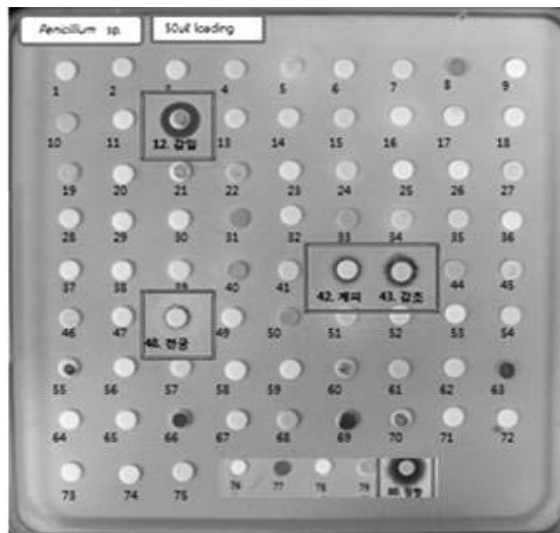


사진 5. 푸른곰팡이에 대한 천연 약용식물 추출물의 항진균력

표 9. 각 균주의 염기서열에 따른 동정 결과

균주명	조사된 염기서열길이	비교 DB	염기서열이 가장 유사한 균주명	유사도
H2-1	564 bp	GenBank DB	<i>Citeromyces matritensis</i> NRRL Y-2407 ^T	100% (566/566)
H2-2	496 bp	GenBank DB	<i>Metschnikowia chrysoperlae</i> NRRL Y-27947	99.4% (475/478)
			<i>Metschnikowia shanxiensis</i> XY801 ^T	98.7% (480/487)
			<i>Metschnikowia pulcherrima</i> NRRL Y-7111	98.7% (480/487)
K-1	510 bp	CBS DB	<i>Cladosporium oxysporium</i> CBS 125.80	99.6% (507/509)
			<i>Cladosporium cladosporioides</i> NRRL 52418	99.4% (509/512)
			<i>Cladosporium tenuissimum</i> CBS 674.82	99.4% (508/511)
K2-1	541 bp	CBS DB	<i>Penicillium crustosum</i> NRRL 31466	99.6% (541/543)
			<i>Penicillium farinosum</i> NRRL 6293	99.4% (540/543)
			<i>Penicillium commune</i> CBS 311.48	99.3% (538/542)
			<i>Penicillium echinulatum</i> NRRL 1151	99.1% (538/543)
K-3	529 bp	CBS DB	<i>Aspergillus sydowii</i> NRRL 250	99.6% (527/529)
			<i>Aspergillus versicolor</i> NRRL 227	98.7% (522/529)
S-1	1,398 bp	GenBank DB	<i>Acinetobacter</i> sp. WP2MN	100% (0/1397)
			<i>Acinetobacter</i> sp. N12	100% (0/1397)
			<i>Acinetobacter</i> sp. Fsh11	99% (1/1397)
		EzTaxon server 2.1	<i>Acinetobacter bereziniae</i> ATCC 17924 ^T	99.709% (4/1376)
			<i>Acinetobacter guillouiae</i> ATCC 11171 ^T	99.285% (10/1398)
			<i>Acinetobacter soli</i> B1(T)	96.922% (43/1397)
S2-2	1,357 bp	GenBank DB	<i>Microbacterium</i> sp. M3T2B3	100% (0/1357)
			<i>Microbacterium aurum</i> 314	100% (0/1357)
			<i>Microbacterium aurum</i> TPL18	99% (3/1358)
			<i>Microbacterium lacus</i> A5E-52 ^T	99% (8/1354)
		EzTaxon server 2.1	<i>Microbacterium lacus</i> A5E-52 ^T	99.336% (9/1356)
			<i>Microbacterium aoyamense</i> KV-492 ^T	99.189% (11/1356)
			<i>Microbacterium pygmaeum</i> KV-490 ^T	98.894% (15/1356)

GenBank 및 EzTaxon server 2.1를 이용하여 등록된 균주의 염기서열과 비교해 본 결과 S-1 및 S2-2은 각각 *Acinetobacter* sp. 및 *Microbacterium* sp.로 동정되었다.

5. 꽃감 필드 시험

가. 추출물 침지에 따른 꽃감 색도 변화

○ 본 실험에서 최종적으로 선발된 천연 추출물이 꽃감의 품질중 색도 및 향기에 미치는 영향을 분석하여 고품질의 꽃감 생산을 위한 배합비를 도출하고자 각 선발된 추출물의 침지에 따른 꽃감의 색도변화를 측정하여 그 결과를 그림 6에 나타내었다.

○ 각 선발된 천연 추출물은 감잎, 정향, 계피, 감초 등이며, 기타 특허 및 문헌등의 자료 검색을 바탕으로 한 물질을 이용하여 bioassay 검정을 바탕으로 초산, 자몽추출물을 추가 소재로 선정하여 첨가하였다.

○ 사진 5에서 보는 바와 같이 정향 추출물의 경우 다른 추출물에 비해 향진균력은 우수하나 꽃감의 건조가 진행될수록 꽃감의 색이 검은 색에 가깝게 변하는 것을 알 수 있었다. 또한 정향의 경우 계피와 마찬가지로 정향 특유의 향이 매우 강해 꽃감 품질에 큰 영향을 미칠것으로 사료 되었다.

○ 감초의 경우 감초 특유의 향이 거부감이 적고, 진하지 않으며, 꽃감의 색도에도 크게 영향을 미치지 않은 것으로 나타났다.

○ 추가적으로 사용된 자몽종자 추출물의 경우 꽃감의 색과 향에 영향을 크게 미치지 않으나 자몽종자 추출물 특유의 쓴맛으로 인해 꽃감의 품질저하를 초래 할 수 있는 것으로 나타났다. 식초는 식초 특유의 시큼한 냄새가 존재하나 건조 기간 중 향이 소실되어 냄새는 큰 문제가 없으나 산도가 높아 꽃감 색의 변질이 초래될 것으로 생각된다.

나. 꽃감 천연 살포액 배합비 설정

○ 선발 자원 추출물과 첨가제를 이용하여 꽃감 건조를 위한 살포액의 배합비를 설정한 다음 이를 이용하여 푸른곰팡이에 대한 향진균 bioassay를 실시한 결과는 표 9 및 사진 6과 같다.

○ 총 28개의 배합조건에 따른 clear zone 크기는 10~14mm이었다. 이중 정향 및 계피 추출물의 배합비는 전체 배합비의 20~30%일 때 가장 활성이 높은 것으로 나타났다.

○ 총 6개의 추출물중 초산의 경우 식초를 제외한 다른 추출물의 배합비가 전체 배합비

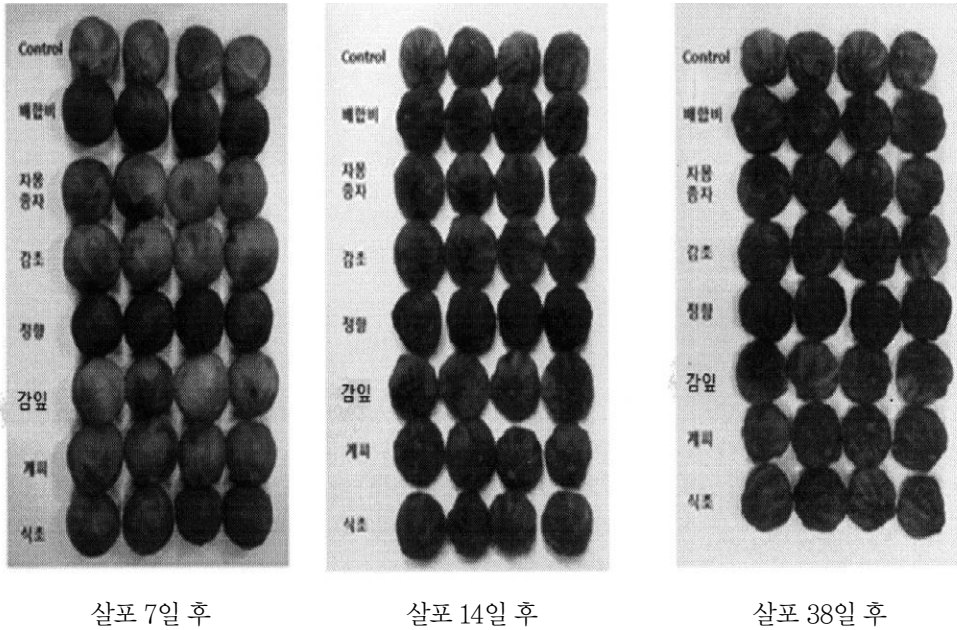


사진 6. 각 추출물의 침지에 따른 꽃감 저장 중 색도 변화

의 10~40% 이상일 경우 항진균력 활성이 다른 배합비에 비해 낮게 나타났다.

○ 식초의 전체 배합비는 다른 추출물의 배합비율이 약 10~30%일 때 가장 항진균력이 우수한 것으로 나타났다. 식초의 경우 전반적으로 전체 혼합비의 약 50% 이상을 차지하여 항진균력에 대한 활성이 두드러지게 우수하였다.

○ 따라서 본 실험에서는 항진균제로 사용되는 Myconazole과 Nyttatin을 대조구로 하여 선발 자원 추출물의 clear zone 크기가 약 12mm가 되도록 농도조정을 하여 최종적인 배합비를 도출하여 그 결과를 표 9에 나타내었다.

○ 각 추출물의 농도가 계피 추출물은 50 μ L, 정향 추출물은 30~40 μ L, 식초는 산도가 10%, 자몽종자추출물은 20배 희석하였을 때 12mm의 clear zone을 나타내었다. 대조구인 Myconazole과 Nyttatin은 1mg/ml의 농도를 각각 1.5 μ L, 10 μ L하였을 때 12mm의 clear zone이 나타났으며, 메타중아황산칼륨은 10,000ppm에서 12mm의 clear zone이 나타났다. 본 실험에서는 최종 배합비를 설정하여 표 10에 나타내었다.

다. 꽃감 포장 시험을 위한 지역 선정 및 살포 방법

○ 영동군 3개 지역과 중부대를 선정(사진 7)하여 통풍이 잘 되고 벌이 잘 들게 직접 제

작한 건조 상자에서 천일건조 방법으로 건조기간 65일(2010년 11월 5일부터 2011년 1월 7일)동안 꽃감을 건조하였다. 이때의 건조기간중 기상조건은 사진 8과 같다.

○ 각 지역당 대조구 및 실험구를 나누어 한 지역당 600개의 탈피감을 건조상자에 설치한 후 1회 추출물의 살포량은 평균 300ml로 하였고 총 5회에 걸쳐 살포하였다.

라. 꽃감 건조 기간중 꽃감의 품질 변화

○ 본 실험에서 구입한 감은 예년에 비해 낮은 온도로 인해 생감에 동해가 발생하여 꽃

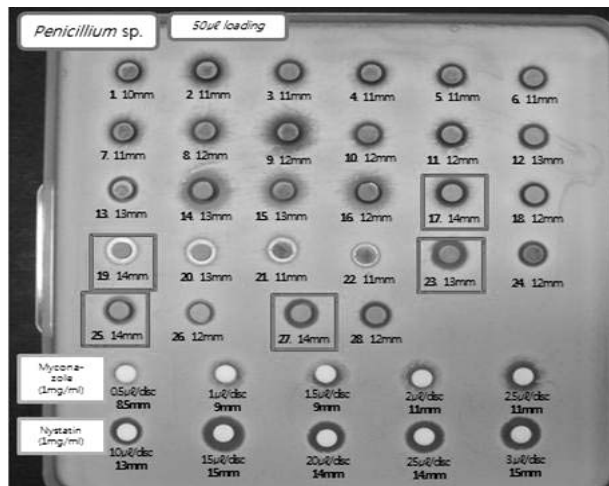
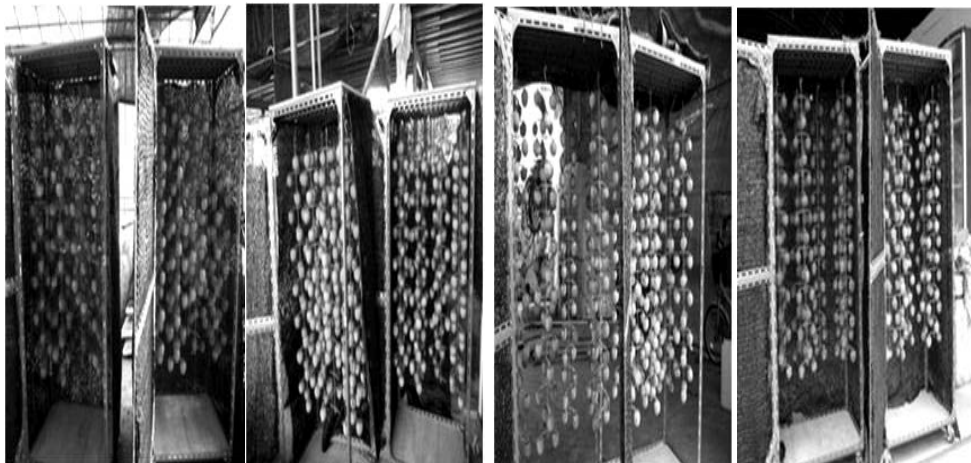


사진 7. 추출물 배합비에 따른 항진균력



중부대학교

영동군 영동읍

영동군 상촌면

영동군 황간면

사진 8. 각 지역별 꽃감 건조 상자

표 10. 추출물 배합비에 따른 항진균력

	배합비(100ml 기준)								clear zone (mm)
	50% EtOH 정향 추출물	50% EtOH 계피 추출물	식초 (산도: 약 13%)	자몽종자 추출물	자몽종자 추출물 20배희석	50%EtOH 감초 추출물	50%EtOH 감잎 추출물	50% EtOH	
1	38.1	28.5	28.5	-	4.9	-	-	-	10
2	39.2	29.4	29.4	2.0	-	-	-	-	11
3	28.5	38.1	28.5	-	4.9	-	-	-	11
4	29.4	39.2	29.4	2.0	-	-	-	-	11
5	28.5	28.5	38.1	-	4.9	-	-	-	11
6	29.4	29.4	39.2	2.0	-	-	-	-	11
7	19.6	19.6	19.6	2	-	19.6	19.6	-	11
8	30.8	30.8	30.8	7.6	-	-	-	-	12
9	47.6	23.8	23.8	4.8	-	-	-	-	12
10	23.8	47.6	23.8	4.8	-	-	-	-	12
11	28.6	28.6	28.6	14.2	-	-	-	-	12
12	23.8	23.8	47.6	4.8	-	-	-	-	13
13	-	49.0	49.0	2.0	-	-	-	-	13
14	49.0	-	49.0	2.0	-	-	-	-	13
15	33.3	33.3	33.3	-	-	-	-	-	13
16	49.0	49.0	-	2.0	-	-	-	-	12
17	30.0	20.0	50.0	-	-	-	-	-	14
18	30.0	20.0	40.0	-	-	10.0	-	-	12
19	20.0	30.0	50.0	-	-	-	-	-	14
20	20.0	30.0	40.0	-	-	10.0	-	-	13
21	20.0	20.0	30.0	10.0	-	20.0	-	-	11
22	10.0	20.0	30.0	10.0	-	20.0	10.0	-	11
23	10.0	20.0	40.0	20.0	-	10.0	-	-	14
24	10.0	20.0	40.0	10.0	-	10.0	10.0	-	12
25	20.0	20.0	50.0	-	-	5.0	5.0	-	14
26	10.0	10.0	50.0	-	-	-	-	30.0	12
27	15.0	15.0	70.0	-	-	-	-	-	14
28	20.0	20.0	40.0	-	20.0	-	-	-	12

표 11. 꽃감 오염 방지를 위한 생물학적 제제 배합비

(단위: %)

성분	식초	정향	계피	자몽종자 (20배희석)	감초	감잎
비율	54.54	9.90	9.09	4.55	4.55	18.88

감의 품질이 다소 저하된 것으로 판단되었다.

○ 영동군 3개 지역 및 중부대별 천연 약재 추출물의 살포에 따른 꽃감의 건조 기간중 품질 변화는 중부대학교 온실 지역을 제외하고는 육안으로 큰 차이는 없었으며, 다만 시험구의 경우 대조구에 비해 추출물의 살포에 의한 착색 효과로 색도가 다소 검게 나타났다(그림 2).

○ 중부대 온실에 설치된 꽃감건조의 경우 온실의 특성상 다른 지역보다 다소 습도가 높아서 대조구의 경우 2주차부터 육안으로 곰팡이 오염이 발견되었으며, 건조기간이 길어질수록 곰팡이 오염 면적은 급속하게 확산되는 것으로 나타났다. 특히 3주차 부터는 꽃감전체에 곰팡이 균이 번식하여 꽃감표면의 대부분이 푸른곰팡이가 오염되어 있었다.

○ 이에 반해 시험구의 경우 천연 약재의 살포에 의해 꽃감 건조기간내에 전혀 곰팡이의 번식이 발생되지 않았으며, 다만 탈피 감의 동해에 따른 반점이 건조 기간중에 검게 발생

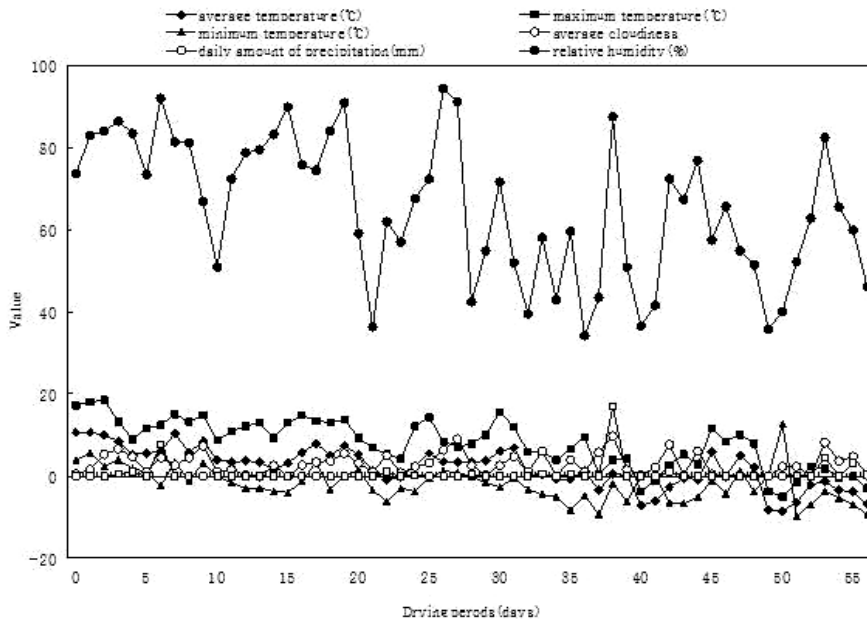


그림 2. 꽃감 건조 기간 중 영동군의 기상 조건

하는 것으로 나타났다.

○ 한편, 중부대 지역을 제외한 나머지 지역의 경우는 대조구 및 시험구에서 곰팡이의 발생이 전혀 없었으며, 동해에 의한 반점의 발생만이 나타났다.

○ 각 지역별 대조구 및 처리구의 평균 무게를 측정한 결과는 그림 3과 같다. 꽃감 건조 기간 중 주차별로 약 3~32%씩 무게가 감소하였으며, 전체적으로 매주 무게가 감소하였다.

○ 건조 기간 2주차까지는 약간의 급격한 무게 감소를 보이다가 3주차부터는 완만한 감소를 보였다. 본 실험에서 구입한 감은 예년에 비해 낮은 온도로 인해 생감에 동해가 발생하여 꽃감의 품질이 다소 저하되는 것으로 판단되었다.

○ 각 지역별 대조구 및 처리구의 수분함량을 측정한 결과는 그림 4와 같다. 전체적으로 대조구와 시험구의 수분함량이 유사하였으며, 중부대에 설치된 꽃감 건조의 경우 습도가 높아 시험구의 경우 다른 지역에 비해 수분함량이 높게 측정되었다.

○ 또한 실내 지역인 황간면은 다른 지역에 비해 상대적으로 수분함량이 낮았다. 전체적으로 보았을 때 5~6주차(35~42일 경과)에 40~50%범위의 반건시 제품이 되는 것으로 나타났다. 일반적으로 선호도가 높은 반건시의 수분함량인 40~50%이며, 건시의 일반적인 수분함량은 대략 30~35% 이다.

○ 각 지역별 대조구 및 처리구의 가용성 고형분을 측정한 결과는 그림 5와 같다. 생감의 당도는 14brix 정도였으나, 건조가 진행되면서 약 32~34brix로 증가하였다.

○ 실내 건조장인 황간면의 경우 약 40brix로 당도가 가장 높았으며, 전체적으로 꽃감의 가용성 고형분은 평균적인 꽃감보다 낮았으며, 이는 동해로 인한 생감의 품질저하로 생각되어진다. 일반적인 영동 꽃감의 평균 당도는 55brix로 보고되어 있다.

























○ 꽃감 건조 기간 중 꽃감의 pH 변화는 중부대 내의 꽃감 대조구를 제외하고 1주차에 감소하였다가 다시 3주차에 0주차와 비슷한 pH값으로 증가하였다(그림 6).

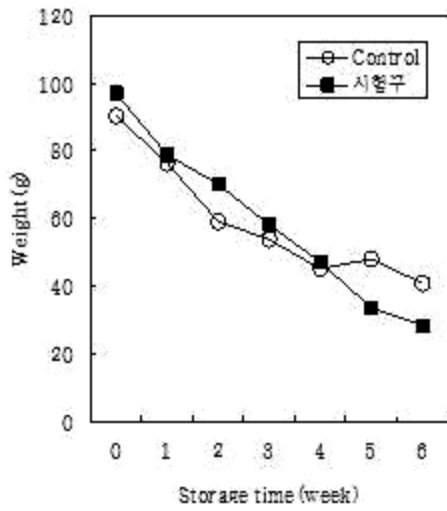
○ 중부대 온실에 설치된 꽃감 대조구의 pH는 곰팡이 오염으로 인하여 pH가 정상 꽃감에 비해 낮았다. 일반적으로 정상 꽃감의 pH는 5.39 이었으며, 곰팡이로 오염된 꽃감의 pH는 약 4.19~4.31 이었다.

○ 꽃감 건조에 따른 주차별 색의 변화는 그림 7과 같다.

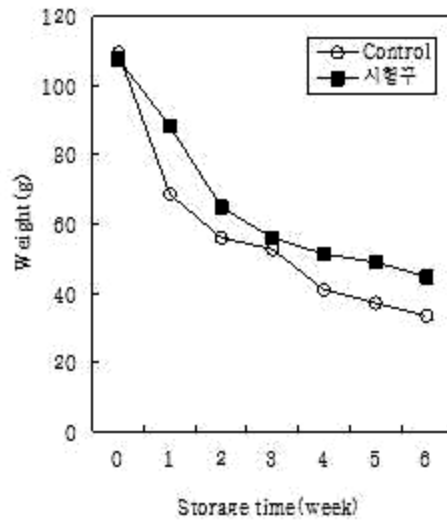
○ 그림 7에서 보는 바와 같이 L값의 변화는 건조 기간 중 감소하는 경향을 나타냈다. L값이 가장 낮은 시료는 중부대 온실 대조구로 이는 꽃감 오염으로 인하여 색이 가장 어두워졌을 것으로 사료된다. 전반적으로 배합 살포액의 영향으로 인해 대조구가 처리구에 비해 색도가 높게 측정되었다.

표 12. 꽃감 건조 기간에 따른 꽃감의 품질 변화

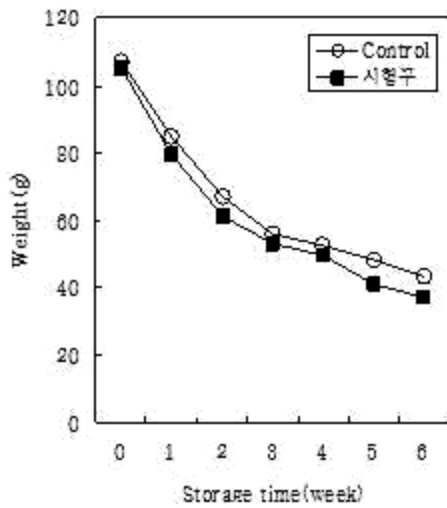
지역	건조기간		0주차	1주차	2주차	3주차	4주차	5주차	6주차
	중부대학교	대조구	시험구						
영동군 영동읍		대조구	시험구						
	영동군 상촌면	대조구	시험구						
영동군 황간면		대조구	시험구						



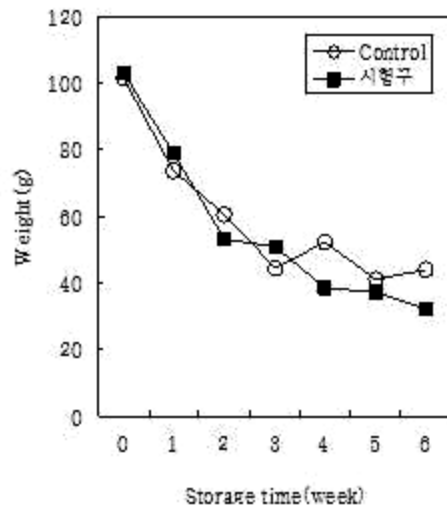
(가)



(나)



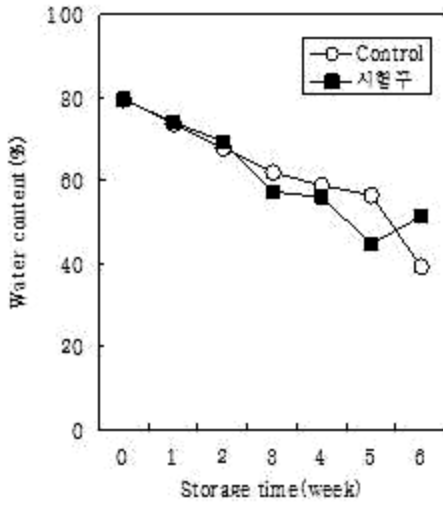
(다)



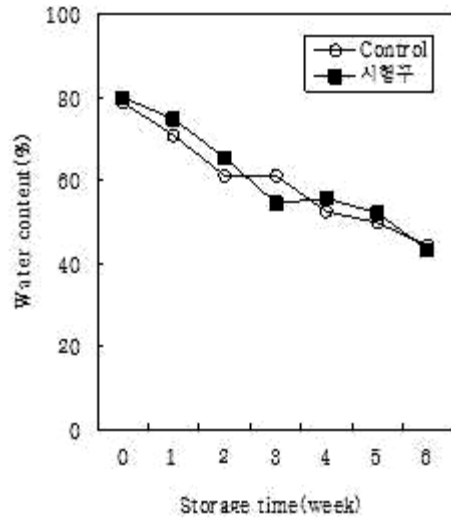
(라)

그림 3. 각 지역별 저장기간에 따른 꽃감의 무게 변화

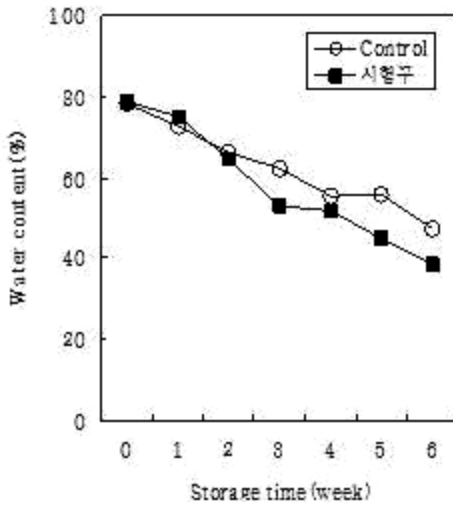
(가) 중부대학교 (나) 영동군 영동읍
 (다) 영동군 상촌면 (라) 영동군 황간면



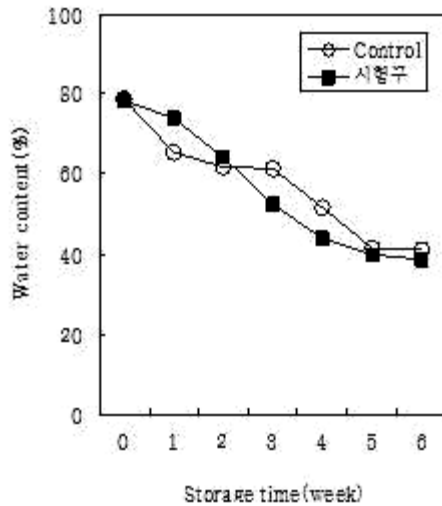
(가)



(나)



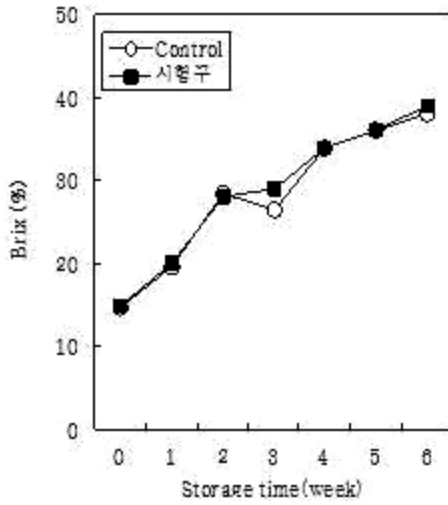
(다)



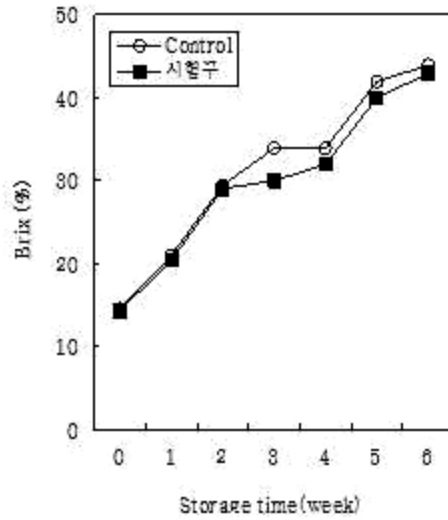
(라)

그림 4. 각 지역별 저장기간에 따른 풋감의 수분변화

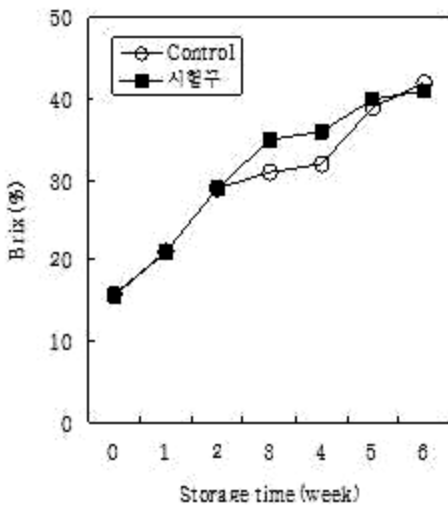
- (가) 중부대학교 (나) 영동군 영동읍
 (다) 영동군 상촌면 (라) 영동군 황간면



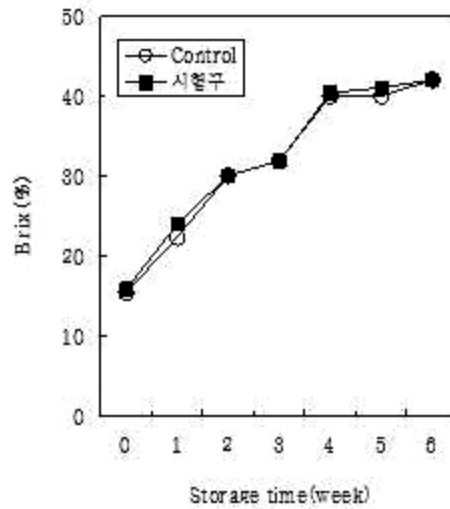
(가)



(나)



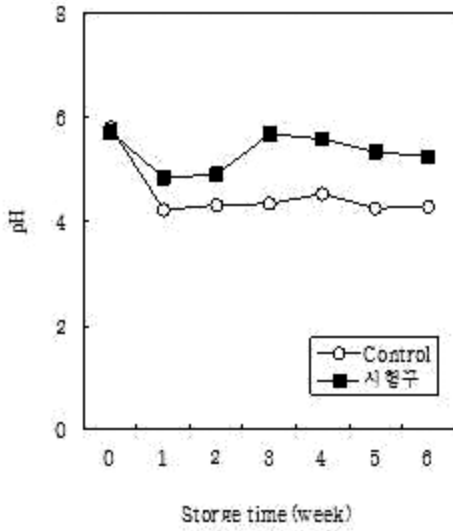
(다)



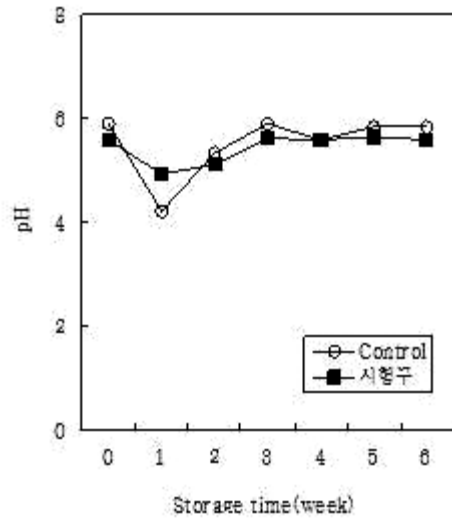
(라)

그림 5. 각 지역별 저장기간에 따른 고형성분의 변화

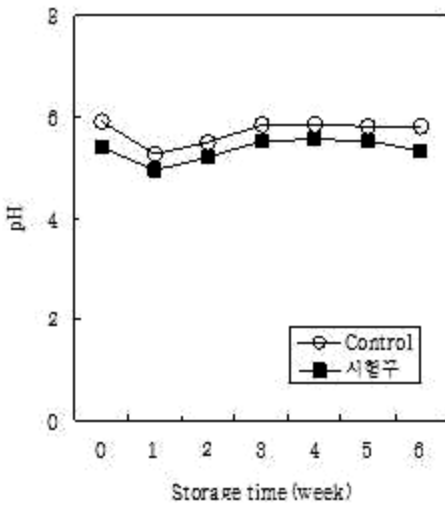
(가) 중부대학교 (나) 영동군 영동읍
 (다) 영동군 상촌면 (라) 영동군 황간면



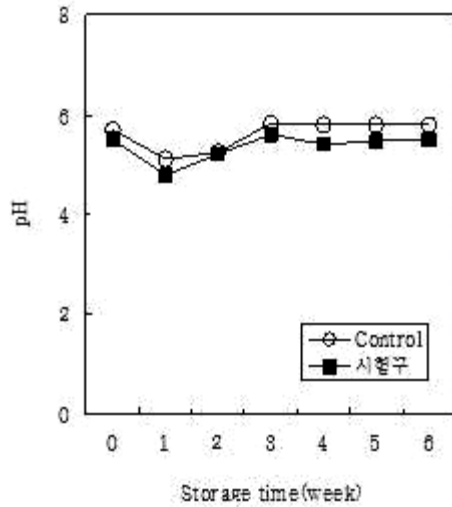
(가)



(나)



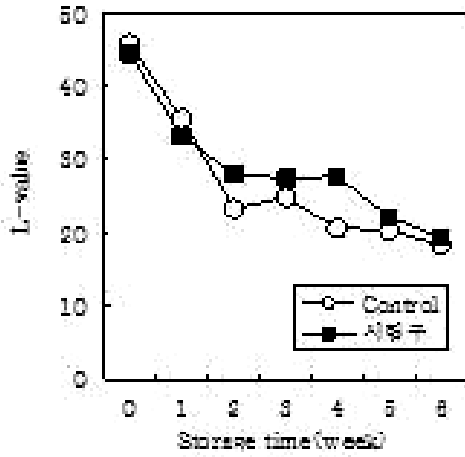
(다)



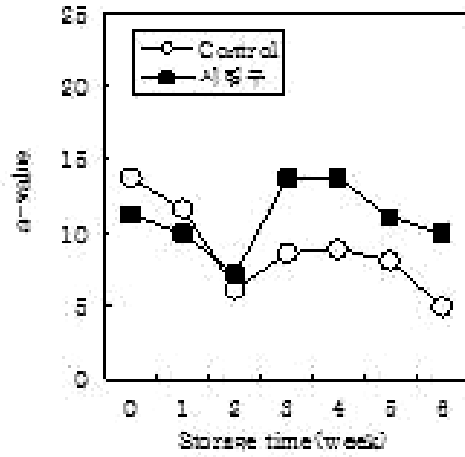
(라)

그림 6. 각 지역별 저장기간에 따른 풋감의 pH 변화

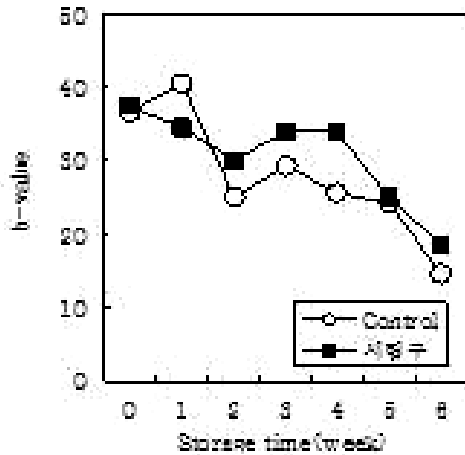
- (가) 중부대학교 (나) 영동군 영동읍
 (다) 영동군 상촌면 (라) 영동군 황간면



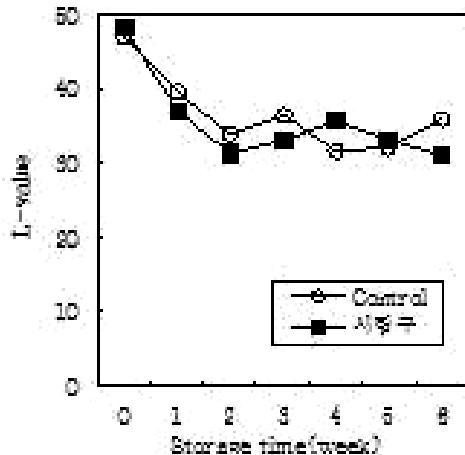
(가)



(나)



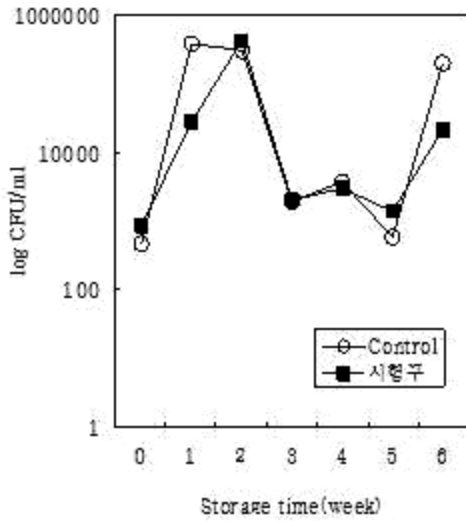
(다)



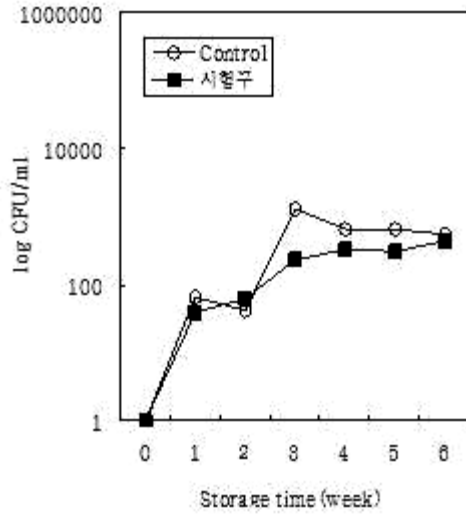
(라)

그림 7. 각 지역별 저장기간에 따른 꽃감의 색도변화

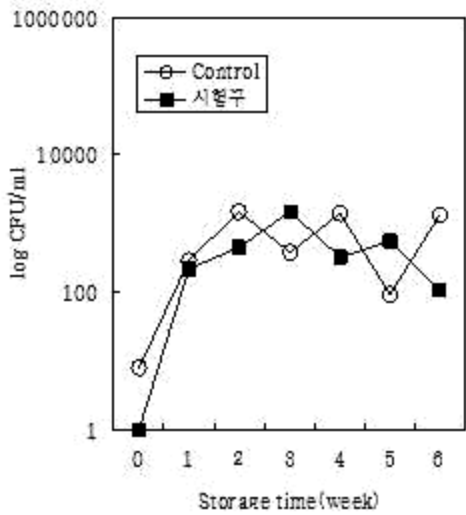
- (가) 중부대학교 (나) 영동군 영동읍
 (다) 영동군 상촌면 (라) 영동군 황간면



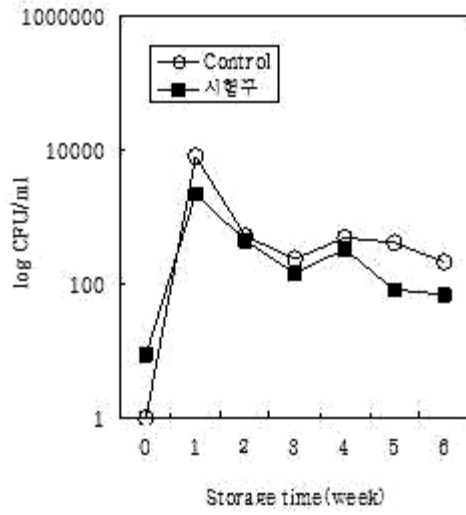
(가)



(나)



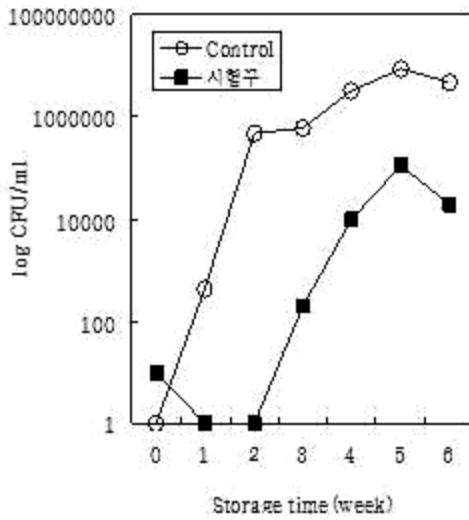
(다)



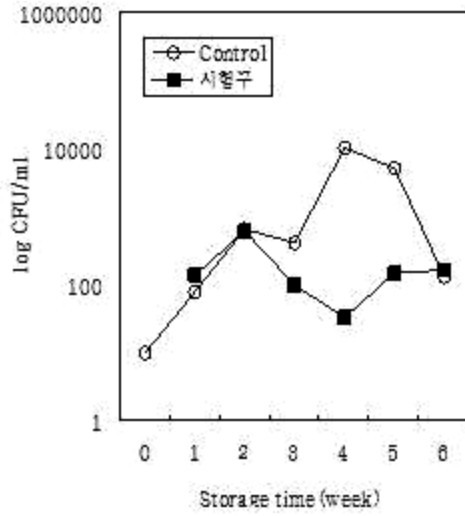
(라)

그림 8. 각 지역별 저장기간에 따른 곳감의 세균수

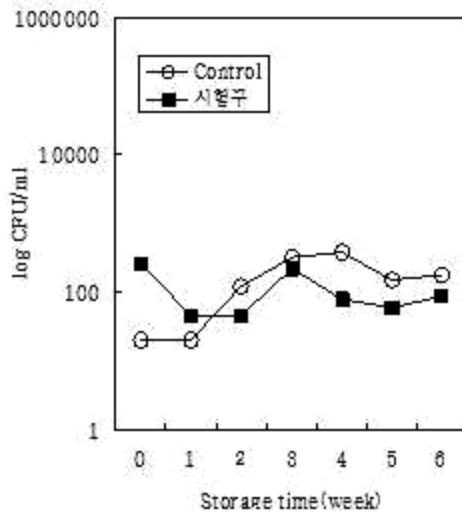
(가) 중부대학교 (나) 영동군 영동읍
 (다) 영동군 상촌면 (라) 영동군 황간면



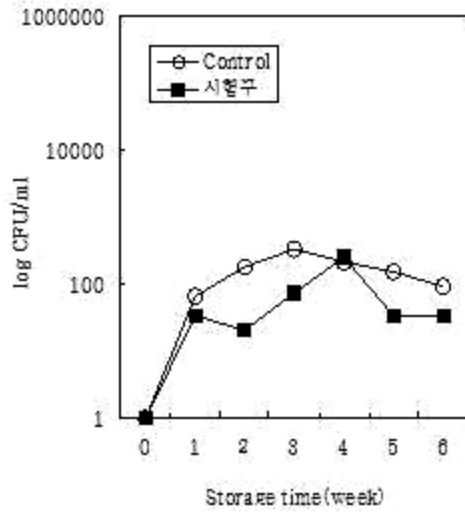
(가)



(나)



(다)



(라)

그림 9. 각 지역별 저장기간에 따른 꽃감의 곰팡이 수
 (가) 중부대학교 (나) 영동군 영동읍
 (다) 영동군 상촌면 (라) 영동군 황간면

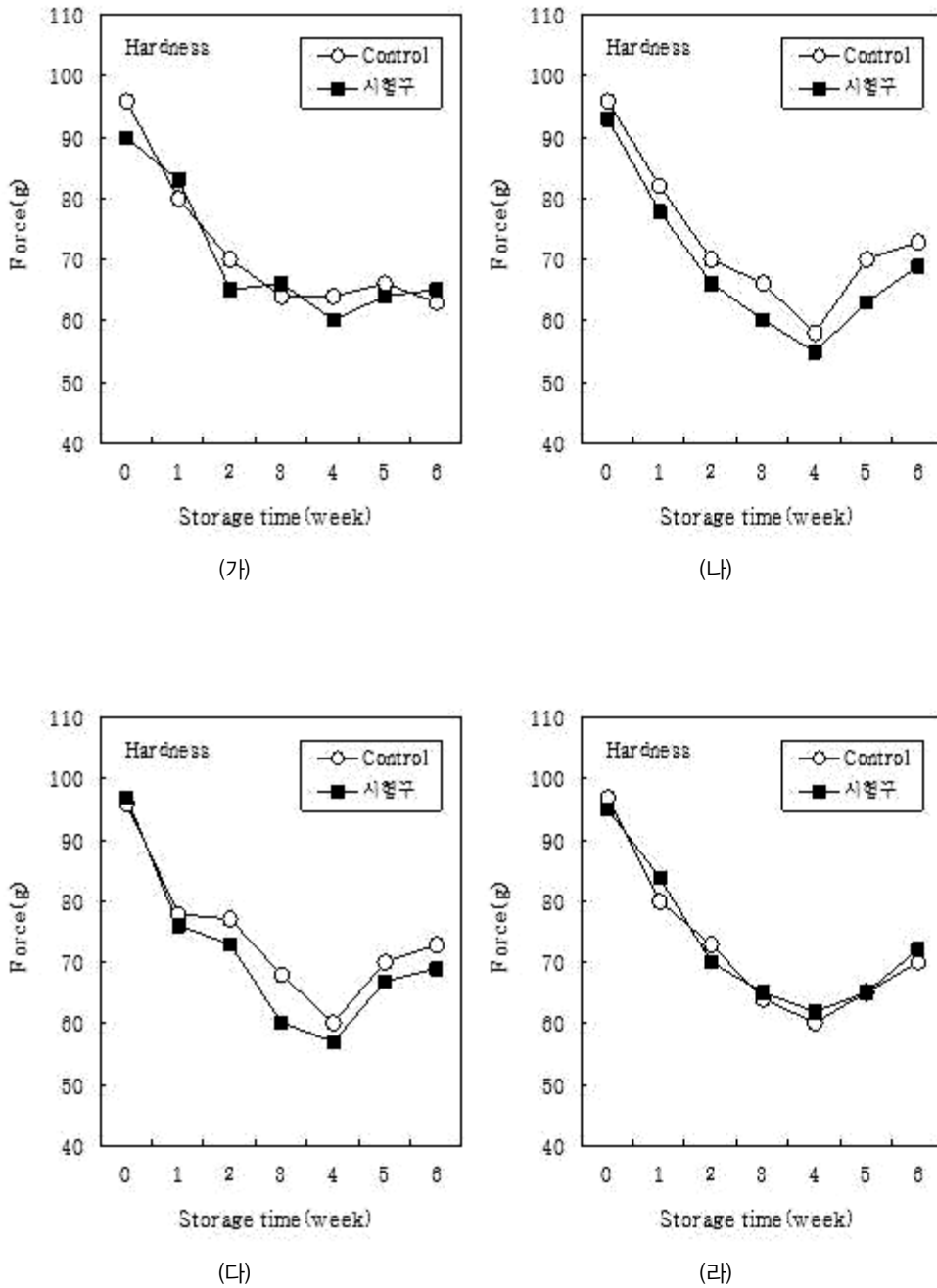
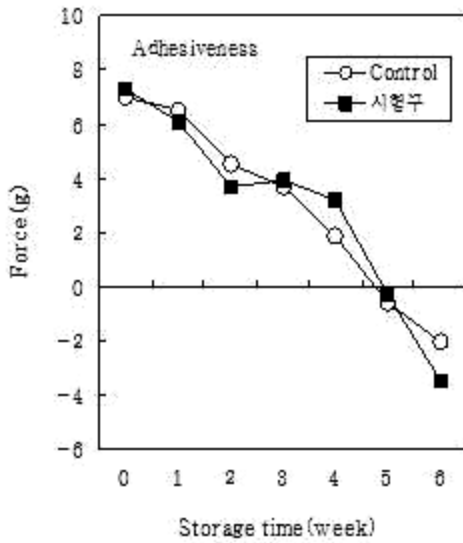
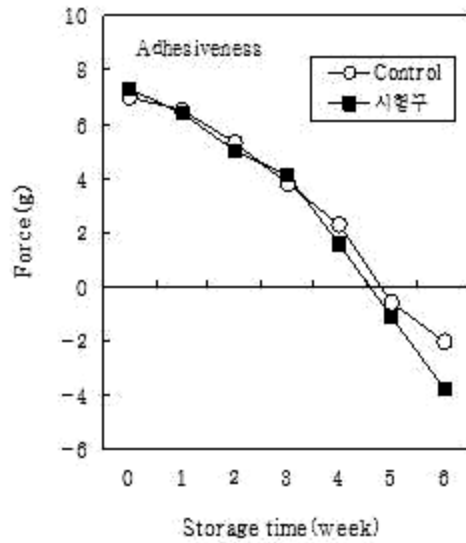


그림 10. 각 지역별 저장기간에 따른 꺾임의 조직감

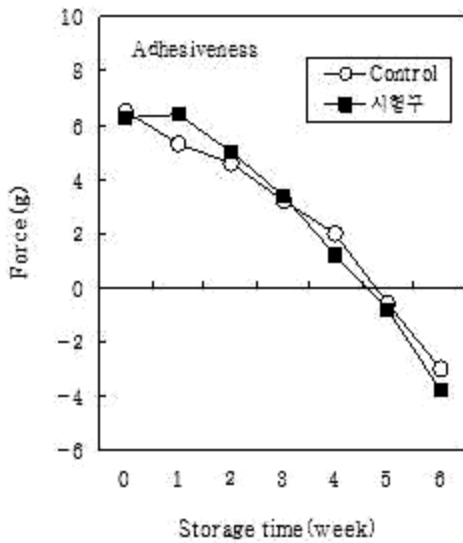
(가) 중부대학교 (나) 영동군 영동읍
 (다) 영동군 상촌면 (라) 영동군 황간면



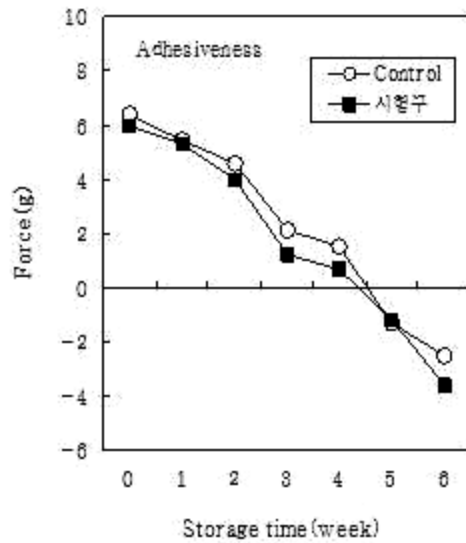
(가)



(나)



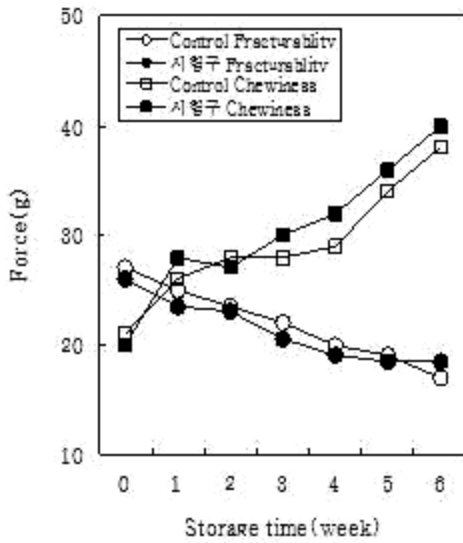
(다)



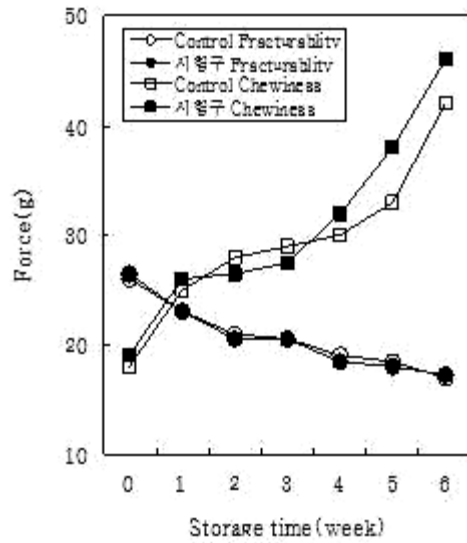
(라)

그림 10. 계속

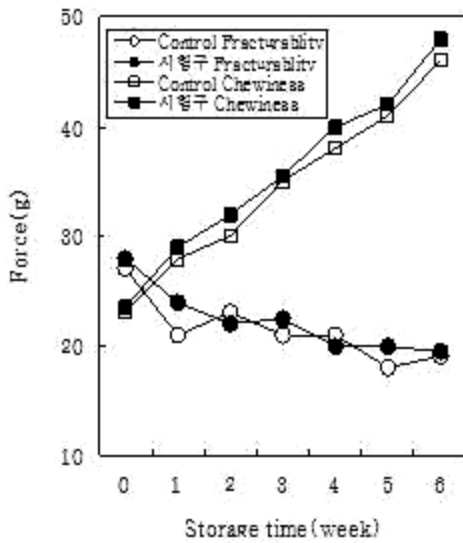
- (가) 중부대학교
- (나) 영동군 영동읍
- (다) 영동군 상촌면
- (라) 영동군 황간면



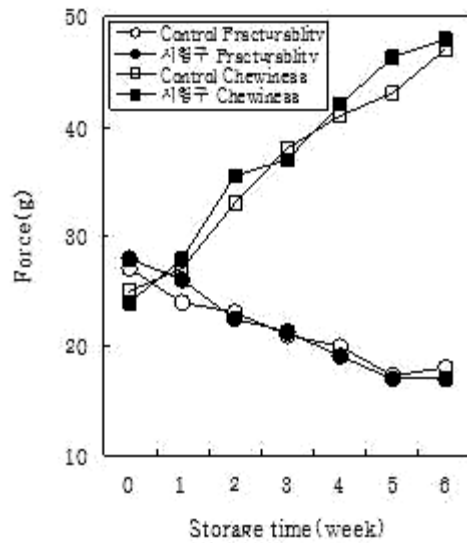
(가)



(나)



(다)



(라)

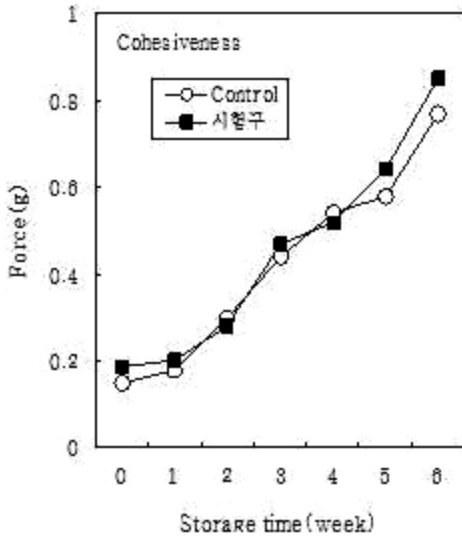
그림 10. 계속

(가) 중부대학교

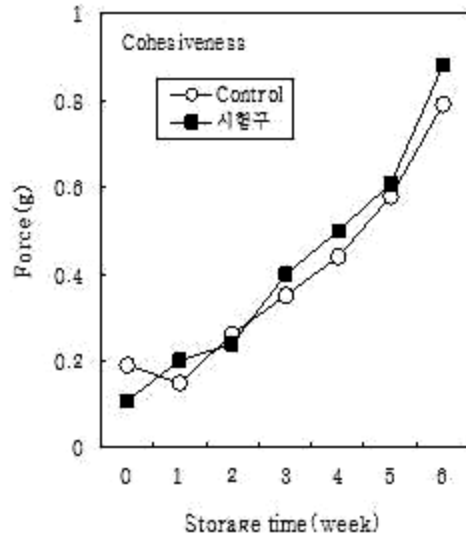
(나) 영동군 영동읍

(다) 영동군 상촌면

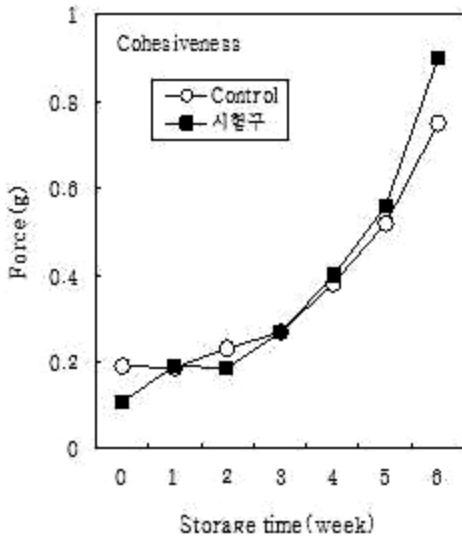
(라) 영동군 황간면



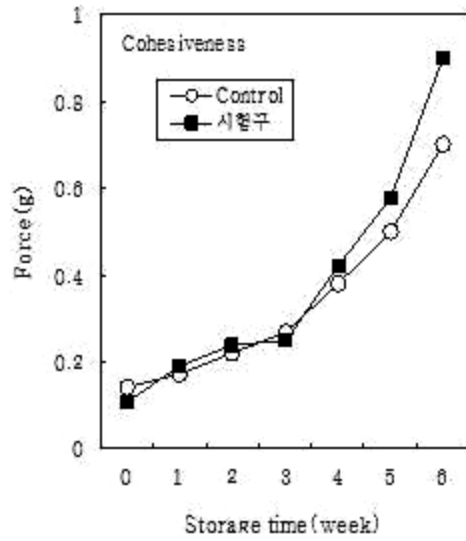
(가)



(나)



(다)



(라)

그림 10. 계속

(가) 중부대학교

(나) 영동군 영동읍

(다) 영동군 상촌면

(라) 영동군 황간면

○ 꽃감 건조기간에 따른 세균 수는 14일 가량 세균 수가 증가하다가 감소하거나 약간 증가하였다. 이는 날씨의 영향으로 기온이 낮아 세균의 증가가 느려졌거나, 중부대의 경우 곰팡이수의 증가로 인해 세균의 수가 감소하였을 것이라고 판단된다(그림 8).

○ 꽃감 건조기간 중 곰팡이 수의 변화는 전반적으로 대조구보다 시험구의 곰팡이 수가 더 적은 편이며, 중부대 온실의 경우 온실 내의 습도가 높아 건조 환경이 좋지 않았기 때문에, 다른 지역에 비해 곰팡이의 수가 높게 나타났다.

○ 감의 건조 기간이 증가 할수록 중부대 대조구의 곰팡이의 수는 기하학적으로 증가 하였으며, 중부대 시험구의 경우 중부대 대조구의 영향으로 인하여 오염되어 곰팡이 수가 증가하였을 것이라고 사료된다(그림 9).

○ 꽃감의 건조 기간중 꽃감의 조직감을 살펴보면 꽃감이 경도는 저장 기간 4주까지 감소하다가 4주 이후부터 다시 증가하는 경향을 보였다. 이는 반건시의 단계를 넘어서 건시 단계로 되는 과정으로 판단되어진다(그림 10).

○ 감의 파쇄성은 건조 과정이 길어질수록 낮은 값을 나타내었다. 이는 건조에 따른 감 내부에서의 당분의 용출에 의한 점성이 증가함으로써 상대적으로 파쇄성이 약한 것으로 사료된다.

○ 꽃감 건조 중 꽃감의 부착성은 감을 탈피한 직전인 생과육이었을 때 가장 낮은 값을 나타내었다. 건조 기간 중 응집성은 건조 초기 가장 낮은 값을 나타내다가 건조가 증가할수록 조금씩 증가하는 것으로 나타났다.

○ 씹힘성 또한 건조 기간이 길어질수록 높은 값을 나타내었는데 이는 응집성의 변화와 비례하는 것으로 나타났다.

IV. 기대효과

- 환경 친화형 꽃감 생산을 위한 기반 기술 확립
- 미생물 유래 환경 친화형 살포제의 개발 기반 기술 확립
- 미생물 유래 환경 친화형 살포제 개발 보급에 따른 꽃감 최종 소비자들의 신뢰성 증대를 통한 국내 특화 상품의 대외 경쟁력 제고
- 꽃감 생산에서 발생하는 미생물 오염의 주 원인균의 구명을 통한 유사한 형태의 농산물 가공의 문제점 해결을 위한 기초 자료 제공
- 생물농약 개발을 위한 유용 미생물 자원 및 유전자원의 확보

참고문헌

1. 김영배, 이종석, 임병선. 1995. 뽕은감 저장가공 이용 실태조사. 원예연구소 감 이용 확대방안 연구보고서. 15~31.
2. 김종국, 강우원, 오상룡, 김준한, 한건희, 문혜경, 최종욱. 2004. 전국 유명 산지별 전통 꽃감의 품질특성비교. *J Korean, SocFood SciNutr.* 33(1). 140~145.
3. 오상룡. 2002. 꽃감의 고품질과 기술개발. 한국식품저장유통학회. 제20차 학술발표대회 특별강연 초록집. 41~47.
4. 김지강, 김영배, 장현세. 1993. 꽃감 건조방법 개선시험. 원예시험장연구보고서. 344~349.
5. 지형준. 1997. 천연식물과 식용색소. *식품과 기술* 10: 55~61.
6. 김지강, 장현세, 정석태, 김영배. 1996. 가스치환포장 방법이 건시의 품질에 미치는 영향. *농업논문집* 38. 309~914.
7. 지강, 장현세, 김영배, 김정호. 1993. 원적외선을 이용한 건시의 건조방법개선. *농업과학논문집* 35. 766~770.
8. 이상대, 이명환, 이현욱. 1994. 꽃감 제조시 건조방법이 품질변화에 미치는 영향. *농업과학논문집* 36. 699~704.
9. 홍은영, 김영찬, 이창호, 강우원, 최종욱, 정신교. 2001. 꽃감의 제조 및 저장중 미생물상의 변화. *Korean, J. PostharvestSci. Technol.* 8. 4. 374~378.
10. An BJ, Lee JY, Park TS, Pyeon JR, Bae JH, Song MA, Baek EJ, Park JM, Son JH, Lee CE, Choi IK. 2006. Antioxidant activity and whitening effect of extraction condition in *Curcuma longa* L. *Korean J Medicinal Crop Sci* 14: 168~172.
11. Andrew MA, Matthew SM, Ram SM. 2000. Isolation of curcuma from tumeric. *J Chem Educ* 77: 359~362.
12. Bajpai VK, Dung NT, Kwon OJ, Kang SC. 2008. Analysis and the potential applications of essential oil and leaf extracts of *Silene armeria* L. to control food spoilage and food-borne pathogens. *Eur Food Res Technol* 227: 1613~1620.

13. Buchanan RL, Shepherd AJ. 1981. Inhibition of *Aspergillus parasiticus* by thymol. *J Food Sci* 46: 976~977.
14. Choi HY, Han YS. 2003. Isolation and identification of antimicrobial compound from Dansam (*Salvia miltiorrhiza* Bunge). *J Food Sci Nutr* 32: 22~28.
15. Davidson PM, Parish ME. 1989. Methods for testing the efficacy of food antimicrobials. *Food Technol* 43: 148~155.
16. Ferreira LAF, Henriques OB, Andreoni AAS, Vital GRF, Campos MMC, Harbermehl GG. 1992. Antivenom and biological effects of ar-tumerone isolated from *Curcuma longa* zingiberaceae. *Toxicon* 30: 1211~1218.
17. Frattini C, Bicchi C, Nano GM. 1977. Volatile flavor components of licorice. *J Agric Food Chem* 25: 1238~1242.
18. Geoffrey NR, Amitahb C, Muraleedharan GN. 1998. Novel bioactivities of *Curcuma longa* constituents. *J Nat Prod* 61: 542~545.
19. Hwang JS, Han YS. 2003. Isolation and identification of antimicrobial compound from Mordan bark (*Paeonia suffruticosa* ANDR). *J Korean Soc Food Sci Nutr* 32: 1059~1065.
20. Kang WS, Kim JH, Park EJ, Yoon KR. 1998. Antioxidative property of turmeric (*Curcuma Rhizoma*) ethanol extract. *Korean J Food Sci Technol* 30: 226~271.
21. Kim IH. 1990. The status of Korean food additives production usage and foreign countries. *J Korean Soc Food Nutr* 19: 519~528.
22. Kim KH. 1999. Isolation and identification of antimicrobial compounds from danelions and plantains and their effects when added to processed foodstuffs. PhD Dissertation. Sookmyung Women's University, Seoul. p 90~98.
23. Kim KS, Choung MG, Park SH. 2005. Quantitative determination and stability of curcuminoid pigment from turmeric (*Curcuma longa* L.) root. *Korean J Crop Sci* 50: 211~215.
24. Kim SI, Han YS. 1997. Isolation and identification of antimicrobial

- compound from Sancho (*Zanthoxylum Schinifolium*). *Korean J Soc Food Sci* 13: 56~63.
25. Kim SJ. 1998. Inhibitory effect of green laver on the growth of food spoilage microorganism and identification of antimicrobial compounds. MS Thesis. Sookmyung Women's University, Seoul.
26. Lee KA. 1999. Effect of wild plants addition on the shelf-life and characteristics of rice cake. MS Thesis. Sookmyung Women's University, Seoul. 53~61.
27. Lee SY, Song EJ, Kim KBWR, Yoon SY, Kim SJ, Lee SJ, Hong YK, Lim SM, Ahn DH. 2009. Antimicrobial activity of ethanol extract from *Sargassum thunbergii*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 38: 502~508.
28. Lee YK. 1995. Identification and antimicrobial activity of cinnamon and clove extracts on food spoilage microorganisms. PhD Dissertation. Sookmyung Women's University, Seoul.
29. Lim MK, Kim LM. 2001. Antimicrobial activity of methanol extract from *Soibirhym* (*Portulaca oleracea*) against food spoilage or foodborne disease microorganisms and the composition of the extract. *Korean J Soc Food Cookery Sci* 17: 565~570.
30. Mastelic J, Jerkovic I, Mesic M. 2006. Volatile constituents from flowers, leaves, bark and wood of *Prunus mahaleb* L. *J Flavour Fragr* 21: 306~313.
31. Masuda T, Isobe T, Jito A, Nakatani N. 1992. Antioxidative curcuminoids from rhizomes of *Curcuma xanthorrhiza*. *J Phytochem* 31: 3645~3649.
32. Montes-Belmont R, Carvajal M. 1998. Control of *Aspergillus flavus* in maize with plant essential oil and their components. *J Food Prot* 61: 616~619.
33. Moon, K.D., Kim, J.K., Kim, J.H. and Oh, S.L. 1995. "Studies on valuable components and processing of persimmon flesh and peel." *KoreanJ.Dietaryculture*. 10: 321~326.
34. Morimoto M, Fujii Y, Komai K. 1999. Antifeedants in Cyperaceas: coumaran and quinones from *Cyperus* spp. *J Phytochem* 51: 605~608.

35. Negi PS, Jayaprakasha GK, Jagan Mohan Rao L, Sakariah KK. 1999. Antibacterial activity of tumeric oil: A byproduct from curcumin. *Agric Food Chem* 47: 4297~4301.
36. Park UY, Kim SH, Kim JH, Kim YG, Chang DS. 1995. Purification of antimicrobial substance for the extract from the root bark of *Morus alba*. *J Fd Hyf Safety* 10: 225~230.
37. Russell LR. 1988. High performance liquid chromatographic separation and spectral characterization of the pigments in tumeric and anatto. *J Food Sci* 53: 1823~1826.
38. Ryu GY, No KH, Ryu SR, Yang HS. 2005. Study of separation and analysis method an effective component from UlGeum (*Curcuma longa*) and a contained curcumin as product of national and partial region cultures. *Appl Chem* 9: 57~60.
39. Shin DW, Kim MS, Han JS. 1997. Antimicrobial effect of ethanol extracts from some medicinal herbs and their fractionates against food-borne bacteria. *Korean J Food Sci Tecnol* 29: 808~816.
40. Sim CJ, Lee GH, Jung JH, Yi SD, Kim YH, Oh MJ. 2004. Isolation and identification of antimicrobial activity substances from *Rhodiola sachlinensis*. *Kor J Food Preserv* 11: 63~70.
41. Speck ML. 1984. *Compendium of methods for the microbiological examination of foods*. 2nd ed. American Public Health Association, Washington, DC, USA.
42. Yin MC, Cheng WS. 1998. Inhibition of *Aspergillus niger* and *Aspergillus flavus* by some herbs and spices. *J Food Prot* 61: 123~125.
43. Yun SM, Jang JH, Lee JS. 2007. Isolation and identification of an antibacterial substance from sea mustard, *Undaria pinnatifida*, for *Streptococcus mutans*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 36: 149~154.
44. Ahn CS, Obendorf SK. 2006. GC-MS analysis of dyes extracted from turmaric. *Fibers and Polymers* 7: 158~163.
45. Codagan JIG, John B, MacDonald JF, Rhodes PH. 1996. *Dictionary of*

- organic compounds. 6th ed. Chapman & Hall, New York, USA. Vol 3, 2216.
46. J.S.Im, M.H.Lee. 2007. Physicochemical compositions of raw and dried *wolha persimmons*. *KoreanJ.Foodpreserv.*14,(6): 611~616.
47. Kokubun T, Harborne JB, Eagles J, Waterman PG. 1995. Dibenzofuran phytoalexins from the sapwood of *cotoneaster acutifolius* and five related species. *J Phytochem* 38: 57~60.
48. Lee HJ, Park SY, Lee OK, Jo HJ, Kang HY, Choi DH, Khan M. 2008. Benzofurans and sterol from the seeds of *Styrax obassia*. *Chem Nat Comp* 44: 435~439.
49. Samson RA, HadlokR, StolkAC. 1977. A taxonomic study of the *Penicillium chrysogenum* series. *Antonievian Leeuwenhoek* 43(2): 169~175.

