석류 외과피의 항균 특성과 석류 외과피 소금의 품질 특성

Antimicrobial Characteristics of pomegranates pericarp and quality Characteristics of pomegranates pericarp salt

이화영, 김상순

Hwa-Young Lee, Sang-Soon Kim

단국대학교식품공학과

Department of Food Engineering, Dankook University, Cheonan, Chungnam 31, 116, Republic of Korea

김 상 순

Correspondence to

Department of Food Engineering, Dankook University, Cheonan, Chungnam 31116, Republic of Korea
Phone: +82-41-550-3564
E-mail: ssk@dankook.ac.kr

서론

국내 농식품 부산물 발생량은 연간 6,300천 톤 이상으로 현재까지 부산물은 대부분 버려지고 있으며 한 해 버려지는 음식 쓰레기가 10조원을 상회하여 이에 따른 처리 비용이 상당 부분 발생한다고 알려져 있다. 지구의 에너지 자원을 비롯한 생물자원은 나날이 고갈되어가기에 가정 및 업소, 공장에서 재활용이 권장되고 있는 실정이다. 농산물 및 그 가공품의 부산물인 잎, 씨, 박, 껍질 등은 자체의 천연생리활성 물질을 함유하고 있어 다시 활용된다면 충분히 경제성이 있는 기능성 제품으로서 개발 가능성이 있다 (4). 국내외에서 이들 부산물의 활성과 그 성분에 대한 여러 연구가 이루어져왔으며 산업적으로 이용되고 있는 예로는 쌀겨, grape fruit 추출물, 포도씨 추출물과 대두박 및 사료로서 녹차박, 사과박을 비롯한 일부 과실가공 부산물이 있다 (4). 따라서 버려지는 부산물에 대하여 이들이 갖고 있는 유용한 가치를 활용, 접목한 연구가 더 활발해진다면, 버려지는 부산물의 양도 줄이면서, 원하는 가치도 얻을 수 있는 일석이조의 효과를 가질 수 있을 것이다.

석류(pomegranate; *Punica granatum* L.)는 석류나무과의 낙엽 소교목으로 지름 6~8cm에 둥근 모양이다. 단단하고 노르스름한 껍질이 감싸고 있으며, 과육 속에는 많은 종자가 있다 (7). 석류의 주요 원산지는 이란, 이스라엘, 터키, 그리스, 이탈리아, 스페인으로 현재 히말라야 주변의 인도와 중국을 거쳐 일본에서도 재배되고 있다. 우리나라에서는 주로 전라남도 고흥군에서 과수원 형태로 재배되고 있으며 재배 품종은 그 맛에 따라 신석류 (신맛이 강한 산과), 단석류 (단맛이 강한 감과)로만 구분되고 있다 (7). 현재 우리나라에서 생산되는 석류는 생산량도 많지 않고 당도가

낮아 생과 또는 일부 차나 음료 등에 사용되고 있으며, 대부분은 이란, 미국, 파키스탄, 네팔, 우즈베키스탄에서 수입되고 있다 (1)

석류 추출액에는 항균 및 항바이러스 작용, 항암작용 Anthocyanin과 Phenol화합물 등을 포함한 플라보노이드 성분이 풍부한 것으로 알려져 있고 석류 과실속의 유기산 종류는 citric acid, tartaric acid, malic acid가 포함되어 있다. 주 유기산은 citric acid이고 비타민 B1과 나이신의 함량 이 많고 총 산함량이 높아 당산비가 낮다. 석류에는 estrone, estradiol, estrogenic compounds와 같은 여성호르몬 유사물질 등의 기능성 성분이 주목받으면서 석류 주스의 섭취가 증가하고 있다 (3). 석류에 함유된 phyto-estrogen은 섭취 후 체내에서 적합한 여성 호르몬으로 전환되며, 석류 씨앗에 다량의 estrogen이 함유되었다는 연구결과가 보고된 이래 최근 영국, 스웨덴, 일본 등의 중년 여성들에게 석류가 아주 귀중한 생명의 과실로 인정받고 있다. 또한, 석류는 여성의 폐경 질환 완화, 유방암 및 자궁암 예방, 강력한 동맥 경화성의 병반 분해에 유효하며 항산화 능력이 녹차의 4배, 포도의 10배 정도로 보고된다 (1). 실제 석류는 식약처장이 인정한 기능성 원료로 갱년기 여성 건강, 체지방감소의 효능을 가지고 있으며 실제 기능성제품에서 석류 추출물, 석류 농축액, 발효식초석류 복합물 형태의 원재료로 사용되고 있다.

석류 껍질은 옛날부터 촌충의 구제, 설사, 이질, 구내염, 장출혈에 효과가 있는 것으로 알려져 한약재로 쓰여왔다. 석류 껍질은 과즙보다 폴리페놀, 식물성 에스트로겐 함량과 항산화 활성이 높은 것으로 알려져 있으며, 항염, 항감염, 항암, 항알레르기와 혈당 저하 효과가 있는 것으로 보고되었다 (8). 또한 석류껍질과 석류껍질 추출물은 화학적으로 생성되는 유리기를 소거하는 상당한 능력이 있으며 산성화로 발생하는 각종 생리 질환(만성질환, 2형 당뇨병, 동맥경화증 및 심혈관질환 등)과 암을 포함하는 염증 질환의 넓은 범위에서 보호 효과와 억제 효과를 매개할 가능성이 크다 (4). 그 외에도 알레르기 반응에 있어 칼슘 유입을 억제해 인간호염구의 탈과립 억제효과, 이상지질혈증 개선효과가 있다고 보고되었다 (8).

천일염은 태양열과 바람 등 자연을 이용하여 해수를 저류지로 유입하여 바닷물을 농축시켜 염의 결정으로 석출시킨 소금이다. 천일염은 92.4~94.4 %의 NaCl과 Ca, K, Mg 및 S와 같은 무기질도 다량 함유하고 있다. 천일염의 종류는 염전의 결정지 바닥 소재에 따라 크게 장판염, 토판염 그리고 타일염으로 나눌수 있다 (5). 장판염은 가소성소재를 이용한 장판을 바닥재로 사용하여 만든 천일염을 말하고 토판염은 갯벌을 단단하게 다져서 만든 바닥 위에서 만든 천일염을 말하며 타일염은 타일이나 옹기 등 바닥재를 사용하여 만든 천일염을 말한다 (6).

천일염의 효과에 대한 여러 연구가 보고된다 있으며 그 중 소금이 마우스에서 고형암의 성장과 면역활성 및 지질산화에 미치는 영향에 관한 연구에서는 정제염에 비해 천일염이 종양생성 및 지질과 산화물 생성은 억제시키고 면역 활성을 증가시킨다고 보된 바 있다. 소금의 종류에 따른 과산화효과와 보돌연변이성에 대해 비교 연구에서는 천일염이 과산화물 생성을 억제하고 항돌연변이 효과가 나타났다고 보고하였다. 김치의 경우도 소금의 종류에 따라 암 예방 효과 및 항암 가능성이 다른데 천일염은 정제염에 비해 우수한 기능을 가지고 있으며 숙성중 산도의 변화 및 총균수에 대한 생육양상 역시 천일염이 김치 발효에 효과적인 것으로 보고되었다 (2).

본 논문에서는 석류 부산물 중, 폴리페놀을 포함한 생물학적 활성 성분 함유량이 높은 석류 외과피의 폴리페놀 유무를 확인, 석류 외과피 항균활성을 확인실험을 진행하여, 석류 외과피의 항균특성, 폴리페놀 함유량을 확인하였다. 해당 여과액을 천일염에 적용시켜 폴리페놀을 함유한 석류 외과피 소금을 제조하고 마찬가지로 품질 특성을 실험을 통해 확인했다. 이를 통해 과일 부산물이 갖는 고부가가치인 폴리페놀을 함유하는 소금 연구에 대한 방향을 제시했다.

재료 및 방법

2.1 석류 외과피 추출 방법

2.1.1. 석류 외과피 냉동

석류 외과피는 캘리포니아산 생 석류를 구입하여, 외피, 내피, 과육으로 분리한 후 외피를 실험에 사용하였다. 석류는 김치냉장고(Samsung SKR1773G, Korea)에서 -23 °C로 동결시킨 후, 분쇄하는 전처리 과정을 거쳤다.

2.1.2. 석류 외과피 추출액 제조

석류 외과피 추출액은 80% ethanol 또는 80% methanol로 나누어 추출을 진행하였다. 분쇄한 석류외과피 20 g을 100 ml의 용매에 적셨다. 샘플은 37 °C, 24시간, 200 rpm으로 shaking incubator (JEIO TECH IST-3075, Seoul, Korea)에서 배양한다. 이후 샘플은 상등액을 취하여 총 페놀함량 시험을 진행하고, 4 °C에서 보관하였다.

2.1.3. 석류 외과피 농축액 제조

석류 외과피 농축액은 rotary evaporator (EYELA N-1300 and SB-1300 Tokyo, Japan), Electric aspirator (JEIO TECH VE-11, Seoul, Korea), Jug Blender (Braun JB 3060, Germany) 다음의 기기들을 사용하여 취득하였다. 농축액도 추출액과 마찬가지로 ethanol과 methanol을 각각 추출 용매로 사용하였다.

먼저 water bath의 온도를 45 °C로 설정한 뒤 석류 외과피 25 g에 80 % ethanol (혹은 80 % methanol) 250 ml를 믹서기에 넣어 갈아준다. 이때 3분 믹싱, 2분 휴식, 3분 믹싱, 2분 휴식, 2분 믹싱의 과정을 거친다. 이를 Filter paper (Grade No.2, Whatman 1002-110)를 깔고 진공을 걸어 여과한 다음, 총 250 ml로 volume을 맞춘다. 여과물은 농축을 진행하여 최종 volume이 25 ml가 되도록 한다. 추출액은 냉동보관하고, 항산화, 항균력 측정, 소금 제조에 사용한다 (석류 외과피 : 80 % ethanol : 80 % methanol : final volume = 1:10:10:1).

2.2 석류 외과피 항산화 측정

2.2.1. Folin–Denis법

추출액(2.1.2)과 농축액(2.1.3)을 모두 사용하여 석류외과피에서의 총 페놀함량을 측정하여, 페놀의 유무를 확인하였다. 각 추출액(혹은 농축액) 200 μl은 600 μl sodium carbonate (2 %) (Thermo scientific, UK)와 30 μl Folin-Ciocalteu(50 %) reagent (Thermo scientific, UK)를 추가 후, 670 μl Distilled water(D.W.)와 함께 vortexing해준다. 완성된 혼합물은 실온에서 30분 반응 후, UV-Vis spectrophotometer (Mecasys, Optizen 2120UV, Daejon, Korea)로 765 nm에서 흡광도를 측정한다. 본 실험에서는 Blank는 추출액(농축액) 대신 D.W.를 200 μl 첨가하여 측정하였다.

2.3 석류 외과피 항균력 확인

2.3.1. 이용 균주

석류 외과피의 항균력을 확인하기 위해 그람 음성균인 *E. coli* O157:H7 43895, *Cronobacter sakazakii* KCTC 2949와, 그람 양성균인 *Bacillus cereus* ATCC 14579, *Staphylococcus aureus*를 이용하여 실험을 진행하였다.

Tryptic soy agar (TSA; KisanBio, Seoul, Korea)배지에서 배양된 균주의 하나의 colony를 따서 Tryptic soy broth (TSB; BD Bacto™, Sparks, MD, USA)배지에서 *E. coli* O157:H7 43895는 37 °C, *Bacillus cereus* ATCC 14579는 35 °C에서 24시간 배양 후, 5000 rpm, 20분 원심분리를 진행하여 배양된 균의 pellet를 얻었다. 이후 *E. coli* O157:H7 43895는 Peptone water(PW; BD Difco™, Sparks, MD, USA) 0.2 %) 9 ml에 resuspension한 7 log CFU/ml *E. coli* O157:H7 43895를 사용하였고, *Bacillus cereus* ATCC 14579는 Peptone water 9 ml에 resuspension한 7 log CFU/ml *Bacillus cereus* ATCC 14579를 사용하였다.

2.3.2. 석류 외과피의 항균력 측정

석류 외과피의 항균력을 확인하기 위해 Agar Well Diffusion Assay (AWDA)법과 Disk diffusion 방법 (디스크 확산법)을 사용하였다. 모두 석류 외과피 Ethanol, Methanol 농축액(2.1.3)을 이용하여 항균력을 TSA배지로 확인하였다.

AWDA법은 petri dish에 resuspension한 7 log CFU/ml *E. coli* O157:H7 43895, 7 log CFU/ml *B. cereus*를 100 μl씩 분주하고, TSA 배지를 Autoclave 처리하여 각각 20 ml씩 분주한 후 조심히 흔들어서 섞어준다(Pour법). 배지가 굳으면 8 mm cork borer로 3개의 well을 파고, 각각의 well에 Ethanol, Methanol 농축액, Control(생수)를 45 μl씩 분주한 후 *E. coli* O157:H7 43895는 37 °C, *Bacillus cereus* ATCC 14579는 35 °C에서 24시간 incubator에서 배양한다. 배양 후 나타나는 투명한 환의 크기 지름을 측정하여 평균 ± 표준편차로 표현한다.

Disk diffusion 방법은 paper disc 주위로 생성된 clear zone의 지름을 측정하여 도출하였으며, 지름은 Calipers를 사용하여 mm 단위로 측정하였다. TSA에 resuspension한 7 log CFU/ml *E. coli* O157:H7 43895, 7 log CFU/ml *C. sakazakii* KCTC 2949, 7 log CFU/ml *B. cereus*, 8 log CFU/ml *S. aureus* 100 μl씩 분주하고 spreading해준다. 이후 Ethanol, Methanol, Control(생수)의 section을 나누어 각 section에 8 mm paper disc를 올려주었다. 그리고 각각의 paper disc 위에 Ethanol 농축액, Methanol 농축액, Control(생수)을 20 μl씩 분주 후, incubator에서 *E. coli* O157:H7 43895, *C. sakazakii* KCTC 2949, *S. aureus*는 37 °C, *B. cereus* ATCC 14579는 35 °C에서 24시간 배양하였다. 그 다음 paper disc 주변의 clear zone의 지름을mm단위로 측정하여 평균 ± 표준편차로 표현한다.

2.4 석류 외과피 소금의 제조

냉동한 석류 외과피(2.1.1) 세척한 뒤, 석류 외과피 100 g기준 300 ml 생수를 혼합한 후 (1 g:3 ml), 믹서기(DUPLEX DP-5800BL, China)를 이용하여 갈아주었다. 이 분쇄한 석류외과피 액을 면포에 걸려 여과액을 제조하였다. 불순물을 제거하기 위해 2~3분 볶은 천일염을 40 °C까지 식힌 후 준비하였다. 제조한 석류 외과피액 500 ml에 천일염 1200 g을 넣어 과포화용액을 제조하고 40 °C로 설정된 dry oven에 48시간 동안 건조하여 소금을 제조하였다. 이후 건조된 소금을 20 Mesh의 채반을 사용하여 석류외과피 소금 입자와 유효성분을 균일화시킨다.

2.5 석류 외과피 소금 항산화 측정

2.5.1. Folin–Denis 법

석류 외과피 소금의 총 페놀 함량을 천일염과 비교하여 측정하였다. 각각의 시료 10 g을 각각 취해 70 % Methanol 50 ml와 함께 교반하여 섞어준다. 그 후 Folin-Ciocalteu (Thermo scientific, UK) 2 ml를 첨가하고, 3분 후, 5 ml sodium carbonate (10 %)를 넣어 1 시간 동안 발색시켰다. 이후 UV-vis spectrophotometer (Mecasys, Optizen 2120UV, Daejon, Korea)로 760 nm에서 흡광도를 측정하였다. 만일 흡광도가 1을 초과한다면 증류수를 추가하여 희석 후, 흡광도 1 이하가 되도록 했다.

2.6 석류 외과피 소금 분석

2.6.1. 일반 세균 수

석류 외과피 소금, 천일염 각 2.5 g과 P.W. 22.5 ml를 stomacher bag에 넣고 Stomacher(BNFkorea, LS 700A, Korea)에서 3 분 균질화 해주었다. 이후 상층액 1 ml와 P.W. 9 ml로 한번 희석한 희석액 1 ml를 각각 일반 세균용 3M™ Petrifilm™에 분주하고 누름판으로 눌러 37 °C에서 24 시간 배양해주었다.

2.6.2. 색도

석류 외과피 소금을 막자와 막자사발로 분쇄하여 흰 종이 위에 넓게 깔아 Chroma meter (KONICA

MINOLTA, CR-400, Japan)으로 위치별 3 번 측정하였다. 실험 값은 L*, a*, b*의 평균±표준편차로 표현하였다.

2.6.3. pH

석류 외과피 소금과, 석류 외과피 여과액으로 제조하지 않은 천일염의 pH를 측정하여 유의미한 차이가 있는지 확인하였다. 각 시료 10 g을 D.W. 100 ml에 녹이고 Hotplate magnetic stirrer (Labtech, LMS-1003, Korea)를 사용하여 혼합 시킨다. 그 후 pH meter(OHAUS, STARTER2100, USA)를 이용하여 pH를 측정한다. 실험은 평균±표준편차로 표현하였다.

2.7 통계처리

실험 결과는 3회 반복 측정하여 평균±표준편차로 나타내었으며, 통계분석은 SPSS 26.0 (SPSS Inc, IBM) program을 이용하여 2개의 시료 사이의 통계분석을 위해 독립표본 T 검정을 실시하였으며, 3개 이상의 시료에 대해서는 다중범위 검정(Duncan's multiple range test)을 실시하였다. 각 시료 간의 유의성 검증은 $P<0.05$ 수준에서 하였다

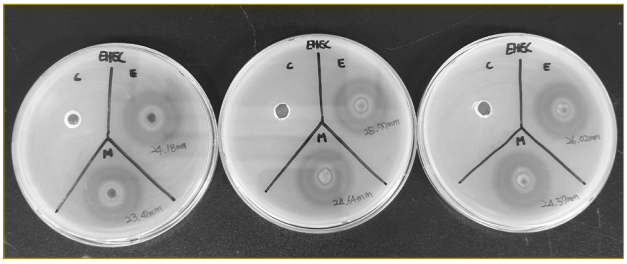
결과 및 고찰

3.1 항균력 확인

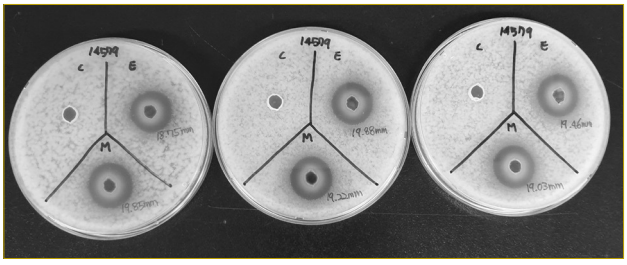
3.1.1. AWDA법

AWDA법은 배지의 well 주위로 생성된 가장 바깥쪽 clear zone의 지름을 측정하여 도출하였으며, 지름은 Calipers를 사용하여 mm 단위로 측정하였다. petri dish에 resuspension한 7 log CFU/ml *E. coli* O157:H7 43895, 7 log CFU/ml *B. cereus*를 100 μl씩 분주하고, TSA 배지를 Autoclave 처리하여 각각 20 ml씩 분주한 후 조심히 흔들어서 섞어주었다 (Pour법). 배지가 굳으면 8 mm cork borer로 3개의 well을 파고, 각각의 well에 Ethanol, Methanol 농축액, Control(생수)를 45 μl씩 분주한 후 *E. coli* O157:H7 43895는 37 °C, *B. cereus* ATCC 14579는 35 °C에서 24시간 incubator에서 배양한다. 그 다음 well 주변의 clear zone의 지름을 mm단위로 측정하였다. 실험은 3 반복 진행하였다.

E. coli O157:H7 43895 실험 결과, 석류 외과피 소금을 만들 때 사용되는Control(생수)의 경우, clear zone은 전혀 관찰되지 않았으나, Ethanol 농축액 (E)에서는 25.32±1.00 (mm), Methanol 농축액(M)에서는 24.20±0.69 (mm)로 clear zone이 관찰되었다 (그림 1). 해당 실험 결과(AWDA)를 통해 그람 음성균인 *E. coli* O157:H7 43895에 대해 석류 외과피의 항균력이 존재함을 알 수 있었다.



〈그림 1〉 7 log CFU/ml *E. coli* O157:H7 43895에 대한 석류 외과피 항균력 AWDA결과



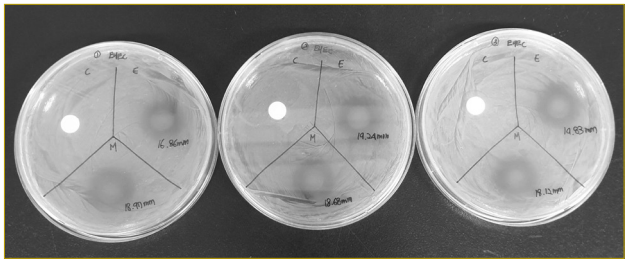
〈그림 2〉 7 log CFU/ml *Bacillus cereus* ATCC 14579에 대한 석류 외과피 항균력 AWDA결과

B. cereus ATCC 14579 실험 결과, 석류 외과피 소금을 만들 때 사용되는Control(생수)의 경우, clear zone은 전혀 관찰되지 않았으나, Ethanol 농축액 (E)에서는 19.36± 0.57(mm), Methanol 농축액(M)에서는 19.37±

0.43(mm)로 clear zone이 관찰되었다 (그림 2). 해당 실험 결과(AWDA)를 통해 그람 양성균인 *B. cereus* ATCC 14579에 대해 석류 외과피의 항균력이 존재함을 알 수 있었다.

3.1.2. Disk diffusion 법

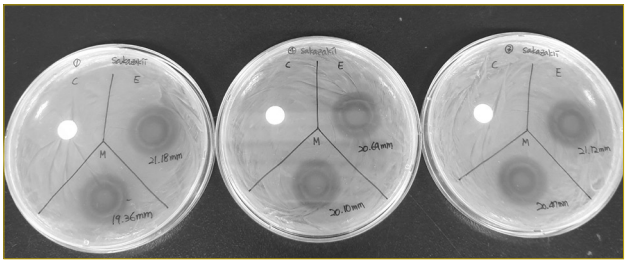
Disk diffusion 방법은 paper disc 주위로 생성된 가장 바깥쪽 clear zone의 지름을 측정하여 도출하였으며, 지름은 Calipers를 사용하여 mm 단위로 측정하였다. TSA에 resuspension한 7 log CFU/ml *E. coli* O157:H7 43895, 7 log CFU/ml *C. sakazakii* KCTC 2949, 7 log CFU/ml *B. cereus*, 8 log CFU/ml *S.aureus* 를 100 μl 씩 분주하고 spreading해준다. 이후 Ethanol, Methanol, Control(생수)의 section을 나누어 각 section에 8 mm paper disc를 올려주었다. 그리고 각각의 paper disc 위에 Ethanol 농축액, Methanol 농축액, Control(생수)을 20 μl씩 분주 후, incubator에서 *E. coli* O157:H7 43895, *C. sakazakii* KCTC 2949, *S. aureus*는 37 °C, *B. cereus* ATCC 14579는 35 °C에서 24시간 배양하였다. 그 다음 paper disc 주변의 clear zone의 지름을 mm 단위로 측정하였다. 실험은 3 반복 진행하였다.



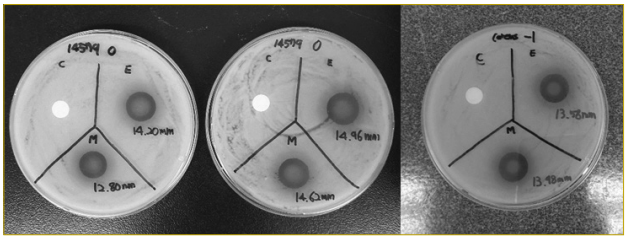
〈그림 3〉 7 log CFU/ml *E. coli* O157:H7 43895에 대한 석류 외과피 항균력 Disk diffusion 결과

E. coli O157:H7 43895 실험 결과, 석류 외과피 소금을 만들 때 사용되는Control(생수)의 경우, clear zone은 전혀 관찰되지 않았으나, Ethanol 농축액(E)에서는 18.64±1.57 (mm), Methanol 농축액(M)에서는 18.59±0.43 (mm)로 clear zone이 관찰되었다 (그림 3). 해당 실험 결과(Disk diffusion)를 통해 그람 음성균인 *E. coli* O157:H7 43895에 대해 석류 외과피의 항균력이 존재함을 알 수 있었다.

C. sakazakii KCTC 2949 실험 결과, 석류 외과피 소금을 만들 때 사용되는Control(생수)의 경우, clear zone은 전혀 관찰되지 않았으나, Ethanol 농축액 (E)에서는 18.64±1.57 (mm), Methanol 농축액(M)에서는 18.59±0.43 (mm)로 clear zone이 관찰되었다 (그림 4). 해당 실험 결과(Disk diffusion)를 통해 그람 음성균인 *C. sakazakii*에 대해 석류 외과피의 항균력이 존재함을 알 수 있었다.



〈그림 4〉 7 log CFU/ml *C. sakazakii* KCTC 2949에 대한 석류 외과피 항균력 Disk diffusion 결과

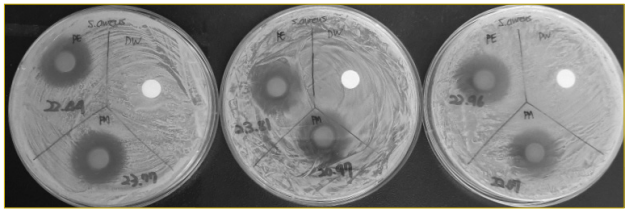


〈그림 5〉 7 log CFU/ml *Bacillus cereus* ATCC 14579에 대한 석류 외과피 항균력 Disk diffusion 결과

B. cereus ATCC 14579 실험 결과, 석류 외과피 소금을 만들 때 사용되는Control(생수)의 경우, clear zone은 전혀 관찰되지 않았으나, Ethanol 농축액(E)에서는 14.25±0.69 (mm), Methanol 농축액(M)에서는 13.63±0.92 (mm)로 clear zone이 관찰되었다 (그림 5). 해당 실험 결과(Disk diffusion)를 통해 그람 양성균인 *B. cereus*

ATCC 14579에 대해 석류 외과피의 항균력이 존재함을 알 수 있었다.

S. aureus 실험 결과, 석류 외과피 소금을 만들 때 사용되는Control(생수)의 경우, clear zone은 전혀 관찰되지 않았으나, Ethanol 농축액(E)에서는 23.07±0.69 (mm), Methanol 농축액(M)에서는 22.27±1.41 (mm)로 clear zone이 관찰되었다 (그림 6). 해당 실험 결과(Disk diffusion)를 통해 그람 양성균인 *S. aureus*에 대해 석류 외과피의 항균력이 존재함을 알 수 있었다.



〈그림 6〉 8 log CFU/ml *S. aureus*에 대한 석류 외과피 항균력 Disk diffusion 결과

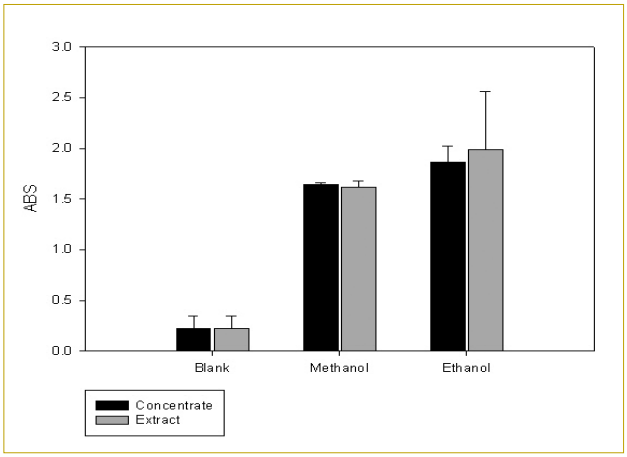
AWDA, Disk diffusion끼리 실험 결과 분석 시 clear zone은 그람 양성균인 *B. cereus* ATCC 14579, *S. aureus*에서 더 확실한 투명성(항균력)을 보였다. 그에 따라 석류 외과피는 그람 양성균에서 더 높은 항균력을 가진다고 예측된다.

3.2 항산화 확인

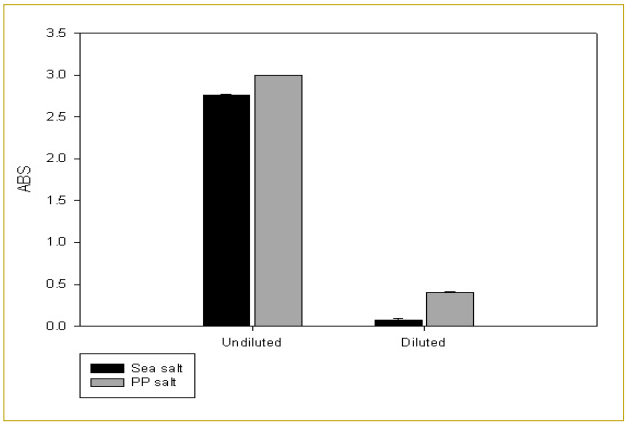
3.2.1. Folin-Denis 법

석류 외과피의 추출액(농축액)의 총 페놀함량 측정을 위해 Folin-Denis법을 사용하여 765 nm에서 흡광도를 측정하였다. 추출액(농축액)의 흡광도는 실험을 3반복하여 도출하였다.

석류 외과피 추출액(2.1.2)은 Folin-Denis 실험결과, Ethanol에서 1.99±0.57, Methanol에서 1.62±0.06, Blank는 0.22±0.13로, 유의성 검정 결과 Blank와 비교하였을 때 Ethanol 추출액, Methanol 추출액과 유의적인 차이($P<0.05$)가 있음을 확인하였다 (그림 7). 석류 외과피 농축액(2.1.3)은 Folin-Denis 실험결과 Ethanol에서 1.86±0.16, Methanol에서 1.64±0.02로 Blank 0.22±0.13로, 유의성 검정 결과, Blank, Ethanol 농축액, Methanol 농축액 서로에서 모두 유의적인 차이($P<0.05$)가 있음을 확인하였다. 추출액, 농축액 실험결과를 통하여 석류 외과피에는 페놀을 소유하고 있음을 확인하였다.



〈그림 7〉 석류 외과피 농축액, 추출액 Folin-Denis 결과



〈그림 8〉 석류 외과피 소금, 천일염 Folin-Denis 결과

완성된 석류 외과피 소금의 총 페놀함량을 측정하기 위해 추가적으로 Folin-Denis를 진행하였다. 석류 외과피 소금의 총 페놀 함량은 천일염과 비교하여 측정하였으며,

각각의 시료 10 g을 각각 취해 70 % Methanol 50 ml와 함께 교반하여 섞어준다. 그 후 Folin-Ciocalteu 2 ml를 첨가하고, 3분 후, 5 ml sodium carbonate (10 %)를 넣어 1시간 동안 발색시켰다. 이후 UV-vis spectrophotometer로 760 nm에서 흡광도를 측정하였다.

10배 희석으로 최대 흡광도가 1이 넘지 않는 것을 확인하였다. 또한 석류 외과피 소금의 흡광도는 0.40±0.01, 천일염은 0.08±0.02로, 유의성 검정 결과 두 샘플 간 유의적인 차이($P<0.05$)가 있음을 확인할 수 있었다 (그림 8). 이 결과를 통하여 석류 외과피 농축액과 추출액 뿐만 아니라, 석류 외과피로 제조된 석류 외과피 소금 또한 폴리페놀을 함유하고 있음을 알 수 있었다.

3.3 석류 외과피 소금 분석

3.3.1. 일반 세균 수

석류 외과피 소금, 천일염 2.5 g을 22.5 ml P.W.와 함께 균질화 해주었다. 이후 상층액 1 ml, 9 ml P.W.로 희석한 희석액 1 ml를 Petrifilm에서 37 °C, 24시간 배양해주었다.

실험 결과, 모든 petrifilm에서 일반 세균이 검출되지 않았다. 이는 높은 염농도로 인한 것으로 예측되며, 석류 외과피 소금은 식품에 적용하였을 때 일반 세균수로 인한 영향이 천일염과 비슷하게 미미할 것으로 예상된다.

3.3.2. 색도

석류 외과피 소금을 분쇄하여 위치별로 3번 측정 후, L*, a*, b*의 평균±표준편차로 표현하였다. 그 결과, L*는 68.73±0.26, a*는 4.29±0.09, b*는 21.41±0.05로 나타났다 (표 1).

표 1. 석류 외과피 소금의 색도 측정 결과

	1 반복	2 반복	3 반복	평균±표층편차
L*	68 .54	68 .55	69 .09	68 .73 ∓0.26
a*	4 .26	4 .21	4 .39	4 .29 ∓0.09
b*	21 .46	21 .42	21 .36	21 .41 ∓0.05

3.3.3. pH

석류 외과피 소금과, 석류 외과피 여과액으로 제조하지 않은 천일염 각 10 g을 D.W. 100 ml에 녹이고 pH meter를 이용하여 pH를 측정하였다.

pH 측정 결과, 석류 외과피 소금은 4.86±0.12, 천일염은 9.45±0.11로 나타났으며, 유의성 검정 결과 두 샘플 간 유의적인 차이($P<0.05$)가 있음을 확인할 수 있었다 (표 2).

표 2. 석류 외과피 소금과 천일염 pH 측정 결과

	1 반복(pH)	2 반복(pH)	3 반복(pH)	평균±표층편차
석류 외과피 소금	4 .99	4 .76	4 .84	4 .86 ±0.12 B
천일염	9 .35	9 .56	9 .44	9.45±0.11 A

*Different capital letterm eans sign ificant difference

결론

본 연구에서는 석류 외과피의 항산화와 항균력을 측정하기 위해 석류 외과피의 추출액 및 농축액을 ethanol과 methanol을 각각 추출 용매로 사용하여 제조하였다. 석류 외과피의 항균력을 측정하기 위해 농축액을 사용하였으며 그람 음성균인 *E. coli* O157:H7 43895와 그람 양성균인 *B. cereus* ATCC 14579를 이용하여 AWDA법을 진행하였고 그람 음성균인 *E. coli* O157:H7 43895, *C. sakazakii* KCTC 2949와 그람 양성균인 *B. cereus* ATCC 14579, *S. aureus* 를 이용하여 Disk diffusion 법을 진행하였다.

AWDA 법에서는 *E. coli* O157:H7 43895와 *Bacillus cereus* ATCC 14579 모두 석류 외과피 소금을 만들 때 사용되는 생수인 Control에서는 clear zone이 전혀 관찰되지 않았으나, 석류 외과피 Ethanol 농축액과 Methanol 농축액에서는 clear zone이 관찰되었다.

Disk diffusion 법에서는 그람 음성균인 *E. coli* O157:H7 43895와 *C. sakazakii* KCTC 2949 모두 석류 외과피 소금을 만들 때 사용되는 생수인 Control에서는 clear zone이 전혀 관찰되지 않았으나, 석류 외과피 Ethanol 농축액과 Methanol 농축액에서는 clear zone

이 관찰되었다. 그람 양성균인 *B. cereus* ATCC 14579와 *S.aureus* 모두 석류 외과피 소금을 만들 때 사용되는 생수인 Control에서는 clear zone이 전혀 관찰되지 않았으나, 석류 외과피 Ethanol 농축액과 Methanol 농축액에서는 clear zone이 관찰되었다.항균력 실험 결과 분석 시, clear zone은 그람 양성균인 *B. cereus* ATCC 14579, *S. aureus*에서 더 확실한 투명성(항균력)을 보였다. 그에 따라 석류 외과피는 그람 양성균에서 더 높은 항균력을 가진다고 예측된다.

석류 외과피의 항산화능을 확인하기 위해 석류 외과피 추출액과 농축액을 이용해 Folin-Denis를 진행하였다. 석류 외과피 추출액 Folin-Denis 실험 결과, 석류 외과피 Ethanol 추출액, Methanol 추출액은 Blank(D.W)와 비교하였을 때 유의적인 차이($P<0.05$)가 있음을 확인하였다. 석류 외과피 농축액 Folin-Denis 실험 결과, Blank(D.W), 석류 외과피 Ethanol 농축액, Methanol 농축액 서로에서 모두 유의적인 차이($P<0.05$)가 있음을 확인하였다. 따라서 석류 외과피 추출액과 농축액을 이용한 Folin-Denis를 통해 석류 외과피는 페놀을 소유하고 있음을 확인하였다.

완성된 석류 외과피 소금의 총 페놀 함량을 측정하기 위해 Folin-Denis를 진행하였다. 석류 외과피 소금의 총 페놀 함량은 천일염과 비교하여 측정하였으며 760 nm에서의 모두 흡광도가 1을 초과해 신뢰도가 낮은 결과라 판단하여, 기존 제조 용액을 증류수로 10 배 희석해 다시 측정하였다. 유의성 검정 결과 두 샘플 간 유의적인 차이($P<0.05$)가 있음을 확인할 수 있었으며 이 결과를 통하여 석류 외과피로 제조된 석류 외과피 소금 또한 폴리페놀을 함유하고 있음을 알 수 있었다.

석류 외과피 소금과 천일염과의 품질특성을 분석하기 위해 일반 세균 수, pH, 색도를 추가로 측정하였다. 일반 세균 수의 경우 모든 petri film에서 일반 세균이 검출되지 않았으며 이는 높은 염농도로 인한 것으로 예측된다. 따라서 석류 외과피 소금은 식품에 적용하였을 때 천일염과 비슷하게 일반 세균으로 인한 영향이 미미할 것으로 예상된다. pH는 석류 외과피 소금과 천일염으로 측정하였으며 유의성 검정 결과 두 샘플 간 유의적인 차이($P<0.05$)가 있음을 확인할 수 있었다.

본 논문에서는 식품 부산물인 석류 외과피의 고부가가치 성분 폴리페놀을 추출하여 항산화와 항균력을 함유하는 기능성 소금인 석류 외과피 소금을 제조하였다. 이와 같이 식품 부산물이 가진 유용한 가치를 활용하는 연구가 활발해진다면 식품 부산물의 폐기 과정에서 발생하는 환경 오염을 감소시키고 각 부산물에서 얻을 수 있는 유용한 기능성 성분을 식품에 적용할 수 있을 것이라 기대된다.

참고 문헌

1. Jin, S. Y. (2011). Study on antioxidant activities of extracts from different parts of Korean and Iranian pomegranates. *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*, *40*(8), 1063-1072.

2. Jung, H. O., Lee, J. J., & Lee, M. Y. (2008). The characteristics of cookie and muffin made with soybean paste powder and sun-dried salt. *Korean Journal of Food Preservation, 15*(4), 505-511.

3. Kim, M. S., Yun, S. H., Na, H. S., Park, H. J., Choi, G. C., Yang, S. I., & Lee, J. H. (2013). Chemical compositions and functional characteristics of Korean and imported pomegranate (Punica granatum L.). *Korean Journal of Food Preservation, 20*(3), 342-347.

4. Kim, S. O. (2023). Review of food upcycling in South Korea: regulation, limitation, and prospects. *Food Science and Biotechnology, 32*(1), 1-10.

5. Lee, J. J., Kim, A. R., Chang, H. C., & Lee, M. Y. (2009). Antioxidative effects of chungkukjang preparation by adding solar salt. *Korean Journal of Food Preservation, 16*(2), 238-245.

6. Na, J. M., Jin, Y. X., Kim, S. N., Kim, J. B., Cho, Y. S., Kim, K. Y., ... & Kim, S. Y. (2012). Comparison of the quality characteristics of radish by soaking using sun-dried salt and Leuconostoc starter. *Korean Journal of Food Preservation, 19*(6), 951-956.

7. Park, J. S., Chon, S. U., Moon, E. W., & Jeong, C. Y. (2016). Effects of polyphenol and anthocyanin contents of Punica granatum fruit parts on their antioxidant and anticancer activities. *Korean Journal of Food Preservation, 23*(4), 553-559.

8. Zhang, Y., Song, K. Y., Joung, K. Y., Shin, S. Y., & Kim, Y. S. (2017). Effect of pomegranate (Punica granatum L.) peel powder on the quality characteristics, retrogradation and antioxidant activities of sponge cake. *The Korean Journal of Food And Nutrition*, *30*(3), 578-590.