

## 천연항균제처리에 의한 과채류의 선도유지 및 병해방지에 관한 연구

— Grapefruit종자추출물로 부터 활성물질의 분리를 중심으로 —

조 성 환 · 김 기 옥 · 이 근 회\*

경상대학교 식품공학과, \*한국인삼연구소

## Prevention from Microbial Post-harvest Injury of Fruits and Vegetables by Using Grapefruit Seed Extract, a Natural Antimicrobial Agent

— Isolation of antimicrobial substance from grapefruit seed extract —

Sung-Hwan Cho, Ki-Oak Kim, and Keun-Hoi Lee\*

*Department of food Science and Technology, Gyeongsang National University*

*\*Korea Ginseng and Tobacco Research Institute*

### Abstract

To investigate the effect of several bactericides and fungicides against fruit & vegetable decay grapefruit seed extract(GFSE) was tested in a dilution solution. GFSE was shown to be effective against decay and rind breakdown and to extend the shelf-life of fruits and vegetables during storage and transport.

Antimicrobial efficiency of GFSE on a wide spectra of gram + & - bacteria, moulds and yeasts was demonstrated by the measurement of minimal inhibitory concentrations performed (Bacteria : 10-500ppm, Fungi : 250-1,000ppm, Yeasts : 100-250ppm). GFSE was separated and extracted into water-soluble fraction, water-insoluble and non-dialyzed fraction to isolate the antimicrobial substances. The water-soluble fraction showed the most active antimicrobial effect. The antimicrobial substances were isolated by gas chromatography. As the result of the isolation using GC, Peak-D was found to be the antimicrobial compound in GFSE. The identification of the most antimicrobial substance was carried out by using GC-MS.

Key words : bactericides, fungicides, grapefruit seed extract, antimicrobial substance

### 서 론

대부분의 농산물은 1년간 계속해서 수확되는 것이 아니라 기후의 제약을 받아 그 생산량도 매년 변동하고 있으며 수요와 공급이 불균형일 때는 가격진폭이 커서 생산된 농산물을 소비자에게 적기에 공급하기 위해서는 저장을 하여야만 한다. 그러나, 현재 농촌실정을 볼 때, 대부분의 농가가 저장기술이 부족하여 농산물 수급 및 가격안정에 큰 문제가 되고 있다. 따라서, 어떻게 저장을 해야 농산물이 원래 갖고 있던 영양분을 잃지 않고 생산되었을 당시의 형태와 신선도

를 유지할 수 있는가 하는 것이 저장의 중요한 과제이다. 농산물 특히, 과채류는 수확 후 저장중에 호흡작용, 증산작용 등의 생리작용 뿐만 아니라, 곰팡이를 비롯한 식물병리미생물의 오염 및 성장으로 부패현상을 일으키고 과채류 자체의 경도가 저하되며, 수분, 비타민, 유기산, 당분, 색소함량 등이 떨어져서 부패되지는 않는 것이라도 외관, 맛, 신선도 등이 떨어져서 제값을 받을 수 없게 된다. 일반적으로 현재까지 사용하고 있는 과채류의 저장방법으로는 저온저장[1], CA(Controlled Atmosphere)저장[2-14], Film포장[15, 16], 방사선조사[17-20], 감압처리, 대체가스치환, 피막

제처리, gas조절제(탈탄소제, 탄산가스조절제, 질소혼입방법 등), 에틸렌등 노화촉진 gas제거제, 습도조절제처리 등이 있으나, 저온저장, CA저장, 방사선조사는 고가의 시설비 및 경영비가 소요되고 수준높은 기술로만이 정상적인 관리가 이루어질 수 있는 저장시설로서 산지농가에서는 그 이용이 불가능한 처리기술이다. 이와 같은 실정을 고려하여, 저렴한 가격으로 설치 가능한 농가용 간이 저장고를 조립하고, 저장고내의 온도 및 습도가 적정수준으로 유지되도록 한 다음, 과채류의 저장중, 식물병리미생물의 오염 및 성장을 억제할 수 있는 강력한 천연항균제이며 보존제인 grapefruit 종자추출물(Grapefruit seed extract: 이하 GFSE라 칭함)[21]을 처리하고, CA저장효과를 유도할 수 있는 polyethylene film내에 포장하여 자연저온(10-15℃)이 유지되는 간이저장소에 저장함으로써 과채류의 선도유지 및 병해방지에 충분한 대체효과를 얻을 수 있었다[22-25]. 본 연구에서는 GFSE의 항균기작을 규명하기 위한 기초작업으로 먼저, GFSE의 활성물질을 분리하여 분자구조수준에서 이해하고자 실험을 실시하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

## 재료 및 방법

### Grapefruit종자추출물의 조제

본 실험에 사용한 grapefruit종자추출물은 전보[21-23]에 준하여 추출·조제 하였으며, GFSE의 물리화학적 특성은 상법에 의하여 분석하였다.

### 과채류의 GFSE처리 및 Film포장

경남지역에서 생산되고 있는 가지, 피만, 고사리, 산나물 등의 채소작물과, 금귤, 바나나 등의 과수작물등, 추수 및 수확전후에 오염되는 병원성 또는 부패성 세균 및 곰팡이에 의하여 변패될 수 있는 작물들을 선발하여, 수확직후, 과채류를 GFSE 희석용액 속에 100ppm-1,000ppm 농도수준별로 처리한 후, 서늘한 장소에서 짧은 시간동안 방치하였다가 0.1mm 두께의 polyethylene film봉지에 넣고 완전 밀봉한 다음, 일정 규격의 plastic상자에 담아 반지하식 저장고에 보관하면서 부패율, 조직감, 미생물 오염도 등 품질상태를 비교 검토하였다.

### 공시균주의 최소저해 농도측정

부패성 및 병원성 공시균주를 Tryptic soy broth (TSB)배지에 접종하고 30℃에서 24시간동안 배양한 후 phosphate buffer(pH 7.0)로 희석하여 접종균주로 배양하였다. 희석된 배양액 0.1ml를 grapefruit종자추출물 또는 활성물질이 10ppm-5,000ppm농도로 함유되어 있는 TSB배지에 첨가하고, 30℃에서 3일간 배양하였다. 각 시험구의 배양액 1ml씩을, plate count agar상에 평판도말하고 30℃에서 3일동안 배양하여 생존균수의 유무를 확인하여, 공시균주의 최소저해 농도를 측정하였다.

### GFSE의 활성물질분리

GFSE의 보존료로서의 역할과 살균제로서의 탁월한 효능을 분자적인 수준으로 이해하려함에 먼저, 효능성분이 효소에 의한 것인지 아니면, 효소 이외의 다른 factor에 의한 것인지를 살펴보기 위해 GFSE의 i) 친수성 물질 ii) 소수성 물질 iii) 투석 가능한 물질로 대별하여, 활성물질을 찾는 기본적 실험을 다발적으로 수행하고 얻은 결과를 토대로 GC법으로 순수정제하는 발전단계 실험을 전개하였다.

#### i) 난수용성 물질 분리의 제조

GFSE를 chloroform : MeOH(2:1, v/v)의 용액으로 상온에서 여러번 추출하고, 그 추출액을 합하고 Evaporator로 감압 농축한 후, 동결건조하였다.

#### ii) 친수성 물질의 제조

GFSE를 10mM phosphate buffer (pH 7.6)으로 추출하여 잘 녹는 물질만을 모은후, 동결건조하였다.

#### iii) 난투과성 물질의 제조

GFSE를 반투과성막에 넣고 10mM phosphate buffer (pH 7.6)에 투석하고, 비교적 분자량이 큰 물질만을 얻은 후, 동결건조하였다.

iv) GC 및 GC-MS를 이용한 활성물질의 정제 및 분리동정

i)-iii)에서 얻은 분획을 GC로 다시 세분화하였다. 이 때, 분리한 유효 활성성분의 구조분석은 GC-MS를 이용하여 실시하였으며, GC 및 GC-MS의 사용기기 및 operation condition은 다음 Table 1과 같다.

**Table 1. Operation condition of Gas chromatography and GC-MS**

<b>GC</b>	
Instrument	Hewlett-Packard 5890 II
Column	HP-1(30m×0.25mm ID) fused silica capillary
Oven temperature	100℃-250℃ (5℃/min)
FID temperature	250℃
Carrier gas	N <sub>2</sub>
<b>GC-MS</b>	
Instrument	Hewlett-Packard 5890 B
Ionization voltage	70eV
Ion source pressure	3.5×10 <sup>-5</sup> torr

즉, GC는 Hewlett-Packard(HP) 5890 II를 사용했으며 Column은 H-1(30m x 0.25mm ID) fused silica capillary를 사용했다. oven 온도는 100℃에 250℃까지 5℃/min 속도로 승온하였다. 주입구 및 검출기(FID)온도는 250로 운반기체는 N<sub>2</sub>가스를 사용하였으며 split mode (split rate = 100:1)로 주입하였다. GC-Mass는 HP 5890 II GC에 open split로 연결된 HP 5970B를 사용하였다. Mass의 조건은 ionization voltage(EI) 70ev, ion source 압력은 3.5x10<sup>-5</sup> torr로 하였다. 미확인 peak(RT 26.93)는 Mass spectral data books, Hewlett Packard's MS-library 및 표준품과의 비교에 의해 확인하였다.

**GFSE 활성물질의 항균력검사**

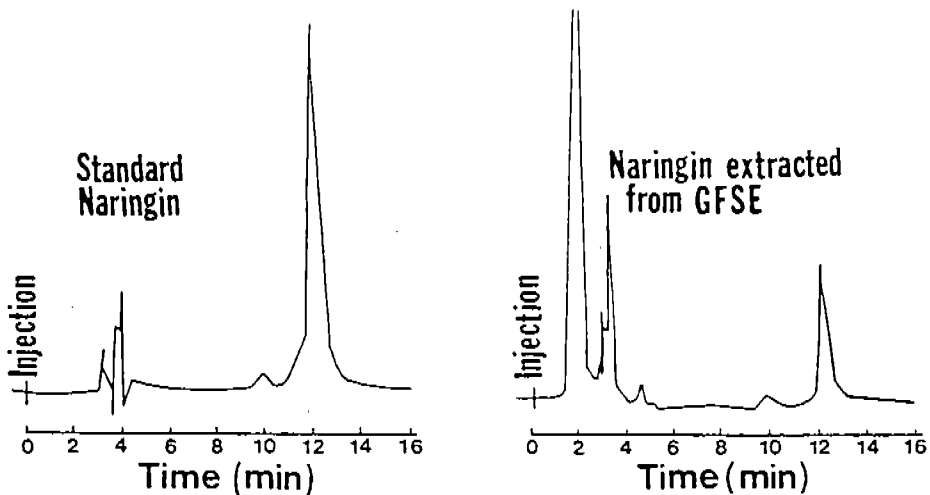
GC에 의해 분리한 GFSE활성성분의 항균력을 측정

하기 위하여 Fowler등의 Well technique 변법<sup>20</sup>을 사용한다. 즉, Tryptic soy broth(TSB)배지에서 하루밤 배양한 과채류 변패 미생물의 배양액 1ml를, 살균하여 냉각시킨 plate count agar 한복판에 첨가하고, 변두리 4개 지역의 agar에 6mm 직경의 구멍을 파고, 대조구인 무처리구와 함께, 나머지 세구멍에는 phosphate buffer에 용해한, GFSE에서 분리한 활성물질용액(5000ug/ml)을 각각 50μl, 100μl 또는 200μl를 채우고 한천배지에로 구멍을 막은 후, 30℃에서 72시간동안 배양하여 plate count agar의 생육저해 면적의 정도를 측정하였다.

**결 과**

**GFSE의 물리·화학적 특성**

GFSE는 grapefruit 종자와 과육의 건조혼합물(중량비 4:1)을, glycerine을 용매로 하여 일정한 system의 연속추출장치에서 추출하여 제조한 것으로 주요활성물질로 naringin 2.8%(Fig.1), ascorbic acid 9.5%(Fig.2)가 함유되어 있으며, 이외에도 hesperidin 0.46%, citric acid 0.35%, caffeic acid 10mg/l, chlorogenic acid 5mg/l, p-coumaric acid 5mg/l, phloroglucinol 20mg/l 및 malic acid, fumaric acid, oxalic acid등의 유기산과 β-limonene 등이 소량 혼합물로 구성되어 있다. 일정한 연속추출 과정과 장치에 의하여 추출·조제된 GFSE는 레몬빛 점도 높은 액체물질로서 약한 쓴맛이 나며, 레몬향의 산성용액으로 물, 알콜, 유기산 등에 잘 용해된다.



**Fig 1. The HPLC chromatogram of naringin in GFSE.**

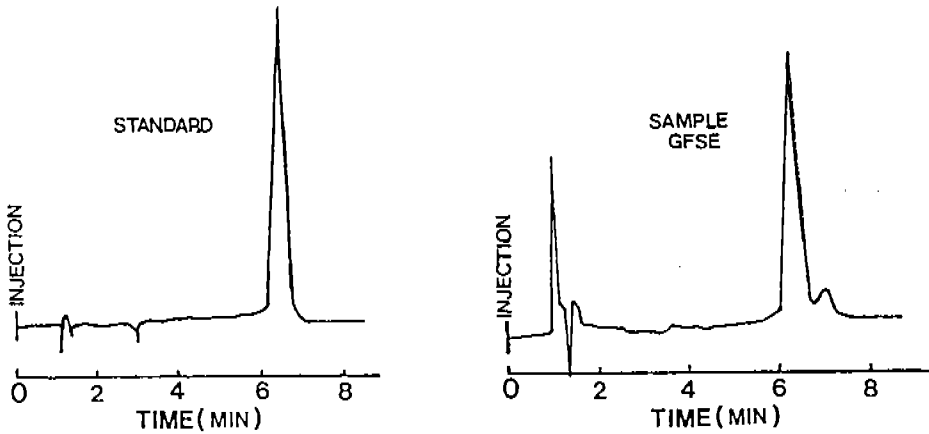


Fig. 2. The HPLC chromatogram of ascorbic acid in GFSE.

한편, GFSE용액의 성상 및 물리적 특성은 Table 2와 같다.

Table 2. Physical properties of Grapefruit seed extract

Appearance	Liquid/Heavy Viscous
Colour(Gardner)	2.5(lemmon yellow)
Specific gravity(25°C)	1.08
Density(lbs/gal)	9.35
pH(25°C)	2.8-3.5
Flash point(°F)	285
Viscosity(centistokes)	130.4
Surface tension(dynes/cm)	38.5
Apparent interfacial tension (dynes/cm)	4.8
True corrected interfacial tension(dynes/cm)	4.2
Flavour(taste)	lightly bitter
Solubility 100% in	water, alcohol, organic acids
Stability and Knock down better in	acid pH
Corrosivity	Similar potable water

#### GFSE의 항균활성

Table 3. Minimum inhibitory concentration(M. I. C) of microorganisms tested for antimicrobial activity of grapefruit seed extract

Microorganisms	MIC(ppm)
<i>Bacteria</i>	
<i>Bacillus coagulans</i>	25
<i>Clostridium sporogenes</i>	50
<i>Serratia salinarum</i>	25
<i>Pseudomonas merrilliana</i>	500
<i>Streptococcus durans</i>	100
<i>Proteus melanovogenes</i>	10
<i>Molds</i>	
<i>Penicillium expansum</i>	250
<i>Trichophyton sp.</i>	500
<i>Fusarium moniliforme</i>	1,000
<i>Yeasts</i>	
<i>Rhodotorula sp.</i>	250
<i>Saccharomyces sp.</i>	100

GFSE는 세균, 곰팡이등 광범위한 병원성 및 부패성 미생물에 대하여 강력한 항균작용을 소유하고 있으며, 다음 Table 3과 같이 식물병리 미생물에 대한 최소저해농도(Minimum Inhibitory Concentration : MIC)를 나타내고 있다.

#### 활성물질의 분획

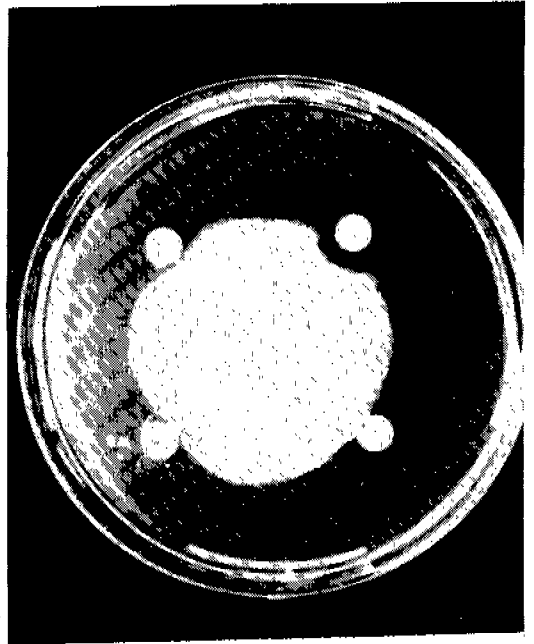


Fig. 3. Inhibitory effect of hyphal extension of *Fusarium* sp. by active isolates extracted from grapefruit seed extract.

- a) control    b) water-insoluble fraction  
c) non-dialyzed fraction  
d) water-soluble fraction

GFSE로 분리한 난수용성물질, 친수성물질, 난투과성물질을 paper disk법으로 그 항균성을 측정하였다. 즉, 난수용성물질이나 난투과성물질의 항균성은 높지 않으나 친수성물질은 높은 항균성을 보여 미생물의 생육을 뚜렷하게 억제하는 성장 pattern을 보였다.

항균성이 높은 친수성물질을 1-menthol(internal standard)과 함께 chloroform에 용해시켜 GC에 분석한 경우, Fig.4에 표시한 3종의 (B는 menthol의 peak) chromatogram을 얻었다. 분리된 A-, C-, D-fraction 항균활성을 보이나 A-와 C-fraction은 비교적 낮은 환성효과를 보이는 반면, D-fraction은 뚜렷한 항균효과를 나타내었다. 3종의 fraction 중 가장 높은 항균활성을 나타내는 D-fraction을 포집하여 GC-MS에 연결·분석한 Mass spectrum은 Fig.5와 같다.

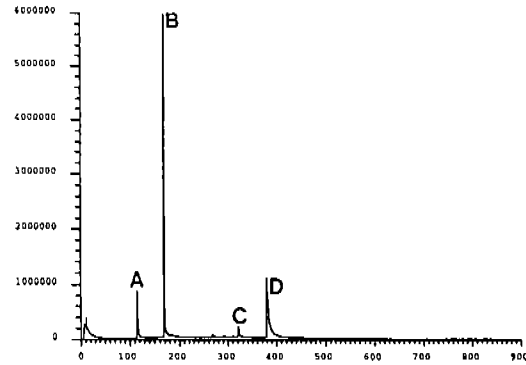


Fig. 4. Gas chromatogram of water-soluble fraction of grapefruit seed extract.

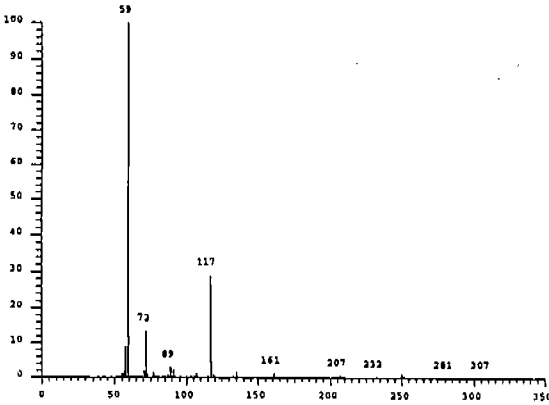


Fig. 5. GC-MS of peak D isolated in the GC chromatogram of water-soluble fraction of grapefruit seed extract.

Retention time이 26.93과 34.29로 나타난 이 성분은 아직 Mass spectral data books 또는 Hewlet packards

MS-library로 확인할 수 없으나, 순수하게 분리된 상태로 높은 항균활성을 나타내었으며, 반복적인 실험결과와 GC-MS 분석조건의 변화 등 분석방법을 재검토하여 미지성분을 확인하고 이들 성분의 항균성 및 항산화 기작을 분자구조적 입장에서 이해될 수 있도록 지속적인 연구가 선행되어야 할 것이다. 현재까지 GFSE의 항균성분으로는 2,4,4-trichloro-2-hydroxydiphenyl ether 및 methyl-p-hydroxy-benzoate 등이 분리되어 MS, NMR 등의 기기분석법에 의하여 동정·확인된 것으로 발표 [26]된 바 있으나, 이들 물질은 합성유기성분으로 천연물추출액인 GFSE중에 함유될 가능성이 적은 것으로 생각되며 본 실험의 GC-MS 결과에서도 검출되지 않았다. 따라서 GFSE의 항균기작을 확립하기 위하여는 GFSE의 항균활성 물질을 분리하고, 이들의 복합적인 작용기작을 조사하는 종합적인 기초연구가 선행되어야 하며 처리 전후의 미생물의 세포형태변화, 환성물질의 작용부위, 생리작용억제기작 등이 더욱 더 연구되어야 할 것이다.

## 고 찰

본연구자등이 발표한 논문의 결과[24, 25]에서 언급한 바와 같이 현재까지의 실험결과로, GFSE는 농산물 특히 과채류의 선도유지 및 병해방지에 탁월한 효능을 소유하고 있다. 이와 같은 항균능력은 실제, 병원성 미생물과의 상호작용에 의한 실험결과로 실증되었으나, 문제는 이러한 방부, 살균효과에 대한 효능을 나타내는 물질의 분리나 동정 등이 완전하게 이루어지지 않음으로써 GFSE의 추출물 중 어떤 성분이 이처럼 뛰어난 항균능력을 나타내는지를 알지 못하고 있다는 것이다. 그러므로 이러한 항균물질의 분리 및 동정등과 항균물질에 대한 연구는 더욱 지속적으로 진행되어야 할 중요한 당면과제이다. 천연물에는 우리가 아직 확인하지 못한 여러 성분들이 존재하고 또한 이미 알고는 있으나, 그 물질의 효능을 제대로 파악하지 못하여, 산업화, 실용화가 완전하게 이루어져 있지 못하고 있다. GFSE도 예외는 아니어서 적어도 수십 가지 이상의 여러 성분들이 복합적으로 이루어져 있으리라고 예상은 되지만 미량 존재하는 여러가지 성분들의 분리나 효능은 알려진 바 없다. 따라서, 앞으로 진행될 연구에서는 이미 분리된 효능성분 분획에

대해 GFSE의 보존료로서의 역할과 살균제로서의 탁월한 효능을 분자적인 수준에서 이해하려 함에 그 목표를 두어야 할 것이다. GFSE의 보존료, 살균제로서의 효능은 이미 그 기초적 연구 결과가 수행되었으나, 1)어떠한 mechanism에 의해서 2)GFSE의 어떤 성분에 의해서 이러한 효능을 보이는 지는 앞으로 풀어야 할 숙제이다. 앞으로 진행될 연구에서는 이 두가지의 문점을 해결하기 위해 다음과 같은 순서에 의하여 항균물질의 분리 및 기능을 연구할 필요가 있을 것이다.

첫째는, GFSE의 효능성분을 지속적으로 찾아내는 일이다. 살균, 방부의 효력은 미생물의 대사과정중 어느 한 곳, 혹은, 여러곳을 동시에 억제함으로써 발생할 수 있다. 먼저, 효능성분이 효소에 의한 것인지 아니면, 효소 이외의 다른 factor에 의한 것인지를 살펴보는 실험이 우선되어야 할 것이다. 둘째로 GFSE의 살균효능은 미생물대사의 어느 곳을 억제하기 때 문인가를 밝히는 일이다. 미생물대사의 각 단계에 관여하는 효소에 미치는 영향을 조사하는 한편, 세포 전체적으로 일어나는 합성대사를 살펴봄으로써, 그 살균 mechanism을 이해할 수 있으리라 본다. 이러한 연구가 성공적으로 수행되었을 때는 이는 미생물대사와 살균효능효과를 과학적으로 입증시키는 중요한 자료로 앞으로의 신약개발의 기본토대를 마련하게 될 것으로 전망된다. 셋째로, 궁극적으로 이들 항균물질을 coding하는 유전자를 분리하고 cloning하여 유효한 농작물에 transformation함으로써 내병성, 내균성, 내재해성의 새로운 식물체인 transgenic plant를 생산할 수 있을 것이다. 마지막으로, GFSE의 급성구강 독성, 피부독성, 공기흡입 독성 등에 대한 안전성검사를 철저히 실시하여 그 활용범위를 확대하여야 할 것이다.

## 요 약

과채류의 선도유지 및 병해방지를 목적으로 천연항균제인 grapefruit 종자추출물(GFSE)을 과채류에 침지처리하여 과채류 부패 및 과피과열 등을 방지할 수 있었고 저장 및 수송중 과채류의 선도유지기간을 연장하는데 뚜렷한 효과를 얻을 수 있었다. GFSE는 폭넓은 부패성미생물에 대하여 항균활성을 나타내며 각종 변패미생물에 대한 GFSE의 최소저해농도는 세균

의 경우 10-500ppm, 곰팡이 250-1,000ppm, 효모 100-250ppm이었다. GFSE의 항균활성물질을 분리하기 위하여 GFSE를 수용성 분획, 난용성분획 및 난투과성 분획으로 나누어 추출하고 활성이 높은 수용성분획을 gas chromatography에 걸어 분리·정제한 후, 항균활성물질peak의 성분을 GC-MS 연결분석장치에 걸어 그 분자구조적 실험을 이행하였다.

## 감사의 글

본 연구는 1992년 산학협동재단 학술연구비 지원에 의하여 수행된 결과의 일부로써 이에 깊은 감사를 드리며, 산학연구가 효과적으로 지속될 수 있도록 공동 연구에 성원을 아끼지 않은 (주)아비콘 케미에게도 감사를 보냅니다.

## 참 고 문 헌

- Harris, S.(1976) The refrigerated export chain of Kiwi(*Actinidia chinensis*) from New Zealand, *Annexe Bull, Inst. Int. Froid*. 1976~1. 157.
- 윤인화, 손형구, 조광동, 정대성, 박남규, 송정춘, 한관주(1987) 채소, 과실류의 신선도 보전연구. 시험연구보고서 Pp. 448~477.
- Mitcell, F.G(1982) Modified-atmosphere storage of kiwifruit(*Actinidia chinensis*) Symposium Series, Oregon State University, School of Agriculture 1, 235.
- 이세은, 김동만, 김길환, 이철(1989) 한국산 양다래(*Actinidia Chinensis* Planch.)의 CA 저장성에 관한 연구. *한국식품과학회지*, 21(6), Pp. 869~875.
- 정대성, 손영구, 조광동, 윤인화, 한관주(1991) 양다래(*Actinidia Chinensis*)의 저장에 관한 연구. *농사시험연구논문집*, 33(1), Pp. 39~45.
- 손태화, 최종욱, 김성달(1972) 청과물저장에 관한 연구(제1보). 통기량조절에 따른 저장 실내 기체 조성 및 생리화학적 변화에 대하여. *한국식품과학회지* 4(1), Pp. 13~17.
- 김성달, 최종욱, 손태화(1972) 청과물저장에 관한 연구(제3보). 환경압력변화가 tomato 과실의 저장에 미치는 영향에 대하여. *한국농화학회지* 16(2),

- Pp. 94~98.
8. Porritt, S.W.(1966) The effect of oxygen and low concentrations of carbon dioxide on the quality of apples stored in controlled atmosphere. *Can. J. Plant Sci.* 46, Pp. 317~321.
  9. Anderson, R.e.(1967) Experimental storage of estern grown 'Delicious' apples in various controlled atmosphere. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 91, Pp. 810~820.
  10. 박원기, 유영희(1976) 감의 저장에 있어서 가스농도의 영향. *한국영양식량학회지* 5(1), Pp. 11~17.
  11. Lidster, P. D., McRae, K. Band Sanfoord, K. A (1981) *J. Amer. Hort. Sci.*, 106(2), Pp. 159.
  12. Goodenough, P. W. and Tucker, G. A.(1982) *Phytochemistry*, 21(2), Pp. 281.
  13. 김동만, 강훈승, 김길환(1986) 공기중에 혼합한 탄산가스 농도에 따른 딸기의 저장성에 관하여. *한국식품과학회지* 18(1), Pp. 66~70.
  14. Kim, D. M. and Shin, H. K(1986) Changes in firmness of apples during exposure to room temperature after C. A. Storage. *J. Korean Soc. Food Nutr.*, 15(1), Pp. 9~14.
  15. 이병영, 윤인화, 김영배, 한관주, 이정명(1985) 밤의 polyethylene film밀봉저장효과. *한국식품과학회지* 17(5), Pp. 331~335.
  16. 박남규, 송정춘, 윤인화, 조광동(1987) 배추, 무우 저장시험. *시험연구보고서* 490.
  17. 조한옥, 변명우, 권중호, 양호숙(1982) 감자수확후 방사선 조사기기 및 조사선량이 그 저장성에 미치는 영향. *한국영양식량학회지* 11(4), Pp. 53~59.
  18. 조한옥, 권중호, 변명우, 윤형식(1984) 방사선조사와 자연저온에 의한 마늘의 저장. *한국식품과학회지* 16(1), Pp. 66~70.
  19. 조한옥, 변명우, 권중호(1984) 방사선조사와 자연저온에 의한 송이저장. *한국식품과학회지* 16(2), Pp. 182~184.
  20. Kwon, J. H., Yoon, H. S., Byun, M. W. and Cho, H. O (1988) Chemical changes in garlic bulbs resulting from ionizing energy treatment at sprout-inhibition dose. *J. Korean Agric-Chem. Soc.*, 31 (2), Pp. 147~153.
  21. Harich, J(1982) DF-100. U. S. Patent 1, 354, 818.
  22. Valerde, E. and Vargas, E(1986) Response of onion "Yellow granex" hybrid, to the treatment with powdered grapefruit seed extract after 30 weeks of cold storage. Reports performed in the University of Costa Rica.
  23. 조성환, 서일원, 최종덕, 주인생, Grapefruit종자추출물이 *Pencillium islandicum* 생육 및 독소성분 skyrin생합성에 미치는 저해효과. *한국농화학회지*. 33(2), Pp. 169~173.
  24. 조성환, 이상열, 서일원, 이근희, 농축산물 및 그 가공제품의 자연식품성항균제를 이용한 저장효과. *농시논문집(농업산학협동편)* 35(인쇄중).
  25. 조성환, 서일원, 이근희, 천연항균제처리에 의한 과채류의 선도유지 및 병해방지에 관한 연구-저장중 병리적 장애방지를 중심으로-*한국농화학회지* 36(4)(인쇄중).
  26. Nishina, A. Kihara, H., Uchibori, T. and Oi, T(1991) Grapefruit종자추출물중의 항균성분. *Journal of antibacterial agents* 19(8), Pp. 401~404.