

미량원소 강화 식품소재의 항균효과

김보미¹ · 목종수^{1*} · 오은경¹ · 손광태¹ · 심길보¹ · 조영제²

¹국립수산과학원 식품위생팀

²부경대학교 식품공학과

Antibacterial Activities of Trace Elements in Combination with Food Additives

Bo-Mi Kim¹, Jong-Soo Mok^{1*}, Eun-Gyoung Oh¹, Kwang-Tae Son¹,
Kil-Bo Shim¹ and Young-Je Cho²

¹Food Sanitation Research Team, National Fisheries Research & Development Institute, Busan 619-902, Korea

²Dept. of Food Science and Technology, Pukyong National University, Busan 608-737, Korea

Abstract

Antibacterial activities of the trace elements in combination with the food additives were measured against 6 kinds of food-borne microorganisms such as *Escherichia coli*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis* and *Pseudomonas fluorescens*. The difference of antibacterial activity was not shown among the kinds of food additives, such as dextrin, gelatin and collagen. Zn and Ge in combination with food additives had strong antibacterial effect. Especially, 1% zinc acetate in combination with 1% gelatin was more effective against *P. fluorescens* and *S. aureus* than against *Bacillus* sp., *E. coli* and *V. parahaemolyticus*. Minimum inhibitory concentration of zinc acetate in combination with 1% gelatin appeared to be 0.5 mg/mL on *S. aureus* and *P. fluorescens*, and 1.0 mg/mL on *E. coli*, *V. parahaemolyticus*, *B. cereus* and *B. subtilis*. Minimum bactericidal concentration of zinc acetate in combination with 1% gelatin appeared to be 0.5 mg/mL on *P. fluorescens* and 1.0 mg/mL on *E. coli*, *V. parahaemolyticus*, *S. aureus*, *B. cereus* and *B. subtilis*. The zinc acetate in combination with gelatin showed stronger inhibitory effect in acidic range below pH 6.0, and remained active even after heat treatment at 121°C for 15 min. In comparison with control, the viable cell counts of fish pastes, which were coated with the solution containing both 1% zinc acetate and 3% gelatin, were decreased by more than 100-fold until the storage of 7 days at 10°C. The results indicate that the combined use of zinc acetate and some food additives could prolong the shelf life of fish pastes by 8 days or more at 10°C.

Key words: antibacterial activity, trace element, food-borne microorganism

서 론

최근 들어 식중독 발생 규모는 대형화되고 원인식품도 점차 다양해지고 있는 추세이며, 이들 식중독의 대부분은 세균에 기인한 것이다. 우리나라 식중독 발생은 1997년도 이전까지는 5~9월의 하절기에 집중되었는데, 1998년과 2000년에 들어서는 하절기에만 국한되는 것이 아니라 연중 꾸준히 발생하고 있다(1). 우리나라에서 발생한 식중독의 주요 원인세균은 살모넬라균, 황색포도상구균 및 장염 비브리오균이며, 이들 세균이 우리나라 식중독 사고발생의 85~90%를 차지하고 있다. 한편, 원인식품별 식중독 발생현황을 살펴보면 외식 및 급식·문화의 발달로 식당 등의 음식점과 학교나 회사·공장의 집단급식소에서 발생하는 식중독은 증가하는 추세를 보였다(1). 특히, 집단급식소 중 학교급식에 의한 식중독은 그 발생률이 높아 이에 대한 철저한 위생관리 및 위

생교육과 아울러 식품 기인성 미생물에 의한 건강장애와 경제적 손실을 최소로 하기 위해 식중독 미생물을 억제하거나 방지하는 연구가 필요하다.

식중독 미생물의 증식을 억제하기 위하여 안식향산나트륨(2), sorbic acid(3), 나트륨 등의 합성보존료 및 propionic acid, acetic acid, citric acid, tartaric acid, lactic acid(4,5) 등의 유기산을 단독 혹은 병용한 연구들이 보고되고 있다. 그리고 천연물질로부터 분리한 항균성 물질에 관한 연구로는 십자화과 식물의 휘발성분(6), 생약제인 감초추출물(7), 키토산(8), 각종 지방산(9) 및 차 추출물(10) 등 많은 연구가 보고되었다. 반면, 미량원소의 항균활성에 대한 연구로는 sodium, potassium, calcium, magnesium 등 미량원소의 종류별(11), 그리고 은 이온(12)의 식중독 세균에 대한 항균효과에 관한 연구 등 몇몇 보고가 있다.

본 연구에 사용한 아연과 게르마늄 등의 미량원소는 인간

*Corresponding author. E-mail: mjs0620@hanmail.net
Phone: 82-51-720-2641. Fax: 82-51-720-2619

을 비롯한 동물의 성장과 발달에 필수적이다. 특히, 아연은 성장기 아동들의 성장 발달에 매우 중요한 역할을 하는 필수 미량 영양소이며, 성장기의 아연 결핍은 식욕감소, 정신지체, 성장지연, 체중감소, 골격의 이상, 피부질환, 성적 능력의 미성숙 등의 임상적 결핍을 초래할 수 있다(13). 최근 여러 보고에 의하면, 우리나라 성장기 어린이에 있어 단백질, 인 등은 과잉 섭취되고 있으나, 칼슘, 아연 등의 필수 미량 원소 섭취량은 권장량의 약 50%정도 부족하므로 영양 불균형이 심각한 상태라고 보고하고 있다(14,15).

식품 소재로 사용된 gelatin은 동물의 뼈, 연골, 껍질 등 결합 조직의 주요 단백질 성분인 collagen으로부터 얻어지는 유도단백질로서 주로 식품의 단백질 겔화제(gelling agent)로 사용되고 있다(16). 식품제조에서 겔화제, 점증제 또는 안정제로 사용될 수 있는 물질의 대부분은 다당류에 속하는 친수성 검물질(hydrophilic gum substance)인데 반해서 gelatin은 tryptophan과 cystine을 제외한 필수아미노산을 모두 함유하고 있어 영양적 가치가 높다(17). 또한, 최근 gelatin은 겔화제 이외에도 건강식품으로까지 그 이용이 확대되고 있다.

본 연구에서는 필수 미량원소의 섭취량을 증가시키는 것은 물론 식품의 변질 및 식중독을 예방하기 위하여 아연 및 게르마늄 등의 필수 미량원소를 강화시킨 gelatin 및 dextrin 등 식품소재의 항균효과 및 그 이용가능성을 검토하였다.

재료 및 방법

시약 및 배지

본 연구에 사용한 zinc chloride, zinc acetate, germanium oxide, magnesium chloride, calcium chloride, manganese chloride, ferric chloride 및 selenium oxide 등의 시약은 Sigma사(St. Louis, MO, USA)에서 구입하였다. 또한, 공시균주의 배양 및 항균활성을 측정하기 위하여 Mueller Hinton broth(MHB)와 Mueller Hinton agar(MHA)를 Difco사(Detroit, USA)에서 구입하여 사용하였다.

공시균주

항균활성을 측정하기 위하여 그람 양성균인 *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Bacillus subtilis* ATCC 6633 및 *Bacillus cereus* ATCC 11778, 그리고 그람 음성균인 *Escherichia coli* KCTC 1682, *Vibrio parahaemolyticus* KCTC 2471 및 *Pseudomonas fluorescens* KCTC 1767을 계대배양해서 사용하였다. 즉, 공시균주를 MHB 10 mL에 접종하여 *S. aureus*, *B. subtilis*, *B. cereus*, *E. coli* 및 *V. parahaemolyticus* 등은 35°C에서 18~24시간 배양하였으며, *P. fluorescens*는 25°C에서 18~24시간 배양하였다.

식중독 세균에 대한 항균활성

식중독 세균에 대한 미량원소 강화 식품소재의 항균활성을 비교하기 위하여 disc assay법을 사용하였으며, 먼저

MHB에 배양한 공시균주 배양액을 MHA 평판배지에 100 μ L 접종하여 균일하게 도말하였다. 미량원소 강화 식품소재 시료용액 80 μ L를 멸균 paper disc(ϕ 10 mm)에 흡수시켜 미리 도말한 평판에 올린 후, *S. aureus*, *B. subtilis*, *B. cereus*, *E. coli*, *V. parahaemolyticus*의 경우 35°C에서 18시간, *P. fluorescens*는 25°C에서 18시간 배양 후 저해환의 직경(mm)을 측정하였다. 이때, 미량원소 강화 식품소재 시료용액은 gelatin(Duksan Pharmaceutical Co., Ansan, Korea), dextrin(Junsei Chemical Co., Tokyo, Japan), 불가사리 및 어류에서 추출한 collagen 등의 식품소재에 zinc chloride, zinc acetate, magnesium chloride, calcium chloride, manganese chloride, ferric chloride 및 selenium oxide 등의 미량원소를 1.0% 농도로 첨가하여 가열 용해한 것을 사용하였으며, 단, germanium oxide는 완전히 용해되지 않아 0.5% 첨가하여 사용하였다.

pH 및 열 안정성

미량원소 강화 식품소재의 pH에 대한 안정성을 알아보기 위하여 아연(zinc acetate) 및 게르마늄(germanium oxide) 강화제를 pH 4.5~9.0으로 조정하여 식중독 세균에 대하여 disc assay법으로 항균활성을 측정하였다. 열 안정성을 알아보기 위하여 60°C에서 30분간, 100°C에서 10분, 20분, 30분간 그리고 121°C에서 15분간 열처리한 다음 식중독 세균에 대한 항균활성을 비교하였다.

최소저해농도(MIC) 및 최소사멸농도(MBC)

최소저해농도(minimum inhibitory concentration, MIC) 및 최소사멸농도(minimum bactericidal concentration, MBC)의 측정은 Lorian(18)의 방법에 따라 액체배지희석법(broth dilution method)으로 행하였으며, 각 희석단계에 3개의 시험관을 사용하였다. 즉, 1% gelatin에 미량원소를 10 mg/mL 첨가한 미량원소 강화 식품소재를 액체배지(MHB)에 일정 농도가 되도록 첨가한 후 공시균주를 10^5 CFU/mL 정도 되도록 접종하여 배양한 다음, spectrophotometer(Spectronic, Milton Roy Co., USA)로 흡광도(660 nm)를 측정하여 균 증식 여부를 판별하여 MIC를 확인하였다. 그리고 증식하지 않은 배양액을 새로운 액체배지에 접종하여 배양한 다음 660 nm에서 균 증식 여부를 판별하여 MBC를 확인하였다. 이때, MIC 및 MBC는 최종 액체배지 중에 함유되어 있는 미량원소의 함량으로 표시하였다.

액체배지에서 균 증식 억제력

미량원소 강화 식품소재가 식중독 세균의 증식에 미치는 영향을 알아보기 위하여 1% gelatine에 아연을 10 mg/mL 첨가한 아연 강화 식품소재를 액체배지(MHB)에 일정 농도가 되도록 첨가한 다음 각 공시균주의 최종 농도가 10^5 CFU/mL 정도 되도록 접종하였다. 그리고 각 균주를 최적 배양온도에서 72시간 동안 배양하면서 흡광도(660 nm)를

측정하였다.

어묵 제품의 코팅에 의한 생균수 변화

아연 강화 식품소재 코팅에 의한 시판 어묵 제품의 저장 효과를 조사하기 위하여 1% zinc acetate와 gelatin을 혼합한 용액에 시중 유통 어묵을 5초간 침지하여 코팅한 후 25°C에서 10분간 건조시킨 다음 저장 온도 및 시간에 따른 생균수 변화를 살펴보았다. 이때, gelatin의 농도가 제품 코팅 및 저장 효과에 미치는 영향을 알아보기 위하여 1% zinc acetate 용액에 gelatin을 각각 1%, 3%, 5%로 되도록 첨가한 아연 강화 식품소재 용액으로 코팅한 어묵을 25°C에서 3일간 저장하면서 생균수 변화를 측정하였다. 또한, 1% zinc acetate와 최적 gelatin 농도로 혼합한 용액에 어묵을 침지하여 코팅한 것을 저온 및 상온에 저장하면서 생균수 변화를 살펴보았다.

결과 및 고찰

식중독 세균에 대한 미량원소 강화 식품소재의 항균활성
 식중독 세균에 대한 미량원소 강화 식품소재의 항균효과를 알아보기 위하여 gelatin, dextrin, 불가사리 및 어류에서 추출한 collagen 등의 식품소재에 각종 미량원소를 강화한 다음 항균활성을 측정하였다. 식품소재의 종류에 따른 항균활성의 차이는 거의 없어(Table 1), 이후 실험에는 이들 식품소재 중 각종 식품에 널리 사용되고 있는 gelatin을 대상으로 실시하여 Table 2에 나타내었다. 1% gelatin에 아연(zinc

acetate 또는 zinc chloride)을 첨가한 경우 그람 양성균인 *S. aureus*에 대하여 13.5~14 mm, 그리고 *E. coli*, *V. parahaemolyticus*, *P. fluorescens* 등의 그람 음성균에 대해서는 11~23 mm의 생육 저해환을 형성하였다. 또한, 게르마늄(germanium oxide)을 첨가한 경우는 그람 양성균 중에서 *Bacillus* sp.에 대해서만 18~20 mm, 그람 음성균 중에서는 *P. fluorescens*에 대해서만 20 mm의 생육 저해환을 나타내었으나, magnesium chloride, calcium chloride, manganese chloride, ferric chloride 및 selenium oxide의 경우 조사된 모든 공시균주에 대하여 항균활성을 나타내지 않았다(Table 2). 이상의 결과 실험에 사용된 미량금속 중 아연과 게르마늄만이 식중독 세균에 대하여 항균활성을 나타내었으며, 이들 금속 강화제는 *Pseudomonas* 속을 제외하고는 그람 음성균보다도 양성균에 대하여 대체로 강한 항균효과를 나타내었다.

Hassen 등(19)은 *Pseudomonas aeruginosa*와 *Bacillus thuringiensis*에 대하여 카드뮴, 크롬, 구리, 아연, 코발트, 수은의 항균활성을 살펴본 결과, 농도가 높을수록 강한 항균활성을 나타내었으며, 수은과 코발트가 가장 높은 항균활성을 나타내었으며, 나머지는 비슷한 효과를 나타내었다고 보고하였다. 또한, Lee 등(11)은 식중독 세균에 대한 calcium chloride, magnesium chloride, potassium chloride, sodium chloride 등의 항균효과를 살펴본 결과, 모든 미량원소는 1% 농도에서는 항균효과를 나타내지 않았으나, calcium chloride는 3% 농도에서는 *E. coli* O157 및 *S. aureus*의 증식을 억제하였다고 보고하였으며, 본 연구에서도 calcium chlo

Table 1. Antibacterial activity of 1% zinc chloride in combination with several food additives against food-borne microorganisms

Food additives	Inhibitory zone (mm) ¹⁾					
	<i>E. coli</i> ²⁾	<i>V. para</i>	<i>P. fluore</i>	<i>S. aureus</i>	<i>B. cereus</i>	<i>B. subtilis</i>
1% gelatin	11.0	11.0	18.0	13.5	- ³⁾	-
1% dextrin	11.0	11.0	17.0	15.0	-	-
1% collagen (starfish)	11.0	11.0	19.0	14.0	-	-
1% collagen (fish)	11.0	11.0	18.0	13.5	-	-

¹⁾Inhibitory zone was estimated by paper disc assay (φ 10 mm).

²⁾*E. coli*, *Escherichia coli* KCTC 1682; *V. para*, *Vibrio parahaemolyticus* KCTC 2471; *P. fluore*, *Pseudomonas fluorescens* KCTC 1767; *S. aureus*, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923; *B. cereus*, *Bacillus cereus* ATCC 11778; *B. subtilis*, *Bacillus subtilis* ATCC 6633.

³⁾Not inhibited.

Table 2. Antibacterial activity of trace elements in combination with 1% gelatin against food-borne microorganisms

Trace elements	Inhibitory zone (mm) ¹⁾					
	<i>E. coli</i> ²⁾	<i>V. para</i>	<i>P. fluore</i>	<i>S. aureus</i>	<i>B. cereus</i>	<i>B. subtilis</i>
1% zinc chloride	11.0	11.0	18.0	13.5	- ³⁾	-
1% zinc acetate	12.5	12.0	23.0	14.0	-	-
0.5% germanium oxide	-	-	20.0	-	18.0	19.0
1% magnesium chloride	-	-	-	-	-	-
1% calcium chloride	-	-	-	-	-	-
1% manganese chloride	-	-	-	-	-	-
1% ferric chloride	-	-	-	-	-	-
1% selenium oxide	-	-	-	-	-	-

¹⁾Inhibitory zone. ²⁾Indicator strains are the same as in Table 1. ³⁾Not inhibited.

ride와 magnesium chloride을 1% 첨가하였을 경우 항균활성이 관찰되지 않아 이들의 실험결과와 유사하였다. 한편, 은 이온의 항균효과는 *Salmonella* Typhimurium에 대해 가장 높게 나타내었으며, 다음으로 *V. parahaemolyticus*이었으며, *S. aureus*에 대해서는 항균효과를 나타내지 않아, 은 이온은 그람 양성균보다 그람 음성균에 대하여 강한 항균활성을 나타낸다고 보고(12)하여 그람 양성균에 강한 항균활성을 나타내는 아연과 게르마늄과는 상이한 항균 스펙트럼을 나타내었다.

미량원소 강화 식품소재의 pH 및 열 안정성

식품소재인 gelatin에 아연과 게르마늄을 첨가한 강화제가 식중독 세균에 대하여 강한 항균활성을 나타내어, 이들 강화제를 식품에 적용하기 위하여 pH와 열에 대한 안정성을 살펴보았다. 우선, 아연(zinc acetate) 강화 식품소재에 대한 pH 안정성을 비교한 결과, pH 6.0 이하에서는 *E. coli*에 대하여 12.5 mm의 환을 생성하였으나, 침전이 생기기 시작하는 pH 6.5 이상에서는 항균활성을 나타내지 않았다(Table 3). 따라서 아연을 첨가한 식품소재의 경우 pH 6.0 이하에서는 안정하므로 중성식품의 코팅제로 응용하기 위하여 향후 모든 항균력 실험에 pH 6.0으로 조정하여 사용하였다. 또한, 아연 강화 식품소재는 pH 6.0 이하의 산성영역에서 대단히

안정하므로 산성식품의 식품 보존제나 코팅제로 유용할 것으로 판단되었다.

게르마늄(germanium oxide) 강화 식품소재를 pH 별로 조정한 다음 *B. subtilis*에 대하여 항균활성을 비교한 결과, 모든 영역에서 항균활성을 나타내었으며, pH 6.5부터 생육 저해환의 크기가 증가하였다(Table 3). 따라서 게르마늄 강화 식품소재는 산성영역보다 알칼리 영역에서 보다 안정하므로 알칼리식품 중의 *Bacillus*속 세균 증식을 억제하기 위한 보존제나 코팅제로 유용할 것으로 사료된다. 또한, 게르마늄을 첨가한 식품소재의 경우는 중성식품의 코팅제로 사용하기 위해서는 pH 6.5가 가장 적당할 것으로 판단되어 향후 모든 실험에는 pH 6.5로 조정하여 실험에 사용하였다.

아연 및 게르마늄 강화 식품소재의 열안정성을 알아보기 위해 60°C에서 30분간, 100°C에서 10분, 20분, 30분간 그리고 121°C에서 15분간 열처리한 다음 항균활성을 측정하여 비교하였다(Table 4). 이들 미량원소 강화 식품소재는 121°C에서 15분간 가열한 후에도 항균활성의 변화가 없었다. 따라서 미량원소 강화 식품소재는 열에 매우 안정하므로 아연이나 게르마늄 등의 미량 원소가 강화된 식품소재를 가열식품인 통조림 제품이나 레토르트 식품에 사용 가능할 것으로 판단된다.

식중독 세균에 대한 최소저해농도(MIC) 및 최소사멸농도(MBC)

식중독 세균에 대하여 높은 항균활성을 나타낸 아연 및 게르마늄 강화 식품소재의 식중독 세균 6종에 대한 최소저해농도(MIC) 및 최소사멸농도(MBC)를 측정할 결과를 Table 5에 나타내었으며, MIC 및 MBC는 액체배지 중에 함유되어

Table 3. Effect of pH adjustment on antibacterial activity¹⁾ of zinc acetate and germanium oxide in combination with gelatin

pH	Inhibitory zone (mm)	
	1% zinc acetate +1% gelatin	0.5% germanium oxide +1% gelatin
4.5	12.5	18.0
5.0	12.5	18.0
5.5	12.5	18.0
6.0	12.5	18.5
6.5	- ²⁾	20.0
7.0	-	20.0
7.5	-	20.0
8.0	-	19.5
8.5	-	19.5
9.0	-	19.5

¹⁾Antibacterial activity of zinc acetate or germanium oxide in combination with gelatin was estimated by paper disc assay (ϕ 10 mm) against *Escherichia coli* KCTC 1682 or *Bacillus subtilis* ATCC 6633, respectively.

²⁾Not inhibited.

Table 4. Effect of heat treatment on antibacterial activity¹⁾ of zinc acetate or germanium oxide in combination with 1% gelatin

Heating	Inhibitory zone (mm)	
	1% zinc acetate +1% gelatin	0.5% germanium oxide +1% gelatin
Control	13.0	20.0
60°C, 30 min	13.0	20.0
100°C, 10 min	13.0	20.0
100°C, 20 min	13.0	19.0
100°C, 30 min	13.0	20.0
121°C, 15 min	13.0	19.0

¹⁾Antibacterial activity is the same as in Table 3.

Table 5. Minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) of zinc acetate or germanium oxide in combination with 1% gelatin against food-borne microorganisms

Strains	Zinc acetate (mg/mL)		Germanium oxide (mg/mL)	
	MIC	MBC	MIC	MBC
<i>Escherichia coli</i> KCTC 1682	1.0	1.0	>1.0	>1.0
<i>Vibrio parahaemolyticus</i> KCTC 2471	1.0	1.0	>1.0	>1.0
<i>Pseudomonas fluorescens</i> KCTC 1767	0.5	0.5	0.5	0.5
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	0.5	1.0	1.0	>1.0
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 11778	1.0	1.0	1.0	1.0
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	1.0	1.0	1.0	1.0

있는 미량금속의 함량으로 표시하였다. 아연 강화 식품소재의 그람 음성균에 대한 MIC와 MBC를 조사한 결과, *E. coli*는 아연 농도가 0.25 mg/mL일 경우에는 모든 시험관에서 균이 증식하였으나, 0.5 mg/mL일 때에는 증식하는 시험관도 있는 반면 증식하지 않는 시험관도 있었다. 그러나 아연을 1.0 mg/mL 첨가하였을 때는 모든 시험관에서 균의 증식이 전혀 보이지 않아 최소억제농도 MIC는 1.0 mg/mL이었다. 이때, 균이 증식하지 않는 시험관을 새로운 배지에 접종하여 배양한 결과, 균 증식이 관찰되지 않아 최소사멸농도 MBC도 1.0 mg/mL으로 확인되었다. *V. parahaemolyticus*에 대하여도 *E. coli*와 비슷한 경향을 나타내었으며, *P. fluorescens*에 대한 MIC와 MBC는 모두 0.5 mg/mL이었다. 한편, 그람 양성균인 *S. aureus*는 아연을 1.0 mg/mL와 0.5 mg/mL 첨가한 경우에는 균이 증식하지 않았으나, 0.25 mg/mL 첨가시에는 균이 증식한 시험관도 확인되어 MIC는 0.5 mg/mL이었고, MBC는 1.0 mg/mL으로 확인되었다. *B. cereus* 및 *B. subtilis*에 대하여는 *E. coli*와 비슷한 경향을 나타내어 MIC와 MBC 모두 1.0 mg/mL이었다.

게르마늄 강화 식품소재는 *P. fluorescens*에 대하여 가장 강한 항균효과를 나타내었으며, MIC와 MBC는 공히 0.5 mg/mL이었다. 그리고 *Bacillus* sp.에 대하여는 MIC 및 MBC 공히 1.0 mg/mL이었으며, *S. aureus*에 대한 MIC는 1.0 mg/mL이었다. 반면, *E. coli* 및 *V. parahaemolyticus* 등 그람 음성균에 대하여는 1.0 mg/mL 첨가하여도 균 증식이 확인되었다(Table 5)

이상의 결과, 게르마늄 강화 식품소재는 그람 양성균에 대하여는 항균활성을 나타내었으나, 그람 음성균에 대한 MIC는 1.0 mg/mL 이상이였다. 반면, 아연 강화 식품소재는 그람 양성균 및 음성균 모두에 대하여 MIC 1.0 mg/mL 이하를 나타내어, 아연이 게르마늄보다는 강한 항균효과를 나타내는 것을 확인할 수 있었다. Hassen 등(19)의 연구에서도 아연을 첨가한 nutrient broth에서 *P. aeruginosa*와 *B. thuringiensis*의 증식이 억제되었으며, MIC는 각각 1.5 및

0.5 mM이라고 보고하여 아연은 그람 양성균은 물론 음성균에 대하여도 강한 항균활성이 있는 것으로 판단된다. 또한, Lee 등(20)에 의하면 potassium acetate를 증류수에 녹여 pH를 7.0으로 맞추어 항균효과를 살펴보았을 때, *E. coli*에 대한 MIC는 62.5 mg/mL이었고, *S. aureus*에 대하여는 125 mg/mL이라고 보고하였다. 반면, 본 연구에서 zinc acetate를 첨가한 식품소재의 *E. coli* 및 *S. aureus*에 대한 MIC는 1.0 mg/mL 이하의 강한 항균활성을 나타내었다. 직접 비교하기에는 무리가 있지만, zinc acetate는 potassium acetate보다 대략 50배 이상 강한 항균효과를 가지고 있는 것으로 추정되며, zinc acetate에 있어서 항균작용은 acetate에 의한 것보다는 Zn에 의한 것이 강한 것으로 판단된다.

식중독 세균의 증식에 미치는 영향

미량원소 강화 식품소재의 식중독 세균의 증식에 미치는 영향을 조사하기 위하여 아연을 첨가한 gelatin을 액체배지에 일정 농도가 되도록 첨가하여 식중독 세균에 대한 균 증식 억제력을 살펴보았다. 그람 양성균인 *S. aureus*는 아연 농도가 0.5 mg/mL일 때 72시간까지 균 증식이 전혀 일어나지 않았다. 반면, 0.25 mg/mL일 경우 24시간까지 균 증식이 일어나지 않다가 24시간 이후부터 서서히 증식하기 시작하였으며, 0.13 mg/mL일 때에는 12시간부터 흡광도 값이 서서히 증가하기 시작하였으나 대조구에 비해서는 낮았다(Fig. 1). 한편, 같은 그람 양성균이라도 *Bacillus* sp.에 대하여는 아연을 0.5 mg/mL 첨가하여도 완전히 균 증식을 억제하지는 못하였다(결과 미제시).

그람 음성균인 *V. parahaemolyticus*에 대하여는 아연을 0.5 mg/mL 첨가한 경우에 *S. aureus*와 마찬가지로 72시간까지 균 증식이 전혀 일어나지 않았다. 반면, 0.25 mg/mL보다 적게 첨가한 경우에는 대조구에 비하여 약간 균 증식이 억제되었으나, 완전히 억제시키지는 못하였다(Fig. 1). 또한, 같은 그람 음성균인 *E. coli*에 대하여도 비슷한 경향을 나타내었다(결과 미제시).

Lee 등(11)은 식중독 세균 6종에 대한 calcium chloride,

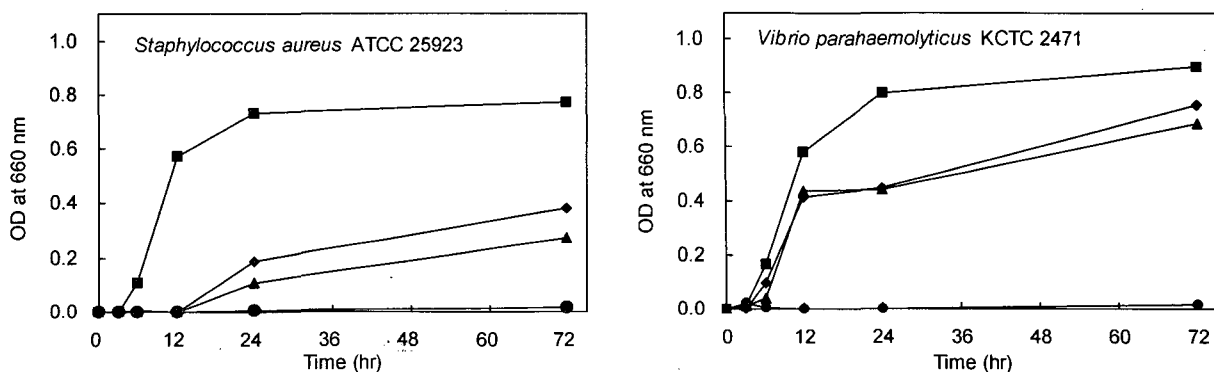


Fig. 1. Growth inhibition effect of zinc acetate in combination with 1% gelatin against *S. aureus* and *E. coli* at 35°C in broth medium.

■, control; ◆, 0.13 mg/mL; ▲, 0.25 mg/mL; ●, 0.5 mg/mL.

magnesium chloride, potassium chloride, sodium chloride 등의 농도에 따른 항균효과를 살펴본 결과, calcium chloride 가 가장 높은 항균효과를 나타내었으며, 3%첨가에 의하여 *E. coli* 및 *S. aureus*에 대해서만 24시간동안 균 증식을 완전히 억제시켰다고 보고하였다. 그리고 magnesium chloride 는 5% 농도에서 6 균주 중 3 균주의 증식을 완전히 억제시켰다고 보고하였다. 또한, 본 연구결과에서는 calcium chloride, magnesium chloride, manganese chloride, ferric chloride, selenium oxide 등을 1% 첨가하여도 실험에 제공된 6 균주 모두에 대하여 항균활성을 나타내지 않았다(Table 2). 반면, 아연 0.5 mg/mL(0.05%) 첨가만으로도 *S. aureus*, *V. parahaemolyticus*, *E. coli* 등의 식중독 세균의 증식을 완전히 억제시켜 아연이 이들 미량금속보다는 항균효과가 우수한 것으로 판단된다.

아연 강화 식품소재 코팅에 의한 어묵 제품의 저장 효과
아연 강화 식품소재 코팅에 의한 시판 어묵 제품의 유통기간 연장 가능성을 알아보기 위하여 아연과 gelatin을 혼합한 용액에 어묵 제품을 침지하여 코팅한 후 저장온도 및 시간에 따른 생균수 변화를 살펴보았다. 먼저, gelatin 농도에 따른 생균수 변화를 조사한 결과는 Fig. 2에 나타내었으며, gelatin을 3% 이상 첨가한 용액으로 어묵을 코팅한 경우 저장 3일까지 생균수는 대조구에 비해 약 2 log cycle 낮게 검출되었으며, 5% 첨가는 3% 첨가한 것과 거의 유사한 경향을 나타내었다. 따라서 상업적 이용을 위해서는 1% zinc acetate 과 3% gelatin을 혼합하는 것이 가장 이상적일 것으로 판단되었다.

1% zinc acetate와 3% gelatin을 혼합한 용액에 어묵을 침지하여 코팅한 것을 저온 및 상온에 저장하면서 생균수 변화를 살펴본 결과는 Table 6에 나타내었다. 저장온도 10°C에서 대조구는 초기부패(10^{7-8} CFU/g)까지 7일정도 걸리는데 반하여 시료 용액에 침지한 어묵은 15일정도로 저장기간을 8일정도 더 연장시킬 수 있을 것으로 판단되었다.

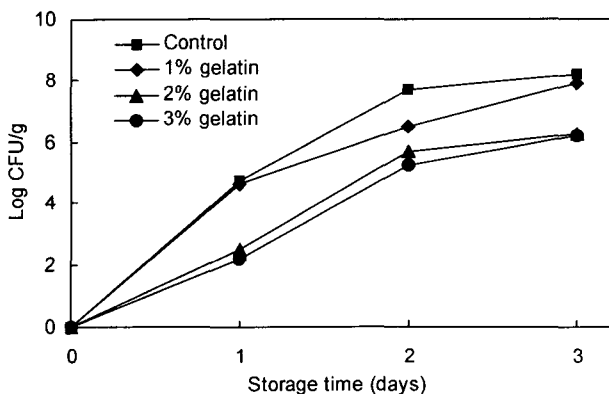


Fig. 2. Change of viable cell number in the fish pastes coated with the solution of 1% zinc acetate in combination with the various gelatin concentrations at 25°C of storage temperature.

Table 6. Change of viable cell number in the fish pastes coated with the solution containing both zinc acetate and gelatin under the different storage temperatures

Storage (days)	Viable cell number (CFU/g)					
	10°C		25°C		35°C	
	Control	ZG ¹⁾	Control	ZG	Control	ZG
0	0	0	0	0	0	0
1	1.7×10^3	3.3×10^1	3.9×10^4	2.1×10^2	3.3×10^5	8.8×10^4
2	4.6×10^4	4.2×10^2	4.5×10^7	8.8×10^5	1.1×10^8	4.2×10^7
3	6.8×10^5	4.5×10^3	5.5×10^8	1.9×10^6	- ²⁾	-
7	5.9×10^8	4.3×10^5	-	-	-	-
10	-	3.8×10^6	-	-	-	-
15	-	4.5×10^7	-	-	-	-

¹⁾ZG, 1% zinc acetate+3% gelatin. ²⁾Not tested.

25°C와 35°C의 경우도 1% zinc acetate와 3% gelatin의 혼합 용액으로 코팅된 어묵의 경우 대조구에 비하여 균 증식이 억제 되었다.

따라서 아연 강화 식품소재 코팅에 의하여 저온 유통은 물론 상온 유통과정에서 생기는 균 증식을 어느 정도 억제시켜 시판 어묵 제품의 유통기간을 연장시킬 수 있을 것으로 사료된다.

보건복지부는 2000년 7월 28일자로 영양소 기준치를 제정하였고(21), 이에 따르면 우리나라인이 섭취해야 할 아연의 영양소 기준치는 1일 12 mg이다. 본 실험에 사용된 아연 강화 식품소재로 코팅한 어묵 한 개(10 g)를 통하여 아연을 약 0.5 mg 섭취할 수 있으므로, 하루에 어묵을 24개 섭취하면 아연 영양소기준치에 달하는 것으로 추정된다. 아연은 우리 체내에 없어서는 안 될 필수 미량원소이며, 우리나라 여대생(14) 및 여중생(15)의 1일 평균 아연 섭취량은 50%정도의 수준으로 매우 적게 섭취하고 있으므로 아연이 강화된 식품소재를 통하여 부족분을 보충할 수 있을 것으로 사료된다.

요 약

식중독 미생물에 의한 식중독 예방은 물론 부족하기 쉬운 필수 미량원소의 섭취량을 증가시키기 위하여 아연 및 게르마늄 등의 필수 미량원소를 강화시킨 식품소재의 항균효과 및 그 이용가능성을 검토하였다. 식중독 6 균주에 대하여 gelatin, dextrin, 불가사리 및 어류에서 추출한 collagen 등의 식품소재에 각종 미량원소를 강화하여 항균활성을 측정 한 결과, 식품소재의 종류에 따른 항균활성의 차이는 거의 없었다. 사용된 미량금속 중 아연과 게르마늄만이 식중독 세균에 대하여 항균활성을 나타내었으며, 특히, 아연 강화 식품소재는 *P. fluorescens*와 *S. aureus*에 대한 항균활성이 가장 큰 것으로 나타났고, *E. coli*, *V. parahaemolyticus*, *B. cereus*, *B. subtilis*에 대하여는 비슷한 활성을 나타내었다. 아연을 강화한 식품소재는 산성영역에서 안정하였으며, 게르마늄 강화 식품소재는 산성영역보다 알칼리 영역에서 보다 안정하였다. 또한, 미량원소 강화 식품소재는 열에 매우

안정하므로 가열식품인 통조림 제품이나 레토르트 식품에도 사용 가능할 것으로 사료된다. 식품의 코팅제로 사용되고 있는 gelatin과 아연을 혼합한 용액에 시판 어묵을 침지하여 코팅한 것을 저온 및 상온에 저장하면서 생균수 변화를 살펴본 결과, 저장온도 10°C에서 대조구는 초기부패(10^{7-8} CFU/g)까지 7일정도 걸리는데 반하여 시료 용액에 침지한 어묵은 15일정도로 저장기간을 8일정도 더 연장시킬 수 있을 것으로 판단되었다. 25°C와 35°C의 경우도 1% zinc acetate와 3% gelatin의 혼합 용액으로 코팅된 어묵의 경우 대조구에 비하여 균 증식이 억제되었다. 따라서 아연 강화 식품소재 코팅에 의하여 식품 오염 세균의 증식을 억제시켜 어묵 제품의 유통기간을 연장시키는 것은 물론 필수 미량원소인 아연의 섭취량을 증가시킬 수 있을 것으로 판단된다.

감사의 글

이 연구는 국립수산물학원(생물학적 위생안전 위해관리 연구, RP-2005-FS-001)의 지원에 의해 운영되었습니다.

문헌

- Lee YW, Kim JG. 1989. A review study of food poisoning in Korea. *Kor J Food Hygiene* 4: 199-256.
- Cho NS, Yang YY, Choi EH. 1986. Combination effect of potassium sorbate and sodium benzoate with sodium chloride on the growth of *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium*. *Korean J Food Sci Technol* 18: 23-27.
- Kathleen AL, Scott EM. 1987. Effects of potassium sorbate alone and in combination with sodium chloride on the growth of *S. aureus* MF31. *J Food Prot* 50: 750-752.
- Ita PS, Hutkins RW. 1991. Intracellular pH and survival of *Listeria monocytogenes* Scott A in tryptic soy broth containing acetic, citric, and hydrochloric acids. *J Food Prot* 54: 15-19.
- Tamblyn KC, Conner DE. 1997. Bactericidal activity of organic acids against *Salmonella typhimurium* attached to broiler chicken skin. *J Food Prot* 60: 629-633.
- Ahn ES, Kim YS, Shin DH. 2001. Observation of bactericidal effect of allyl isothiocyanate on *Listeria monocytogenes*. *Food Sci Biotechnol* 10: 31-35.
- Ahn EY, Shin DH, Baek NI, Oh JA. 1998. Isolation and identification of growth inhibition active substance from *Sophora flavescens* Ait. *Korean J Food Sci Technol* 30: 672-679.
- Hwang JK, Kim HJ, Sim JS, Pyun YR. 1999. Bactericidal activity of chitosan on *Streptococcus mutans*. *Korean J Food Technol* 31: 522-526.
- Lee JY, Kim YS, Shin DH. 2002. Growth inhibition synergistic effect of linolenic acid and monoglyceride against *Bacillus cereus* and *Staphylococcus aureus*. *J Agric Food Chem* 50: 2193-2199.
- Park CS, Cha MS. 2000. Comparison of antibacterial activities of green tea extracts and preservatives to the pathogenic bacteria. *Korean J Food & Nutr* 13: 36-44.
- Lee NY, Kim YS, Shin DH. 2003. Growth inhibitory effects of chloride salt and organic acid salts against food-borne microorganisms. *Korean J Food Sci Technol* 32: 1233-1239.
- Kim HJ, Lee SC. 2002. Antimicrobial activity of silver ion against *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus* and *Vibrio parahaemolyticus*. *Korean J Food Sci Technol* 31: 1163-1166.
- Lim HJ. 2003. A study on the zinc intake and urinary excretion of preschool children in Busan. *Kor J Nutr* 36: 950-959.
- Kim CH, Paik HY, Joung HJ. 1999. Evaluation of zinc and copper status in Korean college women. *Kor J Nutr* 32: 227-286.
- Kim MH, Lee YS, Lee DH, Park HS, Sung CJ. 2001. The study of relation among serum, copper, zinc, leptin and lipids of middle-school girls. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 30: 540-546.
- Clark AH, Ross-Murphy SB. 1987. Structural and mechanical properties of biopolymer gels. *Adv Polymer Sci* 83: 57-192.
- Yoshimura K, Terashima M, Hozan D, Ebato T, Nomura Y, Ishii Y, Shirai K. 2000. Physical properties of shark gelatin compared with pig gelatin. *J Agric Food Chem* 48: 2023-2027.
- Lorian V. 1991. *Antibiotics in laboratory medicine*. Willams & Wilkins, Baltimore, USA. p 53.
- Hassen A, Saidi N, Cherif M, Boudabous A. 1998. Effects of heavy metals on *Pseudomonas aeruginosa* and *Bacillus thuringiensis*. *Bioresource Technol* 65: 73-82.
- Lee YL, Cesario T, Owens J, Shanbrom E, Thrupp LD. 2002. Antibacterial activity of citrate and acetate. *Nutrition* 18: 665-666.
- KFDA (Korea Food & Drug Administration). 2001. The Report on Nutrition Labelling Settlement Project (II)-Study for Improvement of Nutrition Labeling System. Korea. p 266.

(2005년 8월 5일 접수; 2005년 11월 15일 채택)