

重合磷酸鹽의 抗菌效果에 관한 研究

李 泰 植 · 張 東 錫* · 金 成 峻

國立水產振興院

Bacteriostatic Effect of Condensed Phosphate on the Growth of Bacteria

Tai - Sik LEE, Sung - Jun KIM, and Dong - Suck CHANG*

National Fisheries Research and Development Agency

Pusan 606 - 032, Korea

Condensed phosphates have been used in various meat products to enhance the water holding capacity, to improve texture and to prevent the development of off flavors and off odors.

This study was intended to observe the effects of poly - and pyrophosphate on the growth of sanitary indicative bacteria and food poisoning bacteria.

The bacteriostatic effect of poly - and pyrophosphates against Gram positive bacteria was much stronger than that of against Gram negative organisms. The effective inhibitory concentration of sodium polyphosphate on the growth of bacteria was varied by species such as 0.3% to *Staphylococcus aureus*, 0.9% to *Salmonella*, and more than 1.0% to *Escherichia coli* in nutrient broth.

When *Staphylococcus aureus* suspension was treated with 0.5% sodium polyphosphate at 35 °C for 1 hour, the release of UV - absorbing substances from the organism was confirmed. However no significant effect was observed in *Escherichia coli* under the similar condition.

When alaska pollack fillets were dipped in 3.5% sodium polyphosphate at 2°C for 1 min. prior to freezing, the viable cell count and coliform MPN's of the frozen product were decreased with the range of 30 to 50% in comparison with those of control.

서 론

중합인산염류는 주로 육제품의 색소 고정, 보수력 증대, 조직 및 풍미 개선, 조리중의 과도한 수축의 방지 등을 위한 품질개량제로서 광범위하게 사용되고 있으며, 어패류의 냉동 변성이나 해동시 drip의 방지에도 널리 사용되고 있고 특히 어육연제품 및

냉동 고기품의 탄력 보강 및 냉동 변성방지의 목적으로 많이 사용되고 있다. 이러한 중합인산염의 일반 가공 식품에의 첨가 및 처리가 제품의 물리, 화학적 성상에 미치는 영향에 관한 연구로는 Shults et al.(1972), Suttom(1973), Shults and Wierbicki(1973), 姜 · 朴(1975), 崔등(1975) Tenhet et al.(1981) 등 많이 있다.

* 釜山水產大學 微生物學科

(Department of Microbiology, National Fisheries University of Pusan, Pusan 608-737, Korea)

또한 중합인산염의 첨가 및 처리가 육제품의 처리 가공시에 혼입되어지는 세균의 생리, 생육에 미치는 영향에 관한 연구로는 Rowler and Shattack (1981), Seward et al.(1982), Nelson et al.(1983), Molins et al.(1984), Wagner and Busta(1985), 등이 있다. 그러나 이러한 중합인산염이 가공 식품의 처리 및 가공 공정 중에 혼입될 수 있는 위생지표세균이나 식중독 원인균에 미치는 영향에 관한 구체적인 연구는 거의 찾아볼 수 없는 실정이다.

따라서 현재 수산물 가공 공장에서 널리 사용되고 있는 sodium polyphosphate, sodium pyrophosphate, polymixer 등의 중합인산염이 위생 지표세균 및 식중독 원인세균에 대한 항균 효과를 밝히고, 수산제품에의 응용실험을 비교, 검토하여 수산식품의 세균학적 품질관리에 필요한 기초 자료를 얻고자 본 연구를 수행 하였다.

재료 및 방법

1. 재료

1) 시약

본 실험에서 사용한 중합인산염은 시중에서 가공 식품의 품질 개량제로 판매 되고 있는 sodium polyphosphate($\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$, M·W. 367.86)와 sodium pyrophosphate ($\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$, M·W. 261.91) 그리고 혼합 비율이 알려져 있지 않은 polymixer(서도화학 제품)를 각각 사용 하였다.

2) 사용 균주

사용 균주는 실험실에서 직접 분리한 것으로 *Escherichia coli* type I 과 *Salmonella* (polyvalent flagella 및 somatic반응 양성), *Staphylococcus aureus*(coagulase 양성), 및 *Bacillus cereus*, *Bocillus subtilis*를 각각 Gram음성 및 양성 균의 대표종으로 사용 하였다.

2. 방법

1) 중합인산염의 항균력 측정

중합인산염의 항균력은 일정량의 중합인산염을 함유하는 배지에 균을 접종하고 일정 시간 배양한 후 균의 증식 여부로써 측정 하였다.

(1) 사용 균액의 조제

사용 균액은 보관 균주를 전배양한 다음 nutrient

broth 50ml에 한 백금이 접종하여 35℃에서 100rpm으로 진탕 배양하여 spectrophotometer (ANA - 75, Tokyo photoelectric Co.)로써 OD 660nm 1.0일때의 배양액을 사용 균액으로 하였다.

(2) 중합인산염을 첨가한 배지의 조제

멸균한 nutrient broth에 여과 멸균(0.22 μm millipore membrane filter paper, Millipore corp. Bedford, U.S.A)한 중합인산염 용액을 0.1%에서 1.0%까지 구분 첨가하고 각 농도 별 배지의 총량은 10ml가 되도록 하였다.

(3) 항균력 측정

중합인산염을 첨가한 배지에 (1)의 균액 0.05ml를 접종하여 35℃에서 24시간 배양한 후 spectrophotometer로 660nm에서 균의 증식 정도를 측정 하였다.

(4) 중합인산염 처리에 의한 균의 증식 억제 효과 시험

사용균액 10ml를 3000rpm으로 15분간 원심분리하여 集菌한 다음 인산완충용액으로 2회 세척한 후 再集菌 하였다. 그리고 *Staphylococcus aureus*의 경우는 0.1%와 0.5%, *Escherichia coli*의 경우는 1.0%와 1.5%의 중합인산염 용액 10ml에 각각 현탁시켜 35℃에서 60분간 방치한 다음 위에서와 같이 원심분리 하여 그 상정액을 240, 260, 280, 및 300nm에서 흡광도를 측정하여 자외부 흡광물질의 누출 여부를 조사 하였으며 여기서 얻은 균체는 위에서와 같은 방법으로 1회 세척한 다음 集菌하여 인산완충용액 10ml에 현탁시켜 중합인산염 처리균액으로 하였다. 그리고 이 처리 균액 1ml를 nutrient broth 50ml에 접종하여 35℃ 100rpm으로 진탕배양 하면서 시간 경과에 따른 균의 증식을 측정 하였다.

2) 명태 Fillet에 첨가된 중합인산염의 항균력 시험

명태 fillet를 2℃로 냉각한 3.5% sodium polyphosphate 용액에 1분간 침지한 다음 -40℃에서 24시간 동결한 것과 침지하지 않은 대조구의 생균수, 대장균군 및 분변계대장균의 수를 측정하였다.

한편 동결 저장 중의 항균력 시험을 위하여 명태 fillet를 균질화한 다음 50g씩 취하여 2% 및 3%의 중합인산염 용액 100ml에 풀어서 -20℃에서 급속 동결 시키고 같은 온도에서 30일간 저장 하면서 생균수의 변화를 측정 하였다. 이밖에 기타 세균학적 시험 방법은 Manual of methods for general bacte-

Table 1. Growth of bacteria in nutrient broth with phosphates at 35°C for 24 hrs.

Strain	Concentration of phosphate (%)	Optical density at 660nm		
		sodium polyphosphate	sodium pyrophosphate	polymixer
<i>S. aureus</i>	0	0.89	0.89	0.89
	0.2	0.85	0.97	0.96
	0.3	0.04	0.92	0.93
	0.4	0.05	0.04	0.04
<i>B. cereus</i>	0	1.10	1.10	1.10
	0.1	1.08	1.00	1.00
	0.2	0.56	0.63	0.60
	0.3	0.01	0.01	0.01
	0.4	0.01	0.01	0.01
<i>B. subtilis</i>	0	1.09	1.09	1.09
	0.1	1.05	0.97	0.98
	0.2	0.95	0.92	0.91
	0.3	0.67	0.02	0.02
	0.4	0.02	0.02	0.02
<i>E. coli</i>	0	1.10	1.10	1.10
	0.5	1.10	1.02	1.00
	1.0	1.00	1.01	1.00
<i>Salmonella</i>	0	1.07	1.07	1.07
	0.5	1.10	0.96	0.97
	1.0	0.03	0.03	0.03

riology(1981)에 따랐다.

결과 및 고찰

1. 중합인산염의 항균 효과

1) 균종 및 중합인산염의 종류에 따른 항균력의 차이

Nutrient broth에서 중합인산염의 항균력을 균종별로 조사하여 본 결과 중합인산염의 항균력은 종류 및 균종에 따라 相異하였다(Table. 1).

즉 중합인산염의 항균력은 Gram 음성균인 *Escherichia coli*나 *Salmonella*에 비하여 Gram 양성균인

Staphylococcus aureus, *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*에서 강하게 나타났다.

균의 생육 저지를 위한 최소농도는 *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*와 같은 Gram 양성균에서는 0.3%~0.4%인 반면 *Salmonella*와 *Escherichia coli*는 각각 1.0% 및 1.0% 이상이었다. 그러나 중합인산염의 종류에 따른 항균력의 차이는 크지 않았다.

Elliott et al. 등(1964)에 의하면 중합인산염의 항균력은 이들 중합인산염이 세균의 생육에 필수적인 금속이온을 봉쇄하기 때문이라 하였으며, Van Wazer and Campanella (1950), Van Wazer and Callis (1958) 등은 이들 중합인산염의 금속 이온 봉쇄능은 중합도가 크면 클수록 커진다고 하였다.

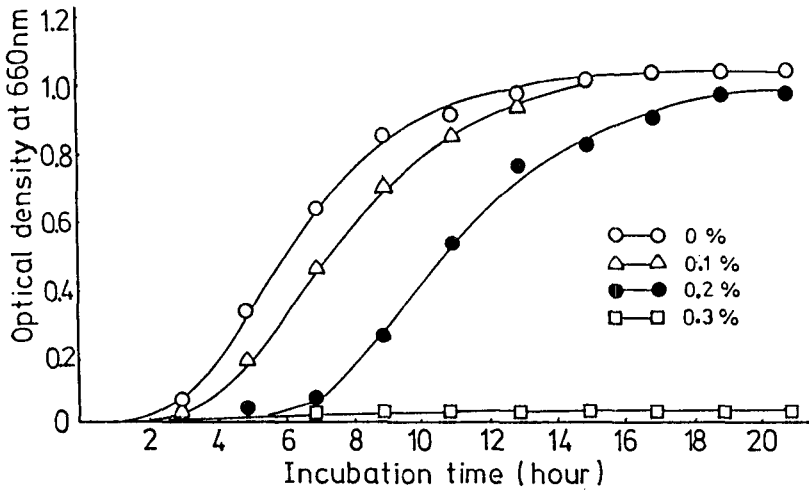


Fig.1. Growth of *S. aureus* in nutrient broth with sodium polyphosphate at 35°C.

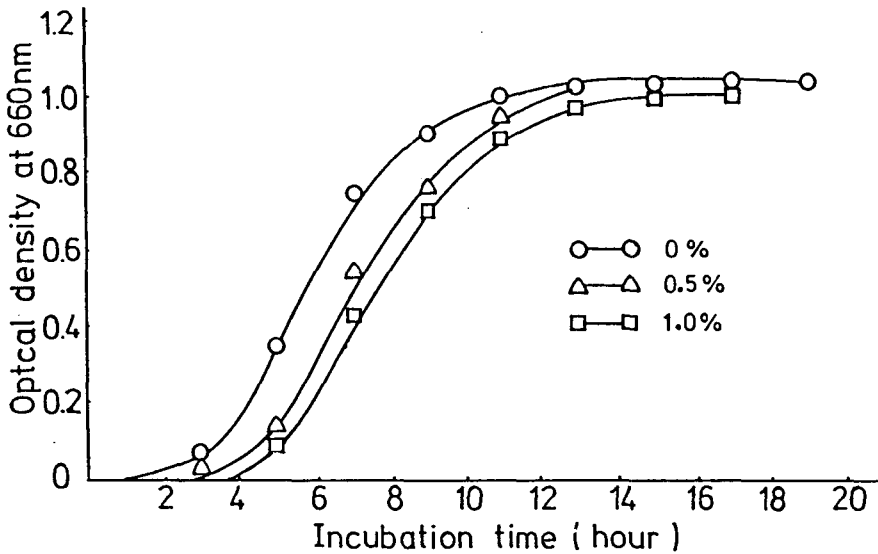


Fig.2. Growth of *E. coli* in nutrient broth with sodium polyphosphate at 35°C.

그러나 본 실험에서는 중합도에 따른 뚜렷한 항균력의 차이는 찾아볼 수 없었다.

한편 균의 발육을 효과적으로 저지할 수 있는 농도 이하의 중합인산염 존재하에서 균의 증식을 보면 *Staphylococcus aureus*의 경우 sodium polyphosphate 0.1% 첨가에 의하여 대조구에서 보다 lag phase가 약 1시간 연장 되었고 약 14시간 경과 후에는 대조구와 같은 증식 정도를 보였으며 0.2% 첨

가 하였을 때에는 lag phase가 약 4시간 연장 되었을 뿐 아니라, 균의 최대 증식도 대조구 보다 낮았다 (Fig 1).

그리고 *Escherichia coli*의 경우에도 0.5% 및 1.0%의 중합인산염 첨가에 의하여 lag phase가 대조구에 비하여 약 2시간 연장 되었다(Fig.2).

2) 중합인산염 처리에 의한 균체의 손상과 손상된 균체의 증식

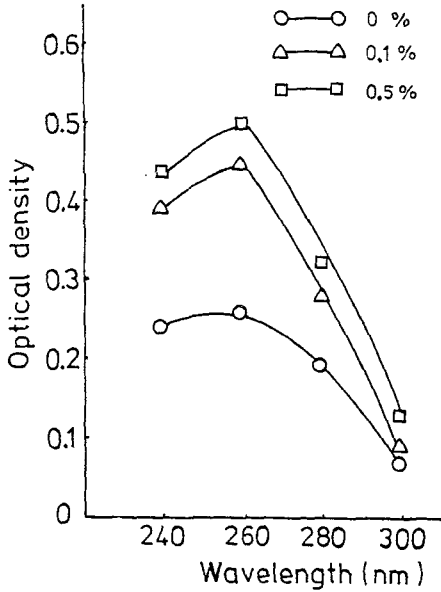


Fig.3. Release of UV-absorbing substances from *S. aureus* treated with sodium polyphosphate.

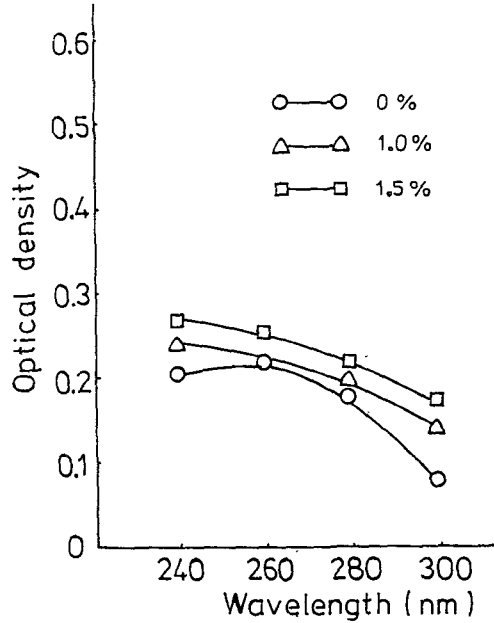


Fig.4. Release of UV-absorbing substances from *E. coli* treated with sodium polyphosphate.

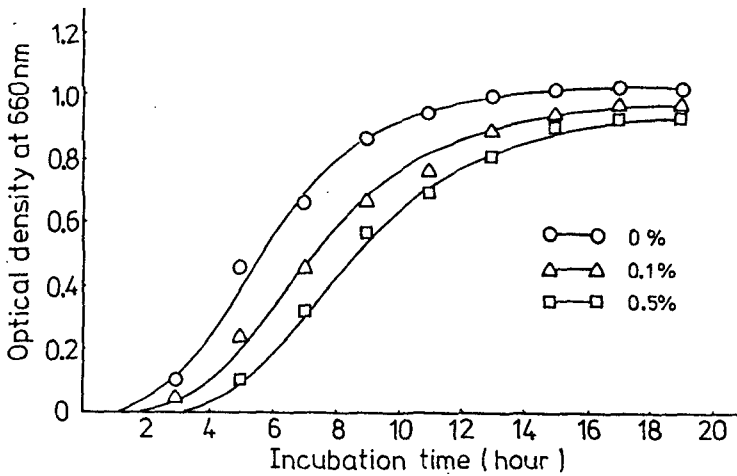


Fig.5. Growth of *S. aureus* pretreated (at 35°C for 1 hour) with sodium polyphosphate at 35°C.

Elliott et al.(1964)은 중합인산염은 세균에 대하여 생육저지 활성이 있으며 이러한 항균력은 중합인산염의 금속 이온 봉쇄능에 기인된다고 보고 하였으나 小澤과 太田(1965)는 금속 이온 봉쇄능이 있는 meta phosphate가 거의 항균력을 나타내지 못하였다고 하였다. 이와같은 점으로 미루어 중합인산염의 항균력은 반드시 금속 이온 봉쇄능에 의한 것이라고는 볼 수 없으므로 이러한 중합인산염의 항균작용 기구를 밝혀 보기 위하여 *Staphylococcus aureus*와

*Escherichia coli*를 중합인산염 용액으로 처리하여 균체의 손상 여부와 처리된 균체의 증식 정도를 조사한 결과 *Staphylococcus aureus*의 경우는 0.1 및 0.5%의 중합인산염 용액으로 처리한 후 균체를 제거한 처리액은 260nm에서 최대흡광도를 나타내므로서 균체성분의 누출을 확인할 수 있었으나(Fig. 3) *Escherichia coli*의 경우는 0.1 및 1.5%의 중합인산염 처리에서도 대조구와 별다른 차이를 보이지 않았다(Fig. 4).

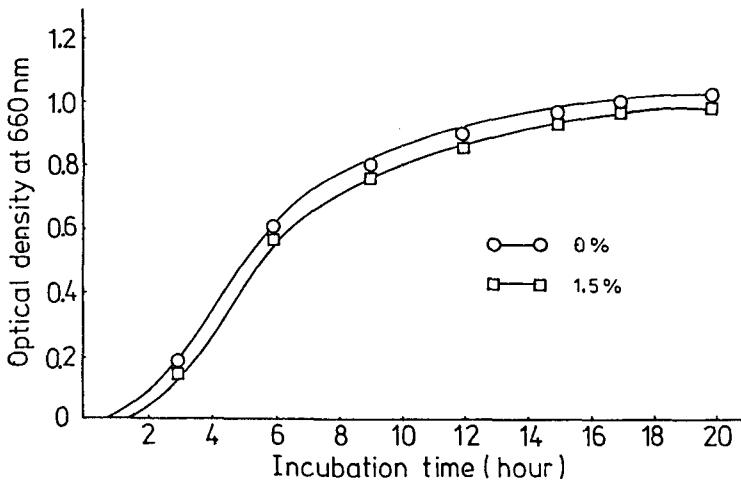


Fig.6. Growth of *E. coli* pretreated (at 35°C for 1 hour) with sodium polyphosphate at 35°C.

본 실험에서는 균체로부터 누출된 이들 紫外部 吸光物質에 대하여 구체적인 분석을 하지 못하였기 때문에 이 물질들이 균체의 어떤 부위에서부터 유래한 것인가는 알 수 없으나 Isshiki et al.(1977)은 *Bacillus subtilis*를 사용한 실험에서 균체처리 중합인산염 용액의 최대흡광도는 260nm 부근에서 나타났으며 균체로부터 누출된 紫外部 吸光物質을 paper chromatography로 분획 시험한 결과 이들이 RNA 구성 염기 및 저분자 염기 유도체였다고 밝히고 있다. 이러한 사실등으로 미루어 볼때 중합인산염의 항균력은 중합인산염이 균체의 생육에 필수적인 금속이온의 봉쇄와 더불어 세포막층부의 부분적인 구조 변화 또는 파괴에 의한 생리적 기능 저하에 연유하는 것으로 추정된다.

또한 중합인산염 처리에 의한 균체 손상을 알아보기 위하여 중합인산염 0.1, 0.5, 1.0 및 1.5%에서 35°C, 60분간 처리 후 인산 완충액으로 세척한 균체를 nutrient broth에 접종 진탕배양한 후 균의 증식을

흡광도 표시한 결과는 Fig. 5, 6과 같다.

*Staphylococcus aureus*는 0.1%와 0.5% sodium polyphosphate 처리에 의하여 lag phase가 각각 1시간 및 2시간 연장 되었는데 비하여 *Escherichia coli*는 1.0%와 1.5%로 처리한 경우에도 대조구와 거의 비슷한 증식 정도를 보였다. 이와같이 *Escherichia coli*가 *Staphylococcus aureus*보다 중합인산염에 대한 감수성이 약한 것은 Gram음성균의 세포 표층부의 점질층이 중합인산염의 세포내 침투에 대한 방벽작용을 하기 때문이라고 설명하고 있다(Isshiki et al., 1977, Tutumi et al., 1977). 즉 세균의 중합인산염에 대한 감수성은 중합인산염 처리에 의하여 균체 세포내의 재생산 기구의 손상에 의한 것으로 추정하여 볼 수 있다.

2. 명태 fillet에서의 중합인산염의 항균력

냉동명태 fillet 제조에 있어 중합인산염 용액에의 침지 유무에 따른 제품의 세균학적 품질 변화를 알

Table 2. Differences of viable cell count and coliform MPN in frozen alaska pollack fillet dipped in 3.5% sodium polyphosphate at 2°C for 1 min

Trial	Sample	MPN per 100g		Viable cell count per g at 35°C
		Coliform	Fecal coliform	
1st	Control	330	<18	700
	Treated	92	<18	510
2nd	Control	1300	<18	2000
	Treated	790	<18	1000

Table 3. Changes of viable cell count in frozen alaska pollack meat homogenate with 3 or 2% sodium phosphates during storage at -20°C for 30 days

Kind of phosphate and concentration (%)	Number of colony on standard plate count agar at 35°C for 48hrs						
	Before freezing	Storage days					
		0	1	3	5	10	30
Control	1.4×10^7	8.4×10^6	6.3×10^6	4.8×10^6	4.8×10^6	3.6×10^6	2.6×10^6
Sodium polyphosphate(2%)	1.4×10^7	-	-	8.6×10^5	6.5×10^5	5.5×10^5	4.1×10^5
Sodium polyphosphate(3%)	1.4×10^7	-	-	8.6×10^5	5.9×10^5	5.9×10^5	4.4×10^5
Sodium pyrophosphate(3%)	1.4×10^7	-	-	7.2×10^5	4.9×10^5	4.8×10^5	4.2×10^5
polymixer(3%)	1.4×10^7	-	-	7.2×10^5	6.9×10^5	7.0×10^5	5.8×10^5

아보기 위하여 명태 fillet을 2°C로 냉각한 3.5% sodium polyphosphate 용액에 1분간 침지 하고 -20°C에서 동결시킨 다음 생균수, 대장균군 및 분변계대장균의 수를 측정 한 결과를 Table 2에 나타내었다. 또한 명태육의 동결저장 중 중합인산염의 항균력을 보기 위하여 sodium polyphosphate 용액에 균질화한 명태육을 분산 시키고 -20°C에서 동결한 후 30일간 저장 하면서 측정 한 생균수 변화를 Table 3에 표시 하였다.

Table 2에서 보는 바와 같이 중합인산염 용액에 침지한 fillet는 대장균군 및 생균수 모두 대조구 보다 낮은 균수를 나타내었다. 대장균군은 일차 시험에서는 100g중 330에서 92로, 이차 시험에서는 1300에서 790으로 각각 72% 및 39% 감소 하였으며 생균수는 일차 시험에서는 1g 중 700에서 510, 이차 시험에서는 2000에서 1000으로 각각 27% 및 50% 감소하였다.

또한 균질화한 명태육을 3% 또는 2% 중합인산염 용액에 분산시켜 동결저장 하였을 때의 생균수의 변화를 Table 3에서 살펴 보면 동결저장 3일 후 대조구는 $1.4 \times 10^7/g$ 에서 $4.8 \times 10^6/g$ 으로 약 1/2로 감소하였는데 비하여 중합인산염 용액에 분산시킨 것은 $1.4 \times 10^7/g$ 에서 $8.6 \times 10^5/g$ 과, $1.4 \times 10^7/g$ 에서 $7.5 \times 10^5/g$ 으로 약 1/16~1/20로 감소하였다. 그러나 이 이후 저장 기간의 경과에 따라 균수는 감소하였지만 그 정도는 완만 하였다. 한편 중합인산염 종류

에 따른 균수의 차이는 무시할 정도로 나타났다.

요 약

수산물 가공에 있어서 품질개량제로 널리 사용하고 있는 sodium polyphosphate, sodium pyrophosphate, 및 polymixer가 위생지표세균 및 식중독 원인세균등 여러세균의 생리, 생육에 미치는 영향을 조사한 결과는 다음과 같다.

1. 중합인산염의 항균력은 *Escherichia coli*나 *Salmonella*와 같은 Gram음성 균에 비하여 *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* 및 *Bacillus subtilis*와 같은 Gram양성균에서 강하게 나타났다.

2. 중합인산염으로 처리 하였을 때 Gram양성균인 *Staphylococcus aureus*에서는 균체성분의 누출이 확인 되었으나 Gram음성균인 *Escherichia coli*에서는 균체성분의 누출을 확인할 수 없었다.

3. Sodium polyphosphate 3.5% 용액에 침지한 냉동 명태 fillet는 대조구 보다 대장균군은 39~72%, 생균수는 27~50% 감소 되었으며, 중합인산염 처리는 균의 동결 저장성을 약화 시키는 것으로 나타났다.

문 헌

ASM. 1981. Manual of methods for general bacteriology. American Society for Microbiology, 402~

- 420.
- Elliott R. P., R. P. Straka and J. A. Garibaldi. 1964. Polyphosphate inhibition of growth of *Pseudomonas* from poultry meat. App. Environ. Microbiol. 12, 517~522.
- Isshiki K, M. Tutumi, K. Nishimura and T. Watanabe. 1977. Action of hexametaphosphate on *Bacillus subtilis*. J. Food Hyg. Soc. Japan 18(4), 335~340.
- Molins R. A., A. A. Kraft, D. G. Olson and D. K. Hotchkiss. 1984. Recovery of selected bacteria in media containing 0.5% food grade poly- and pyrophosphates. J. Food Sci. 49, 948~949.
- Nelson K. A., F. F. Busta, J. N. Sofos and M. K. Wagner. 1983. Effect of polyphosphates in combination with nitrate - sorbate or sorbate on *Clostridium botulinum* growth and toxin production in chicken frankfurter emulsions. J. Food Prot. 46, 846~850.
- Rowler D. B. and G. E. Shattack. 1981. Inhibition of *Moraxella-Acinetobacter* cells by sodium phosphates and sodium chloride. J. Food Sci. 46, 579~582.
- Shults G. W., D. R. Russell and E. Wierbicki 1972. Effect of condensed phosphates on pH, swelling and water holding capacity of beef. J. Food Sci. 37, 860~864.
- Shults G. W. and E. Wierbicki. 1973. Effect of sodium chloride and condensed phosphates on the water holding capacity, pH, and swelling of chicken muscle. J. Food Sci. 38, 991~994.
- Soward R. A., R. H. Deibel and R. C. Lindsay. 1982. Effects of potassium sorbate and other antibotulinal agents on germination and outgrowth of *Clostridium botulinum* type E spore in microcultures, App. Environ. Microbiol. 44, 1212~1221.
- Suttom A. H. 1973. The hydrolysis of sodium triphosphate in cod and beef muscle. J. Food Technol. 8, 185~189.
- Tenhet V., G. Finne, R. Nicklson and D. Toloday. 1981. Penetration of sodium tripolyphosphate into fresh and prefrozen peeled and deveined shrimp. J. Food Sci. 46, 344~349.
- Tutumi M., K. Yasui, K. Isshiki and T. Watanabe 1977. Action of hexametaphosphate on *Escherichia coli*. J. Food Hyg. Soc. Japan 18(4), 341~345.
- Van Wazer J.R. and C. F. Callis. 1958. Metal complexing by phosphates. Chem. Rev. 58, 1011~1046.
- Wagner M. K. and F. F. Busta. 1985. Inhibition of *Clostridium botulinum* 52A toxicity and protease activity by sodium acid pyrophosphate in media system, App. Environ Microbiol. 50, 16~20.
- 姜泳周 · 朴榮浩. 1975. 再凍結 명태肉의 冷凍變性에 미치는 縮合磷酸鹽 處理의 效果에 對하여. 韓水誌 8, 37~45.
- 崔渭鄉 · 張東錫 · 朴榮浩 · 李康鎬 · 金武男. 1975. 명태 fillet 製造를 위한 冷凍原料의 解凍方法과 加工品の 再凍結方法에 關한 研究. 韓水誌 8(2), 107~117.
- 小澤樹夫 · 太田斐子. 1975. 縮合磷酸鹽の保存科 效力 增強作用. 食衛誌 6, 10~14.

1988년 2월 13일 접수
1988년 5월 19일 수리