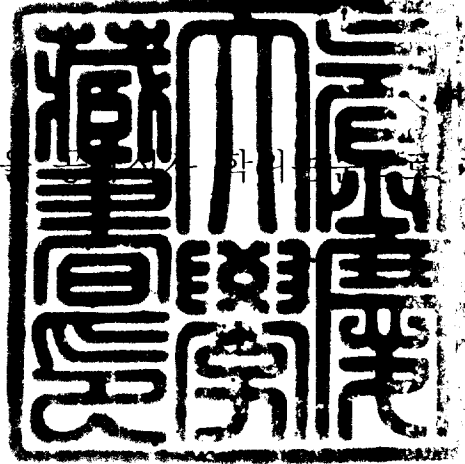


공학석사 학위논문

식중독 세균에 대한 미량원소 강화
식품소재의 항균활성

지도교수 조 영 제

이 논문을 공학석사 학위논문으로 제출함



2005년 2월

부경대학교 대학원

식 품 공 학 과

김 보 미

김보미의 공학석사 학위논문을 인준함

2005年 2月 25日

주 심 농학박사 양 지 영



위 원 공학박사 김 태 진



위 원 수산학박사 조 영 제



목 차

Abstract	3
서 론	5
재료 및 방법	8
1. 시약 및 공시균주	8
1.1. 시약	8
1.2. 공시균주	8
2. 실험 방법	8
2.1. 생육 저해환 측정	8
2.2. 최소저해농도(MIC) 및 최소사멸농도(MBC) 측정	9
2.3. 항균활성 측정	9
2.4. 어묵 제품의 코팅에 의한 생균수 변화 측정	9
결과 및 고찰	10
1. 식중독 세균에 대한 미량원소 강화 식품소재의 항균활성	10
2. 미량원소 강화 식품소재에 대한 pH 및 열 안정성	14
2.1. pH 안정성	14
2.2. 열 안정성	16
3. 해양생물에서 유래된 식중독 세균에 대한 미량원소 강화 식품소재의 항균활성	17
4. 식중독 세균에 대한 미량원소 강화 식품소재의 최소저해농도(MIC) 및 최소사멸농도(MBC)	18

5. 미량원소 강화 식품소재가 식중독 세균의 증식에 미치는 영향	24
6. 아연 강화 식품소재 코팅에 의한 어묵 제품의 저장 효과	42
요 약	44
참 고 문 헌	47
감사의 글	53

Antibacterial Activities of the Food-Materials Enriched Trace Elements against Food-Borne Microorganisms

Bo-Mi Kim

*Department of Food Science and Technology,
Graduate school of
Pukyong National University*

Abstract

Antibacterial activities of trace elements in combination with dextrin or gelatin was measured using by paper disc assay, minimum inhibitory concentration (MIC), minimum bacteriocidal concentration (MBC) and serial dilution methods against 6 species of food-borne microorganisms such as *Escherichia coli*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis* and *Pseudomonas fluorescens*. In paper disc methods, $\text{Zn}(\text{COOH})_2$ in combination with dextrin or gelatin showed antibacterial activity against *E. coli* (12 mm), *V. parahaemolyticus* (12 mm), *S. aureus* (14 mm) and *P. fluorescens* (20 mm). GeO_2 in combination with dextrin or gelatin showed antibacterial activity against *B. cereus* (19 mm), *B. subtilis* (18 mm) and *P. fluorescens* (19 mm).

MIC of $\text{Zn}(\text{COOH})_2$ in combination with dextrin or gelatin was appeared to 1.0 mg/ml on *E. coli*, *V. parahaemolyticus*, *B. cereus* and *B. subtilis*, and 0.5 mg/ml on *S. aureus* and *P. fluorescens*. MBC of $\text{Zn}(\text{COOH})_2$ in combination with

dextrin or gelatin was appeared to 1.0 mg/ml on *E. coli*, *V. parahaemolyticus*, *S. aureus*, *B. cereus* and *B. subtilis*, and 0.5 mg/ml on *P. fluorescens*. MIC of GeO₂ in combination with dextrin or gelatin was appeared to >1.0 mg/ml on *E. coli* and *V. parahaemolyticus*, 1.0 mg/ml on *S. aureus*, *B. cereus* and *B. subtilis*, and 0.5 mg/ml on *P. fluorescens*. MBC of GeO₂ in combination with dextrin or gelatin was appeared to >1.0 mg/ml on *E. coli*, *V. parahaemolyticus* and *S. aureus*, 1.0 mg/ml on *B. cereus* and *B. subtilis*, and 0.5 mg/ml on *P. fluorescens*.

In broth medium, the growths of the strains such as *E. coli*, *V. parahaemolyticus*, *S. aureus*, *B. cereus*, *B. subtilis* and *P. fluorescens* could be inhibited at 0.5 mg/ml of Zn(COOH)₂ in combination with dextrin or gelatin. The growths of the strains such as *S. aureus*, *B. cereus*, *B. subtilis* and *P. fluorescens* could be inhibited at 0.5 mg/ml of GeO₂ in combination with dextrin or gelatin.

Fish paste coated as 1% Zn(COOH)₂ in combination with 3% gelatin was optimal condition. Its antibacterial activity was stable at the range from 10°C to 35°C during the storage period of 15days.

서 론

식중독이란 병원성 미생물이나 미생물이 생산한 독소, 또는 화학 물질에 오염된 식품을 섭취한 후 단시간에 구토, 설사 및 복통을 일으키는 임상 증후군을 말한다. 식중독은 각 나라의 음식물 조리 및 보관방법, 식생활 양식, 보건위생 수준 등에 따라 원인이 다양하고 발생빈도에도 차이가 많다. 우리나라에서는 집단 급식 및 외식이 증가함에 따라 최근 증가하는 경향을 보이고 있다(김, 2002). 지난 20년간 우리나라의 식중독 발생건수가 계속적으로 증가하였음에도 불구하고, 이를 해결하기 위한 대책마련은 미흡한 실정이다(이 등, 1989). 또한, 우리나라의 식품 위생 수준이 예전에 비해 전반적으로 향상되었음에도 불구하고 식생활 형태의 변화로 식중독 발생은 해마다 증가하여, 사건 당 발생환자 수 역시 90년도에 20명 정도였던 것이 2000년에 이르러서는 3.5배인 69.8명에 가까워져 식중독 발생이 점차 집단화 및 대형화되고 있음을 알 수 있다(김, 2000).

월별 식중독 발생양상은 1997년도 이전까지는 기온이 높은 5~9월의 하절기에 집중되었는데, 1998년과 2000년에 들어서는 하절기에만 국한되는 것이 아니라 연중 꾸준히 발생하고 있다(박 등, 2001). 지난 10년간 우리나라에서 발생한 식중독의 주요 원인균은 살모넬라균, 황색포도상구균 및 장염 비브리오균이었고, 이 세 가지 균이 우리나라 식중독 사고발생의 85~90%를 차지하고 있다. 주요 식중독 원인식품으로는 육류 및 그 가공품, 어패류 및 가공품, 김밥과 도시락 같은 복합조리식품을 들 수 있으며, 이로 인한 사건 수나 환자 수도 지속적으로 증가하고 있는 실정이다. 육류에 있어서는 돼지고기와 닭고기가 원인인 경우가 많고 어패류에 있어서는 회와 생선회가 주요 원인이 되고 있다. 또한 김밥과 도시락 같은 복합조리식품에 의한 식중독 발생은 90년대에 들어 중·소규모의 도시락 제조업체와 외식업체의 수가 늘어났기 때문이다. 한편, 원인식품별 식중독 발생현황을 살펴보면 가정에서 발생하는 식중독 발생건수는 조금씩 감소하거나 거의 유사한 수준을 유지하는 반면, 외식 및 급식 문화의 발달로 식당 등의 음식점과 학교나 회사·공장의 집단급식소에서 발생

하는 식중독은 증가하는 추세를 보였다. 특히, 집단급식소 중 학교급식에 의한 식중독은 그 발생률이 높아 이에 대한 철저한 위생관리 및 위생교육과 아울러 식품 기인성 미생물에 의한 건강장애와 경제적 손실을 최소로 하기 위해 식중독 미생물을 억제하거나 방지하는 연구가 필요하다.

식중독 미생물과 부패성 미생물을 제어하기 위한 수단으로 안식향산나트륨(Cho et al., 1986), sorbic acid(Kathleen et al., 1987), 나트륨 등의 합성보존료 및 propionic acid, acetic acid, citric acid, tartaric acid, lactic acid 등의 유기산을 단독 혹은 병용한 실험들이 보고되고 있다(Ita et al., 1991; Yamblyn et al., 1997). 합성보존료가 사용된 식품을 기피하는 소비자들의 성향으로 동·식물로부터 천연 항균성 물질의 탐색도 활발히 진행되고 있다. 천연물질 중 보존료 및 보존 향상제의 소재로 가능성이 있는 것으로는 십자화과 식물의 휘발성분인 ally isothiocyanate(Ahn et al., 2001), 생약제인 감초추출물(Ahn et al., 1998) 키토산(Cho, 1998; Hwang et al., 1999; Oh et al., 2000), 각종 지방산, lysozyme, 펙틴분해물, 차 추출물 그리고 유산균 대사산물(Lee et al., 2002; Park et al., 2001) 등이 있으며, 또한 미량원소로서 항균활성을 나타내는 sodium chloride 및 potassium chloride를 단독 혹은 병용하여 식중독균에 대한 항균활성에 대한 연구도 보고 되었는데(Reddy et al., 1995; Sofos 1986), *B. cereus*는 sodium chloride 7% 또는 potassium chloride 9% 처리시 증식이 관찰되지 않는 것으로 나타났다(이 등, 2003).

미량원소로서 아연은 인간을 비롯한 동물의 성장과 발달에 필수적이며, 성장기, 임신기 등 아연의 필요량이 상대적으로 높을 때 아연결핍의 위험은 증가한다(임, 2003). 성장기의 아연 결핍은 식욕감소, 정신지체, 성장지연, 체중감소, 골격의 이상, 피부질환, 머리카락의 영양 결핍, 성적 능력의 미성숙 등의 임상적 결핍을 초래할 수 있다(Burch et al., 1975; Hambidge et al., 1976; Buzina 1980; Chase et al., 1980; Chen et al., 1985). 아연은 식품에 널리 존재하므로 심한 아연 결핍은 드물지만 경미한 상태의 아연 결핍은 세계적으로 만연되어 있다(이 등, 2000). 동물의 경우 임신기간 동안 아연 결핍으로 선천성 기형을 유발하기도 하며 사람에게는 이란과 이집트 등의 중동지방에서 심한 아연 결핍으로 미각손상, 저생식선증, 왜소증 등

이 보고되고 있다(Prasad et al., 1961). 저 아연 섭취는 폐경 이후 여성에게 인슐린과 같은 성장인자의 함량도 낮추며(Devine, 1998), 아연의 결핍증은 섭취부족 외에도 흡수감소, 배설증가와 필요량의 증가 등으로 유발될 수 있다. 즉, 소화기능의 저하로 인한 흡수 감소, 수술, 임신이나 수유 및 악성종양 등으로 아연의 요구량이 증가하는 경우가 해당된다(Solomons, 1988). 아연의 중요한 공급원은 굴을 비롯한 패류, 육류, 간, 가금류, 우유 등의 동물성 식품, 곡류와 채소는 동물성 식품에 비하여 아연의 함량이 낮다. 아연은 성장기 아동들의 성장 발달에 매우 중요한 역할을 하는 필수 미량 영양소이나, 아연 함량이 낮은 곡류 위주의 우리나라 식사유형에서는 아연 섭취량이 비교적 낮을 것으로 우려된다.

한편, 게르마늄은 산소의 효율적인 활용을 돕는 산소촉매제의 역할을 하여 만성 일산화탄소 중독증, 빈혈, 혈관장애, 심장장애, 저혈압, 세포노화, 정신장애등의 질환을 예방하며 인체 면역력 강화 작용과 통증제거 작용을 한다(김 등, 2003).

최근 여러 보고에 의하면, 성장기 어린이에 있어 단백질, 인 등은 과잉 섭취되고 있으나, 칼슘, 아연 등의 필수 미량 원소 섭취량은 권장량의 약 50%정도 부족하므로 영양 불균형이 심각한 상태이다(김 등, 2001).

젤라틴은 동물의 뼈, 연골, 가죽 등의 결합 조직의 주요 단백질 성분인 콜라겐(collagen)으로부터 얻어지는 유도단백질로서 주로 식품의 단백질 겔화제(gelling agent)로 사용되고 있다(Ledward, 2000). 식품가공에서 겔화제, 점증제(thickening agent) 또는 안정제(stabilising agent)로 사용될 수 있는 물질의 대부분은 다당류에 속하는 친수성 검물질(hydrophilic gum substance)인데 반해서 젤라틴은 tryptophan과 cystine을 제외한 필수아미노산을 모두 함유하고 있어 영양적 가치가 높다(Yoshimura, 1987). 최근 젤라틴은 겔화제 이외에도 건강식품으로까지 그 이용이 확대되고 있다.

본 연구에서는 필수 미량원소의 섭취량을 증가시키는 것은 물론 식중독 미생물에 의한 식중독을 예방하기 위하여 아연 및 게르마늄 등의 필수 미량원소를 강화시킨 gelatine 및 dextrine에 대한 식품소재로서의 항균효과 및 그 이용가능성을 검토하였다.

재료 및 방법

1. 시약 및 배지

본 연구에 사용한 시약은 zinc acetate (Junsei Chemical Co., LTD, Japan), germanium (IV) oxide (Aldrich Chemical Co., LTD, USA), dextrin (Junsei Chemical Co., LTD, Japan), gelatin (Duksan Pharmaceutical Co., LTD, Korea)이었다. 또한, 본 연구에서 공시균주의 배양 및 항균력 측정을 위하여 Mueller Hinton broth (MHB, Difco사) 및 Mueller Hinton agar (MHA, Difco사)를 사용하였다.

2. 공시균주

본 연구에 사용한 공시균주로는 Gram 양성균인 *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Bacillus subtilis* ATCC 6633 및 *Bacillus cereus* ATCC 11778와, 그리고 Gram 음성균인 *Escherichia coli* KCTC 1682, *Vibrio parahaemolyticus* KCTC 2471 및 *Pseudomonas fluorescens* KCTC 1767을 계대배양해서 사용하였다.

즉, 공시균주를 MHB 10 ml에 *S. aureus*, *B. subtilis*, *B. cereus*, *E. coli*, *V. parahaemolyticus*를 접종하여 35.5℃에서 18~24시간 배양하였으며, *P. fluorescens*는 25℃에서 18~24시간 배양하였다.

3. 생육 저해환 비교

식중독 세균에 대한 미량원소 강화 식품소재의 생육 저해환을 비교하기 위하여, 먼저 MHB에 배양한 공시균주 배양액을 MHA 평판배지에 100 μ l 접종하여 균일하게 도말하였다. 1% dextrin 및 gelatin에 zinc acetate 용액을 1% 첨가한 것을 zinc acetate 강화제로 1% dextrin 및 gelatin에 germanium 용액을 0.5% 첨가한 것을 germanium 강화제로 사용하였다. 각각의 강화제 80 μ l를 멸균 paper disc($\varnothing$ 10 mm)에 흡수시켜 미리 균주를 도말한 평판에 올린 후, *S. aureus*, *B. subtilis*, *B. cereus*, *E. coli*, *V. parahaemolyticus*의 경우 35.5℃에서 18시간 배양하였으며, *P.*

*fluorescens*는 25℃에서 18시간 배양 후 저해환의 직경(mm)을 측정하였다.

4. 최소저해농도(MIC) 및 최소사멸농도(MBC)측정

미량원소 강화 식품소재의 식중독 세균에 대한 최소저해농도(minimum inhibitory concentration, MIC) 및 최소사멸농도(minimum bacteriocidal concentration, MBC)를 알아보기 위하여, MHB에 zinc acetate 강화제와 germanium 강화제를 원액으로 하여 실험하였다. 원액 10 ml를 MHB로 1/10, 1/20, 1/40, 1/80, 1/160, 1/320, 1/640로 희석하여 멸균된 tube에 3 ml 씩 분주하여 각 균을 0.5 McFarland로 맞추어 30 μ l씩 넣은 후 식중독 세균에 대한 미량원소의 최소저해농도 및 최소사멸농도를 측정하였다.

5. 항균활성 측정

MHB에 zinc acetate 강화제와 germanium 강화제를 원액으로 하여 실험하였다. 원액 10 ml를 여과하여 1/10, 1/20, 1/40, 1/80로 희석하여 멸균된 tube에 3 ml 씩 분주하여 각 균을 0.5 McFarland로 맞추어 30 μ l씩 넣은 후 각 균주의 최적 배양온도에서 배양하면서 660nm에서 72시간 동안 흡광도를 측정하였으며, 3회 반복실험을 통하여 얻은 결과를 평균하여 나타내었다.

6. 어묵 제품의 코팅에 의한 생균수 변화

1% zinc acetate와 gelatin을 혼합한 용액에 시중 유통 어묵을 담구어 코팅한 후 25℃에서 10분간 건조시켜, 저장 온도 및 시간에 따른 생균수 변화는 표준한천 평판법을 이용하여 35.5℃에서 18시간 배양하여 균수를 측정하였다.

결과 및 고찰

1. 식중독 세균에 대한 미량원소 강화 식품소재의 항균활성

식중독 세균에 대한 미량원소 강화 식품소재의 항균활성을 알아보기 위하여 먼저 미량원소 자체의 항균효과 및 pH의 영향 등을 살펴보았다. 이 때 모든 미량원소의 농도는 1%로 조정하였으며, ZnCl_2 와 GeO_2 의 경우는 증류수에 완전히 녹지 않아 0.5% 용액으로 만들어 사용하였다. pH 조정 전 생육 저해환의 크기를 살펴보았을 때 *E. coli*에 대하여 ZnCl_2 , $\text{Zn}(\text{COOH})_2$ 및 FeCl_2 는 11~13 mm 정도의 생육 저해환을 생성하였으나, pH 6으로 조정 후 FeCl_2 는 침전하여 층분리가 생기면서 항균활성을 나타내지 않았다. 따라서 모든 실험에 있어서 미량원소의 시료용액은 pH 6.0으로 조정하여 사용하였다.

E. coli 등의 식중독 세균 6 균주에 대하여 gelatin, dextrin, 불가사리 및 어류에서 추출한 collagen 등의 식품소재에 각종 미량원소를 강화한 다음, 항균활성을 측정한 결과를 Table 1~4에 나타내었다. 각 식품소재에 ZnCl_2 , $\text{Zn}(\text{COOH})_2$ 를 첨가한 경우 6균주 중 *E. coli*, *V. parahaemolyticus*, *S. aureus*에 대하여 11~14 mm의 생육 저해환을 형성하였으며, GeO_2 를 첨가한 경우는 *B. subtilis*, *B. cereus*에 대해서만 18~20 mm 정도의 생육 저해환을 형성하였다. 저온세균인 *P. fluorescens*에 대하여는 ZnCl_2 , $\text{Zn}(\text{COOH})_2$ 및 GeO_2 를 첨가한 것은 18~23 mm의 생육저해환을 나타내었으나, MgCl_2 , CaCl_2 , MnCl_2 , FeCl_2 및 SeO_2 의 경우 조사된 모든 공시균주에 대하여 항균활성을 나타내지 않았다.

따라서 식중독 세균에 대한 이들 미량원소 강화 식품소재의 항균활성은 그람 음성균보다도 그람 양성균에 대체로 강한 효과를 나타내었다. 또한 미량원소와 혼합되는 식품소재에 따른 항균활성 차이는 거의 없는 것으로 판단되었다.

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

Trace elements (%)	Clear zone on plate (mm)					
	<i>E. coli</i> ¹⁾	<i>V. para</i>	<i>S. aureus</i>	<i>B. cereus</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>P. fluore</i>
0.5% ZnCl ₂	11.0 ²⁾	11.0	13.5	– ³⁾	–	18.0
0.5% GeO ₂	–	–	–	18.0	19.0	20.0
1% Zn(COOH) ₂	12.0	12.0	14.0	–	–	23.0
1% MgCl ₂	–	–	–	–	–	–
1% CaCl ₂	–	–	–	–	–	–
1% MnCl ₂	–	–	–	–	–	–
1% FeCl ₂	–	–	–	–	–	–
1% SeO ₂	–	–	–	–	–	–

¹⁾ *E. coli*, *Escherichia coli*; *V. para*, *Vibrio parahaemolyticus*; *S. aureus*, *Staphylococcus aureus*; *B. cereus*, *Bacillus cereus*; *B. subtilis*, *Bacillus subtilis*; *P. fluore*, *Pseudomonas fluorescens*.

²⁾ paper disc(Ø), 10 mm.

³⁾ – , No clear zone.

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

Trace elements (%)	Clear zone on plate (mm)					
	<i>E. coli</i> ¹⁾	<i>V. para</i>	<i>S. aureus</i>	<i>B. cereus</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>P. fluore</i>
0.5% ZnCl ₂	11.0 ²⁾	11.0	15.5	– ³⁾	–	17.0
0.5% GeO ₂	–	–	–	20.0	17.5	19.0
1% Zn(COOH) ₂	12.0	12.0	15.5	–	–	19.0
1% MgCl ₂	–	–	–	–	–	–
1% CaCl ₂	–	–	–	–	–	–
1% MnCl ₂	–	–	–	–	–	–
1% FeCl ₂	–	–	–	–	–	–
1% SeO ₂	–	–	–	–	–	–

^{1),2),3)} Strain names and symbols were the same as in Table 1.

Table 3. Antibacterial activity of trace elements in combination with 1% collagen(starfish) against food-borne microorganisms

Trace elements (%)	Clear zone on plate (mm)					
	<i>E. coli</i> ¹⁾	<i>V. para</i>	<i>S. aureus</i>	<i>B. cereus</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>P. fluore</i>
0.5% ZnCl ₂	11.0	11.0	14.0	– ²⁾	–	19.0
0.5% GeO ₂	–	–	–	18.0	18.0	19.0
1% Zn(COOH) ₂	12.0	12.0	14.0	–	–	18.0
1% MgCl ₂	–	–	–	–	–	–
1% CaCl ₂	–	–	–	–	–	–
1% MnCl ₂	–	–	–	–	–	–
1% FeCl ₂	–	–	–	–	–	–
1% SeO ₂	–	–	–	–	–	–

¹⁾²⁾³⁾ Strain names and symbols were the same as in Table 1.

Table 4. Antibacterial activity of trace elements in combination with 1% collagen(fish) against food-borne microorganisms

Trace elements (%)	Clear zone on plate (mm)					
	<i>E. coli</i> ¹⁾	<i>V. para</i>	<i>S. aureus</i>	<i>B. cereus</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>P. fluore</i>
0.5% ZnCl ₂	11.0	11.0	13.5	– ²⁾	–	18.0
0.5% GeO ₂	–	–	–	18.0	19.0	20.0
1% Zn(COOH) ₂	12.0	12.0	14.0	–	–	23.0
1% MgCl ₂	–	–	–	–	–	–
1% CaCl ₂	–	–	–	–	–	–
1% MnCl ₂	–	–	–	–	–	–
1% FeCl ₂	–	–	–	–	–	–
1% SeO ₂	–	–	–	–	–	–

¹⁾²⁾³⁾ Strain names and symbols were the same as in Table 1.

단독으로 항균활성을 나타낸 미량원소 ZnCl_2 , GeO_2 및 $\text{Zn}(\text{COOH})_2$ 를 각각 조합하여 식품소재에 첨가한 것을 시료로 사용하여 6종류의 식중독 세균에 대하여 생육저해환의 크기를 비교한 결과를 Table 5에 나타내었다.

GeO_2 와 ZnCl_2 를 조합한 것과 GeO_2 와 $\text{Zn}(\text{COOH})_2$ 를 조합한 것을 collagen, dextrin 및 gelatin에 각각 첨가하여 생육환의 크기를 비교한 결과, 그람 음성균인 *E. coli* 및 *V. parahaemolyticus*에 대하여는 11~14 mm의 생육 저해환을, 그리고 *P. fluorescens*에 대하여는 저해환 형성하여 단독으로 첨가하였을 때와 비슷한 환의 크기를 나타내었고, 그람 양성균인 *S. aureus*에 대하여는 13~19 mm로 미량원소 각각을 첨가하였을 때보다 환의 크기가 5 mm 증가하였다. 반면, *B. subtilis* 및 *B. cereus*에 대하여는 불투명한 환을 보였으나, 환 내부에 균이 자라 환의 크기를 측정할 수 없는 상태였다.

Table 5. Antibacterial activity of mixtures with zinc and germanium in combination with gelatin or dextrin against food-borne microorganisms

Trace elements ¹⁾ (%)	Clear zone on plate (mm)					
	<i>E. coli</i>	<i>V. para</i> ²⁾	<i>S. aureus</i>	<i>B. cereus</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>P. fluore</i> ³⁾
1% GZC	14.5 ⁴⁾	13.5	19.0	- ⁵⁾	-	23.0
1% GZC + C	11.0	11.0	16.0	-	-	16.0
1% GZC + D	11.0	11.0	16.0	-	-	16.0
1% GZC + G	11.0	11.0	13.5	-	-	16.0
1% GZA	11.0	11.0	16.0	-	-	20.0
1% GZA + C	11.5	12.0	17.0	-	-	19.0
1% GZA + D	11.5	12.0	15.0	-	-	15.5
1% GZA + G	11.5	11.5	15.5	-	-	17.0

¹⁾ GZC, GeO_2 + ZnCl_2 ; GZA, GeO_2 + $\text{Zn}(\text{COOH})_2$; C, collagen (fish); D, dextrin; G, gelatin.

²⁾ *V. para*, *Vibrio parahaemolyticus*.

³⁾ *P. fluore*, *Pseudomonas fluorescens*.

⁴⁾ paper disc(Ø), 10 mm.

⁵⁾ -, No clear zone.

2. 미량원소 강화 식품소재의 pH 및 열 안정성

2.1. pH 안정성

미량원소 강화 식품소재의 pH에 대한 안정성을 알아보기 위하여 $\text{Zn}(\text{COOH})_2$ 및 GeO_2 를 dextrin 및 gelatin에 각각 첨가한 용액을 pH 4.5~9.0으로 조정하여 식중독 세균에 대하여 disc assay법으로 항균활성을 측정하였다(표 6~7).

ZnCl_2 를 강화한 dextrin 및 gelatin 등의 식품소재는 pH 6.5 이하에서는 *E. coli*, *P. fluorescens*, *V. parahaemolyticus* 및 *S. aureus*에 대하여 12~26 mm의 생육 저해환을 생성하였으나, pH 6.5 이상에서는 혼탁해져 침전이 생겼으며 *S. aureus*를 제외하고 다른 균에 대하여는 항균활성을 나타내지 않았다.

Dextrin 및 gelatin에 $\text{Zn}(\text{COOH})_2$ 를 첨가한 zinc acetate 강화제에 대한 *E. coli*의 생육 저해환을 비교한 결과를 Table 6에 나타내었다. pH 6.0 이하에서는 11~12 mm의 환을 생성하였으며, 침전이 생기기 시작하는 pH 6.5 이상에서는 ZnCl_2 와 마찬가지로 항균활성을 나타내지 않았다. 따라서 아연을 강화한 식품소재는 산성영역에서 대단히 안정하므로 산성식품의 식품보존제나 코팅제로 사용할 수 있을 것으로 판단되었다. 또한, $\text{Zn}(\text{COOH})_2$ 를 첨가한 식품소재의 경우 중성식품의 코팅제로 사용하기 위해서는 중성부근인 pH 6.0이 가장 적당한 pH로 판단되어, 향후 모든 실험에는 pH 6.0으로 조정하여 실험에 사용하였다.

Dextrin 및 gelatin에 GeO_2 를 첨가한 germanium 강화제를 pH별로 조정한 다음 *Bacillus* sp.에 대하여 항균활성을 비교하여 Table 7에 나타내었다. GeO_2 를 강화한 식품소재는 *B. subtilis*, *B. cereus*에 대하여 모두 생육 저해환을 나타내었으며, pH 6.5부터 생육 저해환의 크기가 증가하였다. 따라서 게르마늄 강화 식품소재는 알칼리 영역에 매우 안정하므로 알칼리식품 중의 *Bacillus*속 세균 증식을 억제하기 위한 보존제나 코팅제로 유용할 것으로 사료된다. 또한, GeO_2 를 첨가한 식품소재의 경우는 중성식품의 코팅제로 사용하기 위해서는 pH 6.5이 가장 적당할 것으로 판단되어 향후 모든 실험에는 pH 6.5로 조정하여 실험에 사용하였다.

Table 6. Effect of pH treatment on antibacterial activity of $\text{Zn}(\text{COOH})_2$ in combination with dextrin and gelatin against food-borne microorganisms

$\text{Zn}(\text{COOH})_2 + \text{D}^{1)}$ Clear zone (mm)		$\text{Zn}(\text{COOH})_2 + \text{G}^{2)}$ Clear zone (mm)	
pH	<i>E. coli</i> ³⁾	pH	<i>E. coli</i>
Control(6.09)	11.5 ⁴⁾	Control(5.47)	12.0
4.5	12.0	4.5	12.0
5.0	12.0	5.0	12.0
5.5	12.0	5.5	12.0
6.0	12.0	6.0	12.0
6.5	- ⁵⁾	6.5	-
7.0	-	7.0	-
7.5	-	7.5	-
8.0	-	8.0	-
8.5	-	8.5	-
9.0	-	9.0	-

¹⁾ D, dextrin. ²⁾ G, gelatin. ³⁾ *E. coli*, *Escherichia coli*. ⁴⁾ paper disc($\emptyset$), 10 mm. ⁵⁾ -, No clear zone.

Table 7. Effect of pH treatment on antibacterial activity of GeO_2 in combination with dextrin and gelatin.

$\text{GeO}_2 + \text{D}^{1)}$ Clear zone (mm)			$\text{GeO}_2 + \text{G}^{2)}$ Clear zone (mm)		
pH	<i>B. cereus</i>	<i>B. subtilis</i>	pH	<i>B. cereus</i>	<i>B. subtilis</i>
Control(2.44)	1.1 ³⁾	2.0	Control(3.68)	1.5	1.7
4.5	1.6	2.0	4.5	1.6	1.8
5.0	1.7	1.9	5.0	1.6	1.8
5.5	1.5	1.8	5.5	1.5	1.8
6.0	1.6	2.0	6.0	1.5	1.8
6.5	2.0	2.0	6.5	1.6	2.0
7.0	1.7	2.0	7.0	1.7	2.0
7.5	1.9	2.0	7.5	1.7	2.0
8.0	1.6	1.8	8.0	1.8	2.0
8.5	1.8	2.0	8.5	1.8	1.8
9.0	1.8	2.0	9.0	1.7	2.0

¹⁾ D, dextrin. ²⁾ G, gelatin. ³⁾ paper disc($\emptyset$), 10 mm.

2.2. 미량원소 강화 식품소재의 열안정성

미량원소 강화 식품소재의 열안정성을 알아보기 위하여 dextrin 및 gelatin에 $\text{Zn}(\text{COOH})_2$ 와 GeO_2 를 첨가한 것을 60℃에서 30분간, 100℃에서 10분, 20분, 30분간 그리고 121℃에서 15분간 열처리한 다음 식중독 세균에 대한 생육 저해환을 측정한 결과를 Table 8과 Table 9에 각각 나타내었다. 식중독 세균에 대한 생육저해환은 전 시험구간에서 15~20 mm 범위였으며, 열처리에 따른 항균활성의 변화가 없었다. 따라서 미량원소 강화 식품소재는 열에 매우 안정하므로 식품 coating제로 아연이나 게르마늄 등의 미량 원소가 강화된 식품소재를 가열식품인 통조림 제품이나 레토르트 식품에도 사용 가능할 것으로 판단되어졌다.

Table 8. Effect of heat treatment on antibacterial activity of $\text{Zn}(\text{COOH})_2$ in combination with dextrin and gelatin

Heating	Clear zone on plate (mm)			
	$\text{Zn}(\text{COOH})_2 + \text{D}^{1)}$		$\text{Zn}(\text{COOH})_2 + \text{G}^{2)}$	
	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>
Control	15.0 ³⁾	20.0	15.0	20.0
60℃, 30min	14.0	20.0	15.0	20.0
100℃, 10min	15.0	20.0	15.0	20.0
100℃, 20min	15.0	18.0	15.0	20.0
100℃, 30min	15.0	20.0	15.0	20.0
121℃, 15min	15.0	20.0	14.0	20.0

¹⁾ D, dextrin. ²⁾ G, gelatin. ³⁾ paper disc(Ø), 10 mm.

Table 9. Effect of heat treatment on antibacterial activity of GeO_2 in combination with dextrin and gelatin

Heating	Clear zone on plate (mm)			
	$\text{GeO}_2 + \text{D}^{1)}$		$\text{GeO}_2 + \text{G}^{2)}$	
	<i>B. subtilis</i>	<i>P. fluore</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>P. fluore</i>
Control	20.0 ³⁾	16.0	20.0	17.0
60℃, 30min	20.0	17.0	20.0	17.0
100℃, 10min	19.0	17.0	20.0	17.0
100℃, 20min	20.0	16.0	19.0	16.0
100℃, 30min	19.0	17.0	20.0	16.0
121℃, 15min	19.0	16.0	19.0	17.0

¹⁾ D, dextrin. ²⁾ G, gelatin. ³⁾ paper disc(Ø), 10 mm.

3. 해양생물에서 유래된 식중독 세균에 대한 항균활성

어류 및 패류 양식장으로부터 분리한 식중독 세균 5종, *E. coli*, *V. parahaemolyticus*, *S. aureus*, *Salmonella typhi*, *Enterococcus faecalis*에 대한 미량 원소 강화 식품소재의 항균활성을 비교하여, Table 10 및 11에 나타내었다. Zn(COOH)₂첨가 식품소재는 *V. parahaemolyticus*에 대하여 18 mm로 가장 강한 항균활성을 나타내었으며 *E. coli*, *S. aureus*, *Sal. typhi*에 대하여 13~15 mm의 생육저해환을 나타내었다. 한편, GeO₂첨가 식품소재는 *V. parahaemolyticus*에 대하여만 17~20 mm의 생육저해환을 나타내었다. 반면, 모든 시료는 *Ent. faecalis*에 대하여는 항균활성을 나타내지 않았다.

Table 10. Antibacterial activity on the strains isolated from fish and seawater in fish farm

Trace elements (%)	Clear zone on plate (mm)				
	<i>E. coli</i>	<i>V. para</i> ¹⁾	<i>S. aureus</i>	<i>Sal. typhi</i>	<i>Ent. faecalis</i>
1% Zn(COOH) ₂ +D ²⁾	14 ⁴⁾	18	15	13	- ⁵⁾
1% Zn(COOH) ₂ +G ³⁾	14	18	15	13	-
0.5% GeO ₂ + D	-	16	-	-	-
0.5% GeO ₂ + G	-	16	-	-	-

¹⁾ *E. coli*, *Escherichia coli*; *V. para*, *Vibrio parahaemolyticus*; *S. aureus*, *Staphylococcus aureus*; *Sal. typhi*, *Salmonella typhi*; *Ent. faecalis*, *Enterococcus faecalis*.

²⁾ D, dextrin. ³⁾ G, gelatin. ⁴⁾ paper disc(Ø), 10 mm. ⁵⁾ -, No clear zone.

Table 11. Antibacterial activity on the strains isolated from oyster and seawater in oyster farm

Trace elements (%)	Clear zone on plate (mm)				
	<i>E. coli</i>	<i>V. para</i> ¹⁾	<i>S. aureus</i>	<i>Sal. typhi</i>	<i>Ent. faecalis</i>
1% Zn(COOH) ₂ +D ²⁾	13 ⁴⁾	20	15	13	- ⁵⁾
1% Zn(COOH) ₂ +G ³⁾	13	20	15	13	-
0.5% GeO ₂ + D	-	17	-	-	-
0.5% GeO ₂ + G	-	17	-	-	-

¹⁾ *E. coli*, *Escherichia coli*; *V. para*, *Vibrio parahaemolyticus*; *S. aureus*, *Staphylococcus aureus*; *Sal. typhi*, *Salmonella typhi*; *Ent. faecalis*, *Enterococcus faecalis*.

²⁾ D, dextrin. ³⁾ G, gelatin. ⁴⁾ paper disc(Ø), 10 mm. ⁵⁾ -, No clear zone.

4. 식중독 세균에 대한 최소저해농도(MIC) 및 최소사멸농도(MBC)

Dextrin 및 gelatin에 $\text{Zn}(\text{COOH})_2$ 를 첨가한 zinc acetate 강화제를 식중독 세균 6종에 대해 최소저해농도(MIC) 및 최소사멸농도(MBC)를 Table 12, 13, 14 및 15에 나타내었다.

아연 강화 식품소재는 그람 음성균인 *E. coli*에 대하여 0.25 mg/ml 첨가시 균이 모두 증식하였으며, 0.5 mg/ml 첨가시 증식하는 경우와 증식하지 않는 두 가지 경우가 나타났다. 반면, 1.0 mg/ml 첨가하였을 때 모든 시험관에서 균의 증식이 전혀 보이지 않아 최소억제농도 MIC는 1.0 mg/ml이었다. 한편 균이 증식하지 않은 시험관을 새로운 배지에 접종하여 균 증식을 관찰한 결과 최소사멸농도인 MBC도 1.0 mg/ml으로 나타났다. *V. parahaemolyticus*에 대하여도 *E. coli*와 비슷한 경향을 나타내었으며, *P. fluorescens*에 대한 MIC와 MBC는 모두 0.5 mg/ml로 나타났다.

그람 양성균인 *S. aureus*에 대하여는 1.0 mg/ml와 0.5 mg/ml 첨가하였을 경우 균이 증식하지 않았고, 0.25 mg/ml 첨가시 균이 자라는 경우와 자라지 않는 경우가 나타났다. 따라서 *S. aureus*에 대한 MIC는 0.5 mg/ml이었고, MBC는 1.0 mg/ml이었다. *B. cereus* 및 *B. subtilis*에 대하여는 *E. coli*에 비슷한 경향을 나타내어 MIC와 MBC 모두 1.0 mg/ml이었다. 한편, 아연과 혼합되는 식품소재인 dextrin 및 gelatin에 따른 항균활성 차이는 없는 것으로 나타났다.

이상의 결과, 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 경향을 나타내었다.

Table 12. Inhibitory effect of $\text{Zn}(\text{COOH})_2$ in combination with dextrin against food-borne microorganisms

Bacteria	Concentration (mg/ml)						
	1.0	0.5	0.25	0.13	0.06	0.03	0.02
<i>Escherichia coli</i>	-	±	+	+	+	+	+
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	-	±	+	+	+	+	+
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	±	+	+	+	+
<i>Bacillus cereus</i>	-	±	+	+	+	+	+
<i>Bacillus subtilis</i>	-	±	+	+	+	+	+
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	-	-	+	+	+	+	+

* Every experiment was repeated by three times.

* Symbols : +, all growth; ±, growth of 1~2 times; -, no growth.

Table 13. Minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bacteriocidal concentration (MBC) of $\text{Zn}(\text{COOH})_2$ in combination with dextrin against food-borne microorganisms

Bacteria	Concentration (mg/ml)	
	MIC	MBC
<i>Escherichia coli</i>	1.0	1.0
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	1.0	1.0
<i>Staphylococcus aureus</i>	0.5	1.0
<i>Bacillus cereus</i>	1.0	1.0
<i>Bacillus subtilis</i>	1.0	1.0
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	0.5	0.5

Table 14. Inhibitory effect of $\text{Zn}(\text{COOH})_2$ in combination with gelatin against food-borne microorganisms

Bacteria	Concentration (mg/ml)						
	1.0	0.5	0.25	0.13	0.06	0.03	0.02
<i>Escherichia coli</i>	-	±	+	+	+	+	+
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	-	±	+	+	+	+	+
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	±	+	+	+	+
<i>Bacillus cereus</i>	-	±	+	+	+	+	+
<i>Bacillus subtilis</i>	-	±	+	+	+	+	+
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	-	-	+	+	+	+	+

* Every experiment was repeated by three times.

* Symbols : +, all growth; ±, growth of 1~2 times; -, no growth.

Table 15. Minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bacteriocidal concentration (MBC) of $\text{Zn}(\text{COOH})_2$ in combination with gelatin against food-borne microorganisms

Bacteria	Concentration (mg/ml)	
	MIC	MBC
<i>Escherichia coli</i>	1.0	1.0
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	1.0	1.0
<i>Staphylococcus aureus</i>	0.5	1.0
<i>Bacillus cereus</i>	1.0	1.0
<i>Bacillus subtilis</i>	1.0	1.0
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	0.5	0.5

Dextrin에 GeO_2 를 첨가(Table 16 및 17)한 경우와 gelatin(Table 18 및 19)에 GeO_2 를 첨가한 경우의 결과를 살펴보았다. 그람 음성균인 *E. coli*의 경우 1.0 mg/ml 첨가하였을 때 0.5 mg/ml 첨가한 경우보다는 억제되기는 하였으나 균이 증식하였으므로, MIC와 MBC 모두 1.0 mg/ml 이상으로 나타났으며, *V. parahaemolyticus*의 경우도 *E. coli*와 비슷한 경향을 나타내었다. *P. fluorescens*의 경우는 1.0 mg/ml와 0.5 mg/ml 첨가하였을 경우 균이 증식하지 않았으며, 0.25 mg/ml 첨가시 균이 자라는 경우와 자라지 않는 두가지 경우가 나타났으며, MIC와 MBC 모두 0.5 mg/ml로 나타났다.

한편 그람양성균인 *S. aureus*의 경우는 germanium 강화제를 1.0 mg/ml 첨가하였을 경우 균이 증식하지 않았고, 0.5 mg/ml 첨가시 균이 자라는 경우와 자라지 않는 2가지 경우가 나타났으며, 0.25 mg/ml 첨가시부터는 균이 증식하기 시작하였다. *S. aureus*의 최소억제농도인 MIC는 1.0 mg/ml으로 나타났고, 최소사멸농도인 MBC는 1.0 mg/ml이상으로 나타났다. *B. cereus*의 경우, 1.0 mg/ml 첨가하였을 경우 균이 증식하지 않았고, 0.5 mg/ml 첨가시 균이 자라는 경우와 자라지 않는 2가지 경우가 나타났으며, 0.25 mg/ml 첨가시부터는 균이 증식하기 시작하였다. *B. subtilis*의 MIC와 MBC 모두 1.0 mg/ml으로 나타났다. *B. subtilis*의 경우를 살펴보면, 1 mg/ml 첨가한 경우 균이 자라지 않았으며, 0.5 mg/ml 첨가한 경우부터는 균이 증식하기 시작하였다. *B. subtilis*의 MIC와 MBC는 모두 1.0 mg/ml으로 나타났다.

이상의 결과 GeO_2 을 강화한 식품소재는 *P. fluorescens*에 대한 억제 효과가 가장 큰 것으로 나타났고, 다음으로는 *B. cereus*, *B. subtilis*가 비슷한 경향을 나타내었으며, *E. coli*와 *V. parahaemolyticus*의 경우 가장 작은 억제효과를 나타내었다.

Table 16. Inhibitory effect of GeO₂ in combination with dextrin against food-borne microorganisms

Bacteria	Concentration (mg/ml)						
	1.0	0.5	0.25	0.13	0.06	0.03	0.02
<i>Escherichia coli</i>	+	+	+	+	+	+	+
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	+	+	+	+	+	+	+
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	±	+	+	+	+	+
<i>Bacillus cereus</i>	-	±	+	+	+	+	+
<i>Bacillus subtilis</i>	-	+	+	+	+	+	+
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	-	-	±	+	+	+	+

* Every experiment was repeated by three times.

* Symbols : +, all growth; ±, growth of 1~2 times; -, no growth.

Table 17. Minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bacteriocidal concentration (MBC) of GeO₂ in combination with dextrin against food-borne microorganisms

Bacteria	Concentration (mg/ml)	
	MIC	MBC
<i>Escherichia coli</i>	> 1.0	> 1.0
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	> 1.0	> 1.0
<i>Staphylococcus aureus</i>	1.0	> 1.0
<i>Bacillus cereus</i>	1.0	1.0
<i>Bacillus subtilis</i>	1.0	1.0
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	0.5	0.5

Table 18. Inhibitory effect of GeO₂ in combination with gelatin against food-borne microorganisms

Bacteria	Concentration (mg/ml)						
	1.0	0.5	0.25	0.13	0.06	0.03	0.02
<i>Escherichia coli</i>	+	+	+	+	+	+	+
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	+	+	+	+	+	+	+
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	±	+	+	+	+	+
<i>Bacillus cereus</i>	-	±	+	+	+	+	+
<i>Bacillus subtilis</i>	-	+	+	+	+	+	+
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	-	-	±	+	+	+	+

* Every experiment was repeated by three times.

* Symbols : +, all growth; ±, growth of 1~2 times; -, no growth.

Table 19. Minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bacteriocidal concentration (MBC) of GeO₂ in combination with dextrin against food-borne microorganisms

Bacteria	Concentration (mg/ml)	
	MIC	MBC
<i>Escherichia coli</i>	> 1.0	> 1.0
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	> 1.0	> 1.0
<i>Staphylococcus aureus</i>	1.0	> 1.0
<i>Bacillus cereus</i>	1.0	1.0
<i>Bacillus subtilis</i>	1.0	1.0
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	0.5	0.5

5. 식중독 세균의 증식에 미치는 영향

아연과 게르마늄을 강화한 식품소재의 식중독 세균의 증식에 미치는 영향을 알아보기 위하여 시료를 농도별로 첨가하여 시간에 따른 흡광도 변화를 살펴보았다. Dextrin과 gelatin에 $\text{Zn}(\text{COOH})_2$ 를 첨가한 경우(Fig 1)와 dextrin과 gelatin에 GeO_2 를 첨가(Fig 2) 하였을 때, *E. coli*에 대한 흡광도 변화를 살펴보았다. dextrin과 gelatin에 $\text{Zn}(\text{COOH})_2$ 를 첨가한 경우 5 mg/ml 함량일 때 24시간동안 균 증식이 전혀 일어나지 않았고 24시간 이후에 O.D 값이 조금 증가하였으나, 대조구에 비하여 낮은 O.D. 값을 나타내었다. 2.5 mg/ml 함량의 경우 12시간 쯤 O.D. 값이 급격히 증가하였으며, 12시간과 24시간은 큰 차이를 나타내지 않았다. 24시간 후 dextrin에 $\text{Zn}(\text{COOH})_2$ 를 첨가한 경우 O.D. 값은 유지되었으나 Gelatin에 $\text{Zn}(\text{COOH})_2$ 를 첨가한 경우 72시간째 O.D. 값은 대조구와 비슷한 경향을 나타내었다. 1.25 mg/ml 함량의 경우 24시간까지는 O.D. 값이 대조구에 비하여 낮게 나타났으나, 72시간째는 비슷한 O.D. 값을 나타내었다.

dextrin과 gelatin에 GeO_2 를 첨가한 경우 control과 비슷한 경향을 나타내었으며, 6시간과 12시간 사이에 O.D. 값이 급격히 증가하였고 이후 72시간까지 O.D 값은 꾸준히 증가하는 경향을 나타내었다(Fig 2). 이 결과 *E. coli*에 대하여 $\text{Zn}(\text{COOH})_2$ 에 dextrin과 gelatin을 첨가한 경우 5 mg/ml 함량일 때, 균 증식이 가장 많이 억제되었으므로 $\text{Zn}(\text{COOH})_2$ 의 경우 *E. coli*에 대한 항균작용이 있는 것으로 사료되어진다. dextrin과 gelatin에 GeO_2 를 첨가한 경우 항균작용은 나타나지 않았으므로 GeO_2 의 경우 *E. coli*에 대한 항균작용이 없는 것으로 사료되어진다.

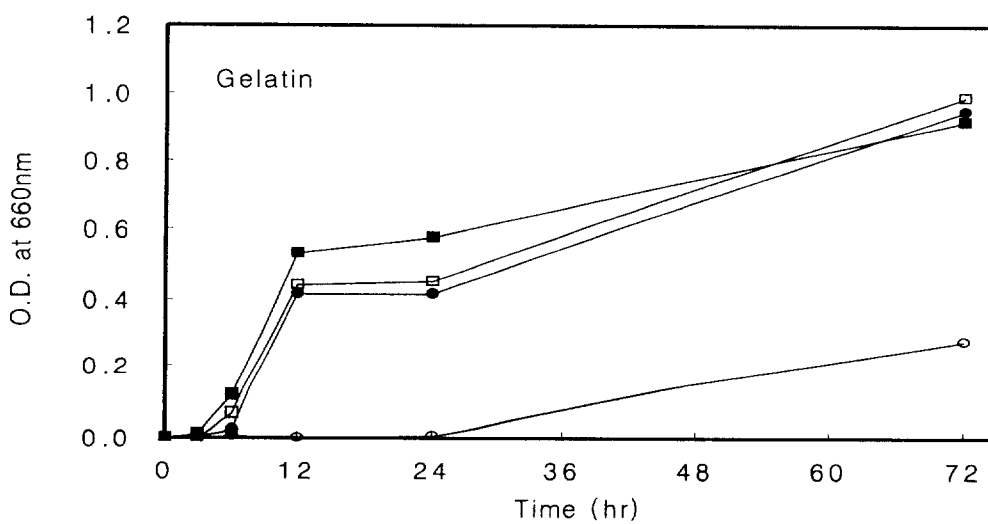
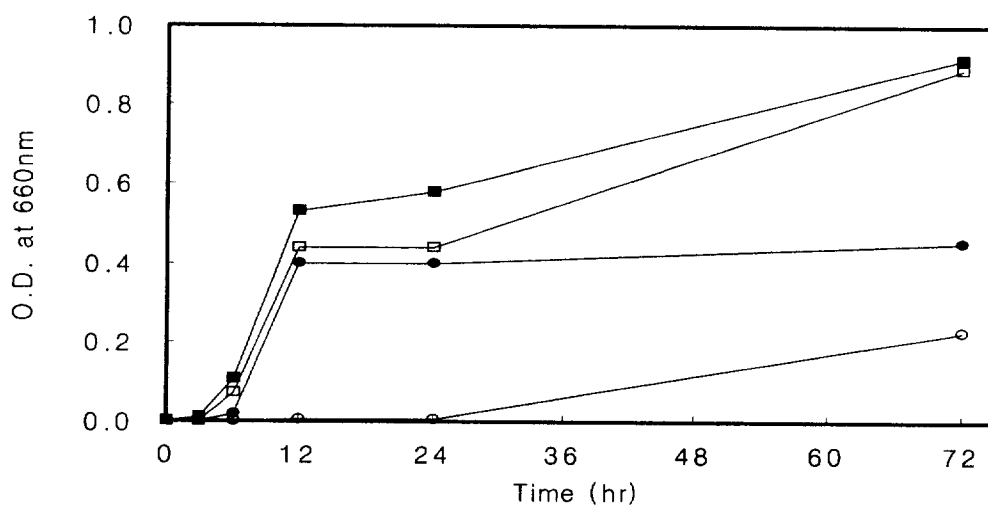


Fig. 1. Growth inhibition effect of $\text{Zn}(\text{COOH})_2$ in combination with dextrin and gelatin against *E. coli* KCTC 1682.

■, control; ○, 0.5 mg/ml; ●, 0.25 mg/ml; □, 0.13 mg/ml.

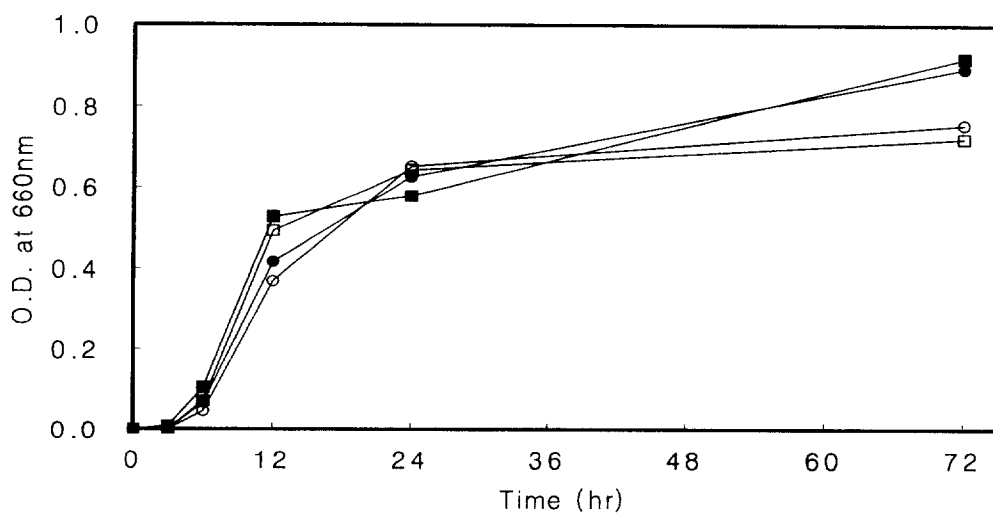
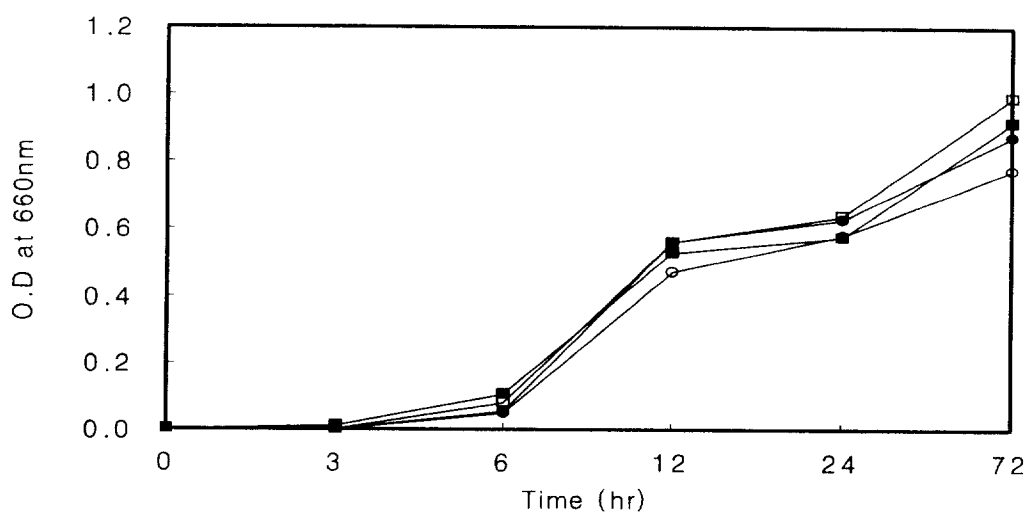


Fig. 2. Growth inhibition effect of GeO_2 in combination with dextrin and gelatin against *E. coli* KCTC 1682.

■, control; ○, 0.5 mg/ml; ●, 0.25 mg/ml; □, 0.13 mg/ml.

*V. parahaemolyticus*에 대하여 dextrin과 gelatin에 $\text{Zn}(\text{COOH})_2$ 를 첨가한 경우 (Fig 3)와 dextrin과 gelatin에 GeO_2 을 가한 경우 (Fig 4)의 결과를 살펴보면 dextrin과 gelatin에 $\text{n}(\text{COOH})_2$ 를 가한 경우 (Fig 3) 0.5 mg/ml 첨가시 24시간 동안 균 증식이 전혀 일어나지 않았고, 24시간 이후에 O.D. 값이 조금 증가하였으나, control에 비하여 낮은 O.D. 값을 나타내었다. 0.25 mg/ml 첨가의 경우 12시간째 O.D. 값이 급격히 증가하였으며, 12시간과 24시간은 큰 차이를 나타내지 않았다. 24시간 이후 O.D. 값은 다시 증가하기 시작하여 72시간까지 꾸준히 증가하는 경향을 나타내었다. dextrin에 $\text{Zn}(\text{COOH})_2$ 를 0.13 mg/ml 첨가시 72시간까지 O.D. 값이 꾸준히 증가하는 경향을 나타내었으며, gelatin에 $\text{Zn}(\text{COOH})_2$ 를 0.13 mg/ml 첨가시 12시간까지 O.D. 값이 급격히 증가하다가 12시간부터 24시간 사이에는 O.D. 값의 변화가 없었으며 24시간 이후부터 O.D. 값은 다시 증가하기 시작하여 72시간째는 control과 비슷한 O.D. 값을 나타내었다.

Dextrin과 gelatin에 GeO_2 을 첨가한 경우 (Fig 4) control과 비슷한 경향을 나타내었으며, 6시간부터 24시간까지 O.D. 값이 급격히 증가하였고 24시간 이후부터 72시간까지는 O.D. 값이 유지되는 경향을 나타내었다. 이 결과 *V. parahaemolyticus*에 대하여 dextrin과 gelatin에 $\text{Zn}(\text{COOH})_2$ 를 첨가한 경우 0.5 mg/ml 첨가시 균 증식이 가장 많이 억제되었으므로 $\text{Zn}(\text{COOH})_2$ 의 경우 *V. parahaemolyticus*에 대한 항균작용이 있는 것으로 사료되어진다. dextrin과 gelatin에 GeO_2 을 첨가한 경우 항균작용은 나타나지 않았으므로 GeO_2 의 경우 *V. parahaemolyticus*에 대한 항균작용은 없는 것으로 사료되어진다.

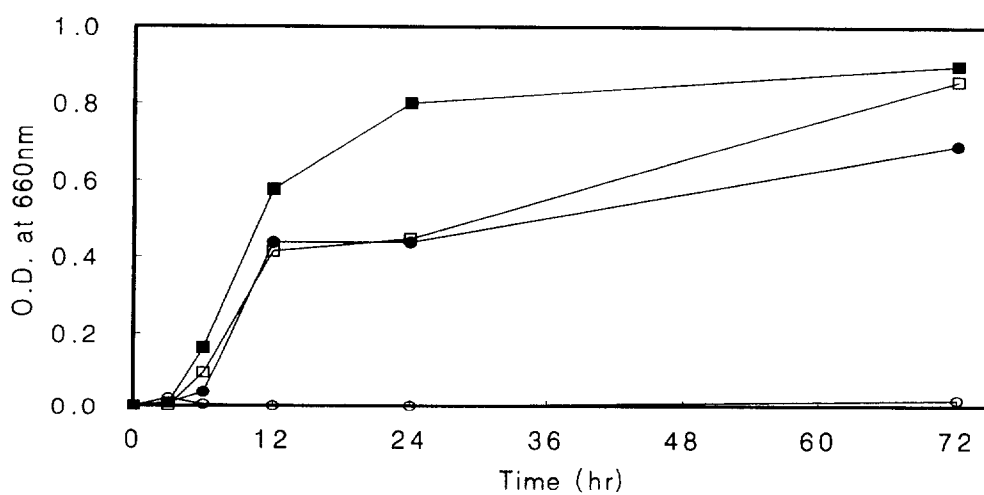
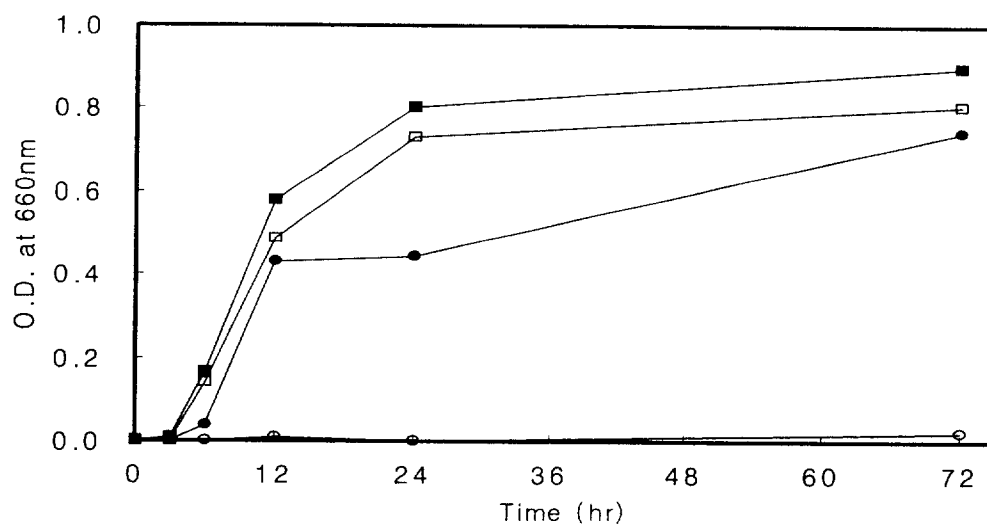


Fig. 3. Growth inhibition effect of Zn(COOH)₂ in combination with dextrin and gelatin against *V. parahaemolyticus* KCTC 2471.

■, control; ○, 0.5 mg/ml; ●, 0.25 mg/ml; □, 0.13 mg/ml.

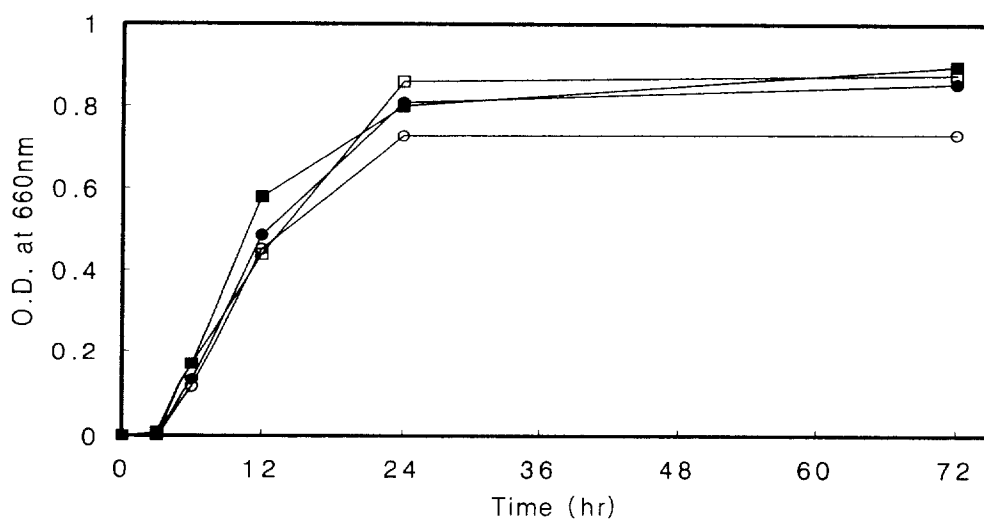
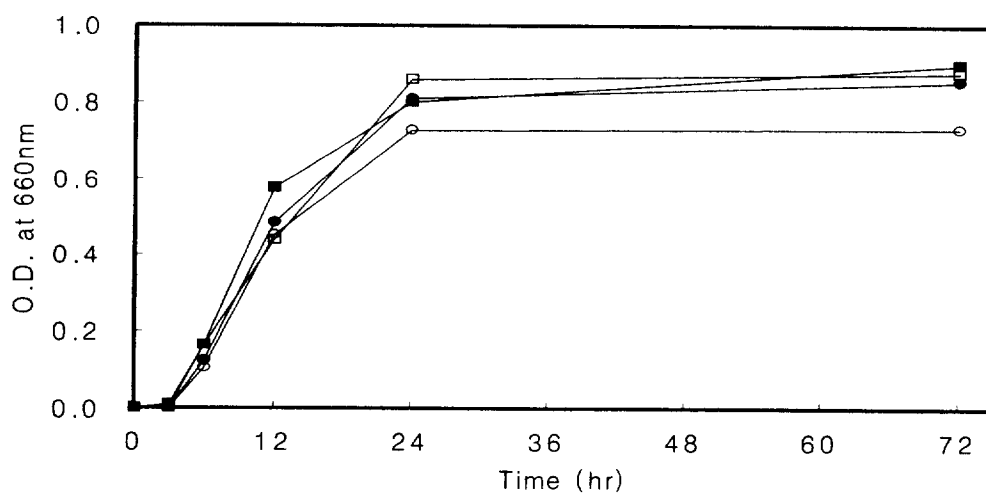


Fig. 4. Growth inhibition effect of GeO_2 in combination with dextrin and gelatin against *V. parahaemolyticus* KCTC 2471.

■, control; ○, 0.5 mg/ml; ●, 0.25 mg/ml; □, 0.13 mg/ml.

*Staphylococcus aureus*에 대하여 dextrin과 gelatin에 $\text{Zn}(\text{COOH})_2$ 를 첨가한 경우 (Fig 5)와 dextrin과 gelatin에 GeO_2 을 첨가한 경우(Fig 6)의 결과를 살펴보면 dextrin과 gelatin에 $\text{Zn}(\text{COOH})_2$ 를 0.5 mg/ml 첨가시(Fig 5) 72시간까지 균 증식이 전혀 일어나지 않았다. Dextrin에 $\text{Zn}(\text{COOH})_2$ 를 0.25 mg/ml 첨가시 12시간까지 균 증식은 전혀 일어나지 않았고 12시간 이후부터 72시간까지 O.D. 값은 조금씩 증가하였으나, 대조구에 비해서는 현저히 낮은 O.D. 값을 나타내었다. Gelatin에 $\text{Zn}(\text{COOH})_2$ 를 첨가한 경우 24시간까지 균 증식이 전혀 일어나지 않다가 24시간 이후부터 72까지 O.D. 값이 증가하였으나, 역시 control에 비해서는 낮은 O.D. 값을 나타내었다. 0.13 mg/ml 첨가시 12시간까지 O.D. 값이 변화가 없었으며 12시간부터 O.D. 값이 꾸준히 증가하기 시작하였으며 72시간까지 O.D. 값이 증가하였으나 대조구에 비해서는 낮은 O.D. 값을 나타내었다.

Dextrin과 gelatin에 GeO_2 을 1 mg/ml, 0.5 mg/ml 및 0.25 mg/ml 첨가한 경우(Fig 6) 모두 12시간까지 O.D.의 변화는 없는 것으로 보아 균 증식이 일어나지 않았으며, 12시간 이후부터 농도에 따라 1.0 mg/ml 함량의 경우 가장 낮은 O.D. 값을 나타내며 서서히 증가하는 경향을 나타내었고, 0.25 mg/ml 역시 O.D. 값이 증가하기는 하였으나 control에 비해서 낮은 O.D. 값을 나타내었다. 이 결과 *S. aureus*에 대하여 dextrin과 gelatin에 $\text{Zn}(\text{COOH})_2$ 를 0.5 mg/ml 첨가한 경우, 24시간까지 O.D.의 변화가 없었으므로 항균작용을 나타내었으며, 0.25 mg/ml와 0.13 mg/ml 첨가시에도 control에 비해 낮은 O.D. 값을 나타내었으므로 *S. aureus*에 대해 항균 작용을 나타내는 것으로 사료되어진다. Dextrin과 gelatin에 GeO_2 을 1.0 mg/ml 첨가한 경우, 12시간까지 O.D.의 변화가 없었으므로 항균작용을 나타내었으며, 0.5 mg/ml와 0.25 mg/ml 첨가시에도 대조구에 비해 낮은 O.D. 값을 나타내었으므로 *S. aureus*에 대해 항균 작용을 나타내는 것으로 사료 되어진다.

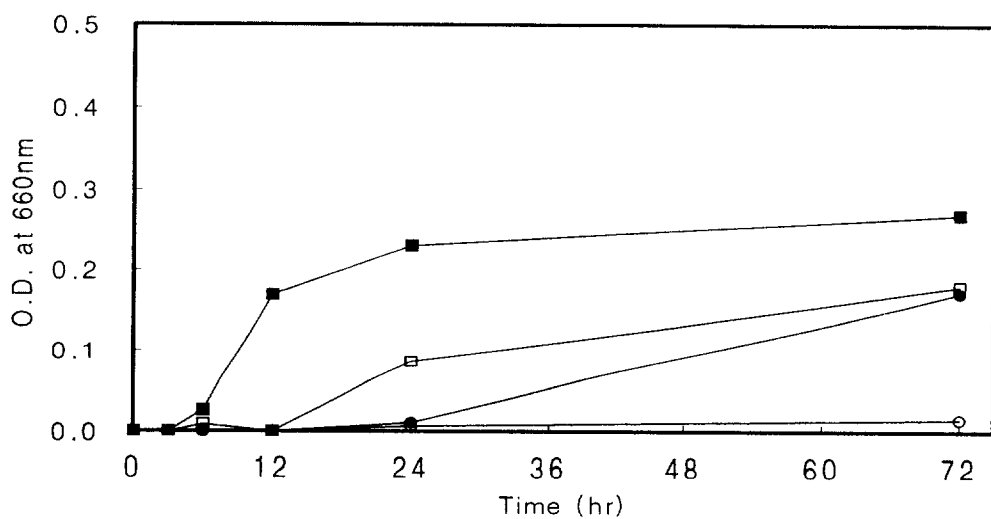
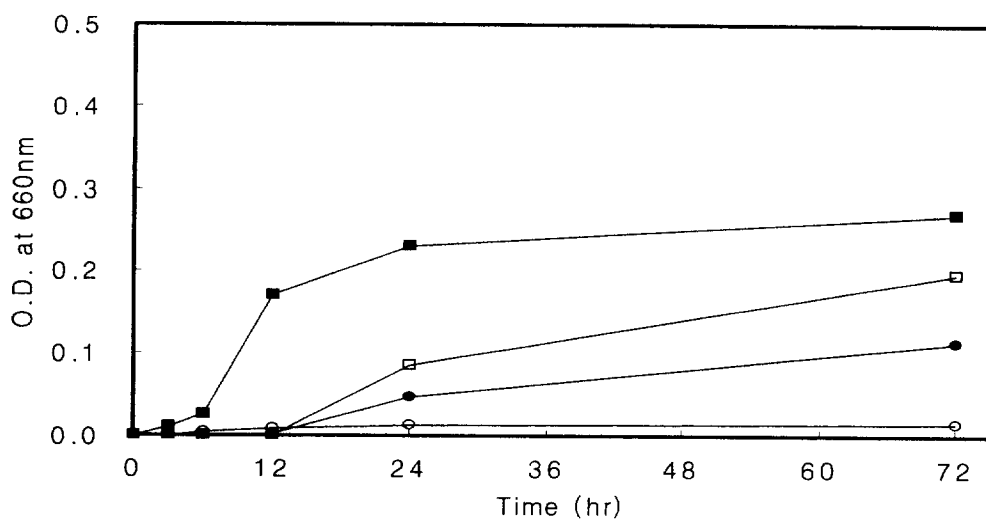


Fig. 5. Growth inhibition effect of $\text{Zn}(\text{COOH})_2$ in combination with dextrin and gelatin against *S. aureus*.

■, control; ○, 0.5 mg/ml; ●, 0.25 mg/ml; □, 0.13 mg/ml.

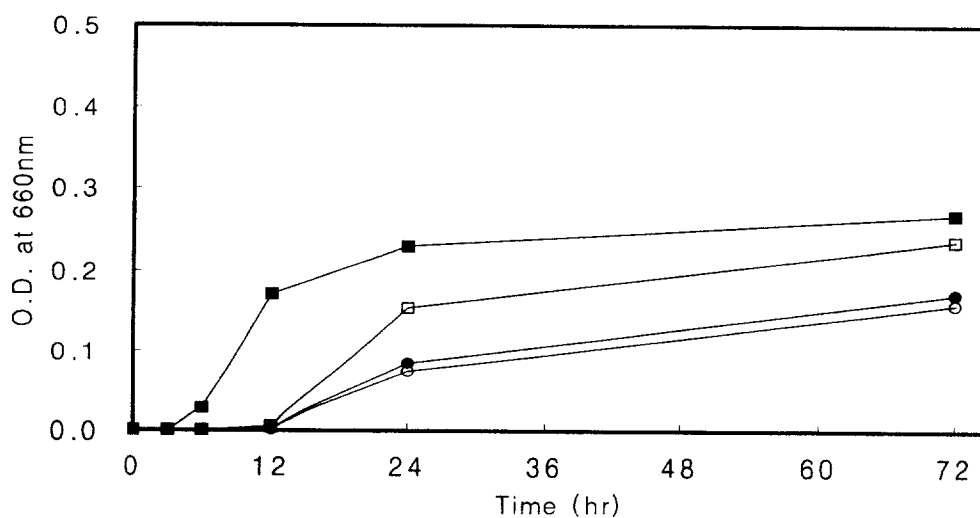
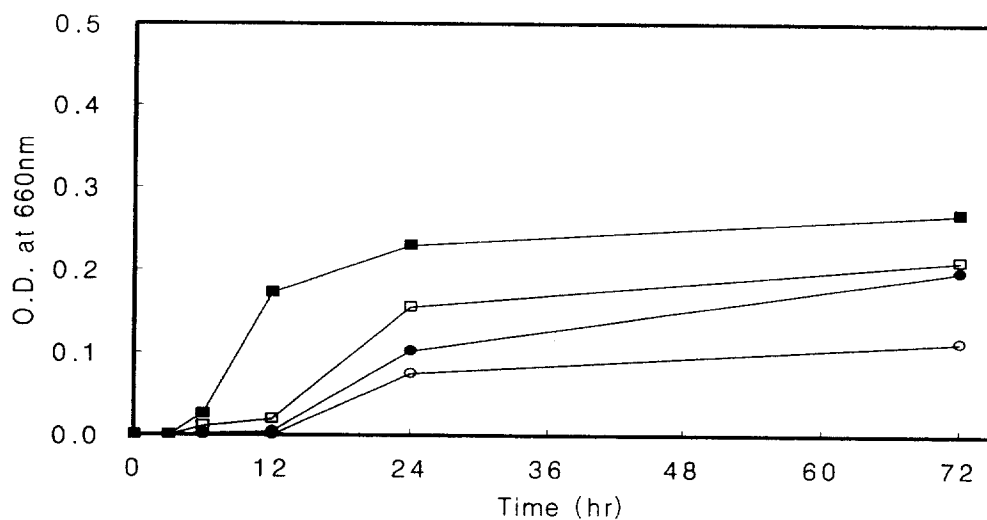


Fig. 6. Growth inhibition effect of GeO_2 in combination with dextrin and gelatin against *S. aureus*.

■, control; ○, 0.5 mg/ml; ●, 0.25 mg/ml; □, 0.13 mg/ml.

*Bacillus cereus*에 대하여 dextrin과 gelatin에 $\text{Zn}(\text{COOH})_2$ 를 첨가한 경우(Fig 7)와 GeO_2 을 첨가한 경우(Fig 8)의 결과를 살펴보면 dextrin과 gelatin에 $\text{Zn}(\text{COOH})_2$ 를 0.5 mg/ml 첨가한 경우(Fig 7), 24시간까지 균 증식이 전혀 일어나지 않았으며 24시간 이후 72시간까지 O.D. 값이 조금 증가하기는 하였으나, 대조구에 비해 현저히 낮은 O.D. 값을 나타내었다. 0.25 mg/ml 첨가시에는 6시간까지 O.D. 값의 변화가 거의 없다가 6시간 이후부터 12시간까지 O.D. 값은 급격히 증가하였으며, 24시간 이후부터 72시간까지 O.D. 값은 큰 변화없이 유지되는 경향을 나타내었다. 0.13 mg/ml 첨가시에는 역시 6시간까지는 O.D. 값의 변화가 거의 없다가 6시간 이후부터 12시간까지 O.D. 값은 급격히 증가하였으며, 24시간 이후부터 72시간까지 O.D. 값은 큰 변화없이 유지되는 경향을 나타내었다. 0.25 mg/ml 첨가시 보다는 높은 O.D. 값을 나타내었으나, 대조구에 비해 낮은 O.D. 값을 나타내었다. 대조구의 경우 6시간부터 12시간 사이와 24시간에서 72시간 사이에 O.D. 값이 가장 크게 증가하는 경향을 나타내었다.

Dextrin과 gelatin에 GeO_2 을 0.5 mg/ml, 0.25 mg/ml, 0.13 mg/ml 농도로 첨가한 경우(Fig 8) 12시간까지 O.D.의 변화는 없는 것으로 보아 균 증식이 일어나지 않았으며, 12시간 이후부터 농도에 따라 0.5 mg/ml 첨가시 가장 낮은 O.D. 값을 나타내며 24시간까지 서서히 증가하는 경향을 나타내다가 24시간 이후부터 72시간까지는 O.D. 값의 변화없이 유지되었고, 0.13 mg/ml 역시 12시간 이후부터 O.D. 값이 증가하기는 하였으나 대조구에 비해서 낮은 O.D. 값을 나타내었다. 대조구의 O.D. 값이 급격히 증가하는 6시간과 12시간 사이와 24시간과 72시간 사이에 첨가물의 O.D.는 오히려 유지되는 경향을 나타내었다. 이 결과 *B. cereus*에 대하여 dextrin과 gelatin에 $\text{Zn}(\text{COOH})_2$ 를 0.5 mg/ml 첨가한 경우, 24시간까지 O.D.의 변화가 없었으므로 항균작용을 나타내었으며 12시간 이후에도 대조구에 비해 낮은 O.D. 값을 나타내었으므로 *B. cereus*에 대해 항균 작용을 나타내는 것으로 사료 되어진다. Dextrin과 gelatin에 GeO_2 을 0.5 mg/ml, 0.25 mg/ml, 0.13 mg/ml 첨가한 경우, 12시간까지 O.D.의 변화가 없었으므로 항균작용을 나타내었으며,

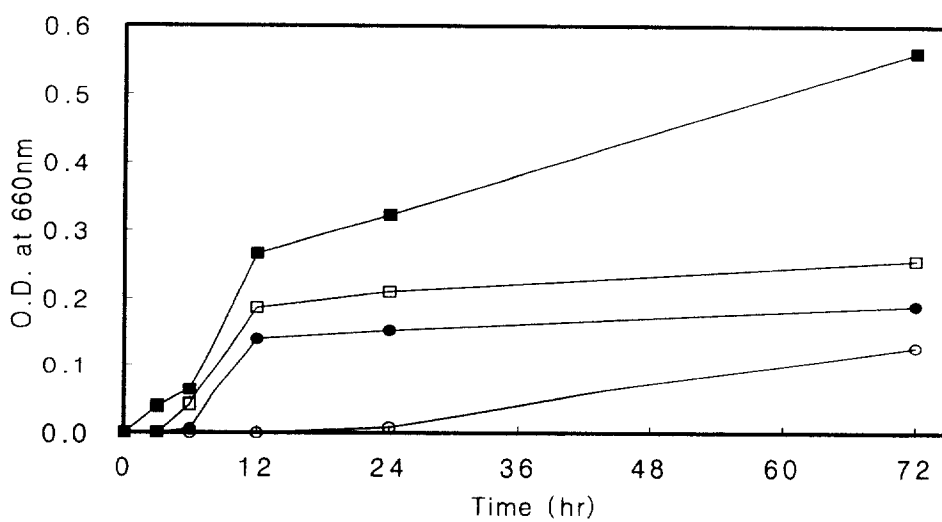
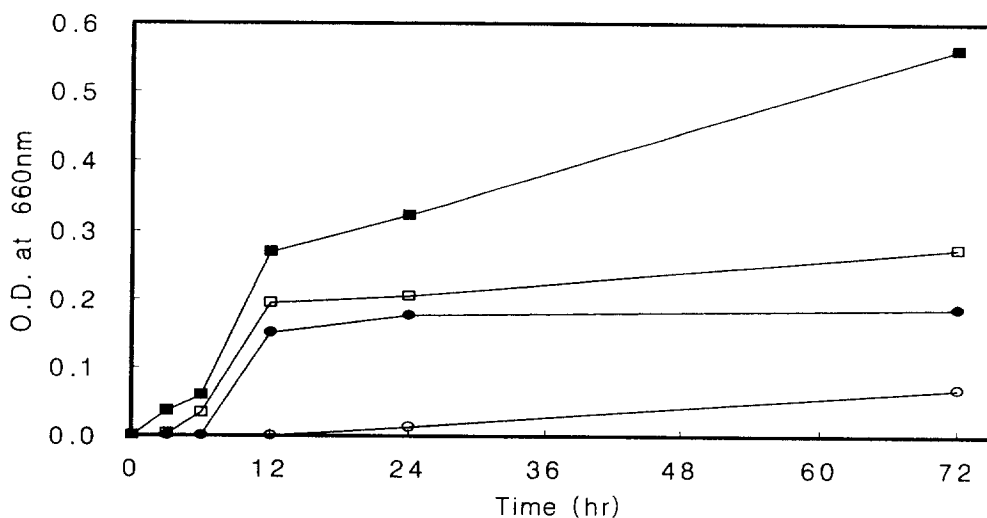


Fig. 7. Growth inhibition effect of $\text{Zn}(\text{COOH})_2$ in combination with dextrin and gelatin against *Bacillus cereus*.

■, control; ○, 0.5 mg/ml; ●, 0.25 mg/ml; □, 0.13 mg/ml.

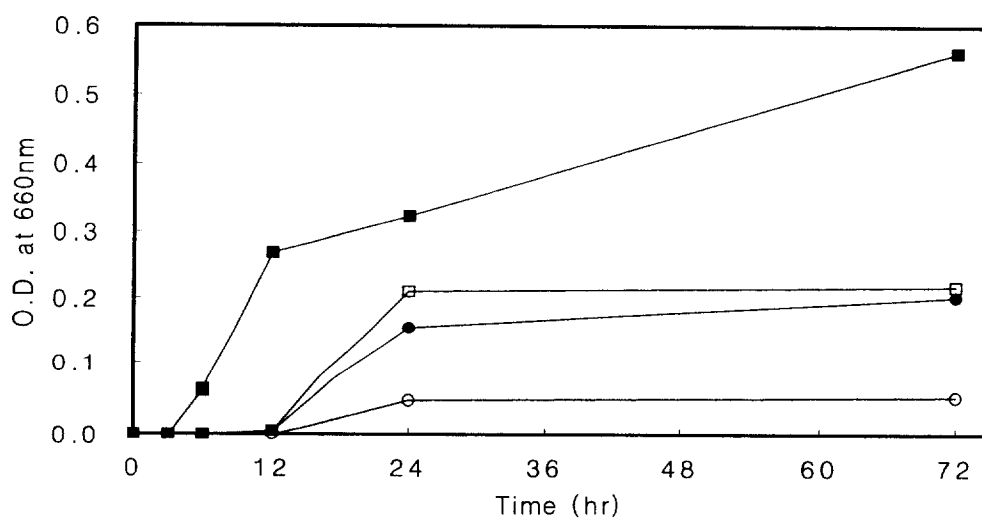
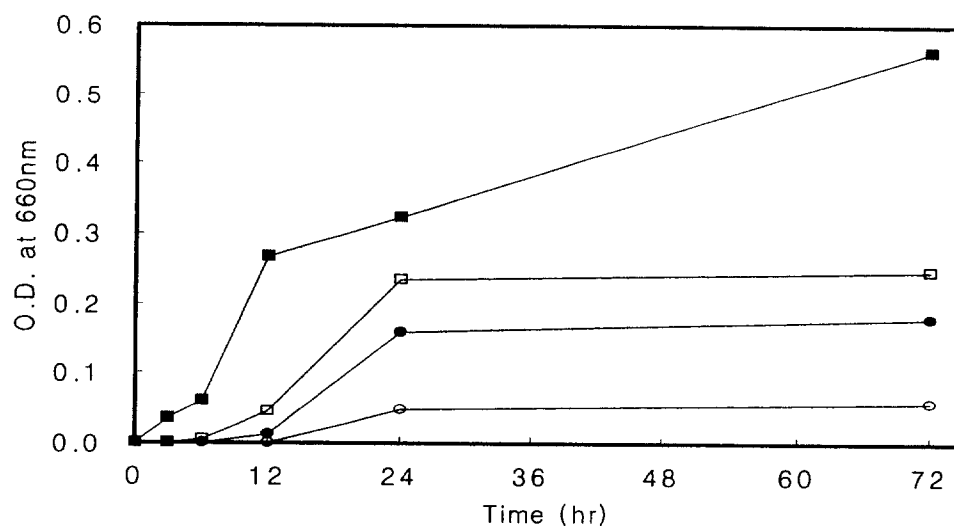


Fig. 8. Growth inhibition effect of GeO₂ in combination with dextrin and gelatin against *Bacillus cereus*.

■, control; ○, 0.5 mg/ml; ●, 0.25 mg/ml; □, 0.13 mg/ml.

*Bacillus subtilis*에 대하여 dextrin과 gelatin에 $\text{Zn}(\text{COOH})_2$ 를 첨가한 경우(Fig 9)와 GeO_2 를 첨가한 경우(Fig10)의 결과를 살펴보면 dextrin과 gelatin에 $\text{Zn}(\text{COOH})_2$ 를 0.5 mg/ml 첨가한 경우(Fig 9), 24시간까지 균 증식이 전혀 일어나지 않았으며 24시간 이후 72시간까지 O.D. 값이 조금 증가하기는 하였으나, 대조구에 비해 현저히 낮은 O.D. 값을 나타내었다. 0.25 mg/ml 첨가시 6시간까지는 O.D. 값이 변화가 거의 없다가 6시간 이후부터 24시간까지 O.D. 값은 증가하였으며, 24시간 이후부터 72시간까지 O.D. 값은 큰 변화없이 유지되는 경향을 나타내었다. 0.13 mg/ml 함량의 경우 역시 6시간까지는 O.D. 값이 변화가 거의 없다가 6시간 이후부터 O.D. 값은 증가하기 시작하여 72시간까지 꾸준히 증가하였으며, 대조구의 경우 6시간부터 24시간까지 O.D.는 급격히 증가하였으며, 24시간 이후에도 꾸준히 증가하는 경향을 나타내었다.

dextrin과 gelatin에 GeO_2 를 0.5 mg/ml, 0.25 mg/ml, 0.13 mg/ml 첨가한 경우(Fig 10) 모두 12시간까지 O.D.의 변화는 없는 것으로 보아 균 증식이 일어나지 않았으며, 12시간 이후부터 농도에 따라 0.5 mg/ml 함량의 경우 가장 낮은 O.D. 값을 나타내며 24시간부터 72시간까지는 O.D. 값은 꾸준히 증가하는 경향을 나타내었다. 0.13 mg/ml 역시 12시간 이후부터 O.D. 값이 증가하기는 하였으나 대조구에 비해서 낮은 O.D. 값을 나타내었다. 대조구의 O.D. 값은 6시간 이후부터 24시간까지 급격히 증가하였으며, 24시간 이후는 서서히 증가하는 경향을 나타내었다. 이 결과 *B. subtilis*에 대하여 dextrin과 gelatin에 $\text{Zn}(\text{COOH})_2$ 를 0.5 mg/ml 첨가한 경우, 72시간까지 O.D.의 변화가 크게 없었으므로 항균작용을 나타내었고, 0.13 mg/ml 함량 일때도 control에 비해 낮은 O.D.값을 나타내었으므로 *B. subtilis*에 대해 항균 작용을 나타내는 것으로 사료 되어진다. Dextrin과 gelatin에 GeO_2 를 0.5 mg/ml, 0.25 mg/ml, 0.13 mg/ml 첨가한 경우, 12시간까지 O.D.의 변화가 없었으므로 항균작용을 나타내었으며 12시간 이후에도 control에 비해 낮은 O.D. 값을 나타내었으므로 *B. subtilis*에 대해 항균 작용을 나타내는 것으로 사료 되어진다.

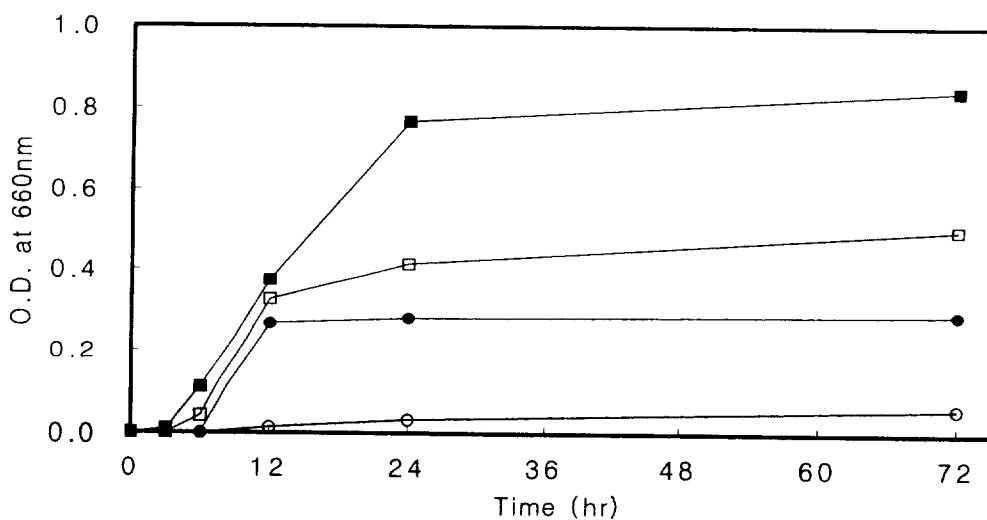
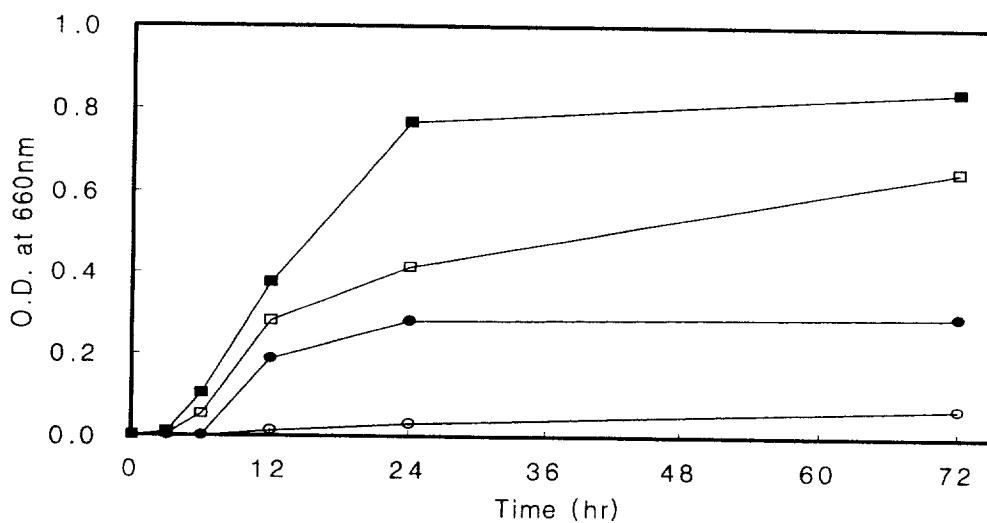


Fig. 9. Growth inhibition effect of $\text{Zn}(\text{COOH})_2$ in combination with dextrin and gelatin against *Bacillus subtilis*.

■, control; ○, 0.5 mg/ml; ●, 0.25 mg/ml; □, 0.13 mg/ml.

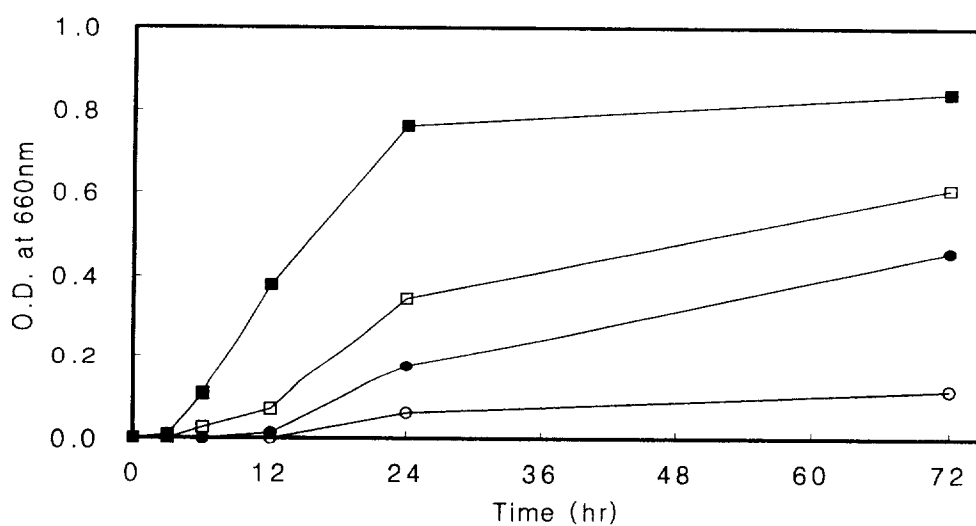
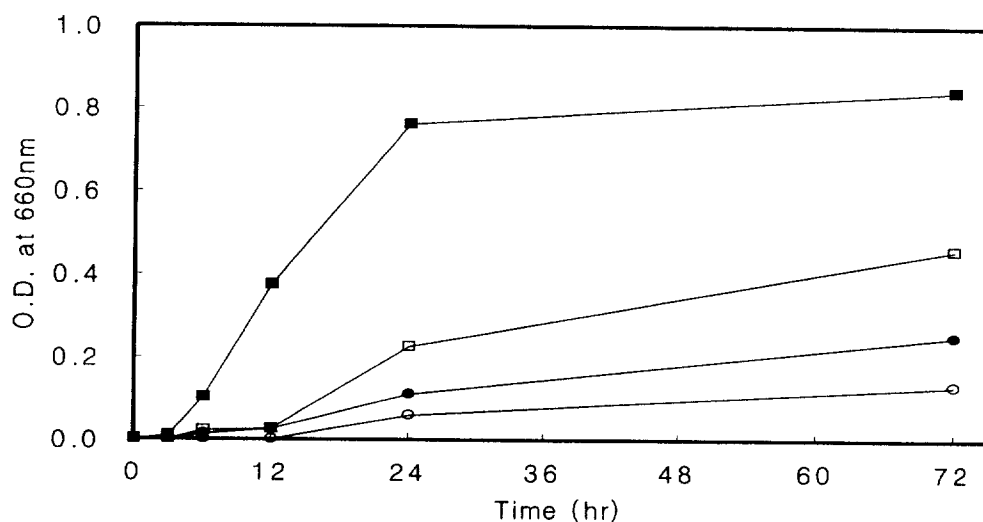


Fig. 10. Growth inhibition effect of GeO_2 in combination with dextrin and gelatin against *Bacillus subtilis*.

■, control; ○, 0.5 mg/ml; ●, 0.25 mg/ml; □, 0.13 mg/ml.

*Pseudomonas fluorescens*에 대하여 dextrin과 gelatin에 $\text{Zn}(\text{COOH})_2$ 를 첨가한 경우(Fig11)와 GeO_2 을 첨가한 경우(Fig12)의 결과를 살펴보면 dextrin과 gelatin에 $\text{Zn}(\text{COOH})_2$ 를 첨가한 경우(Fig. 11) 0.25 mg/ml 함량일 때, 6시간까지 균 증식이 전혀 일어나지 않았으며 6시간 이후부터 72시간까지 O.D. 값이 조금 증가하기는 하였으나, 대조구에 비해 낮은 O.D. 값을 나타내었다. 0.13 mg/ml 함량의 경우 3시간까지는 O.D. 값의 변화가 거의 없다가 3시간 이후부터 72시간까지 꾸준히 증가하는 경향을 내었다. 0.06 mg/ml 역시 0.13 mg/ml 보다는 높은 O.D. 값을 나타내었으나 비슷한 경향으로 증가하였다. 대조구에 비해서는 모두 낮은 O.D. 값을 나타내었다.

Dextrin과 gelatin에 GeO_2 을 0.5 mg/ml 첨가한 경우(Fig 12), 6시간까지 O.D.의 변화는 없는 것으로 보아 균 증식이 일어나지 않았으며, 6시간 이후부터 72시간까지는 꾸준히 증가하는 경향을 나타내었다. 0.25 mg/ml와 0.13 mg/ml 첨가시 3시간 이후부터 O.D. 값이 증가하기는 하였으나 대조구에 비해서 낮은 O.D. 값을 나타내었다. 이 결과 *P. fluorescens*에 대하여 dextrin과 gelatin에 $\text{Zn}(\text{COOH})_2$ 를 0.5 mg/ml 첨가한 경우, *P. fluorescens*에 대해 가장 큰 항균 작용을 나타내는 것으로 사료되어진다. dextrin과 gelatin에 GeO_2 을 0.5 mg/ml 첨가한 경우 역시 가장 큰 항균작용을 나타내었으며 0.06 mg/ml 함량도 대조구에 비해 낮은 O.D. 값을 나타내었으므로 *P. fluorescens*에 대해 항균 작용을 나타내는 것으로 사료 되어진다.

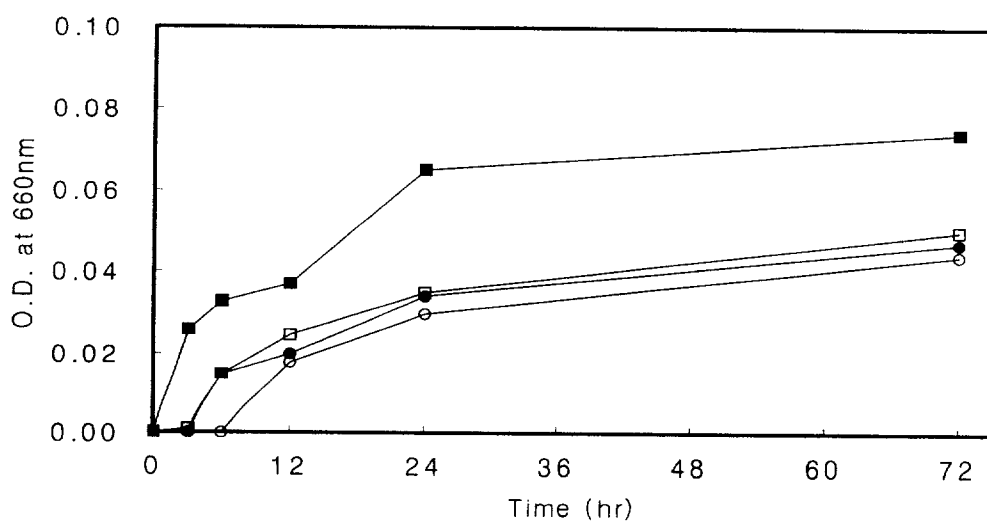
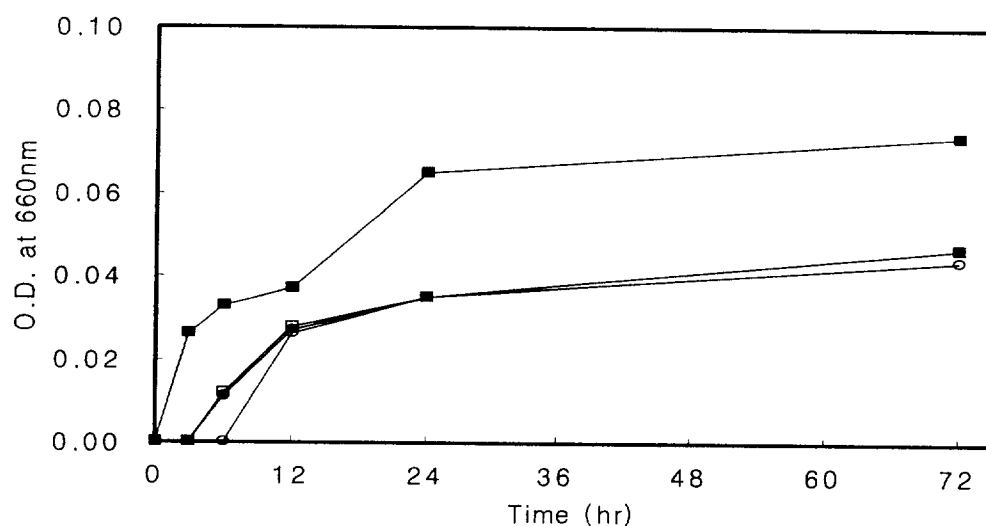


Fig. 11. Growth inhibition effect of $\text{Zn}(\text{COOH})_2$ in combination with dextrin and gelatin against *Pseudomonas fluorescens*.

■, control; ○, 0.5 mg/ml; ●, 0.25 mg/ml; □, 0.13 mg/ml.

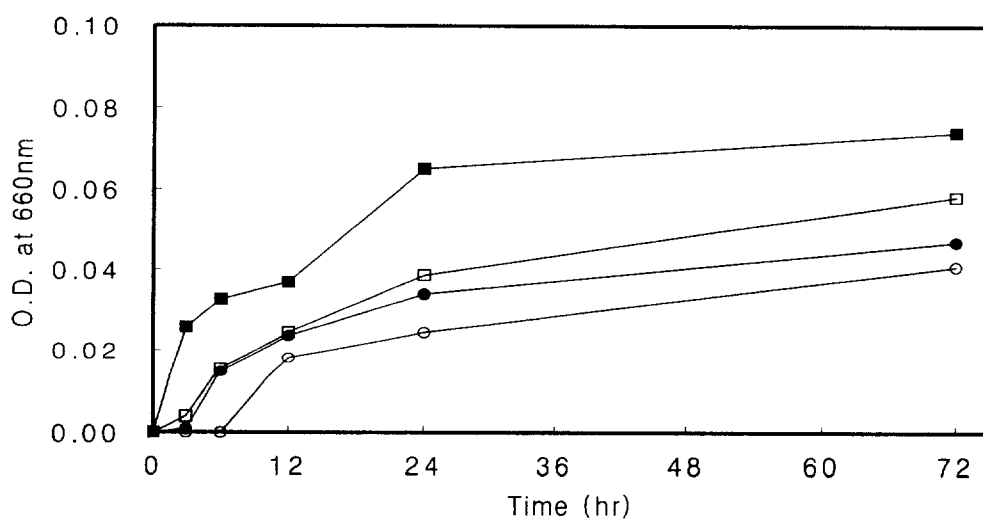
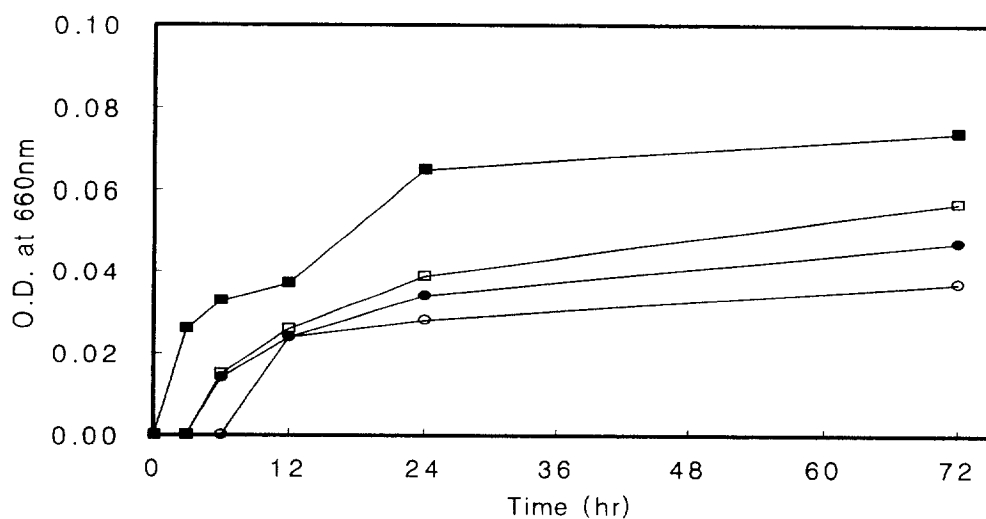


Fig. 12. Growth inhibition effect of GeO_2 in combination with dextrin and gelatin against *Pseudomonas fluorescens*.

■, control; ○, 0.5 mg/ml; ●, 0.25 mg/ml; □, 0.13 mg/ml.

6. 아연 강화 식품소재 코팅에 의한 어묵 제품의 저장 효과

아연 강화 식품소재 코팅에 의한 시판 어묵 제품의 저장 효과를 알아보기 위하여 아연과 gelatine을 혼합한 용액에 어묵 제품을 침지하여 코팅한 후 저장온도 및 시간에 따른 생균수 변화를 살펴보았다.

먼저, 1% $\text{Zn}(\text{COOH})_2$ 에 gelatin 농도를 1%, 3%, 5%로 달리하여 첨가하였을 때 저장성 효과를 알아보기 위해 각 농도별 시료 용액으로 코팅한 어묵을 25℃에서 3일간 저장하면서 생균수 변화를 측정하였다(Table 20). 아연에 gelatin 농도를 3% 이상 첨가한 경우 어묵의 생균수는 대조구에 비해 약 2 log cycle 감소하는 경향을 나타내었으며, 5% gelatin을 첨가한 경우 균증식이 가장 억제되었다. 그러나 3% gelatin을 첨가한 것 역시 큰 차이를 나타내지 않았으므로 상업적 이용을 위해서는 1% $\text{Zn}(\text{COOH})_2$ 과 3% gelatin을 혼합하는 것이 최적 조건임을 알 수 있었다.

Table 20. Viable cell count storage of fish paste coated as $\text{Zn}(\text{COOH})_2$ in combination with gelatin

Storage (days)	Viable cell count (CFU)			
	Control	1% $\text{Zn}(\text{COOH})_2$		
		1% gelatin	3% gelatin	5% gelatin
0	0	0	0	0
1	4.7×10^4	5.0×10^4	3.3×10^2	1.7×10^2
2	4.8×10^7	2.9×10^6	9.6×10^5	1.7×10^5
3	1.6×10^8	8.0×10^7	1.7×10^6	1.5×10^6

1% Zn(COOH)₂와 3% gelatin을 혼합한 용액에 어묵을 침지하여 코팅한 것을 온도별 저장성을 알아본 결과는 Table 21에 나타내었다.

저장온도 10℃에서 대조구는 초기부패(10^5 CFU)까지 3일정도 걸리는데 반하여 시료 용액에 침지한 어묵은 7일정도로 저장기간을 4일정도 더 연장시킬 수 있을 것으로 판단되었다. 25℃와 35℃의 경우도 1% Zn(COOH)₂와 3% gelatin의 혼합 용액으로 코팅된 어묵의 경우 대조구에 비하여 균증식이 억제 되었으며, 이는 여름철 상온 유통과정에서 생기는 균 증식을 어느 정도 억제 할 수 있을 것으로 사료되어 진다.

Table 21. Storage at different temperature of fish paste coated as Zn(COOH)₂ in combination with gelatin

Incubation time (days)	10℃		25℃		35℃	
	control	ZA ¹⁾	control	ZA	control	ZA
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⁾ ZA, 1% Zn(COOH)₂ + 3% gelatin

²⁾ -, spoiling

요 약

최근 단체 급식 및 편의 가공식품 개발과 외식 산업의 발달에 따른 집단 식중독 발생 우려가 높아지고 있는 실정이므로 이를 해결하기 위한 방안 모색이 필요한 실정이다. 또한 성장기 어린이에 있어 단백질, 인 등은 과잉 섭취되고 있으나, 칼슘, 아연 등의 필수 미량 원소 섭취량은 권장량의 약 50% 정도로 부족하므로 영양 불균형이 심각한 상태이다. 따라서 식품의 코팅제로 사용되고 있는 gelatin을 이용하여 아연이 강화된 코팅제를 만듦으로써 필수 미네랄인 아연의 섭취량을 증가시키고 식중독 세균을 억제하였다.

1. Dextrin, gelatin 및 collagen을 각각의 미량원소에 첨가하여 6종류의 식중독 세균에 대하여 pH 6에서의 생육 저해환의 크기를 비교한 결과, *E. coli*, *V. parahaemolyticus*, *S. aureus*의 경우 $ZnCl_2$, $Zn(COOH)_2$ 에 대하여 11~14 mm의 생육 저해환을 형성하였으며, *B. subtilis*, *B. cereus*의 경우 GeO_2 에 대해서만 18~20 mm 정도의 생육 저해환을 형성하였다. *P. fluorescens*는 $ZnCl_2$, $Zn(COOH)_2$, GeO_2 에 대하여 18~23 mm의 생육저해환을 생성하였다.

2 GeO_2 와 $ZnCl_2$ 를 혼합한 것과 GeO_2 와 $Zn(COOH)_2$ 를 혼합한 것을 collagen, dextrin 및 gelatin에 각각 첨가하여 생육환의 크기를 비교하였을 때 *E. coli*, *V. parahaemolyticus*, *P. fluorescens*의 경우 혼합하기 전과 비슷한 환의 크기를 나타내었고, *S. aureus*의 경우 13~19 mm로 미량원소 단독으로 첨가하였을 때보다 환의 크기가 5 mm 증가하였다.

3. pH에 대한 항균성 물질의 안정성을 알아본 결과 $Zn(COOH)_2$ 에 dextrin, gelatin을 첨가한 경우, *E. coli*에 대하여 pH 6.0이하에서는 11~12 mm의 저해환을 생성하였으나, pH 6.5 이상에서는 환을 생성하지 않았다. 한편, GeO_2 의 경우 pH별 생육저

해환을 비교하였을 때, *B. subtilis*, *B. cereus*에 대하여 모든 온도 범위에서 저해환을 나타내었으며, 특히 pH 6.5부터 생육 저해환의 크기가 증가하였다.

4. $\text{Zn}(\text{COOH})_2$ 와 GeO_2 에 dextrin, gelatin를 각각 첨가하여 열안정성을 검토하기 위하여 60℃에서 30분간 100℃에서 10분, 20분 및 30분간 그리고 121℃에서 15분간 열처리한 다음 식중독 세균에 대한 생육 저해환을 측정한 결과 식중독 세균에 대한 생육저해환은 15~20 mm범위로, 항균활성을 유지하는 경향을 나타내었다. 본 실험의 결과, 가열 온도가 증가함에 있어 항균활성은 잔존하였으므로 열에 비교적 안정한 것으로 판단되었다.

5. 어류 및 패류 양식장으로부터 분리한 식중독 세균 5균주에 대한 항균활성을 비교한 결과, *E. coli*, *S. aureus*, *Sal. typhi*에 대하여 $\text{Zn}(\text{COOH})_2$ 강화 식품소재는 13~15 mm의 생육저해환을 나타내었으며, *V. parahaemolyticus*에 대하여 $\text{Zn}(\text{COOH})_2$ 와 GeO_2 강화 식품소재는 17~20 mm의 생육저해환을 나타내었으며, *Enter. faecalis*에 대하여는 모두 항균활성을 나타내지 않았다.

6. 미량금속 강화 식품소재의 식중독 세균에 대한 최소저해농도와 최소사멸농도를 측정한 결과, $\text{Zn}(\text{COOH})_2$ 에 dextrin과 gelatin을 첨가하였을 때, *E. coli*, *V. parahaemolyticus*, *B. cereus* 및 *B. subtilis*의 MIC는 1.0 mg/ml, 그리고 *S. aureus*와 *P. fluorescens*의 MIC는 0.5 mg/ml로 나타났다. *E. coli*, *V. parahaemolyticus*, *S. aureus*, *B. cereus* 및 *B. subtilis*의 MBC는 1.0 mg/ml, *P. fluorescens*의 MBC는 0.5 mg/ml로 나타났다. GeO_2 에 dextrin과 gelatin을 첨가하였을 때, *E. coli*, *V. parahaemolyticus*의 MIC는 >1.0 mg/ml, *S. aureus*, *B. cereus*, *B. subtilis*의 MIC는 1.0 mg/ml, 그리고 *P. fluorescens*의 MIC는 0.5 mg/ml로 나타났다. 또한 *E. coli*, *V. parahaemolyticus* 및 *S. aureus*의 MBC는 >1.0 mg/ml, *B. cereus*와 *B. subtilis*의 MBC는 1.0 mg/ml *P. fluorescens*의 MBC는 0.5 mg/ml로 나타났다.

7. 미량금속 강화 식품소재의 식중독 세균의 증식에 미치는 영향을 살펴본 결과, dextrin과 gelatin에 $\text{Zn}(\text{COOH})_2$ 를 0.5 mg/ml 첨가시, *E. coli*, *V. parahaemolyticus*, *S. aureus*, *B. cereus*, *B. subtilis*, *P. fluorescens*에 대한 강한 균 증식 억제 효과를 나타내었으며, dextrin과 gelatin에 GeO_2 을 0.5 mg/ml 첨가시, *S. aureus*, *B. cereus*, *B. subtilis* 및 *P. fluorescens*에 대하여 강한 균 증식 억제 효과를 나타내었다.

8. 아연 강화 식품소재 코팅에 의한 시판 어묵 제품의 저장 효과를 알아보기 위하여 아연과 gelatine을 혼합한 용액에 어묵 제품을 침지하여 코팅한 후 저장온도 및 시간에 따른 생균수 변화를 살펴본 결과, 아연에 gelatin 농도를 3% 첨가하는 것이 균 증식억제력 및 상업적 이용을 위하여 최적 조건이었다. 또한, 1% $\text{Zn}(\text{COOH})_2$ 와 3% gelatin을 혼합한 용액에 어묵을 침지하여 코팅한 것은 저장온도 10℃에서 대조구는 초기부패(10^5 CFU)까지 3일정도 걸리는데 반하여 시료 용액에 침지한 어묵은 7일정도로 저장기간을 4일정도 더 연장시킬 수 있을 것으로 판단되었다.

참 고 문 헌

- Cho NS, Yang YY, Choi EH. 1986. Combination effect of pottasium 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.

Lee JY, Kim YS, Shin DH. 2002. Growth inhibition synergistic effect of linolenic acid and monoglyceride against *Bacillus cereus* and *S. aureus*. *J Agric Food Chem* 50: 2193-2199.

Hung SL, Wang YM, Chiou RY. 2001. Survival of *S. aureus* and *Escherichia coli* as affected by ethanol and NaCl. *J Food Prot* 64: 546-550.

Cho SB, Lee YW, Kim JH. 1998. A Study on synergistic effect of chitosan and sorbic acid on growth inhibition of *Escherichia coli* O157:H7 and *S. aureus*. *J Fd Hyg Safety* 13: 112-120.

Hwang JK, Kim HJ, Sim, Pyun YR. 1999. Bactericidal activity of chitosan on *Streptococcus mutans*. *Korean J Food Technol* 31: 522-526.

Oh SW, Hong SP, Kim HJ, Choi YJ. 2000. Growth inhibition effects of chitosans of *Escherichia coli* O157:H7, *S. aureus* and *Candida albicans*. *Korean J Food Sci Technol* 32: 218-224.

Lee JY, Park YS, Kim YS, Shin DH. 2002. Antibacterial characteristics of metabolites of lactic acid bacteria from feces of newborn baby and from Dongchimi. *Korean J Food Sci Technol* 34: 472-479.

Park HJ, Lee NK, Choi JO, Park HD. 2001. Control of *Listeria monocytogenes* in ground beef by Lactococcal bacteriocins. *Food Sci Biotechnol* 10: 199-203.

- Kim YM, Lee NK, Park HD, Lee DS. 2000. Migration of bacteriocin from bacteriocin coated film and its growth inhibition activity. Food Sci Biotechnol 9: 325-329.
- Behel, D., Darrel, J. R., Nelson, W. and Sommers, L. E. (1983). Assessment of heavy metal equilibria in sewage sludge-treated soil. J. Environ. Qual., 12, 181-186.
- Bender, J., Graves, B., Philips, P. and Abotsi, G. (1994). Deposit of zinc and manganese an aqueous environment mediated by microbial mats. Water Air Soil Poll., 75, 195-204.
- Brynhildsen, L. & Rosswall, T. (1989). Effects of cadimium, copper, magnesium, and zinc on the decomposition of citrate by *Klebsiella sp.*. Appl. Environ. Microbiol, 55, 1375-1379.
- Chang, J. S., Hong, J., Oa, O. and Bah, O. (1993). Interaction of mercuric ions with the bacterial growth medium and its effects on enzymatic reduction of mercury. Biotechnol., 9, 526-532.
- De Rore, H., Top, E., Houwen, F., Mergeay, M. and Verstraete, W. (1994). Evolution of heavy metal resistant transconjugants in a soil environment with a concomitant selective pressure. FEMS Microbiol. Ecol., 14, 263-273.

Doelman, P., Jansen, E., Michels, M. and Van Til, M. (1994). Effect of heavy metals in soil on microbial diversity and activity as shown by the sensitivity-resistance index, an ecologically relevant parameter. *Biol. Fertil. Soil.*, 17, 177-184.

Guzzo, A., Du Bow, M. and Bauda, P. (1994). Identification and characterization of genetically programmed responses to toxic metal exposure in *Escherichia coli*. Metal and microorganisms: relationships and application. *FEMS Microbiol. Revi.*, 14, 369-374.

Goblentz, A., Wolf, K. and Bauda, P. (1994). The role of glutathione biosynthesis in heavy metal resistance in the fission yeast *Schizosaccharomyces pombe*. Metal and microorganisms: relationships and application. *FEMS Microbiol. Revi.*, 14, 303-308.

Hanson, R.S. & Phillips, J. A. 1981. Chemical composition, in Gerhardt, M. R. G. E., Costilow, R. N., Nester, W. P., Wood, W. A., Krieg, N. R. & Phillips, G. B.(eds), *Manual of Methods for General Bacteriology*. American Society for Microbiology, Washington, DC, 328-364.

Hiroki, M. (1994). Populations of Cd-tolerant microorganisms in soil polluted with heavy metals. *Soil Sci. Plant Nutr.*, 40, 515-524.

Holm, P. E., Christensen, T. H., Tjell, J. C. & McGrath, S. P. (1995). Heavy metal in the environment. Speciation of cadmium and zinc with application to soil solutions. *J. Environ. Qual.*, 24, 183-190.

- Jackson, M. A., Slininger, P. J. (1989). Effect of zinc, iron, cobalt and manganese on *Fusarium moniliforme* NRRL 13616 growth and fusarin C biosynthesis in submerged cultures. *Appl. Environ. Microbiol.*, 55, 649-655.
- Jonas, R. B. (1989). Acute copper and cupric ion toxicity in an estuarine microbial community. *Appl. Environ. Microbiol.*, 55, 43-49.
- Jonas, R. B., Gilmour, C. C., Stoner, D. L., Weir, M. M. & Tuttle, J. H. (1984). Comparison of methods to measure acute metal and organometal toxicity to natural aquatic microbial communities. *Appl. Environ. Microbiol.*, 47, 1005-1011.
- Lieber, M. (1956). Permanganate Azide test for total chromium in water. *J.A.W.W.A.*, 40, 295-299.
- R. J. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent *J. Biol. Chem.*, 193, 265-275.
- Lun, X. Z. & Christensen, T. H. (1989). Cadmium complexation by solid waste leachates. *Water Res.*, 23, 81-84
- Mullen, M. D., Wolf, D. C., Ferris, F. G., Beveridge, T. J., Flemming, C. A. & Bailey, G. W. (1989). Bacterial sorption of heavy metals *Appl. Environ. Microbiol.*, 55, 3143-3149.
- Nieto, J. J., Castillo, R. F., Marquez, M. C., Ventosa, A., Quesada, E. & Ruiz Berraquero, F. (1989). Survey of metal tolerance in moderately halophilic eubacteria. *Water Res.*, 55, 2385-2390.

Olson, B. H. & Thornton, I. (1982). The resistance patterns to metals of bacterial populations in contaminated land. J. Soil Sci., 33, 271-277.

Rajini Rani, D. B. & Mahadevan, A. (1994). Cloning and expression of the mercury resistance genes of marine *Pseudomonas* sp. strain MRI plasmid pMRI in *Escherichia coli*. Res. Microbiol., 145, 121-127.

Rohit, M. & Sheela, S. (1994). Uptake of zinc in *Pseudomonas* sp. strain UDG26. Appl. Environ. Microbiol., 60, 2367-2370.

Sadler, W. R. & Trudinder, P. A. (1967). The inhibition of microorganisms by heavy metals. Mineral. Dep., 2, 351-361.

김경진. 2002. 식중독, 한국공학교육학회, 9, 80-83.

이용욱, 김종규. 1989. 우리나라의 식중독에 관련된 문헌고찰, 한국식품위생학회지, 4, 199-256.

김종규. 1997. 식중독 발생의 사례를 통해 본 집단급식의 문제점 분석, 식품위생안전학회지, 12, 240-253.

이용욱, 김종규. 1987. 우리나라의 식중독 발생동향 조사연구 통계자료를 중심으로, 한국 식품위생학회지, 2, 215-237.

이나영, 김용석, 신동화. 2003. Chloridedua 및 유기산 칼슘염의 식중독 미생물에 대한 증식 억제 효과. 한국식품영양과학회지. 32(8), 1233-1239.

감사의 글

본 논문이 완성되기까지 세심한 지도와 격려를 주신 조영제 교수님께 진심으로 감사드립니다.

그리고 바쁘신 와중에도 귀중한 시간을 내주시어 논문에 대한 충고를 해 주신 양지영 교수님, 김태진 박사님께도 감사드립니다. 또한 학문의 길을 걸을 수 있도록 도와주신 식품공학과 장동석 교수님, 이근태 교수님, 김선봉 교수님, 전병수 교수님, 이양봉 교수님, 안동현 교수님께 감사의 마음을 전합니다.

본 실험이 이루어질 수 있도록 도와주신 국립수산물연구원 식품위생팀 이태식 팀장님과 부족한 저에게 따뜻한 격려를 주신 김지희 연구관님, 항상 따뜻한 관심과 부족한 논문을 세심한 지도로 가르쳐 주신 목종수 연구사님, 함께 실험하며 많은 조언과 수고를 아끼지 않으셨던 오은경 연구사님, 언제나 든든한 힘이 되는 손광태 연구사님, 아낌없는 격려로 힘이 되어주신 김풍호 연구사님, 무엇이든 척척 만능박사 류홍식 연구사님, 조미라 연구사님에게도 깊은 감사를 드립니다. 마음을 든든히 채워준 김주경님, 열심히 최선을 다하는 모습을 보여줬던 길보선배님, 항상 같은 마음으로 위로받을 수 있었던 선경이, 언니같은 동생 혜진, 동갑내기 혜진, 귀염둥이 희성이 모두 웃음 잃지 않기를 바랍니다.

대학원 생활에 있어 많은 도움을 주신 식품가공학 실험실 가족들에게도 고마움을 전하며 함께 생활한 대학원 선배님들에게도 고마움을 전합니다.

마지막으로 제게 많은 힘과 용기를 주시며 든든한 버팀목이 되주신 사랑하는 부모님과 마음으로 걱정하시는 할머니, 말광량이 동생 보혜에게 이 논문을 드립니다.