

과산화피로인산나트륨의 항균성 및 안정성

이종훈 · 김일환*

경기대학교 식품생물공학과, *(주)서도화학

Antimicrobial Activity and Stability of Tetrasodium Pyrophosphate Peroxide

Jong-Hoon Lee and Ilhwan Kim*

Department of Foods and Biotechnology, Kyonggi University
*Seodo Chemical Co.,Ltd.

Abstract

Tetrasodium pyrophosphate peroxide can be crystallized as a hydrogen-peroxide-bound salt from the solution of tetrasodium pyrophosphate and hydrogen peroxide. The antimicrobial activity and stability of the compound were tested for the use as a food preservative. It showed antimicrobial activities against several food spoilage microorganisms at the concentration of 0.1% (w/v), and was stable for 80 days in room temperature as a form of 70% hydrogen-peroxide-bound tetrasodium pyrophosphate peroxide. It was also stable at the boiling temperature but decomposed significantly in the presence of metal ions. The compound can be an effective food preservative at the 0.2% (w/v) concentration, which contains 0.03% (v/v) hydrogen peroxide. The compound could be commercialized if the application area and usage direction as well as the removal method of hydrogen peroxide were developed.

Key words: tetrasodium pyrophosphate peroxide, hydrogen peroxide, food preservative

서 론

보존제는 넓은 의미로는 식품의 변질, 부패 및 화학적 변화를 방지하여 식품의 영양가와 신선도를 유지시키기 위해 사용되는 첨가물로서 살균제, 산화방지제 등을 포함시키고 있으나, 좁은 의미로는 미생물의 증식에 의해서 일어나는 식품의 변패를 방지하기 위하여 사용되는 첨가물로 일반적으로 방부제라 불리는 물질을 말한다^(1,2). 식품에 사용되는 보존제는 산성영역에서 높은 항균력을 가지고 있으나 pH의 증가에 따라 항균력이 감소하는 산형보존료가 대부분이다. 또한 미생물에 대한 넓은 항균력을 가지고 있지 않기 때문에 병용하여 첨가하고 있다⁽³⁾.

현재 식육가공품, 어육연제품 등에 사용되는 대표적인 보존제로 소르빈산과 소르빈산칼륨을 들 수 있는데 저 농도의 사용으로는 보존효과를 기대하기 어려워 상당히 많은 양을 첨가해야 하고 pH의 상승에

따라 그 효력이 저하된다⁽²⁾.

이러한 문제점의 해결을 위해 (주)서도화학에서는 넓은 pH 영역에서 사용이 가능하고 첨가량을 줄일 수 있는 보존제의 개발을 시도하였다.

Purophos™로 명명한 이 제품은 현재 수산연제품의 표백과 보존에 사용되고, 그 외에도 삶은 국수의 보존과 한천, 혼제용 오징어, 명란, 말린 청어알 등의 농수산 제품의 표백에 사용되고 있는 과산화수소에 햄, 소시지 등의 식육연제품용 품질개량제로 사용되는 피로인산나트륨(tetrasodium pyrophosphate, $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$)를 녹여 결정화하여 얻은 과산화피로인산나트륨(tetrasodium pyrophosphate peroxide)이다. 과산화수소의 부가반응으로 얻어진 과산화피로인산나트륨($\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7 \cdot \text{XH}_2\text{O}_2$)의 이론적 X 값은 3으로 알려져 있으나, Purophos™의 X 값은 1.87에서 2 정도로 추정하고 있고 부가조건이나 건조방법에 따라 $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}_2$ 상태의 결정성 제품을 얻을 수 있다. 이 화합물은 물에 녹이면 인산염과 과산화수소의 성질을 동시에 나타내는 것으로 알려져 있다⁽⁴⁾.

본 실험에서는 피로인산나트륨의 과산화수소 부가

Corresponding author: Jong-Hoon Lee, Department of Foods and Biotechnology, Kyonggi University, Suwon 442-760, Korea

물인 과산화피로인산나트륨을 식품보존제로서의 상용화의 가능성을 알아보기 위하여 항균력과 안정성에 대하여 검토해 보았다.

재료 및 방법

사용균주 및 배지

본 실험에 사용된 균주는 식품의 위생과 관련이 있는 *Bacillus cereus* ATCC11778, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* W3110, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium* W14028을 사용하였고, 균주의 생육과 보존에는 LB 배지를 사용하였다.

시약

과산화피로인산나트륨은 서도화학에서 시판용으로 개발한 제품(Purophos™)을 사용하였고 guaiacol과 peroxidase (hydrogen-peroxide oxidoreductase; EC 1.11.1.7, Type VI from horseradish)는 Sigma Chemical Co. (U.S.A)에서 구입하였다.

항균력 검사

12시간 이상 전배양한 균액을 1/50~1/500로 희석하여 고체배지에 150 μ L 도말한 후 paper disc (ϕ 6 mm, Advantec Co., Japan)를 균을 도말한 고체배지 위에 놓고 과산화피로인산나트륨 수용액을 40 μ L paper disc에 떨어뜨려 37°C에서 하룻밤 배양한 후 paper disc 주변의 균체 생육을 관찰하였다⁽⁴⁾.

과산화피로인산나트륨에 부가된 과산화수소 정량

과산화피로인산나트륨에 부가된 과산화수소의 함량은 peroxidase를 이용한 효소법에 의해 측정하였다^(5,6). Phosphate buffer (0.05 M, pH 7)에 기질인 과산화피로인산나트륨 적당량(w/v)과 guaiacol (0.1%, v/v)을 첨가한 후 peroxidase를 1 unit 첨가하여 25°C에서 1분간 반응시키고 ethanol을 최종 농도 17% (v/v)가 되게 반응액에 첨가하여 반응을 종결시켰다. 효소 반응을 완전히 정지시키기 위해 실온에서 20분 방치한 후 12,000 rpm에서 3분간 원심분리하여 침전물을 제거하고 상등액의 흡광도를 470 nm에서 측정하였다. 과산화수소 정량을 위한 standard curve는 과산화피로인산나트륨의 농도 0.05~0.3% (w/v)의 범위에서 작성하였다.

결 과

과산화피로인산나트륨의 미생물 증식 억제 효과

시험균주에 대한 과산화피로인산나트륨의 증식 억제 효과를 paper disc법으로 알아본 결과, 5 균주 모두 0.1% (w/v)의 수용액에 의해서 생육 저해를 받는 것으로 나타났고 0.2% (w/v)의 수용액에 의해서는 충분한 생육 저해 효과가 나타났다. Fig. 1에는 농도 별로 첨가한 과산화피로인산나트륨에 의한 대장균의 생육 저해를 보여주고 있다.

열처리에 의해서도 과산화피로인산나트륨의 항균력이 유지되는 것을 알아보기 위해 과산화피로인산나트륨을 직접 첨가하여 멸균한 LB 고체배지에서의 시험균주의 증식을 관찰해 보았다. Paper disc법에서 나타난 결과와 같이 0.1% (w/v)의 과산화피로인산나트륨을 첨가한 고체배지에서 미생물은 증식하지 않았다.

이와 같은 미생물 증식 억제 효과는 피로인산나트륨에 부가된 과산화수소에 의한 것으로 추정되고 열에 안정한 것으로 나타났다. 식품에 첨가할 경우 0.2% (w/v)의 농도에서 충분히 식품 보존제로서의 작용을 할 것으로 추정된다.

과산화피로인산나트륨의 안정성 검사

과산화피로인산나트륨에 의한 미생물 증식 억제의 결과로부터 과산화피로인산나트륨은 열처리에 도 상당히 안정한 화합물이라는 결과를 얻게 되었다. 이러한 안정한 항균 효과는 피로인산나트륨에 부가된 과산화수소가 상당히 안정하게 존재하기 때문이라고 추측된다. 따라서 과산화피로인산나트륨의 안정성을 검토하기 위해, 이 화합물에 부가된 과산화수소의 변화를 측

Fig. 1. Antimicrobial activity of tetrasodium pyrophosphate peroxidate against *E. coli* W3110. The concentration of its solution used for paper disc assay was 1, 0%; 2, 0.1%; 3, 0.2%; 4, 0.3% (w/v).

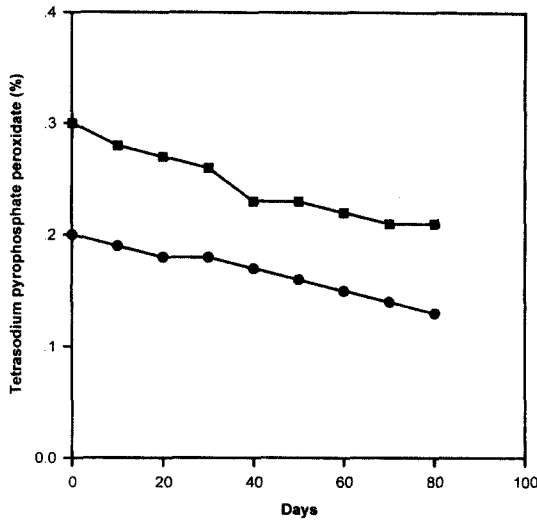


Fig. 2. Time course of tetrasodium pyrophosphate peroxidate decomposition at room temperature. The concentration of tetrasodium pyrophosphate peroxidate solution is ●—●: 0.2%; ■—■: 0.3% (w/v).

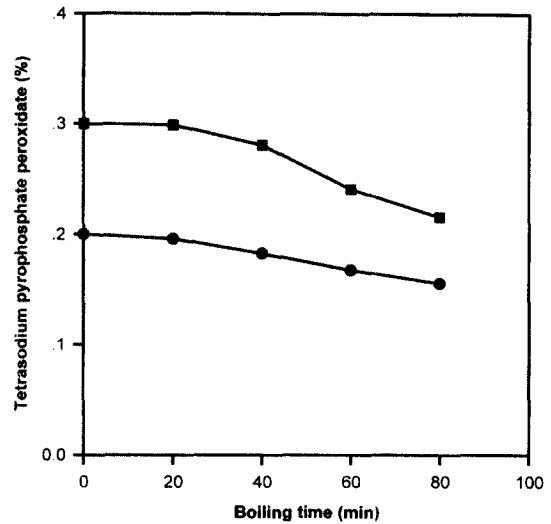


Fig. 3. Effect of boiling on the decomposition of tetrasodium pyrophosphate peroxidate. The concentration of tetrasodium pyrophosphate peroxidate solution is ●—●: 0.2%; ■—■: 0.3% (w/v).

정해 보았다. 피로인산나트륨에 부가된 과산화수소는 재료 및 방법에서 설명한 것과 같이 peroxidase를 이용하여 정량적으로 측정하였다.

부가된 과산화수소의 정량을 위한 과산화피로인산나트륨의 농도에 따른 표준곡선은 0.3% (w/v) 한도 내에서 작성하였고, 본 실험에서 사용한 효소반응 조건 하에서 표준곡선은 과산화피로인산나트륨 농도에 비례하였다.

표준곡선을 이용하여 0.2%와 0.3% (w/v)의 과산화피로인산나트륨 수용액 중의 과산화수소의 변화를 80일간 측정하여 과산화피로인산나트륨의 안정성을 측정해 본 결과, 수용액 중의 과산화수소는 80일 후에 약 70% 수준으로 감소하였으나 10일 정도에서는 큰 변화가 없었다(Fig. 2). 수용액의 pH는 평균 9.9 정도를 변화 없이 유지하였다.

가열에 의해 나타나는 과산화피로인산나트륨의 변화를 알아보기 위하여 0.2%와 0.3% (w/v)의 과산화피로인산나트륨 수용액을 100°C에서 중탕으로 가열한 후, 과산화수소의 변화를 알아보았다. 60분 가열에 의하여 수용액 중의 과산화수소는 평균 76% 수준으로 감소하였다(Fig. 3).

금속이온의 영향

금속이온은 과산화수소의 분해를 촉진시키는 것으로 알려져 있다. 비교적 안정한 것으로 나타난 피로

Table 1. Effects of metallic ions and EDTA on the stability of tetrasodium pyrophosphate peroxidate¹⁾

Compounds	Relative content of residual H ₂ O ₂ (%)		
	Concentration of metallic ions	1 mM	10 mM
Control ²⁾		100	100
EDTA		68	55
CaCl ₂		70	53
CuCl ₂		48	5
FeSO ₄		20	2

¹⁾The stability of tetrasodium pyrophosphate peroxidate was decided by the content of residual H₂O₂ in reaction mixture.

²⁾The H₂O₂ content measured without addition of metallic ion is shown as 100%.

인산나트륨에 부가된 과산화수소에 미치는 금속이온의 영향을 알아보기 위하여 금속이온을 과산화피로인산나트륨 수용액에 첨가하여 24시간 방치한 후, 과산화수소의 변화를 측정하였다(Table 1). 구리와 철에 의해서 결합된 과산화수소의 분해가 크게 촉진되는 것으로 나타났고 EDTA와 Ca 이온은 큰 영향을 미치지 못하는 것으로 나타났다. 효소반응으로 과산화수소를 정량하기 때문에 효소 저해 효과라고도 볼 수 있으나 Fe 이온이 EDTA보다 효소반응을 크게 저해한다고 보기는 힘들다. 따라서 피로인산나트륨에 부가된 과산화수소의 감소는 금속염에 의한 효과라고 추정된다.

고 찰

(주)서도화학에서 개발한 과산화피로인산나트륨 Purophos™는 0.2% (w/v)의 농도에서 충분한 항균력을 가지고 있는 것으로 나타났고, 그 수용액은 상온 보존 뿐만 아니라 가열처리에도 상당히 안정한 것으로 나타났다. 한편 금속이온의 존재 하에서는 쉽게 분해되므로 사용할 때 주의한다면 식품보존제로 사용될 수 있을 것이다.

그러나 과산화피로인산나트륨을 식품첨가물로 사용하기 위해서는 그 안전성이 가장 큰 문제점으로 제기된다. 과산화피로인산나트륨 제조의 원료가 되는 피로인산나트륨은 Codex 첨가물규격 및 미국 FDA에서 지정한 GRAS (Generally Recognized As Safe) Lists의 지정품목으로 유가공, 육가공, 수산가공, 전분가공 등의 분야에서 다양하게 사용하는 알칼리제로 큰 문제점이 없다. 과산화수소는 미국 FDA 및 Codex 첨가물규격에서 인정하는 식품첨가물로서 유가공, 축산가공, 전분가공, 포도주제조과정 등에서 강력한 살균, 표백 등의 목적으로 널리 사용되고 있으나 최종적으로는 물리적, 화학적 방법에 의하여 제거되어야 한다는 규정이 있다^(7,9).

과산화피로인산나트륨에 결합된 과산화수소의 양을 과산화수소와 과산화피로인산나트륨을 각각 기질로 하는 표준곡선을 작성하여 비교하여 본 결과 0.2% (w/v)의 과산화피로인산나트륨에는 0.03% (v/v)의 과산화수소가 존재하는 것으로 나타났다(Fig. 4). 이 정도

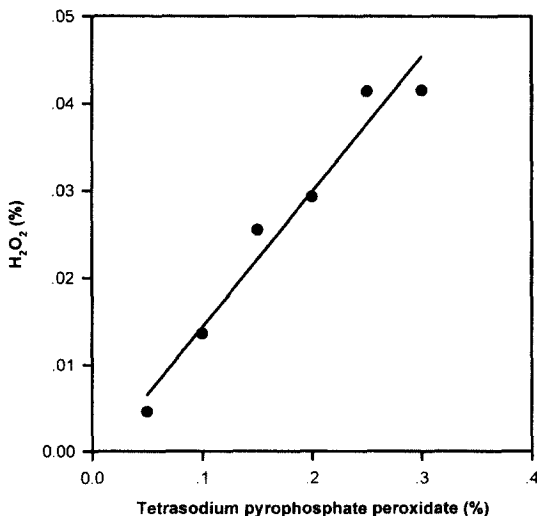


Fig. 4. The content of H₂O₂ (v/v) in tetrasodium pyrophosphate peroxidate solution (w/v).

의 양은 미국 FDA 및 Codex 첨가물규격에서 유제품 제조 시에 첨가되는 최대허용량, 0.05%와 corn syrup의 제조에 허용되는 0.15%에 미치지 못하는 양이다. 그러나 본 실험의 결과, 과산화피로인산나트륨에 결합된 과산화수소는 상당히 안정한 상태로 존재하는 것으로 나타났기 때문에 과산화수소보다 일반적인 식품가공 후의 잔류량은 높을 것으로 추측된다.

과산화피로인산나트륨을 식품보존제로 사용할 경우 기존에 사용되고 있는 sodium sorbate보다싼 가격에 보급할 수 있고 피로인산나트륨이 가지고 있는 품질개량제로서의 효과도 가지고 있어 큰 경제적 효과를 거둘 수 있지만 아직 그 안전성이 입증되지 않은 상태이므로 앞으로 그 적용 범위와 과산화수소의 효율적인 제거에 대한 연구가 진행되어야 할 것이다.

요 약

피로인산나트륨(tetrasodium pyrophosphate)을 과산화수소수에 용해시켜 결정화하면 과산화수소가 피로인산나트륨에 안정하게 결합된 과산화피로인산나트륨(tetrasodium pyrophosphate peroxidate)이 만들어지게 된다. 이 화합물의 식품보존제로서의 사용 가능성을 알아보기 위하여 항균력과 안정성에 대하여 검토해 보았다. 이 화합물은 0.1% (w/v)의 농도에서 항균력을 가지고 있는 것으로 나타났고 그 수용액은 상온에서 80일간 방치하여 과산화수소가 결합된 상태의 과산화피로인산나트륨이 70% 수준으로 잔류하는 안정한 상태로 존재하고 있는 것으로 나타났다. 또한 열에도 상당히 안정하여 60분간의 증탕처리에 의해서도 과산화피로인산나트륨이 76% 수준으로 존재하는 것으로 나타났다. 그러나 금속이온에 의해서는 상당한 영향을 받는 것으로 나타났다. 식품보존제로 이 화합물을 0.2% (w/v) 사용할 경우 0.03% (v/v)의 과산화수소가 존재하는 것으로 측정되었다. 적용범위, 사용방법 및 과산화수소의 제거법이 개발된다면 장래 식품보존제로 사용될 수 있을 것이다.

감사의 글

본 연구에 도움을 준 경기대학교 식품생물공학과 김연옥, 이용미에게 깊이 감사드립니다.

문 헌

1. 송재철, 양한철 : 식품첨가물학. 세문사. p. 97-149 (1992)

2. 문범수 : 식품첨가물. 수확사, p. 76-99 (1996)
3. Van Waser, J.R.: *Phosphorus and Its Compounds*, Vol. 1, Interscience, New York, p. 626-627 (1958)
4. Kim, H.S. and Shin, J.O.: Isolation and antimicrobial activity of *Xanthium strumarium* L. extract (in Korean). *Korean J. Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **25**, 183-188 (1997)
5. Whitaker, J.R.: *Principles of Enzymology for the Food Sciences*, Marcel Dekker, Inc., New York, p. 591-605 (1972)
6. Barth, M.M., Kerbel, E.L., Perry, A.K. and Schmidt, S. J.: Modified atmosphere packaging affects ascorbic acid, enzyme activity and market quality of broccoli. *J. Food Sci.*, **58**, 140-143 (1993)
7. Code of Federal Regulations Vol. 21, The Office of the Federal Register National Archives and Records Administration, U.S.A., p. 465-466 (1996)
8. 문범수 : 식품첨가물. 수확사, p 177-179 (1996)
9. 문범수 : 식품첨가물. 수확사, p. 406-417 (1996)

(1998년 7월 8일 접수)