

발간등록번호

11-1543000-000183-01

## 기능성 축산식품 개발기술 산업화

(Industrialization of Techniques for the Development of  
Functional Animal Products)

건국대학교

농림축산식품부

# 제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

이 보고서를 “기능성 축산식품 개발 기술 산업화에 관한 연구” 과제의 보고서로 제출합니다.

2013년 7월 29일

주관연구기관명 : 건국대학교

주관연구책임자 : 이 치 호

세부연구책임자 : 김 천 제

세부연구책임자 : 정 구 용

세부연구책임자 : 김 현 진

세부연구책임자 : 백 현 동

세부연구책임자 : 김 수 기

세부연구책임자 : 채 수 완

# 요 약 문

## I. 제 목

기능성 축산식품 개발기술 산업화

## II. 연구개발의 목적 및 필요성

21세기의 축산식품산업은 과거 축산식품의 단순생산 및 가공에서 웰빙 기능성 축산식품산업화라는 새로운 패러다임을 요구하고 있다. 따라서 본 사업단은 축산식품 중 유제품에 국한되었던 probiotics 개념을 확장시켜 이를 유제품에 적용하여 기능성 발효유제품 개발을 통해 고부가가치 축산식품을 생산하고 다양한 기능성 소재를 우유에 첨가하여 국내외 소비시장을 확대하고자 한다. 한편 침체된 식육가공시장에 상기의 소재를 접목시켜 기능성을 부여함과 동시에 천연물 및 식품소재를 활용한 고기능성 축산식품 개발 기술 산업화로 FTA를 대비하기 위한 국제 경쟁력 제고를 목표로 함

## III. 연구개발 내용 및 범위

본 사업단은 국내 대학의 벤처기업을 최초로 산업화한 본거지로써 유제품, 육제품 생산의 실습장 (200 평) 관련 사업체인 (학)건국유업·햄이 있다. 또한 건국대학교 동물생명과학대학(前 축산대학)을 중심으로 건국대학교 수의과 대학 및 상지대학교와 전북의대 기능성 평가원, (주)JINIS, (주)삼익유가공 및 카리온 등의 산·학·연으로 구성되어 있음

본 사업단에 구성된 축산식품 전문가들을 중심으로 역동적인 연구 단체와 산업체가 협동하면 발효기법을 이용한 신개념 기능성 복합소재 축산식품 제품 개발 및 산업화가 가능할 것으로 보임

그리하여 본 연구에서는 “생명을 위한”이라는 의미의 장수비결인 probiotics를 우유로부터 식육제품으로 전면 적용시킴과 동시에 저콜레스테롤 기능성 원료육의 생산, 식품소재 기능성을 부가시켜 기능성 축산식품개발 기술 산업화를 촉진시키고자 함

즉 본 사업에 적용한 가능한 probiotics, 발효기법이용 기능성 식품소재 대량생산기술 고도화, in vitro 및 질병 모델동물(비만 및 고콜레스테롤혈증)을 통한 기능성 평가 검증, 기능성 발효 축산식품 pilot 생산, 기능성 임상평가를 통해 가공 산업화하고자 함

주요 내용으로는

- 1) 식품소재를 이용한 비만방지 및 콜레스테롤 저하 원료육을 이용, 기능성 발효 유제품 개발
- 2) 기능성 probiotics 개발 및 캡사이신 유도체를 이용한 유제품 개발
- 3) 개발된 기능성 발효축산식품에 대한 기능성 (비만방지 및 콜레스테롤 저하) 임상평가
- 4) 기능성 발효 가공 기술 고도화 및 산업화로 축산식품 전반에 범용 가능한 starter culture 분말 제품화, 비만 및 고콜레스테롤 혈증 등 성인병 예방이 가능한 신개념 기능성 발효축산식품의 산업화를 목적으로 함

#### IV. 연구개발결과

##### 1핵심 1세부 (이치호) 유황 함유물 기능성 발효축산가공품 개발 및 산업화

###### 1. 직경에 따른 젓산 발효 이소플라본 첨가 살라미의 품질 비교

유황 급여 돈육에 발효 이소플라본을 첨가하여 제조한 살라미의 발효기간 중 직경 굵기(4cm, 8cm)에 따른 이화학적 특성과 제품의 품질특성을 조사하여 유황 돈육과 콩 이소플라본을 이용한 고부가가치 육제품 생산의 가능성을 제시하였다. 살라미의 저장기간 동안 일반 성분 중 수분함량은 각 군별, 기간별로 유의적으로 감소하였으며( $p < 0.05$ ) 조단백질과 조지방의 함량은 유의적으로 증가하였다( $p < 0.05$ ). pH와 TBA는 살라미 직경에 관계없이 유의적으로 증가하였고( $p < 0.05$ ) 수분활성도는 기간에 따라 유의적으로 감소하였다( $p < 0.05$ ). 일반세균수는 유의적으로 증가하였고( $p < 0.05$ ) 유산균의 경우 두 군 모두에서 기간에 따라 점차 유의적으로 증가하였다( $p < 0.05$ ). 병원성 미생물은 검출되지 않았으며 yeast & mold는 유의적인 변화가 없었다. 이상의 결과를 요약하면 발효기간 중 직경의 크기차에 의한 살라미의 제조는 품질특성에 영향을 미치는 것을 알 수 있고, 4S군이 8S군에 비해 상대적으로 건조기간, 수분활성도, TBA값, pH값에서 유리한 결과를 얻음으로 볼 때 4 cm의 발효소시지가 8 cm의 발효소시지에 비해 상품성이 더 높을 것으로 판단된다.

###### 2. 난소적출 쥐에 있어서 발효 이소플라본의 골다공증 및 비만 예방효과

난소를 적출하여 폐경기 여성 모델을 유도한 흰 쥐에서 발효 이소플라본의 골다공증 및 비만 예방에 미치는 영향을 알아보기 위해 실험을 실시하였다. 8주령의 암컷 SD-Rat을 난소 적출하여 호르몬을 차단함으로써 폐경기 여성 모델을 유도하고 칼슘과 인이 제거된 사료를 급여하면서 검정콩 비지와 발효를 통해 이소플라본을 강화한 발효 검정콩 비지를 사료에 혼합 제조하여 8주간 급여한 후 해부하여 분석하였다. 그 결과 대퇴골 중량에 있어서 검정콩 비지와 발효 검정콩 비지 급여군에서 유의적으로 높게 나타나 골 손실이 억제 된 것을 확인할 수 있었고 골 대사 관련 지표에 대하여 칼슘과 인 함량은 모두 정상 범위에 속해 있었고, ALP 활성은 검정콩 비지 급여군과 발효 검정콩 비지 급여군에서 모두 유의적으로 낮게 나타나 여성 호르몬 결핍에 의한 골 대사 이상에 대해 개선 효과를 보였다. 비만 예방효과에 대한 측정 항목으로써 체지방의 경우는 발효 검정콩 비지에서 대조군에 비해 유의적으로 낮게 나타났다. 혈청 생화학적 분석결과 간 손상지표로서 이용되는 AST와 ALT 활성도가 검정콩 비지와 발효 검정콩 비지 급여군에서 낮게 나타났으며 간의 지질 함량 및 과산화 지질의 측정 결과 발효 검정콩 비지 급여군에서 유의적으로 낮게 나타난 것으로 보아 이소플라본의 급여를 통한 독성이 나타나지 않았을 뿐 아니라 간 보호 효과를 나타냄을 알 수 있었다. 또한 LDL, HDL 콜레스테롤에 대한 발효 검정콩 비지 급여군이 유의적인 개선 효과를 나타내었다. 조직병리학 검사 결과 검정콩 비지 급여군에서 골수 내 백색지방 세포 축적이 억제 된 것을 확인할 수 있었다. 이 내용을 종합해 볼 때 난소적출을 통해 유도된 폐경기 모델 쥐에 대해 발효검정콩 비지의 지질대사 및 골 대사 개선효과를 확인 할 수 있었으며 특히 지질대사에 대해 발효검정콩 비지가 그 효능이 뛰어난 것을 확인할 수 있었다.

### 3. 유황 첨가 급여가 비육후기돈에 미치는 영향 조사

147일령 비육 후기돈을 대상으로 돈체중 110kg 출하 전 4개월간 대조군, 법제유황(99%) 0.1%, 0.3% 급여군으로 하여 총 30두에 대해 사양 시험을 실시한 결과 체중 증가량, 식이효율 등에서 유의적인 차이가 나타나지 않았고, 대조군에 비해 유황 0.3% 급여 비육돈에서 고급 도체 등급율이 높게 나타난 것을 확인할 수 있었다. 또한 대조군에 비해 유황 급여군에서 포화지방산 함량이 감소되고 불포화지방산 함량이 증가함으로써 기능성 유황 돈육의 생산이 가능함을 확인할 수 있었다.

### 4. 법제유황 돈육 후지를 이용한 발효 생햄의 제조

1차년도에서 연구한 유황의 유용성과 이용가능성을 바탕으로 발효 생햄을 제조한 후, 지속적인 품질 측정을 통해 문제점을 수정, 보완하여 고품질의 발효 생햄을 제조하였다. 경기도 파주시 유황돼지 사육 시설을 마련하여 일반군 30두, 유황 0.1% 급여군 30두, 유황 0.3% 급여군 30두, 총 90두를 위생적으로 사육한 뒤 도축하였다. 법제유황을 급여한 고급원료돈육 후지와 히말라야 산 암염을 이용하여 발효 생햄을 1차년도 2010년 11월에 기 제조된 발효 생햄의 건조, 숙성이 진행됨에 따라 지속적인 품질 측정 및 미생물 조성 추적을 실시하였고, 품질 및 제조기술이 향상된 2차년도 제품이 2012년 2월 21일 제조 후부터 역시 지속적인 품질 측정 및 미생물 조성 추적을 실시하였다. 또한 2012년 11월, 3차년도 발효 생햄을 제조하여 현재 9개월째 숙성 중에 있다. 유황급여량에 따른 발효 생햄의 품질을 비교하고, 건조기간에 따른 수분활성도, 지방산패도, 아미노산 변화, pH 변화 및 미생물 수의 변화를 관찰하기 위하여 숙성 진행 중에 있다. 이러한 경험을 바탕으로 유황돈육 생햄 제조 방법에 관한 기술이전 계약을 진행하였으며 이 과정에서 기술이전 비용으로 1,000만원 입금 및 계약 완료하였고, 기술창업실시는 (주)CoreMon 설립 및 건국대 기술지주회사 자회사로 선정 진행 중에 있다.

### 5. 법제유황 돈육 후지를 이용한 검정콩 젓산 발효물 이소플라본 강화 비가열 발효소시지(살라미)의 임상시험 진행

법제유황을 급여한 고급 돈육과 국내 개발 유산균인 *Lactobacillus fermentum* JS (KCCM10499)를 이용하여 비가열소시지(살라미)를 제조 후 3시간 혼연, 72시간 상온 숙성을 거쳐 5°C 냉장 조건에서 발효 숙성 후 완성된 제품에 대해 미생물 추적 관찰을 실시하였으며, 완성된 제품에 대하여 폐경기 여성의 갱년기 장애 예방에 미치는 효과를 알아보기 위해 임상실험을 실시하였다.

### 6. 이소플라본, 법제 유황 및 발효 솔잎 추출물 첨가 살라미의 품질 측정

일반식이 급여 돈육과 0.3% 유황 급여 돈육으로 살라미를 제조하고, 유황돈육을 급여한 돈육에 이소플라본과 발효 솔잎 추출물, 그리고 삼채를 첨가한 살라미를 제조하였다. 1차적으로 일반식이 돈육과 유황돈육, 그리고 유황돈육에 이소플라본을 첨가한 살라미를 제조하였고, 2차적으로 일반식이 돈육과 유황돈육, 그리고 발효 솔잎 추출물과 삼채를 첨가한 살라미를 제조하였다. 건조기간에 따라 1차 살라미에서는 수분활성도와 지방산패도, 지방산, 유산균, pH, VBN, 일반성분 변화를, 2차 살라미에서는 수분활성도와 pH, 미생물 수, 항산화 효능 변화, 관능검사를 실시하였다.

### 7. 기술이전 설명회 및 품평회

2013년 5월 14일, “유황돈육 생햄, 한국형 하몽”에 관한 기술로 기술이전 설명회 및 시식회를 개최하였다.

## 1핵심 2세부 (김천제) 돈피(pork skin) 콜라겐과 식이섬유를 활용한 기능성 식육제품 개발

### 1. 돈피(pork skin) 콜라겐과 식이섬유를 활용한 웰빙형 고기 순대의 개발(1차년도)

돈피(pork skin) 젤라틴의 품질특성 및 돈혈을 포함하는 돈피 젤라틴 혼합물의 가공적성 돈피 젤라틴은 65°C에서 추출한 젤라틴을 돈피 젤라틴 혼합물 제조에 이용하였다. 색도에 있어서 미강 식이섬유를 첨가한 처리구에서 명도는 다소 증가하는 경향을 나타내었다( $p<0.05$ ). 물성에 있어서는 미강 식이섬유를 3% 첨가한 처리구가 경도에서 유의적인 증가를 나타내었다( $p<0.05$ ).

#### • 다양한 천연식초로 팽윤된 돈피를 이용한 고기순대의 개발

팽윤된 돈피를 함유하는 고기순대의 지방함량은 돈피를 첨가하지 않은 대조구에 비교하여 낮은 지방함량과 높은 수분함량을 나타내었다( $p<0.05$ ). 특히 풍미, 연도와 다즙성 항목에서는 현미식초를 이용한 처리구가, 종합적인 기호도에서는 감식초를 이용한 처리구가 높은 값을 나타내었다.

#### • 다양한 식이섬유를 활용한 고기순대의 개발 및 품질 특성 연구

돈피와 다양한 식이섬유를 활용하여 고기순대를 제조하였으며, 식이섬유를 활용할 경우 관능적 특성과 물성이 개선된 저지방 고기순대를 제조할 수 있을 것으로 사료된다.

#### • 연잎과 취잎 분말이 함유된 기능성 고기순대의 냉장저장 중 품질특성 평가

연잎과 취잎을 첨가한 고기순대의 지질산패도(TBA value)는 20일의 저장기간 동안 대조구에 비해 낮은 값을 나타내었으며 염기태 질소 화합물(VBN value)에서는 돈피 첨가구가 대조구보다 낮은 값을 나타내었으며 돈피와 취잎 분말을 첨가한 처리구에서 가장 낮은 값을 나타내었다( $p<0.05$ ).

### 2. 돈피(pork skin) 콜라겐과 식이섬유를 활용한 고품질 건강 기능성 식육제품 개발(2차년도)

#### • 기능성 발효소시지 제조 시 콜라겐의 최적 배합비 및 제조공정 확립

실험결과 돈피와 식이섬유의 혼합물의 15% 첨가가 가공적성 및 품질특성이 우수한 저지방 소시지의 제조에 효과적일 것으로 판단된다.

#### • 돈피 콜라겐과 식이섬유를 활용한 저지방 및 저칼로리 한국형 소시지 개발

돈피 콜라겐 분말과 식이섬유 혼합물을 20% 첨가한 소시지가 물성과 관능적 특성에 영향을 미치지 않으면서 효과적인 지방 감소와 열량 감소 효과를 나타내었다.

#### • 기능성 소시지의 개발과 품질특성 연구 및 저장성 조사

감과피 추출물을 1% 첨가한 처리구가 지방산패를 효과적으로 억제하여 저장성을 향상시키면서 관능적 기호도 또한 영향을 받지 않는 것으로 나타나 항산화 효과가 있는 추출물을 첨가하여 저지방 소시지를 제조할 경우 소시지의 관능적 특성을 유지하는 동시에 저장성을 향상시킬 수 있을 것으로 사료된다.

### 3. 돈피(pork skin) 콜라겐과 식이섬유를 활용한 기능성 발효소시지 개발(3차년도)

- 돈피(pork skin)와 식이섬유 혼합물을 지방대체재로 이용한 유화형 육제품의 제조 및 가공 적성 조사

실험결과 돈피 콜라겐을 활용한 지방대체재를 개발할 때 돈피 콜라겐을 전체 발효소시지 중량대비 3% 미만 첨가하는 것이 효과적일 것으로 판단된다.

- 돈피 콜라겐 분말과 식이섬유를 활용한 저지방 발효소시지의 표준화

저지방 발효소시지의 제조에 돈피 콜라겐, 물 및 식이섬유의 비율은 1:8:1(RF1)이 바람직하다고 판단되었다.

- 돈피 콜라겐 지방대체재의 첨가비율에 따른 저지방 발효소시지의 품질특성 및 저장성 평가  
돈피 콜라겐, 얼음 및 식이섬유로 제조한 지방대체재는 저지방 발효소시지의 지방함량을 감소시키고 저장성 및 관능적 특성을 유지시키는데 바람직하다고 판단된다.

### 1핵심 3세부 (정구용) 기능성 유산균을 이용한 소비자 맞춤형 축산가공품 제조 및 상품화 개발

1. 원료육의 가공적성을 조사한 결과 pH검사 등을 사전실시하지 않을 경우 여름철의 PSE육 발생으로 육제품 생산에 어려움이 예상되며, 도축장별로 원료육의 오염도에 차이가 있어 특히 Pseudomonas균의 피해가 예상되며 발효건조육제품의 경우 사전조사가 필요하며, 이를 토대로 원료육도 선택하고, 기호도에 알맞은 향신료를 배합비율을 조정하여 가공시 다양한 제품생산이 가능해졌다.

2. 또한 숙성, 발효시의 온도와 습도, 유숙을 조절하고 조사하여야 하며 발효소시지의 부패나 불량률을 이를 통하여 감소시킬 수 있으며, 불필요한 곰팡이균의 증식을 감소시킬 수 있다.

3. 지방함량을 저감함으로써 저칼로리 발효소시지를 제조하였으며 낮은 지방함량(5%, 10%) 제품은 기호도와 제품의 품질성이 떨어졌으나 국외 제품인 지방 30%보다는 지방함량을 낮게 제조한 20%제품의 기호도가 높게 나타나 국내산 저지방 제품의 개발이 필요한 것으로 사료된다.

4. 본 연구의 결과 GdL 0.25%군 이 다른 처리구(0%, 0.5%, 0.75%)에 비해 품질평가 결과 우수하였으며, 숙성기간 중 GdL은 숙성초기에 pH를 저하시켜 제품의 수분을 감소시켜 부패미생물의 증식을 억제한 것으로 사료되며, 본 실험을 통하여 육제품의 경우 과다량의 GdL의 사용은 불필요한 것으로 사료된다.

5. 농가 기술이전 추진을 위해 전남 무안군 운남면 연리 대한한돈협회 무안지부(061-452-0393), 기후강원도 평창군 용평면 의품포길(033-334-4450), 강원도 태백시 청죽동(033-554-1371)등을 방문하여 발효육제품 생산 기술 이전을 진행하였다.

## 2핵심 1세부 (김현진) 고도불포화지방산과 콜레스테롤 저하 기능성 성장 첨가제 개발

1. 성장촉진, 불포화지방산 강화 및 콜레스테롤 저하 기능이 부여되는 천연 미생물균주 확보 및 성장/기능성효능 최적화를 위한 배양조건 확립 (1차년도)

축산물에 성장촉진, 불포화지방산 강화 및 콜레스테롤 저하 기능을 부여할 수 있는 장 마이크로비오타를 탐색하였다.

본 연구팀이 기확보한 기반기술인 Target-Oriented Selective Screening 시스템을 통해 콜레스테롤 저하 물질 생성 후보균주들을 확보하고 이들을 바탕으로 효율적 배양에 맞는 배양배지조성과 배양조건을 확립하였다.

또한 불포화지방산 과량 생성 균주인 JBF-06의 배양 조건 중 탄소원, 질소원, C/N ratio, 배양시간 등의 조정으로 biomass 최적조건을 확립하였다.

JBF-06의 배양 조건 중 탄소원, 질소원, C/N ratio, 배양시간 등의 조정으로 불포화지방산의 생성이 최대화되는 최적조건을 확립하였다. 탄소원과 질소원을 각각 10:2, 10:4, 10:8, 20:2, 20:4, 20:8, 40:2, 40:4, 40:8, 80:4로 맞춘 후 상호 비교하기 위해서 각각 배지에 첨가하고 배양한 결과 10:2, 20:4에서 상대적으로 높은 수준의 생산을 보이는 조성을 확보하였다.

2. 성장촉진, 불포화지방산 강화 및 콜레스테롤 저하 기능이 부여되는 천연 미생물균주 개량 및 성장촉진 및 LC/N3 강화 첨가제 생산공정개발/효능평가 (2차년도)

성장촉진, 불포화지방산 강화 및 콜레스테롤 저하 기능이 부여되는 미생물 균주를 개량하여 총 20개의 후보균주를 얻었고, biomass 및 omega3 함량이 모두 우수한 JBF-06-mutant 8을 최종 후보 균주로 선정하였다.

JBF-06-mutant 8의 최적 성장에 필요한 탄소원, 질소원, C/N ratio, nutrient formula, 물리적 배양조건 등 최적 배양조건을 스크리닝 하였고, 그 결과 유기질소원으로 yeast extract와 tryptone이 가장 우수했으며 다음으로 casamino acid, peptone, malt extract이서 우수한 성장을 보여 parental strain과 유사하였고 배양최적 온도는 15℃이고 최적 pH는 7임을 확인하였다. 위 결과를 바탕으로 성장촉진 및 LC/N3 강화미생물 첨가제 생산을 위한 액상 증식 공정 개발을 완료하였다.

성장촉진 및 LC/N3 강화 미생물 첨가제 Production Manual 개발을 완료하였다.

성장촉진 및 LC/N3 강화 첨가제의 동물실험을 통한 효능 평가 실시결과 실험동물에 급여 시 대조군 대비 최대 40% 정도의 높은 성장촉진효과를 확인하였다.

3. 성장촉진 및 LC/N3 강화 첨가제 생산기술 개발 완료 및 사업화 (3차년도)

2차년도에 발굴된 성장촉진 균주 Lactobacillus spp. JBF-401의 성장촉진효과를 강화하기 위하여 추가적인 screening 및 성장촉진 기전 연구를 수행함으로써 성장촉진 및 LC/N3 강화 첨가제의 개발을 완료하고 제품을 출시하였으며 현재 축산농가에서 사용 중 이다.

성장촉진 및 LC/N3 강화 첨가제 관련 기술을 국제 전시회에서 기술발표 및 상담을 통해 상품화 전략 수립하였다.

성장촉진 및 LC/N3 강화 성장첨가제의 제품화에 필요한 기반 기술들이 현재 특허 출원 이후 전세계 등록 절차들을 밟고 있다. 또한 성장촉진 및 LC/N3 강화 첨가제의 개발을 완료하고 셀로만 베이비 제품을 출시하였으며 현재 축산농가에서 사용 중 이다.



## 2핵심 2세부 (백현동) 진세노사이드 Rg<sub>3</sub> 및 유용 인삼 성분 강화 유제품의 개발 및 산업화

진세노사이드의 정성 및 정량 분석은 TLC와 HPLC를 이용하여 수행하였고, 지금까지의 추출법보다 추출 능력이 우수한 Diaion HP-20를 이용하여 식용 가능한 진세노사이드를 추출하였다. Esculin법을 이용하여 전통발효식품에서  $\beta$ -glucosidase를 생산하는 효모 및 유산균 9종, *Bacillus* sp. 45종, 곰팡이 10종을 분리하였고, 식품에서 분리한 균주와 GRAS 보유 균주, 인변에서 분리한 유산균에 대하여 major 진세노사이드 Rb<sub>1</sub>으로부터 Rg<sub>3</sub> 및 유용 인삼 성분 전환능을 확인하였다. 확보된 Rg<sub>3</sub> 전환 균주의 특성을 연구한 결과, 진세노사이드 Rb<sub>1</sub> 전환능이 가장 큰 *Aspergillus usamii* KCTC 6954를 선정하여 미생물 성장 곡선과 미생물 성장시간에 따른  $\beta$ -glucosidase 활성을 측정하였다. 또한 식품 첨가용 당화효소 pectinex, viscozyme, dextrozyme, AMG를 사용하여 진세노사이드 Rb<sub>1</sub>으로부터 Rg<sub>3</sub>로의 전환능을 확인하였다. 당화효소와 반응한 홍삼농축액의 HPLC 분석을 통해 Rg<sub>3</sub> 함량을 높이는 당화효소를 선정하였다.

인변으로부터 분리한 균주 중 우유배지에서 성장 능력이 높은 균주를 선발하였다. 선발된 균주는 API kit와 16S rDNA sequencing을 통한 동정을 통해 선발된 10개의 유산균주를 가지고 우유배지에서의 pH 측정과 내산성 및 내담즙성 실험을 통해 환원 탈지유에서의 성장 능력을 측정하였다. 그 결과, 대체적으로 *Lactobacillus paracasei* strains(CAU 9241, CAU 9253, CAU 9324, CAU 9008)이 낮은 pH 수치를 보였다. Rg<sub>3</sub> 전환능을 확인한 결과, 모든 유산균주의 배양상등액은 진세노사이드 Rg<sub>3</sub>를 전환시키지 않았다. *L. paracasei* 4균주(CAU 9241, CAU 9253, CAU 9324, CAU 9008) 중 CAU 9253이 우유배지에서의 성장 능력이 우수하였으며 yogurt base에서 단독으로 pH를 낮추는 능력이 조금 더 뛰어나고 *L. bulgaricus*와의 synergy 효과를 나타낸 CAU 9021를 선발하였다. *Streptococcus thermophilus* CAU 9021과 *L. bulgaricus* 혼합 균주와 *S. thermophilus* CAU 9021과 *L. paracasei* CAU 9253 혼합 균주의 yogurt base에서의 온도에 따른 pH 측정을 통해 성장 능력을 측정하였다. 선택한 37°C에서의 CAU 9021과 CAU 9253의 혼합 균주의 최적 균주 혼합 농도를 측정하기 위해 yogurt base에서의 혼합 농도 별로 pH를 측정하였다. CAU 9021과 *L. bulgaricus* 혼합 균주와 CAU 9021과 CAU 9253 혼합 균주의 yogurt 저장 중 균수와 pH의 변화를 측정하였다.

박테리오신을 생산하는 *Lactobacillus salivarius* GJ-24균주를 선발하여 우유배지에서의 스타터로서의 이용 가능성을 확인하였다. GJ-24 균주는 MRS배지에서보다 우유배지에서 박테리오신 생성 능력이 높게 나타났으며 GJ-24 균주와 병원성 균주를 혼합 배양할 때, 배양 12시간 만에 *Listeria monocytogenes*균주를 완전히 사멸시키는 능력이 확인되어 발효유제품의 적용 가능성이 아주 높은 것으로 판단된다.

Skim milk에 0.125%~4%의 홍삼농축액을 적용한 뒤 95°C, 15분 간 살균한 후 pH와 산도, 일반세균수, 색도를 측정하였고, 25°C에서 24시간 동안 정치 보관한 후 단백질 응고와 침전물 생성을 확인하였다. 0.25%와 3%에서 응고가 생겨 이 문제를 해결하기 위해 시유에 홍삼농축액을 첨가시킨 후 이화학적 변화를 관찰하였다. Cellulase 12T와 홍삼농축액(4:3) 반응액을 분말화시킨 시료와 홍삼농축액 0.5%~1.5%를 각각 시유에 적용한 후 우유의 이화학적 및 미생물학적 변화를 측정하였다. 시유와 홍삼농축액 0.5% 적용 우유, 홍삼농축액 가수분해물 0.5% 적용 우유를 4°C로 세팅된 incubator에 보관하면서 15일 동안 이화학적 및 미생물학적 변화를 측정하였다. 0.5%~2% 홍삼농축액을 첨가한 우유를 10명의 패널을 통해 관능평가를 실시하였다.

홍삼농축액과 홍삼농축액 가수분해물의 항암 효과는 MTT assay와 동물실험을 통해 검증하였다. 홍삼농축액은 0.25%(2.5 mg/mL)부터 대장암 세포 LoVo와 HT-29에 대한 항암 효과를 보였으며, 홍삼농축액 가수분해물일 경우 LoVo에서는 1%(10 mg/mL), HT-29에서는 0.5%(5 mg/mL) 이하에서 항암 효과를 가졌다. 홍삼농축액과 홍삼농축액 가수분해물 첨가 우유(홍삼농축액 및 홍삼농축액 가수분해물 0.5% 첨가) 함유 식이를 7주 간 공급한 후 각 시료에 대한 마우스 생체 내 항산화 활성 및 항암 효과를 평가하였다. 홍삼농축액 첨가 우유 함유 식이 및 홍삼농축액 가수분해물 우유 함유 식이를 섭취한 군이 AC와 ACF 생성 수치가 대장암 유발군에 비해 유의적으로 감소하였고, 대장 내 백혈구 DNA 손상도가 유의적인 차이를 보이지는 않았으나 감소하는 경향을 보였다.

홍삼 요구르트의 이화학적 특성으로 lactose와 protein, 수분, 회분, 색도, 산도를 측정하였다. pH 4.5인 요구르트를 31일 동안 1일, 3일, 6일, 10일, 15일, 22일, 31일에 sampling하여 pH와 산도, 균수를 측정하였다.

홍삼 요구르트를 동물실험과 임상시험을 위해 유제품을 대량 생산하였고 임상시험 기간 동안 안전과 위생상의 문제 발생을 예방하기 위해 분말화시켜 파우치 형태로 시료를 포장하였다. 임상시험 시료인 플라시보와 홍삼농축액 첨가 요구르트의 색과 향 차이가 나지 않게 하기 위해 카라멜 색소와 니코틴산 아마이드를 첨가하였다. 동물실험은 5주 간, 임상시험은 8주 간 진행하였다. 홍삼농축액 첨가 요구르트의 항산화 효과를 검증하기 위해 DPPH assay와  $\beta$ -carotene bleaching activity를 측정하였다. 홍삼농축액 첨가 유제품(2% 홍삼농축액 첨가 우유와 요구르트) 함유 식이를 5주 간 공급한 후 각 시료에 대한 마우스 생체 내 면역능을 평가하였다. 홍삼농축액 첨가 우유 함유 식이 및 홍삼농축액 첨가 요구르트 함유 식이를 섭취한 군이 pro-inflammatory cytokine의 생성을 억제하고, anti-inflammatory cytokine의 생성을 증가시킴으로써 항염증 작용을 가지고 있다.

## 2핵심 3세부 (김수기) 생물학적 기술을 이용한 맵지 않은 캡사이신 유도체의 개발 및 축산 식품에 대한 적용

### 1. 캡사이신을 분해하는 세균의 분리 및 동정

우리나라 전통 발효 고추절임으로부터 고추의 캡사이신을 효과적으로 분해하여 영양원으로 이용해 성장하는 미생물 균주를 MOPS 최소배지에서 분리하였고, 16S rRNA 유전자 서열 분석을 통하여 *Bacillus licheniformis* SK1230으로 동정하였다 (특허등록: 10-0930291호). 선발된 균주는 바실러스 최소배지에 (z)-capsaicin과 소량의 포도당을 첨가한 배지에서 48시간 동안 배양한 후, 배양 시간별 캡사이신 농도를 HPLC를 이용하여 분석하였다. 이 균주를 이용하면 고춧가루 혹은 캡사이신을 포함하는 배양액에서 캡사이신의 분해 산물 혹은 중간체(intermediates)의 일부들이 생산되고 이것들은 맵지 않으면서도 항비만, 항염증, 항신경통 등 생리활성을 보유하고 있어 기능성 식품 소재로 활용할 수 있다. 따라서 본 연구에서는 생물학적 기술을 이용한 맵지 않은 캡사이신 유도체를 개발하고 축산식품 중 기능성 yoghurt에 적용하고자 다음과 같이 다양한 연구를 수행하였다.

### 2. 동물 실험을 통한 매운맛이 없는 캡사이시노이드의 항비만 활성 특성

Capsaicin을 분해하는 미생물인 *Bacillus licheniformis* SK1230을 균주로 이용하여 고추를 발효

한 발효고추분말이 수컷 ICR mouse의 체지방 축적 억제와 지질대사 개선 효과에 미치는 영향을 알아보았다. 고추의 발효시간이 지남에 따라 capsaicin의 함량이 유의적으로 감소하였다. 7주령의 mouse를 총 네 군으로 나누어 capsaicin의 함량이 100 ppm 미만일 때까지 발효하여 얻은 발효고추분말과 일반고추분말을 고지방식이에 각각 0.014% 첨가하였다. 4주 동안 CON군(일반식이), HFD군(고지방식이 45%), NP군(고지방식이 45%+일반고추), FP군(고지방식이 45%+발효고추)으로 실험을 진행하였다. HFD군은 CON군에 비해 체중과 증체량 및 식이효율이 유의적으로 ( $p<0.05$ ) 높게 나타났다. 따라서 *Bacillus licheniformis* SK1230을 이용하여 발효한 발효고추분말이 체지방 축적을 억제하는 것으로 사료되었다.

### 3. 발효 고춧가루의 제조 및 이를 첨가한 호상 yoghurt 생산

캡사이신 분해 미생물인 *Bacillus licheniformis* SK1230으로 고춧가루를 분해하여 맵지 않는 캡사이신 유도체가 생산된 발효물을 첨가하여 기능성 yoghurt를 제조하고자 하였다. *Bacillus* 최소배지에 고춧가루를 최종 3%로 첨가하여 발효 동안 캡사이신 농도가 감소되는 것을 확인하였다. 요구르트 제조 동안의 pH는 고춧가루 첨가량이 증가할수록 비교적 pH가 증가하는 경향을 보였고, 유산균수는 고춧가루의 첨가 함량과 관계없이 비교적 생존하고 있었다. 발효 고춧가루의 적정산도는 고춧가루 첨가량이 증가 할수록 감소하는 추세를 보였다. 발효 고춧가루를 첨가한 요구르트의 황색도는 첨가량이 많아질수록 증가하는 경향을 보였으며, 점도는 0.05% 첨가량을 제외하고는 첨가량이 많아질수록 감소하는 경향을 나타내었다. 고춧가루 첨가량이 증가할수록 기호도가 낮아지는 것을 확인하였다. 상기 결과를 종합하면 비발효 고춧가루 yoghurt 제조시는 최종 0.025%를 첨가하고, 발효 고춧가루 yoghurt 제조시는 최종 0.05%의 고춧가루를 첨가하는 것이 매운 맛을 느끼지 않는 가운데 기능성을 부여하는 농도로 판단되었다.

### 4. 발효 고추즙의 제조 및 이를 첨가한 호상 yoghurt 생산

본 연구는 capsaicin 유도체의 다양한 생리활성을 기대하는 요구르트를 제조 하고자 고추즙을 *Bacillus licheniformis* SK1230으로 발효하고, 이를 요구르트에 첨가하여 품질특성, 항산화 활성 및 관능평가에 대한 효과를 규명하기 위하여 수행하였다. 고추에 함유되어 있는 capsaicin은 여러 가지 효과를 가지고 있음에도 불구하고 매운맛으로 인해 그 활용이 제한되어 있어, 매운맛을 저감 시키기 위해 capsaicin 분해균으로 알려져 있는 *Bacillus licheniformis* SK1230을 접종하여 19일간 발효시켰다. 5일 동안 발효시킨 고추즙을 수준별(0, 1, 3, 5%)로 첨가하여 일반성분 분석, pH, 적정산도, 점도, 색도, 항산화 활성, 총 폴리페놀 함량 및 관능평가를 실시한 결과, 일반성분 분석에서 본 실험에서 제조된 요구르트가 식품성분표에 제시된 값과 비교하여 수분과 지방은 높게 측정 되었으며, 회분은 낮게 측정되었다. pH범위는 4.48~4.61이었고, 적정산도와 유산균수는 첨가량이 많아질수록 증가하였으나 점도는 감소하였다. 색도에서 첨가수준이 증가함에 따라 L값은 유의적으로 감소하였으며 a, b값은 증가하였다( $p<0.05$ ). 항산화 활성과 총 폴리페놀 함량은 첨가량에 비례하여 증가하는 것을 관찰 할 수 있었다. 관능평가 결과 전반적인 기호도에서 대조구 요구르트와 기호도가 비슷하게 평가된 발효 홍고추즙 3% 첨가 및 발효 청고추즙 1% 첨가 요구르트들에 대해 저장 기간에 따른 품질을 평가하였다. 요구르트에 발효 고추즙의 적정수준 첨가는 식품공전에서 제시한 발효유 성분 규격에 적합하였고, 저장 기간별 품질의 변화가 없는 가운데 일반 요구르트와 비교하여 관능적 특성에서도 문제가 없었다. 따라서 본 연구를 통하여 발효 고추즙을 첨가한 요구르트 제조 공정을 확립하였으며, 처음

으로 기능성 호상 요구르트를 제조하였다.

### 3핵심 1세부 (채수완) 기능성축산식품의 인체적용시험

1년차 연구 결과, 오메가-3 3주 섭취 후 시행한 돼지고기햄 지질부하검사에서 혈중 중성지방 iAUC와 총콜레스테롤이 오메가-3 중용량군과 오메가-3 고용량군 모두에서 오메가-3 섭취 전에 비해 섭취 3주 후 통계적으로 유의하게 증가하였다.

2년차 연구 결과, 갱년기장애 증상 지수(쿠퍼만지수)가 이소플라본강화살라미군과 플라세보군 모두에서 시험용제품 섭취 전에 비해 섭취 4주 후 감소하였으나 두 섭취군 간 통계적으로 유의한 차이는 없었다. 혈중지질, 아포지단백 및 여성호르몬 변화 또한 두 섭취군 간 통계적으로 유의한 차이가 없었다. 혈중 중성지방은 플라세보군에서 감소하여 두 섭취군 간 통계적으로 유의한 차이가 있었다.

3년차 연구 결과, 세포독성(NK cell activity), cytokine 및 일반혈액검사 항목에서 두 섭취군 간 통계적으로 유의한 차이가 없었다. 일반혈액검사 항목 중 RBC, Hemoglobin, Hematocrit은 플라세보군 내에서 섭취 전에 비해 섭취 8주 후 유의하게 감소하였으나 의학적 의미가 없는 변화이며, 두 섭취군 간 통계적으로 유의한 차이가 없었다.

요약하면, 오메가-3 3주 섭취, 이소플라본강화살라미 4주 섭취 및 홍삼요구르트분말 8주 섭취가 혈중지질, 갱년기장애 증상 및 면역관련 지표 등을 개선시키는 효과는 없었으나 체중증가, 혈중 지질 상승 등을 일으키지 않아서 인체에 안전함을 확인하였다.

## V. 연구성과 및 성과활용 계획

### 1핵심 1세부 (이치호) 유황 함유물 기능성 발효축산가공품 개발 및 산업화

현재 유황돈육 및 유황돈육 생햄 제조방법과 관련되어 기 보유한 특허(2012년 등록 2, 2012년 출원 1) 및 논문(2011년 비SCI급 공동저자 1, 2012년 SCI급 주저자 3)을 바탕으로 추가적인 연구를 통해 유청유황돈육 및 생산, 저장 및 유통 과정상의 표준화를 통해 특허 및 우수 SCI 논문을 확보할 계획이며, 유황돈육 및 유황돈육하몽을 생산하는 과정에서 제기된 문제점과 그 과정에서 얻어진 노하우를 바탕으로 기술이전 실시 기업과 연계하여 유황돈육 생산 저비용화 및 한국형 하몽 사업화를 위한 생산, 저장 및 유통상의 표준화 연구를 실시할 예정이다. 또한 관련 기술을 지역자치단체를 통한 기술 지도를 실시할 예정이다.

### 1핵심 2세부 (김천제) 돈피(pork skin) 콜라겐과 식이섬유를 활용한 기능성 식육제품 개발

현재 본 연구를 통해 특허관련 국내 특허 등록 2건 출원 6건의 성과를 달성했으며 논문 관련 국내 SCI급 학술지 게재 6건, 해외 학술지 게재 2건의 연구 성과를 달성하였다.

현재 연구결과를 바탕으로 머리고기 스킨과 발효식초를 함유하는 저지방 고기순대 및 그의 제조방법에 대한 특허(10-1189661)가 등록됨. 이 기술의 경우 기존 고기순대의 문제점인 조직감과 순대특유의 이취에 관한 문제점을 해결하였음. 이로써 기존 고기순대에 거부감을 가지고 있던 소비자들의 고기순대에 관한 소비를 증대시킬 수 있을 것으로 사료된다. 이 기술은 앞으로 기술이전을 통하여 순대제조회사와 연계함으로써 상품화를 추진하고자 한다. 만약 상품화가 이루어 질 경우 소비가 한정되어 있는 돈육 부산물인 머리고기 스킨을 활용함으로써 부산물 활용도 증진에 기여할 것으로 예상된다.

머리고기스킨과 젤라틴과 식이섬유를 함유한 저지방 혈액소시지 및 그의 제조방법에 관한 특허(10-1245187)의 경우 특허 등록이 완료되었으며, 단순히 분식의 일종으로 여겨지고 있는 순대에 관한 인식을 고급화 시킬 수 있는 좋은 방법이라 사료된다. 이 기술의 경우 순대제조업체 뿐만 아니라 기존 육가공업체와의 기술이전을 통해 상품화를 추진하고자 한다.

돈피와 식이섬유를 혼합하여 제조한 지방대체재가 함유된 저지방 소시지 및 그의 제조방법과 천연 식초를 이용해 추출한 돈피 젤라틴 및 식이섬유로 제조한 지방대체재를 이용한 저지방 소시지의 제조 및 그 방법에 관한 특허의 경우 현재 출원이 완료되었다. 이 기술들은 현재 화두가 되고 있는 저지방 육제품의 개발에 큰 도움을 줄 수 있는 기술로 사료된다. 현재 그 소비 방법이 한정되어 있는 돈피를 활용함으로써 부산물의 활용성을 증대시킴과 동시에 콜라겐과 젤라틴에 대한 관심과 선호가 증가된 소비자들에게 가공육제품의 형태로 이를 제공함으로써 가공육제품에 대한 소비를 증가시킬 수 있을 것으로 예상되며 이 두 기술 모두 육가공 업체와의 협력을 통해 상품화를 추진하고자 한다.

### 1핵심 3세부 (정구용) 기능성 유산균을 이용한 소비자 맞춤형 축산가공품 제조 및 상품화 개발

강원농업마이스터대학 한우 가공유통과정 교육생들을 대상으로 한 발효육제품 생산 기술을 교육하여 발효육제품에 대한 제조과정을 설명하고 실습가능하게 하였다.

상지대학교 내에 학교기업 ‘상지종합축산식품’을 창업(총 10억 : 교육부 지원 : 7억5천, 교비 2억5천)하여 학생들로 하여금 전문 기술을 숙달하여 전문인으로 양성하여, 취업을 쉽게 할 수 있도록 기술교육을 시키며, 또한 창의력있는 학생으로 하여금 창업을 유도하여 일자리 창출을

향상시키는데 있다.

태백과 무안 및 평창등의 영농조합법인에 기술이전을 실시 중에 있으며, 특히 제품을 만들기 위한 기자재 구입 등의 문제점으로 시일이 지연되고 있다.

한돈자조금협회와 공조하여 국내 각 시도에서 기업양돈을 추구하는 양돈인에게 고부가가치에 대한 가치를 인식하기위하여 독일(메쯔거라이), 스페인(하몽, 초리조) 등의 산업시찰을 9박10일 동안 22명을 인솔하였다.

## 2핵심 1세부 (김현진) 고도불포화지방산과 콜레스테롤 저하 기능성 성장 첨가제 개발

본 연구를 통해 상품화관련성으로 제품출시(‘젤로만 베이비’) 1건 국내외 전시 참가 6회 구매 공급계약 1건 기술이전 사전계약 1건의 성과를 달성했으며 특허관련으로 국내 특허 등록 3건 국외 특허등록 1건 국제 특허출원 8건의 성과를 달성하였고 논문 관련으로 해외 학술지 게재 4건의 연구 성과를 달성하였다. 그 외에도 임실치즈연구소와 기술사업화업무협력협약 체결, 농가 기술지도, 언론 활동 및 강연등의 성과를 달성하였다.

## 2핵심 2세부 (백현동) 진세노사이드 Rg<sub>3</sub> 및 유용 인삼 성분 강화 유제품의 개발 및 산업화

본 연구에서 개발된 홍삼유제품(요구르트, 우유) 시제품을 좀 더 발전시켜 상품화를 이루어 나갈 수 있다. 또한, *Aspergillus usamii* KCTC 6954 균주의 대량 생산을 위한 실험방법 연구 및 정제 기술을 좀 더 체계화시켜 효소 대량화를 통해 기업에서 저비용으로 다량의 효소를 생산할 수 있다. 아울러 인변으로부터 분리한 10 종의 유산균주에 대한 항산화 및 항암 효과와 같은 기능적인 면과 혼합 균주에 대한 특성 연구는 학술적으로나 경제적으로 검토할 가치가 있으며, 좀 더 지속적인 연구가 필요하다고 생각된다. 유산균주의 특성 연구를 바탕으로 새로운 starter culture를 생산할 수 있으며 유제품 업체에서 새로운 발효유를 개발할 수 있다.

## 2핵심 3세부 (김수기) 생물학적 기술을 이용한 맵지 않은 캡사이신 유도체의 개발 및 축산 식품에 대한 적용

*Bacillus licheniformis* SK1230균주(특허등록: 10-0930291호)를 이용하여 고추의 capsaicin 분해능을 확인하였고 이를 이용하여 기능성 호상 yoghurt를 제조할 수 있었다. 기술이전 설명회에서 모 유업회사는 맵지않는 캡사이신 유도체에 관심을 가지고 활용하는데 상의를 계속하기로 하였으며 향후 기술을 완성하여 다양한 기능성 식품소재로 활용할 수 있도록 하고자 한다. 본 연구로서 다수의 학술발표, 특허출원 2건이 있었으며, 현재 요구르트 제조에 관한 논문을 3편을 작성 중이다.

## 3핵심 1세부 (채수완) 기능성축산식품의 인체적용시험

본 인체적용시험을 통해 개발된 기능성축산식품 섭취에 따른 안전성을 확보할 수 있었다.

# SUMMARY

## (영문요약문)

### I. Title

Industrialization of Techniques for the Development of Functional Animal Products

### II. Background and Purpose

The meat product industry of the twenty-first century is filled in new paradigm, well-being functional meat product, from just production and process. A new functionality of pork products and probiotic conception restricted to milk products has been applied. There is also a development of functional fermentation meat and a higher value added business product to wide range of global consumption market. It also provides a high value animal product development technology industry on the upcoming FTA negotiation using these methods with natural product and food in a stagnant economy in the meat market.

In this study, we have proposed it as a way to create a high value from dry-cured ham in sulfur-fed pigs, made of the hind of pork which is a non-preferred part in Korea, and a product of functional pork-fed sulfur for the development and industrialization of meat product as functional fermentation food. The final target is the development and industrialization of fermented functional meat product which means salami by sulfur fed pork with natural ingredients.

### III. Research and Development Results

#### (1-1) Development and Industrialization of Functional Fermentation Meat Products Containing Sulfur Extracts

1. A comparison of the quality of the salami added with Isoflavone in fermented soybean with Lactic acid according to various diameters.

We suggest that the possibility of a high-value meat product using sulfur-fed pork and Isoflavone following physicochemical and microbiological properties of sulfur-fed pork added with Isoflavone in salami as 4cm and 8cm thickness for ripening. Moisture contents in Proximate analysis significantly ( $p < 0.05$ ) decreased, crude protein and crude fat contents significantly ( $p < 0.05$ ) increased in salami during storage period among each groups. The TBA value and pH significantly ( $p < 0.05$ ) increased in salami, no relative in diameter and Water activity significantly ( $p < 0.05$ ) decreased according to period. Total plate counts significantly ( $p < 0.05$ ) increased and Lactic acid bacteria significantly ( $p < 0.05$ ) increased following storage between 4cm diameter and 8cm diameter salami. Pathogenic bacteria was not detected and yeast and mold has no significant change. The summary of this results have no effect to quality in salami of difference size for fermentation. As 4S group has more high value than 8S in AW, TBA and pH value, 4cm diameter in salami have high value of merchantable quality.

2. Effects of Fermented Black Soybean Pulp on Obesity and Osteoporosis in

## Ovariectomized Rats

We investigated the effects of fermented Okara or soy-pulp in black soybean which remains after purred soybean are filtered on prevention of obesity and osteoporosis in ovariectomized rats. Female SD rats after ovariectomy were induced by block of hormone like a menopausal woman and supply feed excepted Ca and P added soypulp in black soybean and fermented okara in black soybean for 8 weeks and then were dissected. The femur weight was significantly lower in the Con group compared to the other groups ( $p < 0.05$ ), targets relating bone metabolism on Ca and P contents were normal in all groups and ALP activity significantly lows in the BSP and FBSP groups. This result indicates that isoflavones from BSP and FBSP have positive effects on the bone metabolism in ovariectomized rats as an estrogen like substance. It has effect in obesity prevention following the amount of abdominal fat was significantly lower in the FBSP group than in the Con group. Serum AST and ALT activities were used as markers of liver damage. AST and ALT activities in the BSP and FBSP groups were significantly lower than those in the other groups ( $p < 0.05$ ). Lipid levels and lipid peroxidation levels were significantly lower in the FBSP group ( $p < 0.05$ ). There is effect of Isflavone feeding cause no toxicity and prevention of liver. It has a significantly positive effect on a FBSP group about LDL-cholesterol and HDL-cholesterol. The results of histopathology suppress accumulation of white adipose tissues in BSP group. Following this scripts, we check the improvement effectiveness of bone metabolism and lipid metabolism about fermented black soybean in menopausal rat, especially having the characteristic property of FBSP on lipid metabolism.

### 3. Effects of Dietary Supplementation with Sulfur on Fattening Pigs

A total of 30 pigs that weighed 110 kg at shipment were divided into four groups, and they were fed either a control diet or diet supplemented with 0.1% and 0.3% sulfur for four month. Feeding tests including body weight gain, food efficiency ration and etc were not statistically significant between the all experimental groups. However, diet supplemented with 0.3% sulfur group showed higher level of carcass grade compare to the control group. Also, both diet supplemented with 0,1% and 0.3% sulfur groups showed decrease of saturated fatty acids, and increase of unsaturated fatty acids compare to the control group. This result showed possibility of practical use of dietary supplementation with sulfur pig in manufacturing of functional animal food.

### 4. Production of Dry-cured Ham with Sulfur Fed Pig

After manufacture fermented dry-cured ham based on usage of effectiveness and availability of sulfur in the first year, we compensated the defect through the quality control to manufacture high quality fermented dry-cured ham. A total of 90 three-way crossbred pigs from a farm in Paju-city, Gyeonggi-do were used. The pigs were divided into 3 groups and they were fed either a control diet or diet supplemented with 0.1% and 0.3% sulfur before shipment. Dry-cured ham with sulfur fed pig and Himalayan salt was producted in november 2010 and quality measurements and microbiological test was tracking continuously. In February 21, 2012, the second sample that product quality and manufacturing technology has been improved were producted and tracked the same way as the first sample. Also in November 2012, the third sample was produced and have been



aged in 9 months. To compare quality of the sulfur fed pig depend on the ratio of sulfur supplement and to compare water activity, TBA, changes of amino acids, pH changes and number of microorganism depend on drying period. Then, we concluded agreement to transfer of technique of manufacturing method for dry-cured ham with sulfur fed pig based on our experience. The payment for the transfer of technique was 10 million won and we are in motion to select CoreMon Inc. as foundation and Konkuk University as holding company.

#### 5. Technique Transfer Conference

“Production of Dry-cured Ham with Sulfur Fed Pig, Jamon Made by Korean Way” have sample tasting event in May 14, 2013.

### **(1-2) Development of functional meat products using dietary fiber and collagen from pork skin**

1. Development of well-being meat *soondae* using dietary fiber and collagen from pork skin (1st year)

- The quality characteristics of pork skin gelatin and mixture prepared with pork skin gelatin and pork blood

The pork skin gelatin extracted at 65°C which showed the best quality is used to manufacture pork skin gelatin mixture. For color parameters, the mixture containing rice bran fiber showed increased yellowness ( $p<0.05$ ). Mixture treated with 3% rice bran fiber had the most highest hardness among all treatments ( $p<0.05$ ).

- Development of meat *soondae* containing pork skin swelled with various natural vinegars

Meat *soondae* prepared with the swelled pork skin had a higher moisture content and lower fat content than control without pork skin ( $p<0.05$ ). For sensory evaluation, the highest flavor, tenderness, and juiciness scores were obtained from meat *soondae* made with pork skin swelled with RV.

- Development of meat *soondae* containing various dietary fiber and pork skin collagen

Meat *soondae* is prepared with pork skin and various dietary fibers. The dietary fiber improved the sensory and textural properties of meat *soondae*, and is an useful ingredient to develop functional meat *soondae*.

- Evaluation of quality characteristics of functional meat *soondae* containing lotus leaf and goldenrod leaf powder during refrigerated storage

The meat *soondae* treated with lotus leaf or goldenrod leaf powder exhibited the lower 2-thiobarbituric acid (TBA) and volatile basic nitrogen (VBN) values compared to control for 20 days. The meat *soondae* prepared with swelled pork skin and 2% goldenrod leaf powder showed the highest overall acceptability score among all treatments ( $p<0.05$ ).

2. Development of high-quality and functional meat products using dietary fiber and collagen from pork skin (2nd year)

- Evaluation of quality characteristics of emulsion type meat product containing pork skin and dietary fiber as a fat replacer

The addition of 15% pre-emulsion improved processing quality and quality characteristics

of reduced-fat sausages.

- Development of Korean style reduced-fat sausages using pork skin collagen powder and dietary fiber

The addition of 20% pre-emulsion prepared with pork skin collagen powder and dietary fiber provided the decline of fat content and caloric content without adversely effect on sensory properties.

- Evaluation of quality characteristics and shelf stability of functional reduced-fat sausages

Addition of 1% persimmon peel extract improved shelf stability without adversely effect on sensory properties. Therefore, the use of natural antioxidant such as persimmon peel extract could improve shelf stability with maintaining sensory properties.

3. Development of functional fermented sausages using dietary fiber and collagen from pork skin (3rd year)

- Estimation of processing procedure and optimal formulation of functional fermented sausages containing pork skin collagen

The addition below 3% of pork skin collagen based on total weight could be used to manufacture a novel fat replacer.

- Standardization of manufacturing process of fermented sausages prepared with pork skin collagen and dietary fiber

The ratio of 1:8:1 (MCG:ice:pork collagen skin) is optimal formulation for preparing reduced-fat fermented sausages.

- Evaluation of quality characteristics and shelf stability of functional fermented sausages

The fat replacer prepared with MCG, ice and pork skin collagen decreased fat content and maintained sensory properties of fermented sausages.

### **(1-3) The Development of meat processing and products for the consumption by using functional probiotics as starter culture**

1. We found that if the test on the processing of the meat such as pH test is not conducted in advance, the production of the meat products is expected to get difficulty due to the occurrence of PSE meat during summer time. Due to the difference in contamination of meat in the slaughtering houses, the products are expected to get damages from Pseudomonas bacteria. So, the fermented and dried meat products require the preliminary test so that based on the test result, the meat type is chosen and the proper mixture of spices are made considering the consumer's taste, thus making the various products possible.

2. In addition, the temperature and humidity shall be tested in aging and fermentation. As they can be reduced using the decomposition and rate of defects in the fermented sausage, the unnecessary volume of fungi can be reduced.

3. With the lowered fat contents, we produced the low calorie fermented sausage. Though the low fact products (5% or 10%) has low in preference and quality, the 20% product has better preferences than 30% import products. So, the low fact products need to

be developed in Korea.

4. In this study, it was found out that the group treated with GdL 0.25% (0%, 0.5% or 0.75%) were better in quality. During aging, the GdL lowered pH and reduced the water in products, thus preventing the increase of spoilage bacteria. In case of meat product, it is likely that the overuse of GID is not necessary.

5. For the transfer of technology to farms, we have visited Musan branch of Korean Pork Association, located in Yeon-ri, Unnam-myeon, Musan-gun, Jeonnam (061-452-0393), Uipumpo-gil, Yongpyeong-myeon, Pyeongchang-gun, (033-334-4450) and Cheongjuk-dong, Taebaek-si, Gangwon-do (033-554-1371).

## **(2-1) Development of the animal growth supplement for production natural hypocholesterol livestock products enriched poly-unsaturated fatty acid**

### **1. 1st Year**

Searched for the intestine microbiota which could stimulate the animal growth, enhance unsaturated fatty acid, and reduce cholesterol.

Establishment of effective condition to culture the candidates of microbes which had shown to reduce cholesterol based on the Target-Oriented selective Screening system.

Establishment of the most effective biomass by modifying carbon, nitrogen, C/N ratio, and culture time of JBF-06, which produces excessive unsaturated fatty acid.

Found the most effective condition for the maximal production of unsaturated fatty acid of JBF-06 by modifying its carbon, nitrogen, C/N ratio, and culture time.

Discovered the ratio of carbon and nitrogen at 10:2, 20:4, which has produced relatively high amount.

### **2. 2nd Year**

Selected the JBF-06-mutant 8 as the final candidate microbe out of 20 other candidates, which was both excellent in its biomass and the concentration of omega3.

Yeast extract and tryptone were the most excellent sources for organic nitrogen based on the screening of culture condition of JBF-06-mutant 8. Casamino acid, peptone, and malt extract were ideal for the growth of JBF-06-mutant 8, similar to its parental strain and has confirmed the ideal environment to culture JBF-06-mutant 8 at 15°C and pH7

Completed the development of the protocol for the production of animal growth stimulation and LC/N3 enhanced microbes.

Completed the Production Manual of the animal growth stimulation and LC/N3 enhanced microbes

As high as 40% increase in animal growth stimulation has been observed from the animal test.

### **3. 3rd Year**

Subsequent screening and research were conducted to enhance *Lactobacillus* spp. JBF-401, an animal growth stimulating microbes discovered from the 2nd year of this project. Completed the development of animal growth stimulating and enhanced LC/N3 microbe which is currently being used by livestock industry.

Presented and consulted the discovery of technology of the animal growth stimulating and enhanced LC/N3 at international exhibition for the marketing strategy

Applied for the patent of technologies required to produce the microbe and are in process for world wide recognition.

Launched Celloman baby product, which is currently being used at livestock industry

## **(2-2) Development and Industrialization of Functional Milk Products Fortified with Ginsenoside Rg<sub>3</sub> or Ginseng Components**

Ginsenosides can be used as food or medicine through Diaion HP-20 resin extraction and pattern of ginsenoside was various and darkness than butanol extraction.

64  $\beta$ -glucosidase-producing microorganisms were isolated from traditional fermented foods such as *kimchi*, *doenjang*, and salted fish using esculin method and 10 strains were isolated and characterized from human feces. In yogurt base, *S. thermophilus* and mixed strains were low pH value compared to *L. bulgaricus* pH value. When the ratio of CAU 9253 counts was increased, it was low pH value at 37°C but was similar pH value compared to CAU 9021 counts. In case of CAU 9021 mixed with *L. bulgaricus*, *Streptococcus* strain affected viable cells and *L. bulgaricus* affected pH value during storage. In case of mixed strains(CAU 9021 and CAU 9253), total microflora was influenced by *S. thermophilus* CAU 9021 and pH value was remained.

The cytotoxicity of RGE and ERGE was analyzed by the MTT assay. The viability of the normal cell line MRS-5 was affected by RGE( $\geq 5$  mg/mL). The cell viability of HT-29 and LoVo was inhibited by relatively low concentration of RGE( $\leq 2.5$  mg/mL). The cell viability of HT-29 and LoVo was inhibited by relatively high concentration of ERGE(10 mg/mL and  $\geq 2.5$  mg/mL, respectively).

Five-weeks-old male, Sprague-Dawley mice were housed in cages, and divided five group. All mice were sacrificed after seven weeks. Total cholesterol and triglyceride content of DMH + milk diet and DMH + RS milk diet group were increased but HDL-cholesterol and LDL-cholesterol of all groups were remained compared to NC diet group. Oral administration of RS milk and FRS milk diet did not affect the AST, TRAP, catalase, CD level but affect the ALT, GSH-Px, SOD level. The level of producing aberrant crypt was 63.8%, 55%, and 62.4% on milk diet, RS milk diet and FRS milk diet group, respectively. The level of producing aberrant crypt foci was also decreased on milk diet, RS milk diet, and FRS milk diet group. The level retinol into the blood was increased on administration group of RS milk and FRS milk compared to control group. The RS milk and FRS milk did not affect  $\alpha$ -tocopherol and  $\gamma$ -tocopherol level. Physicochemical and microbial property at different concentration of RGE in functional yogurt were measured. The DPPH radical scavenging activity was increased by increasing the concentration of RGE and its ranged from 62.58% to 95.28%. During evaluation the inhibition rates of  $\beta$ -carotene consumption, the antioxidant activity of yogurt added RGE ranged from 23.66% to 35.40%. The concentration of IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$ , and IFN- $\gamma$  was decreased but IL-10 was increased at RGY. The oxygen radical absorbance capacity level in blood was higher level of RGM but DNA damage was low level of RGM and RGY. RGM and RGY inhibited production of pro-inflammatory cytokine and induced anti-inflammatory cytokine.

## **(2-3) Development of Non-spicy Capsaicin Derivatives by Biological Method and Their Application in Animal Products**

### **1. Isolation of capsaicin degrading bacteria and its cleavage**

Capsaicin, a representative spicy compound, is generally accepted as beneficial natural product to prevent geriatric diseases such as obesity, diabetes and arteriosclerosis. However, nevertheless it is good to health, its strong pungent taste and sneeze causing feature limits the use of it or the dose of usage. In this study, we screened the bacteria being able to degrade capsaicin. MOPS medium excluded carbon and nitrogen containing ingredients and included (z)-capsaicin was used as isolation medium, From Korean traditional pickled pepper, capsaicin degrading strain was isolated(Patent 10-0930291).

It was cultivated in the minimal medium with glucose and (z)-capsaicin as carbon sources for 48 hours. Capsaicin degradation was started immediately after the utilization of glucose was ended at 8 hours of incubation. Capsaicin was gradually degraded until 48 hours. We investigated the structure of degraded capsaicin from the culture broth. The cleavages were detected at both side bonds of nitrogen. Finally we identified the strain with 16S rRNA gene sequences as *Bacillus licheniformis* SK1230. In this study, the strain was applied to the various experiments including a preparation of functional yoghurt by using capsaicin derivatives with the biological activities of anti-obesity and anti-inflammation etc. Chemical synthesis was also performed for capsaicin derivatives.

### **2. Effects of Fermented Pepper Powder on the Body Fat Accumulation in High Fat Diet Mouse**

The effects of pepper powder fermented by *Bacillus licheniformis* SK1230 was investigated on the body fat accumulation in high fat diet mouse. Amount of total capsaicin in fermented pepper during fermentation was significantly decreased during fermentation time ( $p < 0.05$ ). Fermented pepper powder which contains 100 ppm under of total capsaicin was added to the high fat diet. 7 weeks aged 28 male ICR mouse were divided into four groups, CON (normal diet), HFD (high fat diet), NP (HFD + chungyang pepper powder) and FP (HFD + fermented pepper powder), and fed for 4 weeks. Then, body weight, organ weight, and serum and liver biochemical indices were measured. Body weight of HFD group was significantly higher than CON groups ( $p < 0.05$ ) and body weight gain of NP group decreased significantly ( $p < 0.05$ ) than HFD group. Epididymal adipose tissue and retroperitoneal fat weights of NP and FP groups showed the lowering tendency when comparing with the HFD group. The result suggested that fermented pepper powder might inhibit accumulation of body fat and improve the lipid metabolism.

### **3. Quality characteristics of yoghurt prepared with fermented-red pepper powder**

This study was conducted to examine the quality characteristics of yoghurt prepared with the fermented red pepper. First, hot pepper was fermented by *Bacillus licheniformis* SK1230 to degrade the pungency of capsaicin. And then we examined the quality characteristics, antioxidant activity and sensory evaluation of the yoghurt containing fermented red pepper. According to the added amount of fermented red pepper, titratable

acidity of yoghurt was increased. Viscosity of the yoghurt prepared with it decreased according to added amounts of red pepper. Total polyphenol content was increased when the added amounts of fermented red pepper increased. Antioxidant activity was significantly increased following to the added amounts of red pepper ( $p < 0.05$ ). At color value, the 'L'-value was decreased, and 'a' and 'b'-value were increased significantly with the added amount of it ( $p < 0.05$ ). In sensory evaluation, the yoghurt prepared with fermented red pepper had lower score by the increased amounts of it. Especially the yoghurt prepared with non-fermented pepper had low scores in sensory test. The yoghurt including fermented red pepper had higher scores in taste, flavor and overall acceptability in concentration of 0.05% than the one of non-fermented pepper.

#### 4. A study on the manufacture of stirred yogurt added with fermented-hot pepper juice

Pungency of hot pepper have limited its usage even though it shows various health beneficial effects. This study was conducted to develop a novel yogurt containing capsaicin derivatives with diminishing pungency by fermentation. First, hot pepper juice was fermented by *Bacillus licheniformis* SK1230 that previously reported to be able to degrade capsaicin and then the fermented pepper juice was added to yogurt. The changes of quality characteristics, antioxidant activity and sensory characteristics in the yogurt containing fermented pepper juice were investigated. Red and green hot pepper juices were fermented and then added into yogurt, respectively and in different ratios (0, 1, 3, 5% v/v), before fermentation. The fermentation process was performed for 5 days. A general ingredient analysis, pH test, titrable acidity test, viscosity test, chromaticity test, antioxidant activity, total polyphenol content and sensory characteristics were investigated. The yogurts showed high moisture and fat contents and low ash content. The pH was varied from 4.48 to 4.61. The titrable acidity and lactobacillus counts were increased according to increased levels of hot pepper juices, but the viscosity was vice versa. On the chromaticity test, as more pepper juice was added, the 'L'-value was decreased, and 'a' and 'b'-value were increased significantly ( $p < 0.05$ ). Antioxidant activity and total polyphenol content were increased according to the increased levels of pepper juice. Fermented red pepper juice was added to yogurt at 3% and fermented green pepper juice was added at 1%. The changes of yogurt were monitored during storage periods of 16 days. As a result, adding proper amounts of fermented pepper juice to yogurt was supposed to be suitable for the component specification in recommended fermented milk. And it showed quality stability and did not represent any problematic changes in the taste compared to normal yogurt. Therefore, it can be concluded that the application of pepper juices fermented by *B. licheniformis* SK1230 during the manufacture of stirred yogurt could give health beneficial feature to fermented milk products.

### **(3-1) Clinical Trial for Functional Fermented stock Farm Health Foods**

In 1<sup>st</sup> study, triglyceride iAUC in 50g lipid tolerance test using pork ham and total cholesterol were significantly increased in both groups after 3-week oral supplementation of high dose and medium dose of  $\omega$ -3 fatty acid.

In 2<sup>nd</sup> study, Modified Kupperman's index was significantly decreased in both groups after 4-week oral supplementation of isoflavone fortified salami and placebo, but there were

no significant differences between two groups. Blood lipid profiles, apolipoprotein, and sex hormone levels were not significantly different between two groups. Fasting triglyceride level was significantly decreased in placebo group and significant differences were found between two groups.

In 3<sup>rd</sup> study, cytotoxicity(NK cell activity), cytokines and WBC were not significantly different between two groups after 8-week oral supplementation of red ginseng-fortified animal products and placebo. RBC, hemoglobin and hematocrit were significantly decreased in placebo group but there were no clinical significances and significant differences between groups.

In conclusion, although our results showed that oral supplementation with  $\omega$ -3 fatty acid-fortified pork ham, isoflavone-fortified salami and red ginseng-fortified fermented milk products were not effective in improvements of blood lipid levels, postmenopausal symptoms, immunity markers and others but we could confirm they were safe in aspects of being free from weight gain, lipid elevation and other adverse events.

#### **IV. The utilization plan of study results**

##### **(1-1) Development and Industrializaion of Functional Fermentation Meat Products Containing Sulfur Extracts**

The future study will be held with patents (two applies for a patent in 2012, a patent application in 2011) and research papers (a co-author of one non-SCI level paper, lead authors of three SCI level papers) related to making process of sulfur fed pig and dry-cured ham with sulfur fed pig. For the future through the standardization of manufacturing process, storage and distribution apply for the additional patent and write more SCI level paper. Also the problems occurred during the process of making dry-cured ham with sulfur fed pig will be improved with enterprisers that connected by technique transfer. Moreover, study about low cost implementation and standardization of manufacturing process, storage and distribution will be continue. Related technique will be also transfer to local guidance.

##### **(1-2) Development of functional meat products using dietary fiber and collagen from pork skin**

These results were applied for patents (2 registration of licenses and 6 patent application), and applied for publication of peer review journals (internal SCI(E) journal, 6 papers and international SCI journal, 2 papers).

The manufacturing method of reduced-fat meat *soondae* containing pork head skin and naturally fermented vinegar was patented. This technology can provide the improvement of textural properties and off-flavor of meat *soondae*, and can result in promotion of consumption of meat *soondae*. To effectively utilize of this technology, the transfer of technology is having a sharing for food industry. Also, commercialization of meat *soondae* based on this technology will promote the consumption of animal by-products.

The manufacturing method of reduced-fat blood sausages containing pork head skin gelatin and dietary fiber was patented. This technology is an useful manner to diversify use of pork blood and to create added value of meat *soondae*.

The manufacturing method of reduced-fat sausages prepared with pork skin and dietary fiber as a fat replacer was applied for patent pending. This technology is an useful manner to develop reduced-fat meat product which has received the most attention from meat industry and consumers.

### **(1-3) The Development of meat processing and products for the consumption by using functional probiotics as starter culture**

We conducted the education to the students studying of processing and logistics of Korean ox meat at Gangwon Agriculture Meister college and explained them on the processing of fermented meat products and helped them to practice the processing.

We helped students to practice the specific technologies at Sangji University so that students can establish their own businesses by making “Sangji Livestock Foods (with supporting fund of 1 billion Won from 0.75 billion Won from Ministry of Education and 0.25 billion Won from the university). Also we have led the creative students to establish business and create job.

We are trying to transfer the technologies to Agricultural Cooperatives located in Taebaek, Musan and Pyeongchang. Due to the some problems in purchasing the equipment, the implementation is being delayed.

In cooperation with Pork Korea Association, we have helped22 pork farmers to visit the industry in Germany (Metzgerei), Spain (Jamon, Chorizo) to help them to see and understand the growth of the industry there.

### **(2-1) Development of the animal growth supplement for production natural hypocholesterol livestock products enriched poly-unsaturated fatty acid**

From this research, one commercial product (Celloman baby) has been launched, participated in exhibitions both domestically and internationally, signed contraction for providing merchant and technology transfer were accomplished. Three patents in Korea, one international patent have been registered and additional eight patents are in pending. Four international journals have been published. Technical commercialization contract has been signed with Imsil research institute of cheese science. Provided technical instruction for farms and gave lectures.

### **(2-2) Development and Industrialization of Functional Milk Products Fortified with Ginsenoside Rg<sub>3</sub> or Ginseng Components**

From the trial product of functional dairy products fortified with ginseng extract, it would be develop for commercialization in near future In addition, after mass production of Rb<sub>1</sub>-converting enzyme derived from *Aspergillus usamii* KCTC 6954 and systematization of purification, the enzyme can be produced at low cost. The new starter culture and fermented dairy product(s) can be produced and developed through the study on functional properties of isolated LAB and their mixed strain.

### **(2-3) Development of Non-spicy Capsaicin Derivatives by Biological Method and Their Application in Animal Products**



Bacillus licheniformis SK1230(Patent: 10-0930291) showed capsaicin degradation and was used for the preparation of functional yoghurt with the anti-obesity activity. In the technical transfer meeting, a milk industry had a concern for capsaicin derivatives. After more detailed verification, the strain and capsaicin derivatives should be useful for the functional food additive. Two patents and poster presentations in academic meeting were performed through the research. Three manuscripts are preparing on yoghurt preparation using Bacillus licheniformis SK1230.

### **(3-1) Clinical Trial for Functional Fermented stock Farm Health Foods**

Through the clinical trials, we confirmed developed functional animal products were safe.

## CONTENTS

Chapter 1. Introduction of This Research .....	33
Section 1. The purpose for research & development .....	33
Section 2. Necessity of research and development .....	33
Chapter 2. The Present States of Technology and Development at Home and Abroad.....	35
Chapter 3. The Results of Research.....	46
Section 1. Development and Industrialization of Functional Fermentation Meat Products Containing Sulfur Extracts.....	46
1. The changes in various quality characteristics of isoflavone added sulfur meat salami in different caliber and storage period during fermentation .....	46
2. The effects of fermented isoflavone on lipid and bone metabolism in ovariectomized rats .....	49
3. The study of sulfur fed diet on the growth performance and carcass characteristics of pig.....	51
4. The production of dry-cured ham with sulfur-fed pigs.....	55
5. Quality measurement of fermented sausage(salami) added isoflavone, <i>Allium hookeri</i> , and fermented pine needle and using sulfur fed pork .....	62
6. The briefing session of technology transfer and tasting.....	66
Section 2. Development of functional meat products using dietary fiber and collagen from pork skin.....	67
1. Development of well-being meat <i>soondae</i> using dietary fiber and collagen from pork skin .....	67
2. Development of high-quality and functional meat products using dietary fiber and collagen from pork skin.....	105
3. Development of functional fermented sausages using dietary fiber and collagen from pork skin .....	129

<b>Section 3.</b>	<b>The Development of meat processing and products for the consumption by using functional probiotics as starter culture</b> .....	159
1.	Manufacturing and commercialization of processed livestock products specific to the consumer's preferences using the functional lactic acid bacteria .....	159
2.	Mixture of raw meats and production process for fermented and dried sausage .....	167
3.	Study on the conditions of aging and dryness in manufacturing of fermented and dried meat products .....	172
4.	Quality characteristics and preservation in fermented and dried sausages .....	177
5.	Research on preference and quality testing for university students and general adults .....	183
6.	Production of products for small sized manufacturing businesses and transfer of technology to farms .....	183
<b>Section 4.</b>	<b>Processing of the Useful Functional Materials from Food Byproducts and its Application to Foods</b> .....	184
<b>Section 5.</b>	<b>Development of the Animal Growth Supplement for Production Natural Hypocholesterol Livestock Products Enriched Poly-Unsaturated Fatty Acid</b> .....	190
1.	Establishment of ideal environment for the collection of the natural microbe and its culture.....	190
2.	Product development and evaluation of effectiveness of LC/N3 enhanced microbe (2nd year).....	201
3.	Development of production technology and commercialization of the growth stimulation and LC/N3 enhanced microbe (3rd year).....	215
<b>Section 6.</b>	<b>Development and Industrialization of Functional Milk Products Fortified</b> .....	228
1.	The establishment of qualitative analysis and quantitative analysis of ginsenoside and extraction of saponin in ginseng.....	228
2.	The method of bioconversion from major ginsenoside to ginsenoside Rg <sub>3</sub> .....	229
3.	The study of functional lactic acid bacteria.....	236
4.	The production of milk fortified with ginsenoside Rg <sub>3</sub> and/or ginseng.....	241

5.	The study of lactic acid bacteria properties into milk medium.....	248
6.	The experiment of incubation of yogurt using mixed strain.....	252
7.	<i>In vitro</i> and <i>in vivo</i> anticancer effect of milk fortified with red ginseng extract and enzyme-treated red ginseng extract.....	258
8.	The study of properties of yogurt fortified with red ginseng extract..	269
9.	<i>In vitro</i> and <i>in vivo</i> immunopotential effect of yogurt fortified with red ginseng extract.....	273
10.	Antimicrobial effect of <i>Lactobacillus salivarius</i> GJ-24.....	281
<b>Section 7.</b>	<b>Development of Non-spicy Capsaicin Derivatives by Biological Method and Their Application in Animal Products .....</b>	<b>285</b>
1.	Identification of capsaicin degrading bacteria.....	285
2.	Characterization of capsaicin degradation and chemical synthesis.....	297
3.	Effects of Fermented Pepper Powder on the Body Fat Accumulation in High Fat Diet Mouse.....	301
4.	Quality characteristics of yoghurt prepared with fermented-red pepper powder .....	309
5.	A study on the manufacture of stirred yogurt added with fermented-hot pepper juice.....	319
<b>Section 8.</b>	<b>Clinical Trial for Functional Fermented stock Farm Health Foods ....</b>	<b>345</b>
1.	Clinical trial for investigation on blood triglyceride lowering effects of n-3 fortified functional livestock products.....	345
2.	Clinical trial for investigation on blood lipid lowering effects of isoflavone fortified functional livestock products.....	353
3.	Clinical trial for investigation on immunity control effects of red ginseng fortified functional livestock products.....	360
<b>Chapter 4.</b>	<b>Goal Achievements and Contribution to the Related Fields.....</b>	<b>365</b>
<b>Section 1.</b>	<b>Purpose of research &amp; development.....</b>	<b>365</b>
1.	Annual goals of Part I.....	365
2.	Annual goals of Part II.....	366
3.	Annual goals of Part III.....	367
<b>Section 2.</b>	<b>Achievement of research &amp; development.....</b>	<b>368</b>
1.	1st year.....	368
2.	2nd year.....	371

3.	3rd year.....	374
<b>Chapter 5. Results of Research &amp; Development and Application Plan.....</b>		<b>377</b>
<b>Section 1. Results of Research.....</b>		<b>377</b>
1.	Commercialization and industrilization.....	377
2.	Published research paper .....	381
3.	Patent.....	392
4.	Result of industrial manpower education.....	395
5.	Others.....	396
<b>Section 2. Development and Application Plan.....</b>		<b>399</b>
<b>Chapter 6. Collection of Technology Information.....</b>		<b>406</b>
<b>Chapter 7. The Present Condition of Experimental Installation and Equipment.....</b>		<b>418</b>
<b>Chapter 8. References.....</b>		<b>419</b>

# 목 차

<b>제 1 장</b>	<b>연구개발과제의 개요</b> .....	<b>33</b>
제 1 절	연구개발의 목적 .....	33
제 2 절	연구개발의 필요성 .....	33
<b>제 2 장</b>	<b>국내외 기술개발 현황</b> .....	<b>35</b>
<b>제 3 장</b>	<b>연구개발수행 내용 및 결과</b> .....	<b>46</b>
제 1 절	유황 함유물 기능성 발효축산가공품 개발 및 산업화 .....	46
1.	직경에 따른 젓산 발효 이소플라본 첨가 살라미의 품질 비교 .....	46
2.	난소적출 쥐에 있어서 발효 이소플라본의 골다공증 및 비만 예방효과 .....	49
3.	유황 첨가 급여가 비육후기돈에 미치는 영향 조사 .....	51
4.	법제유황 돈육 후지를 이용한 발효 생햄의 제조 .....	55
5.	유황돈육을 이용한 이소플라본, 삼채 및 발효 술잎 추출물 첨가 살라미의 품질 측정 .....	62
6.	기술이전 설명회 및 품평회 .....	66
제 2 절	돈피(pork skin) 콜라겐과 식이섬유를 활용한 기능성 식육제품 개발 .....	67
1.	돈피(pork skin) 콜라겐과 식이섬유를 활용한 웰빙형 고기 순대의 개발 .....	67
2.	돈피(pork skin) 콜라겐과 식이섬유를 이용한 기능성 저지방 소시지 개발 ...	105
3.	돈피(pork skin) 콜라겐 및 식이섬유를 이용한 기능성 저지방 발효소시지의 개발 .....	129
제 3 절	기능성 유산균을 이용한 소비자 맞춤형 축산가공품 제조 및 상품화 개발 ·	159
1.	기능성 유산균을 이용한 소비자 맞춤형 축산가공품 제조 및 상품화 개발 ...	159
2.	발효건조 소시지의 원료육 배합 및 제조시 공정확립에 관한 조사 .....	167
3.	발효건조육제품 제조시 숙성 및 건조에 따른 조건 연구 .....	172
4.	발효건조 소시지의 품질특성 및 저장성 조사 .....	177
5.	대학생 및 일반인을 대상으로 기호도 조사 및 품평회 실시 .....	183
6.	가내수공업형 제품개발 및 농가이전 .....	183
제 4 절	식품 부산물의 유용 기능성 부재료화 및 식품 응용 .....	184

<b>제 5 절</b>	<b>고도불포화지방산과 콜레스테롤 저하 기능성 성장 첨가제 개발</b> .....	<b>190</b>
1.	성장촉진, 불포화지방산 강화 및 콜레스테롤 저하 기능이 부여되는 천연 미생물 균주 확보 및 성장/ 기능성효능 최적화를 위한 배양조건 확립 .....	190
2.	성장촉진, 불포화지방산 강화 및 콜레스테롤 저하 기능이 부여되는 천연 미생물 균주 개량 및 성장촉진 및 LC/N3 강화 첨가제 생산공정개발/효능평가 .....	201
3.	성장촉진 및 LC/N3 강화 첨가제 생산기술 개발 완료 및 사업화.....	215
<b>제 6 절</b>	<b>진세노사이드 Rg<sub>3</sub> 및 유용 인삼 성분 강화 유제품의 개발 및 산업화</b> .....	<b>228</b>
1.	진세노사이드 정성 및 정량분석 방법 확립 및 식품 첨가용 인삼 사포닌 추출.....	228
2.	Major 진세노사이드로부터 Rg <sub>3</sub> 전환 연구방법.....	229
3.	기능성 유산균주 연구.....	236
4.	시유에 대한 Rg <sub>3</sub> 및 유용 인삼 성분 적용.....	241
5.	우유배지 성장 특성이 우수한 균주.....	248
6.	혼합 균주를 이용한 yogurt 배양 실험.....	252
7.	<i>In vitro</i> 및 <i>in vivo</i> 상의 홍삼 우유 향암 효과 검증.....	258
8.	홍삼 요구르트의 특성 연구.....	269
9.	<i>In vitro</i> 및 <i>in vivo</i> 상의 홍삼 요구르트 면역증강 효과 검증.....	273
10.	<i>Lactobacillus salivarius</i> GJ-24의 항균 효과 검증.....	281
<b>제 7 절</b>	<b>생물학적 기술을 이용한 맵지 않은 캡사이신 유도체의 개발 및 축산 식품에 대한 적용</b> .....	<b>285</b>
1.	캡사이신을 분해하는 세균의 분리 및 동정 .....	285
2.	분해된 캡사이신의 분획, 분리 및 구명.....	297
3.	동물 실험을 통한 매운맛이 없는 캡사이시노이드의 항비만 활성 특성 .....	301
4.	발효 고춧가루의 제조 및 이를 첨가한 yoghurt 생산.....	309
5.	발효 고추즙의 제조 및 이를 첨가한 yoghurt 생산.....	319
<b>제 8 절</b>	<b>기능성축산식품의 인체적용시험</b> .....	<b>345</b>
1.	불포화지방산(n-3)이 강화된 기능성축산식품 섭취 시 혈중 중성지방의 변화 양상을 평가하는 인체적용시험.....	345
2.	이소플라본이 강화된 기능성축산식품 섭취 시 혈중 지질의 변화양상을 평가 하는 인체적용시험.....	353
3.	홍삼이 강화된 기능성축산식품 섭취 시 면역 관련 지표의 변화양상을 평가	

하는 인체적용시험.....	360
<b>제 4 장</b> <b>목표달성도 및 관련분야에의 기여도</b> .....	<b>365</b>
<b>제 1 절</b> <b>연구 목표</b> .....	<b>365</b>
1.    1핵심과제 연차별 목표.....	365
2.    2핵심과제 연차별 목표.....	366
3.    3핵심과제 연차별 목표.....	367
<b>제 2 절</b> <b>연구목표 달성도</b> .....	<b>368</b>
1.    1차년도 연구목표 달성도.....	368
2.    2차년도 연구목표 달성도.....	371
3.    3차년도 연구목표 달성도.....	374
<b>제 5 장</b> <b>연구개발 성과 및 성과활용 계획</b> .....	<b>377</b>
<b>제 1 절</b> <b>연구개발 성과</b> .....	<b>377</b>
1.    상품화 및 사업화 .....	377
2.    논문게재 성과.....	381
3.    특허성과.....	392
4.    산업인력양성성과.....	395
5.    기타(세부과제별 성과).....	396
<b>제 2 절</b> <b>성과활용 계획</b> .....	<b>399</b>
<b>제 6 장</b> <b>연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보</b> .....	<b>406</b>
<b>제 1 절</b> <b>세부과제별 수집한 해외과학 기술정보</b> .....	<b>406</b>
<b>제 7 장</b> <b>연구시설 장비 현황</b> .....	<b>418</b>
<b>제 8 장</b> <b>참고문헌</b> .....	<b>419</b>
<b>제 1 절</b> <b>세부과제별 참고문헌</b> .....	<b>419</b>



# 제 1 장 연구개발과제의 개요

## 제 1 절 연구개발의 목적

21세기의 축산식품산업은 과거 축산식품의 단순생산 및 가공에서 웰빙 기능성 축산식품산업화라는 새로운 패러다임을 요구하고 있다. 따라서 본 사업단은 축산식품 중 유제품에 국한되었던 probiotics 개념을 확장시켜 이를 유제품에 적용하여 기능성 발효유제품 개발을 통해 고부가가치 축산식품을 생산하고 다양한 기능성 소재를 우유에 첨가하여 국내외 소비시장을 확대하고자 한다. 한편 침체된 식육가공시장에 상기의 소재를 접목시켜 기능성을 부여함과 동시에 천연물 및 식품소재를 활용한 고기능성 축산식품 개발 기술 산업화로 FTA를 대비하기 위한 국제 경쟁력 제고를 목표로 한다.

또한 식품 산업 중 웰빙 열풍으로 인해 기능성 식품 개발 욕구가 가장 큰 축산식품산업의 국제 경쟁력을 갖추는데 필요한 다양한 기술 분야 중 다음과 같은 핵심분야를 중점적으로 산업화 한다.

1. 식품 자원 유래 기능성 (비만방지 및 저콜레스테롤 등) 소재 정제 대량 생산 기술
2. 신규 probiotics 미생물 제제 생산 기술
3. 기능성 발효축산식품 임상평가
4. 기능성 원료육을 바탕으로 한 복합소재 발효 유제품 및 유제품 생산, 고도 가공 기술 등 과급효과가 가장 크고 핵심적인 기능성 복합소재 발효 축산식품 개발 기술을 산업화하는 것을 목표로 함

## 제 2 절 연구개발의 필요성

“음식으로 질병을 다스린다.”는 개념이 현실화되면서 기능성 식품산업은 세계적으로 급부상하고 있으며 축산식품분야도 예외일 수 없다.

발효식품의 유용성은 인류의 역사와 함께 우유를 장기간 저장할 수 있다는 것이 이미 6000년 전에 잘 알려져 왔으며 우리나라의 경우 김치, 된장 및 젓갈 등의 형태로 오래전부터 식생활에 이용해 오고 있다.

국내 원유의 소비량은 2003년 기준 약 320만 톤이며, 그 중 약 25%가 발효유로 소비되며, DHA, CLA 및 저콜레스테롤 등이 강화된 기능성 유제품이 고가임에도 더 선호되는 경향이 있으며, 치즈산업도 최근 10년간 발전하고 있으나 우리 입맛에 알맞은 제품을 개발하는 것은 물론 향후 유제품의 경우에도 예외일 수 없다.

축산물가공기준 및 성분 규격에는 발효유란 무지유고형분이 3.0%미만으로 유산균수는 1 mL 당 100만 CFU 이상으로 되어 있으며 국내 축산식품 중에 낙농부문에서 발효유의 생산과 판매 변화를 보면 1969년 (주)한국야쿠르트의 최초 65 mL 액상발효유에서 1990년 호상발효유, 현재 드링크형 발효유는 1990년도 35만 톤에서 지속적으로 증가, 2000년에는 약 60만 톤에 달한다.

2000년도에는 위의 질병에 효과가 있는 고기능성 드링크형 발효유 개발로 발효유시장을 활성화 시킨 예가 있다. {(주)한국야쿠르트 “월”}. 또한 “월”의 판매고 신장의 원인은 대표적인 기능성 복합발효유라는 점, 즉 *Pylori*균 격퇴 요구르트인 점으로 발효유 자체가 갖는 위 질병에 효과가 있는 기능성 외에 기능성 생약소재를 첨가한 기능성 강화 복합소재를 이용한 고기능성

발효유라는 점이다.

2001년 이후 (주)한국야쿠르트, (주)남양유업의 위력, (주)매일유업의 Gut 판매로 기능성 발효유 시장의 경쟁이 본격화되고 현재는 포화상태로 차세대 신제품을 기대하고 있는 실정이며 새로운 균종 및 기능성 소재를 이용한 신개념 복합 기능성 발효유의 제품 개발이 시급한 상황이다.

국내 전체 치즈 소비량은 1999년 3만 4천 톤에서 계속 증가하고 있으며, 피자체인점의 증가와 더불어 피자치즈의 원료인 자연치즈가 2만 톤 정도로 소비된다.

그러나 전통적인 제조방법은 오염의 위험과 균일제품 생산이 어려울 뿐만 아니라 새로운 균종 개발이 필요하다.

그러므로 새로운 균종 및 기능성 소재를 이용한 신개념 복합 기능성 발효유의 제품 개발이 시급한 상황이다.

국내 육류 소비량은 2005년 기준으로 약 150만 톤이며, 그 중 육가공품은 약 10만 톤 정도를 소비하고 있으나 발효 육제품 생산은 거의 미비하며 현재 국내의 대부분의 가열육가공품 (일반 햄, 소시지 등)에서 비가열 육가공품 (생햄 및 발효소시지) 생산으로의 전환기에 있다.

국내 돈육 산업변화는 1980년대 냉동육 시대, 1990년대 DHA 등 중심 기능성 돈육, 2000년대 녹돈 등 기능성 돈육 생산, 무항생제 및 이력관리제 실시의 과정에 돌입해 있으나 2008년 이후는 웰빙 열풍 속에 축산식품 기피현상으로 축산식품산업에 침체기가 도래하여 그에 대한 대책 마련이 시급하다.

유럽의 경우 무항생제 친환경 양돈 사육을 시작으로 원료육을 청결하게 유지하는 것은 물론 유산균의 장점 (설사방지 등)까지 살려 기능성과 보존성을 부여할 뿐만 아니라 풍미까지 훌륭한 고부가가치의 육제품을 생산하는 반면 우리나라는 발효육제품이라고는 하지만 거의 건조육 수준에 머무르는 등 기능성이 결여되고 육질이 질겨 풍미도 떨어지고 생햄의 제조 또한 초기 수준에 있다.

고기능성축산식품 기술 개발을 위한 기능성소재를 발효기법을 통한 정제 및 대량생산 기술 개발, 발효축산식품에 기능성을 강화시켜 비만방지 및 고콜레스테롤혈증 방지 효과를 갖는 소재를 개발해 신개념 고기능성 발효 축산식품 개발을 목표로 한다. 따라서 국내 축산식품산업의 활로 모색과 가공 기술의 고도화를 통한 고부가가치 축산식품 개발 기술 산업화는 향후 거세지는 세계적 경향인 FTA 파고를 극복할 수 있는 방안으로써 본 사업단의 기술 개발은 매우 중요하다.

본 사업단의 연구에 의한 기능성발효축산제품의 개발은 아시아권에서 원재료가 일본보다 상대적으로 저렴한 한국이 주도권을 잡고 발효축산식품 시장에 도약하여 활성화해 고부가가치 기능성 축산식품을 역수출함으로써 국제 경쟁력을 제고하고자 한다.

## 제 2 장 국내외 기술개발 현황

### 1. 1핵심 1세부

세계 육류 시장의 연간 생산 규모는 2003년 기준 1억9300만 톤 규모이며, 육제품의 시장규모는 1000만 톤으로 축종별로는 돈육이 46.0%, 계육 28.0%, 우육 25.9%를 차지하고 있다.

세계 육류 소비량은 미국이 115kg으로 1위이며 EU, 중국, 일본, 한국 순으로 그 뒤를 잇고 있다.

미국의 1인당 돼지고기 소비량은 28.9 kg으로 생육보다 가공육의 소비가 높으며 특히 전지, 후지 등 저지방 부위를 원료로 한 생햄의 소비가 높다.

독일을 중심으로 EU의 육류소비량은 1인당 약 120 kg이며 그 중 돈육의 소비량은 1인당 17.9 kg에 이른다. EU 역시 생산 이력제 및 안전성을 극대화 시키고 동시에 약 75만 톤의 발효 육제품을 생산해 육제품 본래의 맛은 물론 건강지향적인 제품을 생산해 웰빙 열풍에 발맞추어 소비자의 기호를 맞추고 있다.

일본 농림부에 따르면 일본의 1인당 육류 소비량은 43.5 kg이며, 그 중 돈육의 소비량은 1인당 약 18 kg이다. 소비자들의 소비 성향은 안전성 및 가격보다는 고기능성을 겸비한 제품을 선호하는 경향으로 나타난다. 그 예로 1990년도부터 일본형 생햄의 수요가 늘어 삼겹살보다 후지의 시중 가격이 2배 정도 비싸게 유통되고 있으며 전체 육가공 식품 중 3%를 차지하는 등 향후 성장세를 기대하고 있다.

2006년 중국국가통계국에 따르면 중국의 1인당 육류 소비량은 연간 약 20 kg이며, 그 중 돈육의 소비량은 약 12 kg에 달한다. 중국의 경우 발효 육제품의 생산 비율은 극히 미미하다. 우리나라의 경우 1인당 연 33.4 kg의 식육을 소비하며 그 중 돈육은 17.4 kg을 차지한다. 소비형태는 주로 삼겹살을 중심으로 한 구이용이 많이 판매되고 있으며, 기능성 육제품으로 주로 지방대체를 위한 연구가 주를 이루고 있으며 육제품 생산 단계에서의 기능성을 부여한 식육을 생산하고 있다. 하지만 기능성 축산물을 생산하더라도 여전히 비선호부위 (전지, 후지 등)에 대한 대책이 미비하다.

특히 FTA체결 이후 저가의 육제품이 들어오고 있어 국내 육가공 업계의 유지를 위해서는 이에 대처할 방안이 시급한 실정이다.

최고 식육가공 제품은 제품의 부정적 시각 즉, 고콜레스테롤혈증, 비만 등의 문제와 아질산 등의 사회문제로 성인들의 소비선호도가 낮고 성장기 청소년의 소비조차 부모들이 섭취를 억제시키는 경향이 있다.

현재까지의 기존 식육가공 제품은 제조공정상 가열 및 훈연을 주로 하는 제품으로 간편성, 기호성 등에서는 소비자들의 호응을 얻었으나 미래지향적 상품성 즉, 건강기능성 등을 고려한 웰빙 형태의 제품개발에 미흡하여 소비자가 그동안의 제품에 식상하여 구매의욕이 과거에 비해 현저히 저하된 상태이다.

이를 해결하기 위해서는 국가경쟁력이 있는 고부가가치 고기능성 발효 유육제품의 개발과 더불어 산업화가 체계적으로 이루어 질 수 있는 연구가 필수적 요소라고 사료된다.

EU에서는 프로슈토나 하몽, 살라미 등의 발효 육제품이 수세기 동안 이용되어 왔으며 이를 바탕으로 한국인 입맛에 맞는 퓨전 발효 육제품에 기능성 소재를 더한 복합기능성 발효 육제

품 및 발효 유제품의 생산은 국내 육가공, 유가공 업체의 프리미엄 시장개척을 가속화 할 수 있을 것으로 예상된다.

미국, 칠레, 유럽 등과의 FTA체결로 돈육을 비롯한 우유에 대한 수입이 대폭 늘게 되었고, 아울러 축산제품 또한 유럽형 고급제품들의 수입이 늘었으며, 본 사업단에서 목표로 하고 있는 고급 원료육 및 고급 발효 육제품의 산업화야 말로 수입 축산물 및 고급 축산물에 대비한 향후 대책으로 본 기능성 축산식품 사업단의 역할이 중요하게 된 계기가 되었다고 사료되어진다. 따라서 본 기능성 축산식품 사업단은 이와 같이 국내외적으로 어려움을 겪고 있는 축산물 시장에서 고급 유향 돈육 원료육을 생산하고 발효 축산식품 제조에 기능성을 부가하여 그야말로 고기능성 축산식품개발 기술 산업화를 통해 향후 FTA에 대비하고 국제경쟁력을 제고할 수 있을 것으로 판단된다.

## 2. 1핵심 2세부

최근 경제소득 수준의 향상에 따른 식생활의 서구화로 인하여 육류 및 식육가공품이 섭취가 지속적으로 증가하는 실정이다. 과거 식육은 양질의 단백질, 지방 및 미네랄 공급원으로 그 섭취가 필연적이었으나, 최근 동물성 지방이 다량 함유된 식육제품의 과도한 섭취가 각종 성인병과 비만의 원인으로 인식됨에 따라 상당수의 소비들이 섭취를 꺼리는 실정이다. 그러나 인간의 풍요로운 삶을 영위하기 위하여 육류 및 식육가공품 섭취를 통한 영양적 균형이 이루어져야 하며, 또한 일부 과도한 지방을 함유하는 식육가공품에서 지방함량을 감소시키기 위한 노력이 이루어져야 한다. 이러한 시대적 요구를 반영하듯 육가공 관련 산업체와 학계를 막론하고 저지방 기능성 식육가공품의 개발이 화두로 떠오르고 있다.

현재 세계적으로 의료기술의 발달로 인한 평균 수명의 증가로 노인인구의 증가가 급속하게 이루어지고 있으며, 이러한 추세는 한국에서도 나타나고 있으며, 2005년에 보건복지부가 작성한 자료에서는 2019년에는 65세 이상의 인구가 15%에 이르고, 2050년에는 65세 이상의 노인인구가 38.2%를 차지하는 초고령 사회로 진입할 것으로 예측되고 있다(2006년, 통계청). 이러한 추세는 식생활의 서구화 및 운동 부족과 맞물리면서 비만과 각종 성인병의 증가를 가속시키고 있다. 식생활의 서구화에서 문제로 지적되고 있는 식품은 인스턴트 식품과 동물성 식품으로 성인뿐만이 아닌 아동의 경우에게도 악영향을 미쳐 비만, 고혈압 등과 같은 소아 성인병을 일으킨다고 여겨지고 있다. 이러한 부정적인 인식 때문에 1980년대 냉동육 시대, 1990년대 DHA 등 기능성 중심 돈육, 2000년대 녹돈 등 기능성 돈육 생산, 무항생제 및 이력관리제의 실시 등을 거치며 성장을 지속해온 국내돈육산업은 2008년 이후 다른 축산식품산업과 더불어 침체기로 접어들고 있다. 이러한 축산식품산업의 침체는 특히 그 소비기반이 취약한(전체 육류 소비량의 10% 미만) 육가공품업체에게 큰 위협이 되고 있다. 최근 육가공제품에 대한 소비자의 인식은 부정적인 경우가 대부분이며, 이는 첨가제와 과도한 지방함량에 대한 불안 때문이다. 이런 불안감을 해소하고 정제된 육류와 가공육제품의 소비를 활성화하기 위해서는 지방 함량을 줄이고 기능성을 부여한 저지방 기능성 육제품의 개발이 필요하다.

현재 유럽의 경우 무항생제 친환경 양돈 사육을 시작으로 원료육을 청결하게 유지하는 것은

물론 발효제품의 특성까지 살려 기능성과 보존성을 부여할 뿐만 아니라 풍미까지 우수한 고부가가치의 육제품을 생산하고 있다. 반면 우리나라는 발효육제품이라고는 하지만 거의 건조육 수준에 머무르는 등 기능성이 결여되고 육질이 질겨 풍미도 떨어지는 문제점을 가지고 있다. 또한 지방 함량이 3% 미만으로 만들어진 육제품이 시중에 널리 팔리고 있는 유럽의 상황과는 달리 우리나라의 저지방 육제품 개발은 미비한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 돼지의 부산물 이자 콜라겐을 풍부하게 포함하고 있는 돈피를 활용하여 고단백, 저지방 육제품 제조에 알맞은 새로운 지방대체재의 제조법을 개발하여, 우리나라의 전통 육제품과 소시지 등에 적용하고, 또한 많은 지방함량으로 인해 그 우수성에도 불구하고 한국에서 널리 대중화되지 못한 발효육 제품의 개선을 도모할 필요가 있다.

### 3. 1핵심 3세부

국의 축산물 시장은 극단적으로 양극화되어 있다. 저개발국은 축산물의 절대적 물량 자체가 근본적으로 부족하여 대다수 국가의 경우 사회적으로 가장 선호되는 기호성 식량이며 수요에 비해 항상 공급이 부족하고 이에 비해 선진국은 건강과 축산물 사이의 상호 관계를 사회적으로 충분히 인식하고 있어 전통적 축산물 및 축산 가공물은 시장이 정체되어 있지만, 기능성 축산물 및 고기능성 축산 가공물 시장이 급격하게 성장 중에 있다.

따라서 저개발국의 경우에는 전통적 축산물 및 축산 가공물 위주로 시장이 형성되어 있지만, 선진국에서는 성장한계에 도달한 축산 시장에 기능성 축산물과 고기능성 축산 가공물이 주목 받고 있다.

현재 선진국 시장의 경우 고기능성 축산 가공물은 아직 연구단계에 있지만, 기능성 축산물은 이 다수 개발되어 성공적으로 시장을 형성하고 있으며 대표적인 기능성 축산물의 예는 다음과 같다. Egglad's Best egg사의 Egglad's Best 계란은 식물성 사료첨가제를 먹여 계란 내 콜레스테롤 함량이 일반란에 비해 15% 이상 낮아 일반란에 비해 2배 이상의 가격에 팔리고 있어, 미국 내 양계 회사 중 최고의 수익을 올리고 있다.

omega meat사, California sunshine사, 등에서 불포화지방산 강화 축산물을 시장에 출시하고 있으며, 불포화지방산 축산물 시장이 형성되는 초기 단계에 있다.

유용 미생물을 이용해 축산물의 콜레스테롤 수치를 낮추는 기술은 본 연구팀의 (주)지니스가 세계 수준에 올라 있으며 현재 세계적 축산회사들과 공동 연구 및 기술이전을 추진 중에 있어, 향후 미생물을 이용해 개발된 저콜레스테롤 축산물이 세계 축산 시장에 선두로 등장할 가능성이 있다. 또한 아직은 초기단계이지만 본 연구팀이 제안하는바와 같이 발효기술과 나노 기술을 이용해 각종 질환 예방 효과를 목적으로 하는 고기능성 축산물에도 활발한 연구가 진행되어지고 있어 곧 다양한 고기능성 축산 가공물이 시장에 선보일 것으로 예측된다.

나노입자를 이용한 나노식품제조기술의 경우, 비타민을 나노입자화하여 흡수력을 뛰어나게 한 제품이나 식품용기 표면에 항산화물질을 나노입자코팅하여 식품의 저장성을 높이는 기술이 개발되어 있다.

세계 육가공 시장의 연간 규모는 1000만 톤 정도로 소시지(70%)와 햄(30%)이 주종을 이루고 있음. 소비자의 건강에 대한 관심 고조로 기능성 육가공 제품에 대한 시장이 해마다 증가하고 있는 추세인데, 특히 미국과 유럽에서는 예부터 발효 식육 제품이 매우 일반적인 식품으로서 사랑받아 왔다. 살라미도 원형은 유산균을 이용한 발효 식육 제품이다. 미국과 유럽의 매장에서 소시지류를 보면 유산균을 의미하는 “Lactic acid Starter Culture” 표시를 한 제품이 놀라울 정도로 많다. 헝가리에서는 유산균 이외에도 곰팡이나 효모를 표면에 접종한 살라미와 같은 제품도 있다. 유럽의 식육 가공품 분야에서는 알긴산과 허브류 추출물을 첨가한 저칼로리 식품소재 및 항산화 물질 첨가한 가공품에 대한 특허가 1/3을 차지하고 있다.

한편 국내 기술개발현황은 다음과 같다. 강원도의 경우 동계올림픽을 2018년 개최하면서 지역 환경에 맞는 축산 가공품의 개발이 매우 절실한 실정이다. 이에 따른 천연환경을 이용한 발효육제품의 개발이 매우 필요하며 이에 대한 수요가 급증할 것으로 예상되나 이에 대한 연구나 제품개발이 매우 부족한 상태이다. 돈육 및 우육의 전부위에 관한 부분육 생햄제품과 강원도 지역특성에 맞는 비가열 발효건조 소시지 및 반건조 소시지등 다양한 제품종류가 필요한 실정이다. 강원도 지역 축산농가의 우수브랜드 축산물을 3차가공 제품의 발효육제품의 생산기술을 접목시켜 고부가가치화 함으로써 지역사회의 경제활성화를 도모함은 물론, FTA비준에 따른 생산 농가의 경제적 안정을 유도할 수 있다.

건조·발효 제품의 경우 장기간의 숙성기간 때문에 *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Comphylobacter jejuni*, *Listeria monocytogenes*, *Yersinia enterocolitica* 등의 병원성 미생물 및 식중독 미생물의 오염에 주의해서 생산하여야 하며(Farkas, 1998; Samelis, 2005), 특히 *L. monocytogenes*와 *Salmonella* spp.에 주의해야 한다(Mahapatra 2005; Selby, 2006). 따라서 비가열 제품에 대한 대장균군검사, 일반세균, 살모넬라, 대장균등의 일반세균 및 병원성 미생물 등의 식중독균들에 대한 검사가 필요할 것으로 사료된다. 시료의 신선도를 판단하기 위한 일반적인 기준이 되는 단백질의 변패정도를 조사하기 위하여 휘발성 염기태질소를 高坂(1991)의 conway 미량확산법을 이용하여 VBN (volatile basic nitrogen)을 측정한다.

#### 4. 2핵심 1세부

심혈관계질환을 target으로 하는 기능성 식품 시장의 규모와 보건학적 중요성 때문에 세계 농축산 및 생명공학 업계에서는 저콜레스테롤 동물성 식품을 개발하려는 다양한 연구들을 진행하였다.

유전자 변형을 통한 육종개량방법의 경우 GMO product에 대한 소비자들의 거부감 이외에도, 개발과정 자체가 엄청난 시간과 노력을 필요로 하는데 이는 동물의 콜레스테롤 함량 분포는 유전적 요인과 환경적 요인에 의한 전형적인 Quantitative trait으로써 수십 개의 유전자들간의 생리학적 상호작용들을 모두 밝힌 후에야 유전자 조작이 가능하기 때문이다.

콜레스테롤 합성을 저해하는 콜레스테롤 합성저해제 또는 기타 자연계 추출물 (스테로이드 계통의 식물성 화학물질들, 생선기름의  $\omega$ -3 지방산, 귀리의  $\beta$ -glucans, 유지류의 Linoleic acid,

갑각류의 키토산이나 콩단백질등)을 직접 사료에 첨가하여 얻어내는 동물성 식품의 경우, 생산 단가가 너무 높아지는 문제점으로 인해서 고품질로 상품화하기 어려운 실정이다.

Omega3 ( $\omega$ -3, N3) 계열의 다가불포화지방산 (Polyunsaturated fatty acid)은 알킬사슬의 메틸기로부터 세 번째 원자에 최초의 이중 결합이 시작하는 지방산으로, EPA(Eicosapentaenoic acid, 20:5n-3)와 DHA(Docosahexaenoic acid, 22:6n-3)가 대표적이다(L. Sijtsma et al. 2004, Anita Nordeng Jakobsen 2008).

어유는 omega-3 지방산이 다량 함유되어 있으며 식물성 유지와는 달리 EPA와 DHA의 함량도 높으나 생선 특유의 비린내로 인해 급여시 기호도가 낮고, 계절적 환경적 요인에 의해 품질의 불균일 문제가 항상 있으며 그 외에도 산패로 인해 장기보관시 stability가 낮은 단점이 있다.

Seal oil의 경우에도 omega-3 지방산 함량, 특히 EPA와 DHA 함량이 높고 어유와는 달리 어취가 없는 장점이 있으나 각국에서는 물개 서식수를 조절하기 위해 연간 수렵량을 제한하고 있다. 들깨와 같은 식물성 소재를 사료성분으로 활용 시 급여량에 비해 omega-3 지방산 강화 효과가 극히 미미하여 omega-3 지방산 강화 축산품의 생산이 어려움이 있다.

Omega-3 지방산중 단쇄인  $\alpha$ -linolenic acid가 체내에서 DHA나 EPA로 합성되기 때문에 일부 tallow나 olive oil, rapeseed oil, flax oil 등과 같이 omega-3 지방산중  $\alpha$ -linolenic acid 만을 함유한 유지를 급여하기도 하나 급여된  $\alpha$ -linolenic acid가 DHA나 EPA로 합성되는 비율은 0.5-10%에 불과하며 주로  $\alpha$ -linolenic acid로 축적된다. DHA나 EPA의 합성 효율은 linoleic acid의 섭취량이 많을 경우 더욱 낮아지게 되는데 이는 linoleic acid로부터 omega-6 계열의 지방산이 합성될 때 관여하는 enzyme이 omega-3 계열의 지방산 합성에도 관여하기 때문이다.

또한 우지와 식물성 유지에는 omega-6 지방산인 linoleic acid가 다량 함유되어 있어 omega-3 지방산 뿐 아니라 omega-6 지방산의 함량도 증가시키기 때문에 omega-6에 대한 omega-3 지방산의 섭취 비율을 높이는데 있어서 효과적이지 못하다.

또, 식물성 유지는 Omega-3 지방산의 함량 뿐 아니라 Omega-6 지방산의 함량도 높여주게 되므로 본래의 Omega-3 지방산 강화 목적에 적절치 못하며 현저히 낮은 Omega-3 지방산 함량, 어취발생과 중금속 축적, linoleic acid 과다 섭취 등의 문제로 인해 적절한 소재가 되지 못하다.

본 연구진도 저콜레스테롤 동물성식품 생산기술 원천특허 확보 (PCT/KR02/00516, KR 10-0379075, PCT/KR04/003247, KR 10-0637762), CLS 균주 개발, 오메가3 균주 개발 (KR 10-2008-0015495, KR 10-2010-0012570)의 기술을 가지고 있다.

표 1. 콜레스테롤 저하 오메가3 강화 동물성식품 생산 기술 현황

	동물성 오메가3 소재	식물성 오메가3 소재	미생물 오메가3 소재
균일성	유한자원 (계절,환경적 요인에 의한 수요공급의 불균형 및 품질의 불균일 문제)	유한자원 (계절,환경적 요인에 의한 수요공급의 불균형 및 품질의 불균일 문제)	무한자원 (동일한 배양조건을 갖춘 Fermentor에서 균일하게 생산)
안전성	심각한 해양 중금속오염으로 인해 중금속 함유로 인한 안전성 미비	안전성은 우수함	중금속 축적이 없어 고품질
제한성	특유의 비린내 어취 등으로 인해 식품에 활용이 극히 제한적임	식물성기름에는 오메가6가 주로 함유되어 있어 오메가3 강화효과가 매우 제한적임	악취가 없어 식품소재로 제한이 없음
경제성	다단계 추출 및 정제를 거치면서 생산비용의 급증 및 경제성 상실	들기름과 같은 식용자원으로 고가여서 경제성이 낮음	산업균주 및 발효공정만 확립하면 생산 공정이 간단함
시장성	동물성 소재라는 한계로 인해 고품질 위주의 시장 추세를 반영하지 못함	과잉 섭취 되고 있는 오메가6성분이 같이 섭취되는 문제점	고품질소재를 선호 소비자 확대추세로 인해 market potential이 뛰어남



표 2. 국내 관련 제품 현황

연구기관	연구개발의 내용	연구개발성과의 활용현황
에디슨(주)	아마씨, 들깨, 생선기름, 어분을 급이하여 오메가 3 지방산이 함유된 우유를 생산하는 연구를 수행	에디슨(주)과 남양(주)이 DHA 우유를 아인슈타인 우유라는 브랜드로 제품화하였으나 DHA 함량은 L당 40mg 미만으로 상당히 소량 함유되어 있어 가격대비 효율이 낮음
퓨리나 코리아	식물성 기름과 동물성 어분을 다량 사용하여 오메가 3 우유를 생산 연구	우유 지방의 저하 및 Omega-3 지방산의 hydrogenation으로 인해 실제 생산되는 우유내로 Omega-3 지방산의 전달률이 매우 낮아 상용화에 문제가 있음
(주)나누리식품	귀뚜라미를 급여하여 오메가-3 계열 지방산이 함유된 계란 생산 연구	산란계 사료에 귀뚜라미를 0.2-7%를 첨가하여 omega-3 계란 생산 소량의 EPA 함량이 증가하나 omega-6 지방산 함량이 크게 증가함
다농네추럴(주)	동물성 사료를 급여하여 오메가-3 계열 지방산이 함유된 계육의 생산 연구	육계에 어분 0.2-7%를 급여하여 omega-3 계육 생산 소량의 EPA 함량이 증가하나 omega-6 지방산 함량이 크게 증가함
(주)대상	오메가-3 불포화 지방산을 생산하는 균주 및 이를 이용한 불포화 지방산의 제조 방법 연구	양돈 또는 양계 사료에 1-10%의 오징어유를 첨가하여 돈육, 또는 계육 생산, 어취 발생의 문제가 있음
퓨리나 코리아	오메가-3 지방산을 함유한 계란, 닭고기, 돼지고기의 생산방법 연구를 수행	아마인종실 또는 카놀라채종실을 통상의 사료와 혼합한 다음, 급여함을 특징으로 하여 오메가-3 지방산이 1% 미만 함유된 계란과 돼지고기를 생산 가능케 함.
(주)매일유업	오메가-3, 본 펩타이드등의 성분을 저지방 우유에 배합하여 오메가 함유 우유생산에 관한 연구	‘오메가3 & 과일퓨레’; 저지방 우유에 오메가-3, 본 펩타이드등의 두뇌 발달, 뼈성장성분과 6가지 멀티비타민을 배합하여 오메가-3 함유 우유를 제품화 함
(주)풀무원	식물성 배합사료를 급여하여 오메가-3 비율을 강화하는 연구	‘아침에 후라이로 좋은 달걀’; 유채, 들깨, 아마씨앗 등 식물성 사료를 급여하여, 오메가-3 지방산의 비율을 높임
두레축산	식물성 사료를 선정하여 오메가-3를 함유된 계란 생산 연구	오메가 함유 계란 ‘감미란’; 맞이꽃 종자유에서 추출한 ‘감마리놀렌산’이란 물질을 일반사료와 배합하여 생산한 계란
연세우유	식물성 성분의 원료로 발효하고 오메가-3 지방산을 첨가하여 발효유 생산하는 연구 수행	‘연세우유 오메가3’; 오메가-3, 키토올리고당이 첨가된 우유를 식물성 유산균으로 발효

표 3. 국외 관련 기술 현황

기관	연구내용	연구개발성과의 활용현황
Dairy Farmers of Ontario	생선기름등을 Omega-3 지방산 공급원으로 첨가하여 Omega-3 지방산가 함유된 우유를 생산하는 연구를 수행함	생선기름 및 어분을 급이하여 생산된 Omega-3 지방산 우유가 Neilson® Dairy Oh! 로 제품화했으나 Omega-3 지방산의 함량이 낮아 소비자의 욕구를 충족시키지 못하고 있음
Dawn Dairies	생선기름 및 어분을 유우에게 먹여 Omega-3 지방산이 함유된 유제품, 축산물등을 생산하는 연구를 수행	Omega-3 지방산이 함유된 우유를 Dawn Omega Milk라는 브랜드로 유럽시장에 선보였으나 소량의 DHA를 함유시키기 위해 많은 양의 fish 성분의 급이로 인한 가격 상승 문제가 있음
Guelph	생선기름 등으로 급여시 계란, 닭고기, 돼지고기, 우유 등 축산물	fish 성분으로 공급한 오메가3의 대부분이 분해되어 전달효율이 4% 정도로 제품화시 경제성이 낮은 문제가 있음
Purina	식물성 기름과 동물성 어분을 다량 사용하여 오메가 3 우유를 생산하는 연구	우유 지방의 저하 및 Omega-3 지방산의 hydrogenation으로 인해 실제 생산되는 우유 내로 Omega-3 지방산의 전달률이 매우 낮아 상용화에 문제가 있음

표 4. 국외 관련 제품 현황

제조사	제품명	관련 기능성 소재
McNeil (Johnson & Johnson )	Benecol™	식물스테롤 에스터를 주원료로 하며 핀란드에서 출시 후 핀란드 마가린 시장의 매출액 기준 12.5%를 점유하며 미국에 출시하여 미국 마가린 시장의 3%를 점유
Lipton	TakeControl™	콩에서 추출한 식물스테롤 에스터를 함유한 스프레드
Novartis	AVIVA™ Life Foods	콜레스테롤 및 중성지방 저하
Davisco Foods	Hydrolyzed Whey Protein	Angiotensin 감소로 고혈압 감소 효과
Cooke Pharma	HeartBar™	L-arginine을 함유한 심혈관질환 및 혈중플라그 감소를 위한 치료식
Huittestern Lihapojet	콜레스테롤 저하 제품(소시지, 미트볼 등)	고농도 오메가 3 및 6 지방산 함유, Rapeseed Oil 을 이용한 육제품
Mills DA	Liquid Vita 함유 식빵 믹스	Rapeseed Oil과 해바라기씨유의 혼합물인 PUFA Oil
Forbes Meditech	Reducol	콜레스테롤 저하 우유

## 5. 2핵심 2세부

우유 및 유가공 원료를 바탕으로 한 인삼 요구르트 음료와 두유 및 대두를 원료로 한 인삼 요구르트와(세계 특허 기술을 활용한 발효인삼/홍삼 요구르트 음료와 츄어블 타입제품의 산업적 생산기술 개발 및 사업화, 농림축산식품부, 과제번호: 1545000846) Probiotics로 발효한 홍삼을 소재로 활용하여 기능성 발효유 음료 생산 기술을 개발하였다(Probiotics를 이용한 홍삼발효제품 및 기능성 음료제조기술 개발, 중소기업청, 과제번호: 1425072490).

혈 중 cholesterol 저하시키는 물질을 적용한 우유 및 유제품을 개발 기술과(혈중콜레스테롤 강하 기능성 우유 및 유제품 개발, 농림축산식품부, 과제번호: 1380001654) 김치 유산균 starter의 특성을 연구하고 두유를 발효시켜 변비와 고지혈증 개선 효능을 가진 두유 요구르트 개발 기술을 연구하였다(김치유산균을 이용한 기능성 대두 요구르트 개발과 건강 기능성 규명-고지혈증과 변비 개선 효능을 중심으로-, 교육부, 과제번호: 1345103215).

최근 인삼 관련 제품과 우유를 원료로 한 유제품의 개발 및 연구가 활발히 진행되고 있다. 예전에는 기호성에 연구 중점을 두었던 반면에, 최근에는 기호성 뿐만 아니라 건강 기능성에 연구 중점을 두어 제품을 개발하고 있다.

인삼 제품과 유제품은 각각 다양한 제품들이 현재 제조되어 판매되고 있지만 인삼 성분을 유제품에 첨가한 제품은 제한되어 있으며 제한된 제품마저도 판매율이 낮거나 인터넷 쇼핑몰을 통해 판매되고 있다.

한편 국외 기술개발 현황은 다음과 같다. 웰빙 및 건강에 대한 관심이 증대되면서 인삼 제품의 수요는 전 세계적으로 증가하는 추세이며 시장 규모 또한 확대되고 있다. 특히 미국에서의 인삼 시장규모는 중국의 시장규모보다 크다.



<그림 1> 국가별 식품 내 인삼 제품의 비율. 자료출처 : ICON Group International, Inc.

미국에서는 홍삼과 백삼과우더, 드링크 음료, 홍삼 엑기스 등 여러 종류로 소비되고 있으나 미국의 제품은 자체 제조하는 것이 아니라 한국의 제품을 수입하여 판매하고 있다(농수산물

수출입 뉴스).

중국의 인삼 소비 형태는 차 종류나 음식에 첨가시킬 수 있는 형태가 가장 일반적이며, 복용 및 휴대가 편리한 제품을 선호하기 시작하면서 인삼 절편제품의 소비가 증가하는 추세이다. 중국은 자체적으로 인삼을 재배하여 가공한 후 제품을 판매하고 있지만 현재 한국산 제품을 수입하여 판매하고 있는 추세여서 중국시장 내 한국 인삼시장이 더욱 커질 것으로 예상된다.

일본 역시 인삼을 자체적으로 재배하여 가공한 제품을 판매하고 있지만 재배 비율이 감소하는 추세이다. 일본은 한국과 중국 등의 수입산에 의존적이며 일본의 소비 형태는 한국과 중국의 형태와 비슷하다. 인삼 및 홍삼에 대한 기능성을 향상시키고 기호성을 갖춘 제품을 개발한다면 일본 내 한국산 제품 판매율은 증가할 것으로 사료된다.

홍콩은 미국과 캐나다산의 백삼과 한국과 북한, 중국산의 홍삼을 애용하고 있다.

캐나다는 인삼 생산규모와 수출규모가 비슷하다. 캐나다는 주로 가공업체에 인삼을 판매하며 수출된 인삼이 가공되어 다시 재수입되고 있다. 캐나다에서는 차와 캡슐형태가 주로 소비되고 있다.

유럽에서의 인삼 관련 제품은 건강보조식품으로 판매되고 있으며 수입에 의존하는 편이다. 인삼 자체보다는 캡슐과 엑기스, 인삼 함유 커피와 같은 가공품이 주로 소비되고 있으며 비타민과 미네랄 등과 혼합된 건강보조식품으로 많이 소비되고 있다.

## 6. 2핵심 3세부

일반적으로 캡사이신(capsaicin)은 붉은고추에 함유되어 있어 매운맛을 나타내는 물질로 다양한 생리활성이 있는 것으로 알려져 있고, 매운 맛과 약리작용을 나타내는 캡사이신의 분자 구조는 알칼로이드 캡사이신 (alkaloid capsaicin)으로 8-methyl-N-vanillyl-6-nonenamide로 알려져 있다.

캡사이신은 다양한 병원균의 성장을 억제하는 기능이 있는 것으로 알려져 있고, 캡사이신은 위염을 일으키는 *Helicobacter pylori*를 직접적으로 성장을 억제하는 기능을 가지고 있으며, 또한 *H.pylori*의 감염시에 나타나는 위점막상의 염증반응 중, Interlukin-8 (IL-8)의 생성을 억제하여 염증반응을 완화시키는 효과가 있는 것으로 알려져 있다.

비만이 유도된 마우스를 이용한 실험에서 캡사이신의 섭취는 지방세포와 지방조직에서 IL-6와 MCP-1의 mRNA 발현을 억제하였고, adiponectin의 발현량을 증가시켜 궁극적으로 비만으로 야기되는 당뇨와 동맥경화를 억제할 수 있는 가능성이 확인된 바 있다.

캡사이신은 지질의 산화를 억제하며 조리시에 첨가되면 올레익산의 자동산화를 억제하여 지질과산화물의 생성을 억제하는 것으로 알려져 있다.

그러나 캡사이신이 가지고 있는 독특한 매운맛으로 인하여 그 사용에 큰 제약을 받는다.

따라서 캡사이신과 유사한 생리학적 특성을 가지면서 맵지 않은 유도체를 발굴하기 위한 다양한 연구들이 수행되었다.

Rosa 등 (2002)의 연구에서는 맵지 않도록 재배된 고추 (*Capsicum annum* L)에서 캡사이신 ester 유도체인 capsiate, dihydrocapsiate 그리고 Vanilly nonoate에서 우수한 항산화능력을 확

인한 바 있다. 그러나 현재까지 캡사이신을 분해하는 미생물에 대한 정보는 매우 미비하며, 분해 산물에 대한 명확한 정보가 없다.

따라서 캡사이신을 분해하고 유도체를 합성하는 미생물 자원과 캡사이신의 생리활성은 유지하며 매운맛이 없어진 캡사이신 유도체는 다양한 산업분야에서 그 활용도가 매우 높다.

캡사이신 분해 미생물을 이용하면 고춧가루 혹은 캡사이신을 분해할 수 있음. 이때 캡사이신의 분해 산물 혹은 중간체(intermediates)의 일부들이 생산되고 이것들은 맵지 않으면서도 항비만, 항염증, 항신경통 등 생리활성을 보유하고 있어 기능성 식품 소재로 첨가 활용할 수 있다.

### 제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

#### 제 1 절 유황 함유물 기능성 발효축산가공품 개발 및 산업화

##### 1. 직경에 따른 젓산 발효 이소플라본 첨가 살라미의 품질 비교

유황 돈육을 이용한 이소플라본 첨가 살라미의 발효기간 중 직경 굵기에 따른 이화학적 특성과 제품의 품질특성을 조사하여 유황 돈육과 콩 이소플라본을 이용한 고부가가치 육제품 생산의 가능성을 제시하였다. (주)에바다 친환경 연구소에서 공급받은 유황을 급여해 사육한 돈육에 바이셀에서 공급받은 발효 이소플라본을 첨가하여 콜라겐 케이싱으로 만든 건조 발효 소시지 4cm와 8cm를 제조하여 비교 분석을 실시 하였다. <표 1>에서 알 수 있듯이 살라미의 저장기간 동안 일반 성분 중 수분함량은 각 군별, 기간별 유의적으로 감소하였으며( $p<0.05$ ) 조단백질과 조지방의 함량은 유의적으로 증가하였다( $p<0.05$ ). pH (그림 1)와 TBA (그림 2)는 살라미 직경에 관계없이 유의적으로 증가하였고( $p<0.05$ ) 수분활성도는 기간에 따라 유의적으로 감소하였다( $p<0.05$ ). 일반세균수는 유의적으로 증가하였고( $p<0.05$ ) 유산균의 경우 두군 모두에서 기간에 따라 점차 유의적으로 증가하였다( $p<0.05$ ). *E. coli O157:H7*, *Staphylococcus aureus*, 그리고 *salmonella spp.* 와 같은 병원성 미생물은 검출되지 않았으며 Yeast & mold는 유의적인 변화가 없었다. 이상의 결과를 요약하면 발효기간 중 직경의 크기 차에 의한 살라미의 제조는 품질특성에 영향을 미치는 것을 알 수 있다. 4S군이 8S군에 비해 상대적인 건조기간, 수분활성도, TBA값, pH값에서 유리한 결과를 얻음으로 볼 때 4 cm의 발효소시지가 상품성이 더 높을 것으로 판단된다. 이 연구는 향후 유황돈육을 이용한 이소플라본 첨가 살라미의 직경에 따른 숙성 중 변화를 파악하는 기초자료가 될 것으로 사료되며 이에 관한 지속적인 연구가 필요할 것으로 사료 된다.

<표1> 15℃에서 30일, 120일간 저장 중의 4cm와 8cm 직경 발효 살라미의 일반성분 분석 결과 (unit : %)

Parameter	4S (30 days)	8S (120 days)	4S (30 days)	8S (120 days)
Water	42.5±0.04 <sup>Aa</sup>	10.8±0.05 <sup>Ba</sup>	47.4±0.03 <sup>Ab</sup>	15.2±0.06 <sup>Bb</sup>
Crude protein	28.6±2.62 <sup>Aa</sup>	43.1±4.70 <sup>Ba</sup>	23.3±2.35 <sup>Ab</sup>	33.1±2.96 <sup>Bb</sup>
Crude fat	39.1±0.68 <sup>Aa</sup>	52.3±0.68 <sup>Ba</sup>	31.3±0.64 <sup>Ab</sup>	36.9±0.64 <sup>Bb</sup>

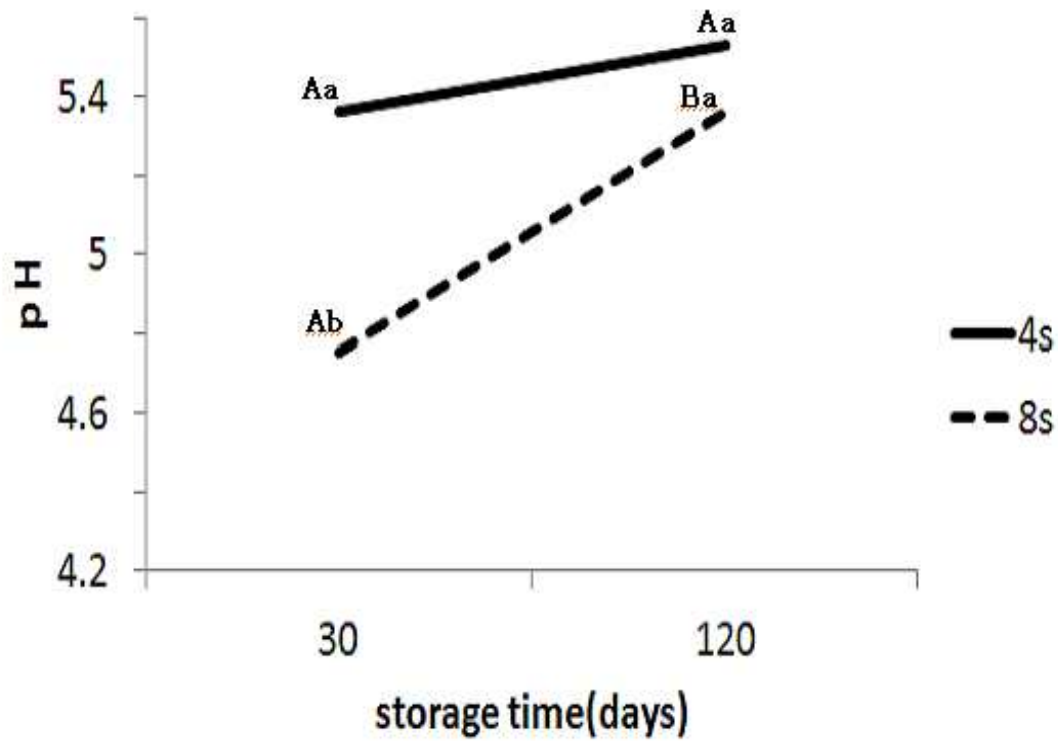
4S : Isoflavone added sulfur meat salami 4 cm caliber

8S : Isoflavone added sulfur meat salami 8 cm caliber

<sup>A,B</sup> : superscripts which have different letters are significantly different( $p<0.05$ ) between fermentation period

<sup>a,b</sup> : superscripts which have different letters are significantly different( $p<0.05$ ) between different caliber

\* all the value are mean ± S.D. (n=5)



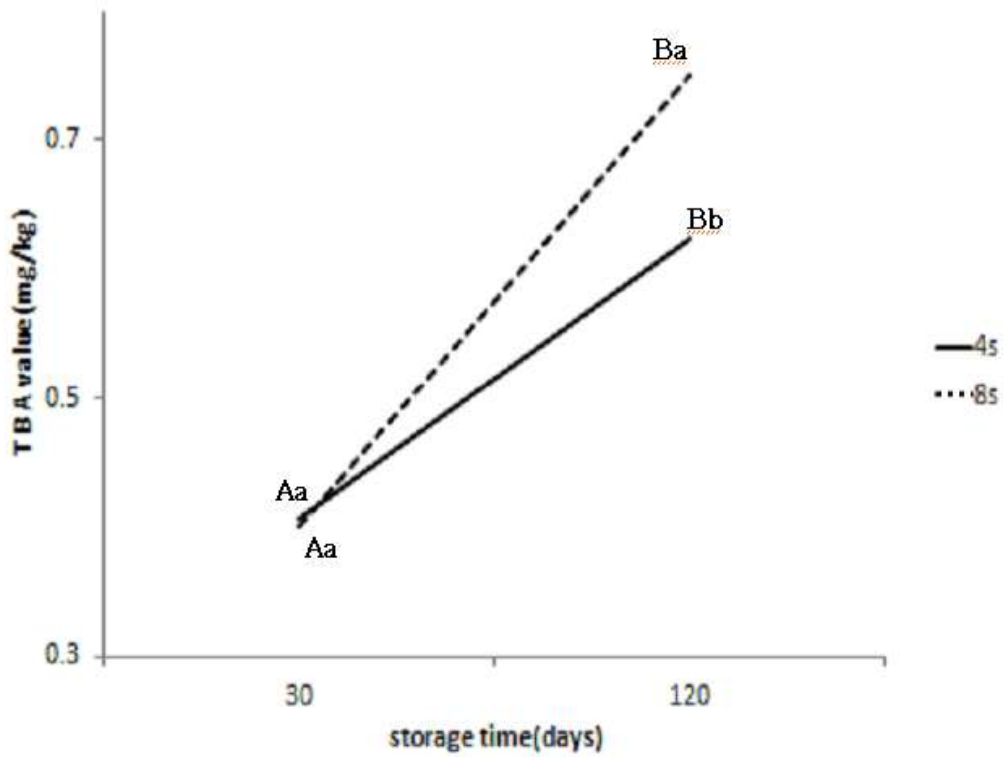
<그림 1> 15℃에서 저장한 4cm와 8cm 직경 발효 살라미의 pH 변화 측정.

4S : Isoflavone added sulfur meat salami 4 cm caliber

8S : Isoflavone added sulfur meat salami 8 cm caliber

<sup>A,B</sup> : superscripts which have different letters are significantly different ( $p < 0.05$ ) between fermentation period

<sup>a,b</sup> : superscripts which have different letters are significantly different ( $p < 0.05$ ) between different caliber



<그림 2> 15℃에서 저장한 4cm와 8cm 직경 발효 살라미의 지방산패도(TBA) 변화 측정.

4S : Isoflavone added sulfur meat salami 4 cm caliber

8S : Isoflavone added sulfur meat salami 8 cm caliber

<sup>A,B</sup> : superscripts which have different letters are significantly different( $p < 0.05$ ) between fermentation period

<sup>a,b</sup> : superscripts which have different letters are significantly different( $p < 0.05$ ) between different caliber



<표 2> 살라미의 저장 중 미생물 수 변화

(unit : Log)

salami	Microbial & Pathogen					
	Total aerobes	Lactic acid bacteria	E. coli O157:H7	staphylococcus aureus	salmonella spp.	Yeast & mold
4S	30일	6.67 <sup>Aa</sup>	6.60 <sup>Aa</sup>	-	-	3.92 <sup>Aa</sup>
	120일	7.44 <sup>Ba</sup>	7.35 <sup>Ba</sup>	-	-	3.89 <sup>Aa</sup>
8S	30일	6.65 <sup>Aa</sup>	6.65 <sup>Aa</sup>	-	-	3.85 <sup>Aa</sup>
	120일	7.39 <sup>Ba</sup>	7.60 <sup>Ba</sup>	-	-	3.80 <sup>Aa</sup>

- not determined. (4S : 4 cm caliber, 8S : 8 cm caliber).

<sup>a,b</sup> : superscripts which have different letters are significantly different( $p < 0.05$ )

## 2. 난소적출 쥐에 있어서 발효 이소플라본의 골다공증 및 비만 예방효과

난소를 적출하여 폐경기 여성 모델을 유도한 흰 쥐에서 발효 이소플라본의 골다공증 및 비만 예방에 미치는 영향을 알아보기 위해 실험을 실시하였다. 성 성숙이 진행 된 8주령의 암컷 SD-Rat을 난소 적출하여 호르몬을 차단함으로써 폐경기 여성 모델을 유도하고 칼슘과 인이 제거된 사료를 급여하면서 검정콩 비지와 발효를 통해 이소플라본을 강화한 발효 검정콩 비지를 사료에 혼합 제조하여 8주간 급여한 후 해부하여 분석하였다. 그 결과 대퇴골 중량에 있어서 검정콩 비지와 발효 검정콩 비지 급여군에서 유의적으로 높게 나타나 골 손실이 억제 된 것을 확인할 수 있었고 골 대사 관련 지표에 대하여 칼슘과 인 함량은 모두 정상 범위에 속해 있었고, ALP 활성은 검정콩 비지 급여군과 발효 검정콩 비지 급여군에서 모두 유의적으로 낮게 나타나 여성 호르몬 결핍에 의한 골 대사 이상에 대해 개선 효과를 보였다. 비만 예방효과에 대한 측정 항목으로써 체지방의 경우는 발효 검정콩 비지에서 대조군에 비해 유의적으로 낮게 나타났다. 혈청 생화학적 분석결과 간 손상지표로서 이용되는 AST와 ALT 활성도가 검정콩 비지와 발효 검정콩 비지 급여군에서 낮게 나타나 이소플라본의 급여를 통한 독성이 나타나지 않았을 뿐 아니라 간 보호 효과를 나타냄을 알 수 있었다. 또한 LDL, HDL 콜레스테롤에 대한 발효 검정콩 비지 급여군이 유의적인 개선 효과를 나타내었다. 간의 지질 함량 및 과산화 지질 측정결과 발효 검정콩 비지 급여군에서 유의적으로 낮은 간 지질 함량을 나타내었고 과산화지질 함량 역시 유의적으로 낮게 나타났다. 조직병리학 검사 결과 검정콩 비지 급여군에서 골수 내 백색지방 세포 축적이 억제 된 것을 확인할 수 있었다. 이 내용을 종합해 볼 때 난소적출을 통해 유도된 폐경기 모델 쥐에 대해 발효검정콩 비지와 발효 같은 지질대사 및 골 대사 개선효과를 확인 할 수 있었으며 특히 지질대사에 대해 발효검정콩 비지가 그 효능이 뛰어난 것을 확인 할 수 있었다.

<표 3> 골 대사 관련 지표 분석 결과

	Femur weight(g)	ALP (U/L)	Ca (mg/dL)	P (mg/dL)	Osteocalcin (ng/mL)
Con	0.91±0.244 <sup>b</sup>	522.73±68.375 <sup>a</sup>	10.18±0.310 <sup>a</sup>	5.44±0.288 <sup>b</sup>	14.04±0.691 <sup>a</sup>
Sham	1.01±0.042 <sup>a</sup>	463.70±23.927 <sup>b</sup>	10.10±0.346 <sup>a</sup>	5.88±0.266 <sup>b</sup>	8.03±0.347 <sup>b</sup>
BSP	1.05±0.040 <sup>a</sup>	443.63±24.160 <sup>b</sup>	9.60±0.316 <sup>b</sup>	6.74±0.465 <sup>a</sup>	6.94±0.160 <sup>c</sup>
FBSP	1.03±0.031 <sup>a</sup>	459.88±12.036 <sup>b</sup>	9.88±0.126 <sup>ab</sup>	6.04±0.461 <sup>b</sup>	8.31±0.217 <sup>b</sup>

<sup>1)</sup> Con (control, ovariectomized), Sham (sham-operated), BSP (ovariectomized, black soy-pulp), FBSP (ovariectomized, fermented black soy-pulp)

<sup>2)</sup> Values are the mean ±SD for 6 rats for 8 weeks in each group.

<sup>3)</sup> Values with different superscripts within a column are significantly different ( $P<0.05$ ).

<sup>4)</sup> NS: not significant.

<표 4> 지질 대사 관련 지표 분석 결과

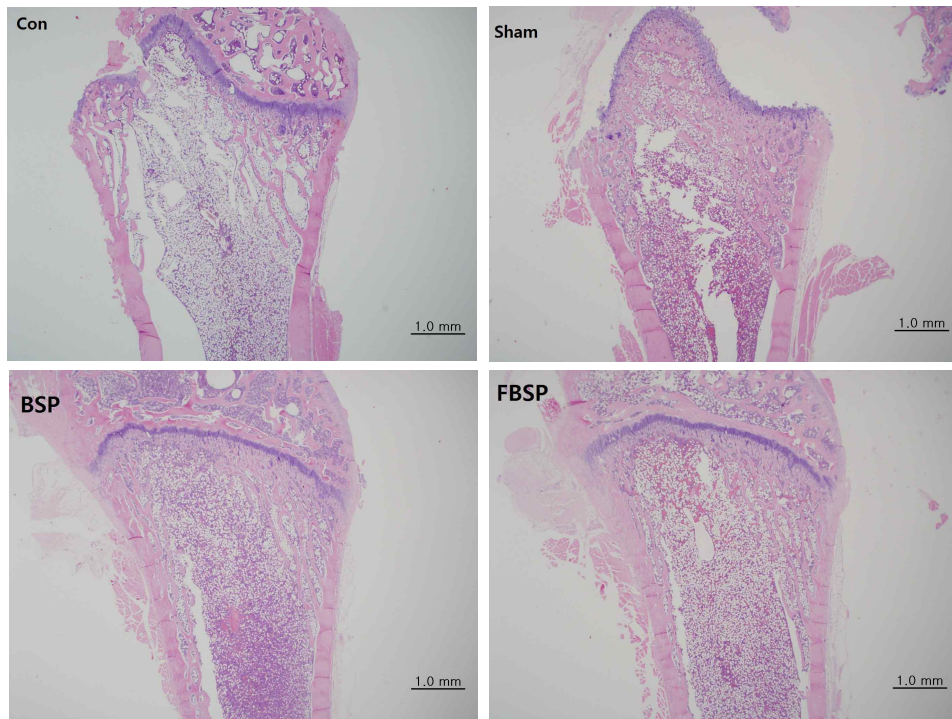
	Abdominal Fat (g)	AST (U/L)	ALT (U/L)	LDL-C (mg/dL)	HDL-C (mg/dL)	Total lipid (%/Liver)	TBARS (MDA/mg/kg)
Con	17.65±3.082 <sup>a</sup>	165.78±19.034 <sup>a</sup>	54.58±8.437 <sup>a</sup>	4.98±0.655 <sup>a</sup>	22.98±1.162 <sup>b</sup>	1.3±0.27 <sup>a</sup>	1.0±0.14 <sup>a</sup>
Sham	8.21±0.950 <sup>c</sup>	124.85±7.471 <sup>b</sup>	43.88±2.004 <sup>a</sup>	3.20±0.497 <sup>b</sup>	24.80±1.503 <sup>b</sup>	0.4±0.18 <sup>b</sup>	0.9±0.07 <sup>ab</sup>
BSP	15.57±1.899 <sup>ab</sup>	159.63±18.602 <sup>a</sup>	43.40±8.545 <sup>a</sup>	5.30±0.424 <sup>a</sup>	28.50±0.876 <sup>a</sup>	1.0±0.44 <sup>ab</sup>	0.9±0.06 <sup>ab</sup>
FBSP	14.75±2.524 <sup>b</sup>	117.28±7.692 <sup>b</sup>	31.15±5.588 <sup>b</sup>	4.55±1.215 <sup>a</sup>	27.83±3.117 <sup>a</sup>	0.8±0.13 <sup>b</sup>	0.8±0.14 <sup>b</sup>

<sup>1)</sup> Con (control, ovariectomized), Sham (sham-operated), BSP (ovariectomized, black soy-pulp), FBSP (ovariectomized, fermented black soy-pulp)

<sup>2)</sup> Values are the mean ±SD for 6 rats for 8 weeks in each group.

<sup>3)</sup> Values with different superscripts within a column are significantly different ( $P<0.05$ ).

<sup>4)</sup> NS: not significant.



<사진 1> 조직병리학 검사 결과

### 3. 유허 첨가 급여가 비육후기돈에 미치는 영향 조사

147일령 비육 후기돈을 대상으로 돈체중 110kg 출하 전 4개월간 대조군, 법제유허(99%) 0.1%, 0.3% 급여군으로 하여 총 30두에 대해 사양 시험을 실시하였다. 돼지 사육용 사료 첨가제에 있어서 법제유허조제는 이미 상용화 된 것을 사용하였다(에바다(주)). 물과 일라이트 및 백토 등을 사용하여 물을 활성화시키고, 활성화 된 물에 유허을 첨가하여 일정시간 유허을 법제하는 단계로, 일라이트 등과 함께 물에서 돼지가 급여해도 해가 되지 않을 정도로 유허의 독성을 제거하면서 체내 흡수 및 신진 대사를 원활하게 진행할 수 있도록 하였다. 일라이트(illite)는 상온에서도 생체에 유익한 역할을 하는 것으로, 법제유허 제조에 백토와 함께 중요한 역할을 한다. 이처럼 법제된 유허을 건조하는 단계를 거쳐서 수득한 법제 유허을 유효성분으로 함유한 사료 첨가제로 하고 이를 돼지에 급여하여 돈육을 생산하였다. 실험 결과 체중 증가량, 식이효율 등에서 유의적인 차이가 나타나지 않았고, 대조군에 비해 유허 0.3% 급여 비육돈에서 포화지방산 함량이 감소되고 불포화지방산 함량이 증가함으로써 기능성 유허 돈육의 생산이 가능함을 확인할 수 있었다.

현재 인기부위인 삼겹살 및 목살은 약 3600₩/kg으로 거래되는 반면 비인기 부위인 전지 및 후지는 약 1700₩/kg의 가격으로 거래되고 있다. 이것에 대하여 유허첨가에 대한 가격 반영 시한 마리당 약 6000₩이 추가된다. 현재 돈육을 120kg으로 볼 때, 정육이 약 50%(60kg) 이므로 kg당 약 100₩이 추가된다. 그러므로 유허돈육의 전지 및 후지의 생산단가를 약 1800₩/kg 으로 예상할 수 있다.



<사진 2> 2011년 10월 : 경기도 파주 유황 돼지 사육 시설

<표 5> 유황 급여가 비육돈의 생산성에 미치는 효과

Item	Treatments			P-value
	Control <sup>1)</sup>	T1 <sup>1)</sup>	T2 <sup>1)</sup>	
Initial wt (kg) <sup>2)</sup>	96.10 ± 8.75	98.97 ± 6.55	96.30 ± 6.73	0.252
Mid wt (kg) <sup>2)</sup>	108.62 ± 8.99	111.25 ± 7.76	107.28 ± 7.42	0.160
Final wt (kg) <sup>2)</sup>	120.90 ± 9.71	122.97 ± 8.64	119.12 ± 7.96	0.243
ADG (kg)	0.86 ± 0.07	0.83 ± 0.01	0.79 ± 0.06	0.360
ADFI (kg)	32.56 ± 0.72 <sup>ab</sup>	33.41 ± 0.78 <sup>a</sup>	31.64 ± 0.42 <sup>b</sup>	0.046 <sup>3)</sup>
Gain:feed	0.026 ± 0.015	0.025 ± 0.0002	0.025 ± 0.002	0.376
Backfat (mm)	29.11 ± 2.76 <sup>ab</sup>	30.89 ± 2.85 <sup>a</sup>	26.89 ± 2.71 <sup>b</sup>	0.019 <sup>3)</sup>
Carcass wt (kg)	101.0 ± 6.34	101.3 ± 5.34	96.6 ± 5.03	0.152
Distribution of carcass grade, %				
1A-grade	20.0	3.3	26.7	-
1B-grade	33.3	26.7	33.3	-
2B-grade	0.0	0.0	3.3	-
2C-grade	46.7	70.0	36.7	-

<sup>1)</sup>Control, Commercial formulated feeds ; T1, Control diet+0.1% Processed sulfur ; T2, Control diet+0.3% Processed sulfur

<sup>2)</sup>Initial wt, 147 days of age barrows ; Mid wt, 161 days of age barrows ; Final wt, 174 days of age barrows (n=10 in each pen, three replicate pens per treatment)

<sup>3)</sup>Values with different superscripts within a column are significantly different ( $P < 0.05$ ).

<표 6> 유황 급여가 비육돈의 혈액 생화학적 특성에 미치는 효과

Item	Control <sup>1)</sup>	T1 <sup>1)</sup>	T2 <sup>1)</sup>	P-value
Albumin (g/dL)	3.87 ± 0.23	3.70 ± 0.17	3.80 ± 0.10	0.542
ALP (u/l)	74.67 ± 17.50	84.53 ± 3.71	99.27 ± 10.40	0.112
Total Protein (g/dL)	5.73 ± 0.15 <sup>b</sup>	6.37 ± 0.15 <sup>a</sup>	5.77 ± 0.29 <sup>b</sup>	0.017 <sup>2)</sup>
ALT-GPT (u/l)	47.77 ± 4.27	56.10 ± 3.97	49.80 ± 9.17	0.309
AST-GOT (u/l)	122.17 ± 33.67	143.33 ± 23.25	119.67 ± 12.70	0.481
GGT (u/l)	39.00 ± 33.79	49.40 ± 2.18	53.80 ± 10.46	0.679
Total Bilirubin (mg/dL)	2.20 ± 0.75	1.43 ± 0.15	1.40 ± 0.20	0.131
Direct Bilirubin (mg/dL)	0.57 ± 0.21	0.36 ± 0.04	0.36 ± 0.04	0.158
Globulin (g/dL)	1.87 ± 0.25 <sup>b</sup>	2.67 ± 0.21 <sup>a</sup>	1.97 ± 0.21 <sup>b</sup>	0.009 <sup>2)</sup>
Amylase (u/l)	75.30 ± 0.00	75.30 ± 0.00	75.30 ± 0.00	0.000
Calcium (mg/dL)	7.07 ± 1.01	4.40 ± 2.43	7.73 ± 1.16	0.104
Glucose (mg/dL)	149.33 ± 16.92	125.00 ± 14.53	133.00 ± 24.56	0.350
LDH (mg/dL)	952.00 ± 193.88	1162.0 ± 128.34	971.33 ± 103.89	0.234
Phosphorus (mg/dL)	26.37 ± 4.04	28.70 ± 0.00	22.87 ± 5.57	0.271
Total Cholesterol (mg/dL)	93.13 ± 5.92	109.07 ± 11.90	102.27 ± 5.62	0.141
HDL-Cholesterol (mg/dL)	20.20 ± 1.93	36.20 ± 11.17	21.00 ± 18.19	0.279
BUN (mg/dL)	8.23 ± 0.67	8.50 ± 1.54	9.03 ± 0.87	0.676
Creatinine (mg/dL)	2.30 ± 0.20 <sup>a</sup>	2.03 ± 0.06 <sup>b</sup>	2.03 ± 0.06 <sup>ab</sup>	0.054
Uric acid (mg/dL)	1.67 ± 0.45 <sup>a</sup>	0.63 ± 0.58 <sup>b</sup>	1.40 ± 0.30 <sup>ab</sup>	0.075
Triglyceride (mg/dL)	48.03 ± 3.93 <sup>a</sup>	32.20 ± 0.87 <sup>b</sup>	42.87 ± 5.43 <sup>a</sup>	0.007 <sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>Control, Commercial formulated feeds ; T1, Control diet+0.1% Processed sulfur ; T2, Control diet+0.3% Processed sulfur

<sup>2)</sup>Values with different superscripts within a column are significantly different ( $P < 0.05$ ).

<표 7> 유황돈육과 일반육의 지방산 조성 비교

Item	%		
	Treatment		
	Control <sup>1)</sup>	T1 <sup>1)</sup>	T2 <sup>1)</sup>
<b>Total SFA</b>	<b>42.05 ± 1.51</b>	<b>40.21 ± 0.49</b>	<b>39.15 ± 0.75</b>
Myristate	2.39 ± 1.69	2.37 ± 1.69	-
Palmitate	65.07 ± 1.89	66.73 ± 1.71	69.43 ± 0.70
Stearate	31.75 ± 1.63	30.90 ± 1.40	30.57 ± 0.70
<b>Total MUFA</b>	<b>48.30 ± 1.78</b>	<b>50.38 ± 0.49</b>	<b>51.08 ± 1.35</b>
Palmitoleate	5.39 ± 0.24	5.52 ± 0.59	5.54 ± 0.28
Oleate	94.61 ± 0.24	94.48 ± 0.59	94.46 ± 0.28
<b>Total w6</b>	<b>9.22 ± 0.39</b>	<b>8.28 ± 0.13</b>	<b>9.30 ± 0.31</b>
Linoleate	88.37 ± 8.88	89.65 ± 7.35	85.97 ± 3.18
11,14-Eicosadienoate	8.54 ± 6.06	8.64 ± 6.27	11.90 ± 0.82
Arachidonate	3.09 ± 4.37	1.72 ± 2.43	2.13 ± 3.01
<b>Total w3</b>	<b>0.12 ± 0.16</b>	<b>0.41 ± 0.58</b>	-
Linolenate	33.33 ± 47.14	7.02 ± 9.93	-
Eicosatrienoate	-	26.31 ± 37.21	-

<sup>1)</sup>Control, Commercial formulated feeds ; T1, Control diet+0.1% Processed sulfur ; T2, Control diet+0.3% Processed sulfur

<sup>2)</sup>Values with different superscripts within a column are significantly different ( $P<0.05$ ).

#### 4. 법제유황 돈육 후지를 이용한 발효 생햄의 제조

1차년도에서 연구한 유황의 유용성과 이용가능성을 바탕으로 발효 생햄을 제조한 후, 지속적인 품질 측정을 통해 문제점을 수정, 보완하여 고품질의 발효 생햄을 제조하였다. 경기도 파주시 유황돼지 사육 시설을 마련하여 일반군 30두, 유황 0.1% 급여군 30두, 유황 0.3% 급여군 30두, 총 90두를 2011년 10월 19일 입식 후 위생적으로 사육한 뒤 2012년 2월 17일에 도축하였다 (사진 3). 법제유황을 급여한 고급원료돈육 후지와 히말라야 산 암염을 이용하여 발효 생햄을 1차년도 2010년 11월에 기 제조된 발효 생햄의 건조, 숙성이 진행됨에 따라 지속적인 품질 측정 및 미생물 조성 추적을 실시하였고, 품질 및 제조기술이 향상 된 2차년도 제품(사진 4, 5)이 2012년 2월 21일 제조 후부터 역시 지속적인 품질 측정 및 미생물 조성 추적을 실시하였다. 또한 2012년 11월, 3차년도 발효 생햄을 제조하여(사진 6) 현재 9개월째 숙성 중에 있다. 유황급여량에 따른 발효 생햄의 품질을 비교하고, 건조기간에 따른 수분활성도, 지방산패도, 아미노산 변화, pH 변화 및 미생물 수의 변화를 관찰하기 위하여 숙성 진행 중에 있다. 이러한 경험을 바탕으로 유황돈육 생햄 제조 방법에 관한 기술이전 계약을 진행하였으며 이 과정에서 기술이전 비용으로 1,000만원 입금 및 계약 완료하였고, 기술창업실시는 (주)CoreMon 설립 및 건국대 기술지주회사 자회사로 선정 진행 중에 있다.

## 1) 미생물학적 및 이화학적 성분 특성

국내산 일반 돈육과 유향돈육의 뒷다리로 중량은 평균 10 kg 내외의 원료육을 재료로 하여 염지는 히말라야산 암염으로 원료육 중량에 대해 약 25% 사용하였다. 염지기간은 2주일간 실시하고 그 후 햄 표면의 식염을 제거 한 후 숙성실(4℃, 습도 65%)로 옮겨 걸어두었다. 시료는 염지일로부터 4개월마다 생햄의 중앙부를 절단하여 대퇴이두근(M. biceps femoris, BF), 대퇴사두근 (M. quadriceps femoris, QF), 반막양근 (M. semimembranosus, SM), 및 반막양근(M. semitendinosos, BF)의 4개소의 근육부위로부터 시료를 채취해 분석을 실시하였다.

## 2) 물리적 특성 측정

수분활성도(Aw), 수분함량, pH, 염도

## 3) 지방 산패도 측정

TBA법, PV 시험법, Chemiluminescence(CL) 시험법, 통계분석법

TBA 측정 결과 8개월 차에서 TBA가 대조군에 비해 유의적으로 감소하였다.

## 4) 미생물적 특성 측정

발효 생햄의 정상적인 발효 진행 평가와 미생물 오염방지를 위해 *E.coli*의 정량 실험, *Staphylococcus aureus* 정량 측정, *Salmonella*의 정성 실험, 유산균의 정량 실험, 곰팡이의 정량 실험, 총 생균수 정량시험을 실시하였다.



<사진 3> 2012년 2월 21일 2차년도 발효 생햄 제조

## 5) 아미노산 조성 변화

3차년도 유향돈육 원료육의 아미노산 조성 중 맛과 관련된 아미노산인 glutamic acid, arginine, lysine 및 histidine의 함량이 일반돈육에 비해 증가하여 깊은 풍미를 가지게 되어 고급육으로의 기능을 하게 되었다.





<사진 4> 2012년 6월 2차년도 발효 생햄 발효숙성 6개월째



<사진 5> 2013년 6월 2차년도 발효 생햄 발효숙성 18개월째



<사진 6> 2012년 11월 3차년도 발효 생햄 제조 후 발효숙성 9개월째

<표 8> 2차년도 유허돈육 생햄의 숙성 중 pH 변화

Periods	Groups		
	CON	A	B
1month	5.89±0.21 <sup>NSAB</sup>	5.84±0.16 <sup>AB</sup>	5.80±0.31 <sup>AB</sup>
4month	6.07±0.01 <sup>NSA</sup>	6.04±0.05 <sup>A</sup>	5.89±0.02 <sup>A</sup>
8month	5.80±0.11 <sup>aB</sup>	5.78±0.05 <sup>aB</sup>	5.70±0.07 <sup>bB</sup>

CON: control group

A: added 0.1% sulfur in dry-cured ham

B: added 0.3% sulfur in dry-cured ham

<sup>NS</sup> : no significant

\* all the value are mean ± S.D. (n=5)

<표 9> 2차년도 유허돈육 생햄의 숙성 중 보수력 변화

Periods	Groups		
	CON	A	B
1 month	0.99±0 <sup>NSA</sup>	0.99±0 <sup>A</sup>	0.99±0 <sup>A</sup>
4 month	0.84±0.02 <sup>NSB</sup>	0.84±0.01 <sup>B</sup>	0.85±0.01 <sup>B</sup>
8 month	0.84±0.01 <sup>NSB</sup>	0.84±0.01 <sup>B</sup>	0.85±0.02 <sup>B</sup>

CON: control group

A: added 0.1% sulfur in dry-cured ham

B: added 0.3% sulfur in dry-cured ham

<sup>NS</sup> : no significant

\* all the value are mean ± S.D. (n=5)

<표 10> 2차년도 유허돈육 생햄의 숙성 중 TBA가 변화

Periods	Groups		
	CON	A	B
1 month	1.26±0.61 <sup>aNS</sup>	0.48±0.13 <sup>bNS</sup>	0.72±0.11 <sup>abNS</sup>
4 month	1.45±0.35 <sup>a</sup>	0.63±0.07 <sup>b</sup>	0.80±0.21 <sup>ab</sup>
8 month	1.51±0.26 <sup>a</sup>	0.83±0.37 <sup>b</sup>	0.84±0.42 <sup>b</sup>

CON: Control group

A: Dry-cured ham processed by 0.1% sulfur fed pork

B: Dry-cured ham processed by 0.3% sulfur fed pork

<sup>NS</sup> : No significant

\* All the value are mean ± S.D. (n=5)

<표 11> 2차년도 유허돈육 생햄의 숙성 중 미생물 수 변화

Composition	Groups			
		CON	A	B
Total aerobes	1month	2.2±0.12 <sup>aa</sup>	2.5±0.11 <sup>abA</sup>	2.1±0.14 <sup>aa</sup>
	4month	2.4±0.33 <sup>NSA</sup>	2.4±0.25 <sup>A</sup>	2.4±0.18 <sup>A</sup>
	8month	3.4±0.13 <sup>NSB</sup>	3.5±0.12 <sup>B</sup>	3.4±0.09 <sup>B</sup>
Lactic acid bacteria	1month	-	-	-
	4month	-	-	-
	8month	2.7±0.03 <sup>b</sup>	3.0±0.08 <sup>a</sup>	3.1±0.06 <sup>a</sup>
E.coli	1month	-	-	-
Staphylococcus aureus	4month	-	-	-
Salmonella Spp.	8month	-	-	-

CON: Control group

A: Dry-cured ham processed by 0.1% sulfur fed pork

B: Dry-cured ham processed by 0.3% sulfur fed pork

<sup>NS</sup> : No significant

\* All the value are mean ± S.D. (n=5)

<표 12> 2차년도 유허돈육 생햄의 숙성 중 지방산 조성 변화

Composition`	Groups			
		CON	A	B
C14:0(Myristate)	1month	1.50±0.09 <sup>ab</sup>	1.16±0.09 <sup>aA</sup>	1.43±0.10 <sup>b</sup>
	4month	1.45±0.15	1.34±0.02 <sup>B</sup>	1.48±0.09
	8month	1.51±0.11	1.50±0.19 <sup>AB</sup>	1.36±0.11
C16:0(Palmitate)	1month	25.28±0.74	26.59±0.95	25.09±0.93
	4month	26.88±1.12	25.74±0.25	26.99±0.90
	8month	25.77±0.52	26.77±1.38	25.73±1.06
C16:1n7 (Palmitoleate)	1month	3.20±0.21	2.97±0.30	3.20±0.61
	4month	3.45±0.91	2.77±0.17	2.82±0.50
	8month	3.30±0.37	2.84±0.58	3.09±0.69
C18:0(Stearate)	1month	14.47±0.76	15.64±0.42 <sup>A</sup>	14.58±1.05
	4month	14.50±1.49	14.91±0.42 <sup>A</sup>	15.25±1.01
	8month	13.45±1.22 <sup>b</sup>	15.70±0.13 <sup>aB</sup>	14.64±1.22 <sup>ab</sup>
C18:1n9(Oleate)	1month	41.32±3.61	41.18±1.04	41.09±1.07
	4month	39.86±2.70	39.52±2.08	42.13±0.71
	8month	42.24±0.25	41.99±0.49	41.73±0.53
C18:2n6(Linoleate)	1month	10.55±1.79	10.12±1.37 <sup>AB</sup>	10.99±1.98 <sup>A</sup>
	4month	10.63±2.03 <sup>ab</sup>	10.87±1.36 <sup>aA</sup>	7.72±0.71 <sup>bB</sup>
	8month	10.17±1.29	7.93±1.25 <sup>B</sup>	9.20±1.29 <sup>AB</sup>
C20:1n9(11- Eicosenoate)	1month	0.99±0.13	0.89±0.52	1.04±0.19
	4month	0.96±0.14	0.86±0.09	0.94±0.22
	8month	0.94±0.04	0.96±0.03	0.89±0.10
total SFA	1month	41.25±1.25	43.35±2.31	41.10±1.90
	4month	42.94±2.68	42.25±0.57	43.88±1.63
	8month	41.01±1.70	44.30±1.71	42.09±2.20
total MUFA	1month	45.49±3.62	44.74±0.51	45.32±1.45
	4month	44.35±3.12	43.36±2.4	46.33±0.92
	8month	46.58±0.28	45.85±0.34	45.84±0.51

CON: Control group

A: Dry-cured ham processed by 0.1% sulfur fed pork

B: Dry-cured ham processed by 0.3% sulfur fed pork

<sup>NS</sup> : No significant

\* All the value are mean ± S.D. (n=3)

<표 13> 3차년도 유허돈육 건염햄의 일반성분 (2012년 11월 제조 후 9개월)

Parameter	CON	A	B
Water	52.20±0.73 <sup>NS</sup>	52.67±5.04	54.42±1.54
Crude protein	30.55±3.96 <sup>NS</sup>	32.37±3.15	31.86±1.07
Crude fat	10.65±3.45 <sup>a</sup>	4.17±0.12 <sup>b</sup>	2.59±0.072 <sup>b</sup>
Ash	7.76±1.41 <sup>NS</sup>	7.29±1.11	5.95±0.01

CON: control group

A: added 0.1% sulfur in dry-cured ham

B: added 0.3% sulfur in dry-cured ham

<sup>NS</sup> : no significant

\* all the value are mean ± S.D. (n=5)

<표 14> 3차년도 유허돈육 건염햄의 이화학적 특성 (2012년 11월 제조 후 9개월)

Parameter	CON	A	B
TBA value	0.34±0.04 <sup>a</sup>	0.22±0.04 <sup>b</sup>	0.24±0.24 <sup>ab</sup>
Aw	0.97±0 <sup>a</sup>	0.96±0.003 <sup>b</sup>	0.99± 0.001 <sup>c</sup>

CON: control group

A: added 0.1% sulfur in dry-cured ham

B: added 0.3% sulfur in dry-cured ham

<sup>NS</sup> : no significant

\* all the value are mean ± S.D. (n=5)

<표 15> 3차년도 유허돈육 건염햄의 아미노산 조성 변화 (%)

	Period (month)	Treatments		
		Con	T1	T2
Aspartic acid	1	2.19	2.15	2.15
	4	3.90	3.30	3.37
	8	3.90	3.78	4.21
Threonine	1	1.08	1.06	1.04
	4	1.85	1.51	1.54
	8	1.83	1.78	1.96
Serine	1	0.94	0.93	0.93

	4	1.61	1.33	1.35
	8	1.61	1.55	1.72
	1	3.47	3.39	3.36
Glutamic acid	4	6.32	5.47	5.41
	8	6.35	5.99	6.91
	1	0.76	0.92	0.94
Proline	4	1.78	0.98	1.2
	8	1.32	1.21	1.32
	1	1.00	0.95	1.18
Glycine	4	1.84	1.45	1.47
	8	1.71	1.75	1.81
	1	1.26	1.2	1.26
Alanine	4	2.11	1.8	2.11
	8	2.14	2.08	2.29
	1	0.37	0.36	0.40
Cysteine	4	0.45	0.43	0.38
	8	0.48	0.52	0.53
	1	1.03	0.99	1.06
Valine	4	2.03	1.75	1.78
	8	2.04	1.97	2.26
	1	0.80	0.75	0.84
Methionine	4	1.05	0.98	0.87
	8	1.11	1.18	1.19
	1	1.06	1.03	1.01
Isoleucine	4	1.93	1.68	1.71
	8	1.97	1.88	2.17
	1	1.90	1.85	1.81
Leucine	4	3.28	2.84	2.88
	8	3.37	3.20	3.64
	1	0.83	0.83	0.79
Tyrosine	4	1.48	1.27	1.62
	8	1.51	1.4	1.29
	1	0.95	0.92	0.92
Phenylalanine	4	1.69	1.45	1.47
	8	1.72	1.62	1.86
	1	1.18	1.15	1.12
Histidine	4	1.94	1.84	1.92
	8	1.94	1.81	2.26
	1	3.93	3.8	1.8
Lysine	4	3.68	2.84	3.29

	8	3.81	3.56	4.09
	1	1.45	1.40	1.42
Arginine	4	2.69	2.39	2.38
	8	2.72	2.59	2.92

1) Control, commercially formulated feed; T1, control diet + 0.1% processed sulfur; T2, control diet + 0.3% processed sulfur

## 5. 유허돈육을 이용한 이소플라본, 삼채 및 발효 솔잎 추출물 첨가 살라미의 품질 측정

일반식이를 급여한 돈육과 0.3%의 유허을 급여한 돈육으로 살라미를 제조하고, 유허돈육을 급여한 돈육에 이소플라본과 발효 솔잎 추출물, 그리고 삼채를 첨가한 살라미를 제조하였다. 2013년 1월 18일에 1차적으로 일반식이 돈육과 유허돈육, 그리고 유허돈육에 이소플라본을 첨가한 살라미를 제조하였고, 2013년 2월 1일에 2차적으로 일반식이 돈육과 유허돈육, 그리고 발효 솔잎 추출물과 삼채를 첨가한 살라미를 제조하였다. 건조기간에 따라 1차 살라미에서는 수분활성도와 지방산패도, 지방산, 유산균, pH, VBN, 일반성분 변화를, 2차 살라미에서는 수분활성도와 pH, 미생물 수, 항산화 효능 변화, 관능검사를 실시하였다.

총 폴리페놀 함량은 삼채를 첨가한 살라미가 다른 군들에 비해 유의적으로 높은 결과를 보였으며, 유허돈육으로 제조한 살라미가 전반적인 맛에 있어서 유의적으로 높은 점수를 나타내었다.





**0일**



**5일**



**13일**

<사진 7> 이소플라본, 발효술잎추출물, 삼채를 첨가한 유황돈육 살라미 제조

<표 16> 숙성 중 살라미의 pH의 변화

<b>Storage Period</b>	<b>CON</b>	<b>T-1</b>	<b>T-2</b>	<b>T-3</b>
<b>1day</b>	<b>5.92</b>	<b>5.88</b>	<b>5.97</b>	<b>5.83</b>
<b>15day</b>	<b>5.92</b>	<b>5.87</b>	<b>5.68</b>	<b>5.91</b>
<b>30day</b>	<b>5.88</b>	<b>5.94</b>	<b>5.4</b>	<b>5.73</b>
<b>60day</b>	<b>5.96</b>	<b>5.94</b>	<b>5.62</b>	<b>5.52</b>

CON : Control group

T-1 : 0.3% Sulfur fed pork

T-2 : 0.3% Sulfur fed pork + AH(*Allium Hookeri*)

T-3 : 0.3% Sulfur fed pork + FPN(Fermented Pine Needle)

<표 17> 숙성 중 살라미의 젖산균 수 변화

<b>Storage Period</b>	<b>CON</b>	<b>T-1</b>	<b>T-2</b>	<b>T-3</b>
<b>1day</b>	<b>6.39</b>	<b>6.44</b>	<b>6.58</b>	<b>6.5</b>
<b>15day</b>	<b>6.67</b>	<b>6.30</b>	<b>8.12</b>	<b>6.67</b>
<b>30day</b>	<b>6.35</b>	<b>6.64</b>	<b>8.32</b>	<b>7.45</b>
<b>60day</b>	<b>6.51</b>	<b>6.15</b>	<b>7.30</b>	<b>8.26</b>

CON : Control group

T-1 : 0.3% Sulfur fed pork

T-2 : 0.3% Sulfur fed pork + AH(*Allium Hookeri*)

T-3 : 0.3% Sulfur fed pork + FPN(Fermented Pine Needle)

<표 18> 숙성 중 살라미의 총 페놀 함량 및 항산화 활성도 비교

		Con	T-1	T-2	T-3
DPPH (%)	1day	82.14±0.450 <sup>NSb</sup>	82.69±0.229 <sup>Aab</sup>	83.04±0.000 <sup>Aa</sup>	83.09±0.677 <sup>Aa</sup>
	15day	80.39±0.568 <sup>ns</sup>	81.35±0.000 <sup>AB</sup>	80.99±0.313 <sup>B</sup>	81.59±1.137
	30day	79.44±0.654 <sup>bc</sup>	80.14±1.345 <sup>Bb</sup>	78.13±0.483 <sup>Bc</sup>	83.74±0.2293 <sup>Aa</sup>
	60day	78.33±2.812 <sup>ns</sup>	79.54±2.103 <sup>B</sup>	80.14±1.345 <sup>C</sup>	79.39±2.258 <sup>B</sup>
Total Contents (mg/g GAE)	1day	0.20±0.034 <sup>Db</sup>	0.27±0.006 <sup>Ca</sup>	0.26±0.028 <sup>Da</sup>	0.24±0.056 <sup>Db</sup>
	15day	0.52±0.009 <sup>Cb</sup>	0.50±0.054 <sup>Bb</sup>	0.66±0.079 <sup>Ca</sup>	0.48±0.148 <sup>Cb</sup>
	30day	0.70±0.023 <sup>Bb</sup>	0.71±0.053 <sup>Ab</sup>	0.89±0.012 <sup>Ba</sup>	0.77±0.020 <sup>Bb</sup>
	60day	0.84±0.049 <sup>Ab</sup>	0.84±0.090 <sup>Ab</sup>	1.02±0.057 <sup>Aa</sup>	0.92±0.032 <sup>Ab</sup>

All values are the means ± SD (n=12)

<sup>a-d</sup>: Means of small letters followed by different letters within the same line are significantly different among each groups, p<0.05 (analysed using Duncan's multiple range test)

<sup>A-D</sup>: Means of capital followed by different letters within the same column are significantly different during period, p<0.05 (analysed using Duncan's multiple range test)

Con : Control group

T-1 : Fermented sausage using 0.3% Sulfur fed pork

T-2 : Fermented sausage using 0.3% Sulfur fed pork added *Allium Hookeri*

T-3 : Fermented sausage using 0.3% Sulfur fed pork added Fermented Pine Needle

<표 19> 유허돈육 살라미의 관능평가

	Con	T-1	T-2	T-3
Taste	3.00±0.739 <sup>b</sup>	4.00±0.426 <sup>a</sup>	2.75±1.215 <sup>b</sup>	2.58±0.669 <sup>b</sup>
Flavor	3.17±0.937 <sup>ab</sup>	3.67±0.651 <sup>b</sup>	2.67±0.985 <sup>b</sup>	2.75±0.754 <sup>b</sup>
Color	3.42±0.793 <sup>a</sup>	3.92±0.515 <sup>a</sup>	2.67±1.155 <sup>b</sup>	3.58±0.669 <sup>a</sup>
Hardness	3.58±0.669 <sup>ns</sup>	3.50±0.522	3.67±0.985	3.58±0.669
Juiciness	3.00±0.853 <sup>ns</sup>	3.25±0.866	3.25±1.138	2.92±0.900
Overall acceptance	3.08±0.669 <sup>b</sup>	4.08±0.515 <sup>a</sup>	3.00±1.045 <sup>b</sup>	3.00±0.603 <sup>b</sup>

All values are the means ± SD (n=12)

<sup>a-d</sup>: Means of small letters followed by different letters within the same line are significantly different among each groups, p<0.05 (analysed using Duncan's multiple range test)

<sup>A-D</sup>: Means of capital followed by different letters within the same column are significantly different during period, p<0.05 (analysed using Duncan's multiple range test)

Con : Control group

T-1 : Fermented sausage using 0.3% Sulfur fed pork

T-2 : Fermented sausage using 0.3% Sulfur fed pork added *Allium Hookeri*

T-3 : Fermented sausage using 0.3% Sulfur fed pork added Fermented Pine Needle

## 6. 기술이전 설명회 및 품평회

2013년 5월 14일, “유황돈육 생햄, 한국형 하몽”에 관한 기술로 기술이전 설명회 및 시식회를 개최



<사진 8> 기술이전 설명회 및 품평회

## 제 2 절 돈피(pork skin) 콜라겐과 식이섬유를 활용한 기능성 식육제품 개발

### 1. 돈피(pork skin) 콜라겐과 식이섬유를 활용한 웰빙형 고기 순대의 개발

#### 가. 돈피(pork skin) 젤라틴의 품질특성 및 돈혈을 포함하는 돈피 젤라틴 혼합물의 가공적성

##### (1) 서론

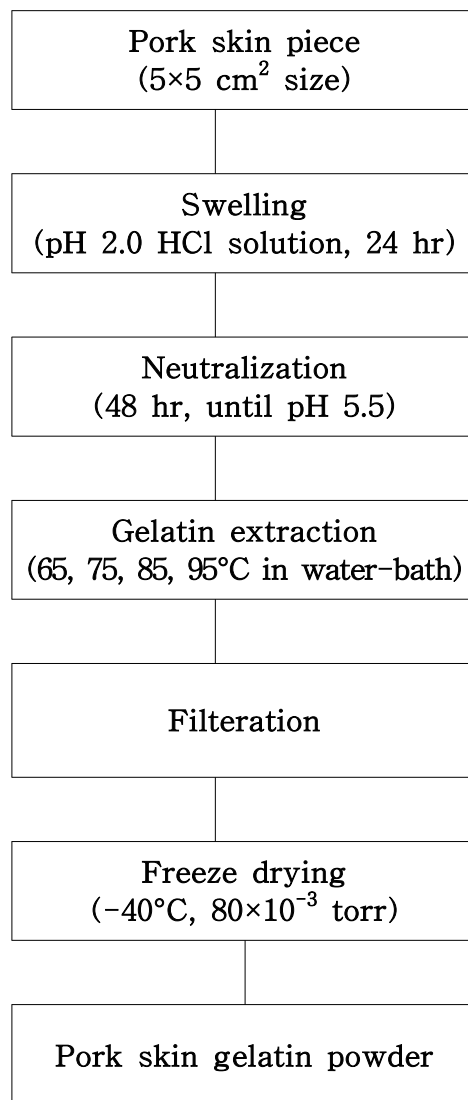
국내 시판되는 순대는 크게 당면순대, 고기순대 및 오징어순대로 구분된다. 당면순대는 대부분 노점상에서 판매가 이루어지며, 오징어순대는 특정지역에서만 판매가 되고 있지만, 서울, 수원, 백암, 부산 광주 등 대부분의 유명 순대 전문점에서는 고기순대의 형태로 판매되고 있다(Sohn *et al.*, 1999a). 그러나 시판되는 고기순대는 결착력이 열악하여 입안에서 쉽게 부서져 버린다. 이를 개선하기 위한 연구로서 Sohn 등(1999a)은 일반적으로 순대에 첨가되는 돈혈을 혈장과 난백으로 대체한 결과 물성이 더욱 열악해지는 경향을 나타내었으나 관능적 특성에 영향을 미치지 않아 대체가능성을 확인할 수 있다고 보고하였다. 또한 혈장과 난백을 활용하여 돈혈을 대체한 순대를 제조할 경우 돈혈과 비교하여 난백에 함유된 콜레스테롤 함량이 낮아 기존의 순대와 비교하여 콜레스테롤 함량이 낮은 전통순대의 개발이 가능하다고 보고되어 있다(Sohn *et al.*, 1999b). Oh(2012)는 순대에 대한 문헌적 고찰을 연구한 결과 개고기, 소고기, 돼지고기, 양고기 등을 활용한 육류순대 및 생선을 활용한 어류순대들이 조선시대에 섭취되었던 것으로 보고하였다. Jeong 등(2012)은 감마선 조사를 실시하여 관능적 특성의 저하없이 오징어순대의 상온저장성을 향상시킬 수 있다고 보고하였다. 그러나 현재 전통순대의 제조공정 개선과 품질향상에 대한 연구는 거의 이루어지지 않고 있는 실정이다. 현재 전통의 방식을 이용하는 지역순대를 제외하고는 대부분이 당면으로 속을 채운 순대들이 상업적으로 유통되고 있으며, 그 제조방식 또한 다양하다고 할 수 있다. 순대 제조공정의 표준화와 연구개발이 어려운 이유는 사용되는 재료들이 다양하고 그 형태가 균일하지 않기 때문일 것이다. 그러나 우리나라 전통육제품인 순대의 가치향상 및 섭취증진을 위해서는 앞서 언급된 결착력 부족 등을 개선하기 위한 연구가 필요하다. 더욱이 순대에 관한 대부분의 연구가 국내에서나마 미비하게 이루어지는 실정으로 서양의 선진화된 식육가공 기술과 기능성 소재를 활용한 전통순대의 품질특성 향상이 요구된다.

따라서 본 연구는 콜라겐을 풍부하게 함유하고 있는 돈피(pork skin)로부터 산처리를 실시하여 젤라틴을 추출하고 돈피 젤라틴의 이화학적 특성을 평가 및 돈피젤라틴, 돈혈 및 미강 식이섬유 혼합물의 가공적성을 조사하여 고기순대의 품질특성 향상을 위한 기능성 소재로 활용하고자 한다.

##### (2) 재료 및 방법

(가) 돈피로부터 젤라틴의 추출

등 부위의 생돈피(pork skin, 두께 약  $5\pm 2$  mm)를 시장에서 구입하여 눈에 보이는 피하지방을 제거하고,  $5\times 5$  cm<sup>2</sup>의 일정한 크기로 절단하여 돈피 젤라틴 추출에 사용하였다. 준비된 돈피를 pH 2.0로 제조된 HCl 용액에 침지시켜 24시간 동안 팽윤시킨 후, 산을 제거하기 위하여 48시간 동안 흐르는 수돗물로 세척하였다. 중화과정을 거친 돈피는 polyethylene 포장지에 진공 포장하여, 각각 65, 75, 85 및  $95\pm 2^\circ\text{C}$ 로 설정된 water-bath에 넣어 2시간 동안 추출공정을 실시하였다. 포장지 내에 추출된 젤라틴 수용액을 여과한 후, 상온에서 충분히 냉각시켜 돈피 젤라틴 겔을 형성시킨 뒤 상층의 지방을 제거하였다. 지방층이 제거된 돈피 젤라틴 겔을  $-70\pm 1^\circ\text{C}$ 에서 예비 동결한 후  $-40^\circ\text{C}$ 에서  $80\times 10^{-3}$  torr압력으로 48시간 동안 수분함량 3% 이하로 동결 건조하였다(PVTF20R, Ilshinlab, Yangju, Korea). 돈피에서 추출된 젤라틴 분말 제조 공정은 <Fig. 1-1>에 나타내었다.



<Fig. 1-1> Processing procedure of gelatin powder extracted from pork skin

(나) 돈피 젤라틴 혼합물의 제조

돈피 젤라틴 혼합물에 사용된 돈피 젤라틴 겔은 가장 우수한 특성을 나타낸 65°C 추출 돈피 젤라틴 분말을 6% 농도(w/v)로 60°C 열수에 용해하여 제조하였다. 이후 돈피 젤라틴 겔, 돈혈 및 미강 식이섬유를 균질기(homogenizer, AM-8, Japan)에 1분간 교반하여 돈피 젤라틴 혼합물을 제조하였다<Table 1-1>.

<Table 1-1> Formulation of mixtures prepared with pork skin gelatin powder

(unit, %)

Ingredients	Control	Treatments <sup>1)</sup>		
		T1	T2	T3
Pork skin gelatin gel <sup>2)</sup>	75	75	75	75
Pork blood	25	25	25	25
Total	100	100	100	100
Rice bran fiber	0	1	2	3

<sup>1)</sup>Treatments: control, without rice bran fiber; T1, T2, and T3 contains 1, 2, and 3% rice bran fiber, respectively.

<sup>2)</sup>Pork skin gelatin gel: the 6% gelatin powder extracted by 65°C hot water is dissolved with 60°C hot water.

(다) 실험방법

① 젤라틴 추출수율(gelatin extraction yield)

젤라틴 추출수율은 다음의 수식을 이용하여 산출하였다.

$$\text{젤라틴 추출수율 (\%)} = \frac{\text{젤라틴 분말의 무게 (g)}}{\text{팽윤 이전에 시료의 무게 (g)}} \times 100$$

② 점도 측정(apparent viscosity)

돈피 젤라틴과 혼합물의 점도는 회전식 점도계(VT-550, Haake, Germany)를 사용하되, 시료 8 g과 어댑터(adapter)는 13번을 이용하였으며, 실험온도 20°C를 유지하기 위해 메탄올 항온 수조(Model No. RKS-20-D, Lauda, Germany)에서 온도를 유지하면서 겔보기 점도를 측정하였다.

③ 겔 강도(gel strength)

돈피 젤라틴의 겔 강도의 측정을 위하여 각각의 추출온도의 열수에 용해된 젤라틴을 용해하

여 졸 상태의 6% 젤라틴 수용액(w/v)을 직경 2.5 cm의 플라스틱 관에 충전한 이후  $4\pm 1^\circ\text{C}$  냉장고에서 겔을 형성하였다. 일정한 크기( $2.5\times 3\text{ cm}^2$ , 직경 $\times$ 높이)의 시료를 texture analyzer(TA-XT2i, Stable Micro System, England)를 이용하여 겔 강도를 분석하였다. 이때의 조건은 2 cm의 probe를 이용하여 2.0 mm/s의 침입속도로 최고값을 각 시료의 겔 강도로 사용하였다.

#### ④ 용점(melting point)

겔화된 젤라틴의 용점을 측정하기 위하여 용점측정기(Melting point apparatus analyzer, ATM-01, AS ONE, Japan)를 이용하여 온도를 상승시켜 시료의 1/2정도가 용해되는 온도를 용점으로 측정하였다.

#### ⑤ 색도(color measurement)

돈피 젤라틴과 혼합물의 표면을 Colorimeter(Chromameter, CR210, Minolta, Japan)를 사용하여 CIE  $L^*$ -값(명도), CIE  $a^*$ -값(적색도)과 CIE  $b^*$ -값(황색도)을 측정하였다. 이때의 표준색은  $L^*$ -값은 +97.83,  $a^*$ -값이 -0.43,  $b^*$ -값이 +1.98인 백색 표준판을 사용하였다.

#### ⑥ pH 측정(pH measurement)

돈피 젤라틴 혼합물의 pH는 시료 5 g을 취하여 증류수 20 mL과 혼합하고 Ultra-turrax(Model NO. T25, Janken & Kunkel, Germany)를 사용하여 8,000 rpm에서 1분간 균질한 후 pH meter(Model 340, Mettler-Toledo, Switzerland)를 사용하여 측정하였다.

#### ⑦ 물성 측정(texture profile analysis)

돈피 젤라틴 혼합물의 물성은 texture analyzer(TA-XT2i, Stable Micro Systems, England)에 5 mm 직경 실린더 모양 probe(5 mm diameter cylinder probe)를 장착한 후 제조된 시료의 근섬유 방향과 수직으로 관통시켜 hardness(경도, kg), springiness(탄력성), cohesiveness(응집성), gumminess(겔성, kg) 및 chewiness(씹음성, kg)를 분석하였다. 이때의 분석조건은 stroke 20 g, test speed 2.0 mm/sec, distance 10.0 mm로 설정하여 측정하였다.

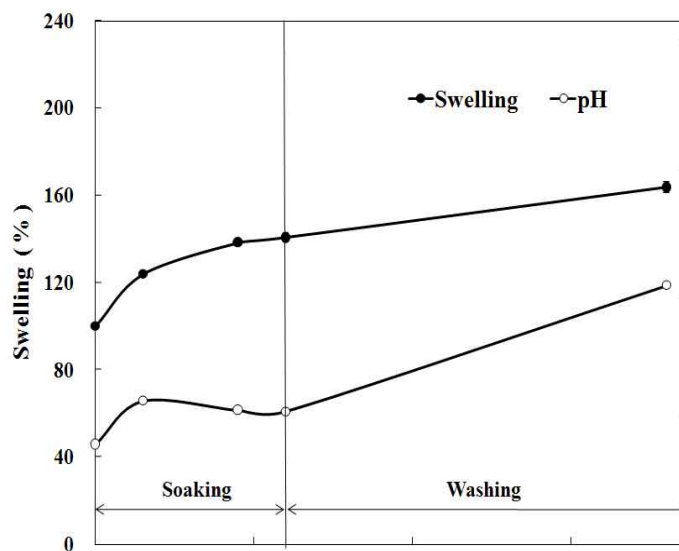
#### ⑧ 통계분석(statistical analysis)

통계분석은 SAS program(SAS, 2008)의 GLM(General Linear Model) procedure를 통하여 분석하였고, 처리구간의 평균간 비교는 Duncan의 다중검정을 통하여 유의성 검정( $p<0.05$ )을 실시하였다.



### (3) 연구결과

돈피 팽윤의 목적은 콜라겐을 함유한 원료로부터 가능한 많은 양의 고순도 젤라틴을 추출하기 위하여 실시하며, 돈피에서 추출되는 젤라틴은 type A형으로 산성의 조건하에서 추출이 용이하다(Gallop, 1963). <Fig. 1-2>는 산침지 시간과 수세과정에 따른 돈피 팽윤물의 무게 및 pH 변화를 나타내었다. 침지시간이 경과함에 따라 돈피 팽윤물의 무게는 163%까지 증가하였다( $p < 0.05$ ). 산침지 과정에서 돈피 팽윤물의 무게의 증가는 콜라겐 단백질이 산용액에서 팽윤하는 성질에 기인한다(Kramlich *et al.*, 1973). 침지된 용액의 pH는 초기 2.0에서 6시간 후에 2.88로 증가하다가 서서히 감소하였다. 침지 24시간 후에는 2.69로 감소하였으며, pH 2.88에서 팽윤율이 124%로 가장 높았다.



<Fig. 1-2> Changes in the swelling rate and pH value of pork skin soaked in acidic solution (pH 2).

겔 강도, 점도 및 용점은 젤라틴의 이화학적 특성을 나타내는 중요한 요인들로(Wainwright, 1977), 원재료의 아미노산 조성 혹은 젤라틴의 추출공정 등에 영향을 받는다고 보고되어 있다(Park *et al.*, 2013). 추출온도가 돈피 젤라틴의 추출수율, 점도, 녹는점 및 색도에 미치는 영향은 <Table 1-2>에 나타내었다. 추출온도가 증가할수록 돈피로부터 젤라틴 추출수율은 유의적으로 증가하였다( $p < 0.05$ ). 돈피 젤라틴의 점도와 용점은 각각 3.31-9.12 pa·s와 32.38-34.50%로 추출온도가 증가할수록 점도와 용점 모두 감소하는 경향을 나타내었다. 용해된 젤라틴의 점도는 분자량에 영향을 받으며, 점도가 감소되는 현상은 산처리 과정을 거친 콜라겐이 팽윤되고 내부 구조의 교차결합(cross-links)이 끊어짐에 따라 콜라겐의 변성 온도가 낮아져 추출된 젤라틴이 저분자화 되기 때문이다(Lim *et al.*, 2002). 돈피 젤라틴의 명도와 황색도는 추출온도가 증가함에 따라 높아지는 경향을 나타내었으나 이와 반대로 적색도는 낮아지는 경향을 나타내었다.

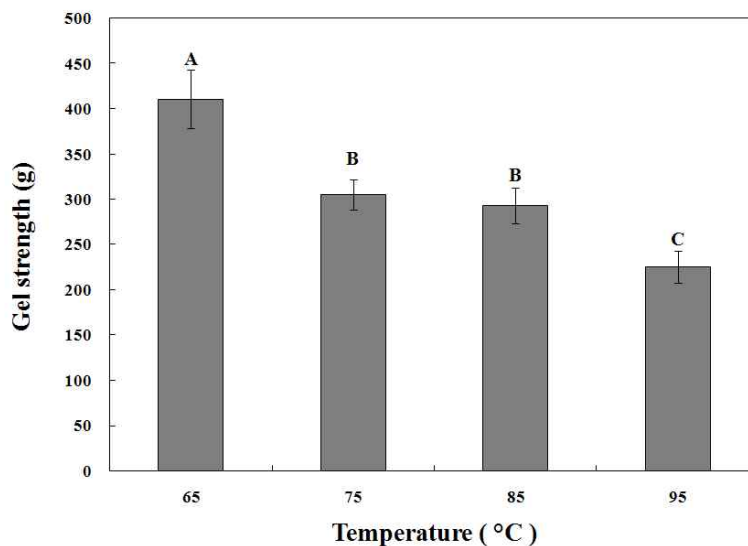
<Table 1-2> Effect of extracting temperature on physico-chemical properties of pork skin gelatin

Traits	Extracting temperature (°C)			
	65	75	85	95
Gelatin extraction yield (%)	14.65±0.07 <sup>D</sup>	17.64±0.06 <sup>C</sup>	18.02±0.08 <sup>B</sup>	19.31±0.05 <sup>A</sup>
Viscosity (pa·s)	9.12±1.07 <sup>A</sup>	7.17±0.80 <sup>B</sup>	5.96±0.76 <sup>BC</sup>	3.31±0.05 <sup>D</sup>
Melting point (°C)	34.50±0.41 <sup>A</sup>	33.88±0.63 <sup>A</sup>	32.50±0.41 <sup>B</sup>	32.38±0.48 <sup>B</sup>
CIE L* (lightness)	45.44±0.62 <sup>B</sup>	50.95±1.42 <sup>A</sup>	51.04±2.90 <sup>A</sup>	54.28±3.51 <sup>A</sup>
CIE a* (redness)	-0.94±0.04 <sup>A</sup>	-1.22±0.11 <sup>B</sup>	-1.32±0.11 <sup>B</sup>	-1.51±0.09 <sup>C</sup>
CIE b* (yellowness)	1.38±0.36	1.40±0.39	1.65±0.77	1.76±0.21

All values are mean±standard deviation.

<sup>A-D</sup>Means in a row with different letters are significantly different ( $p<0.05$ ).

추출온도에 따른 돈피 젤라틴의 겔 강도는 <Fig. 1-3>에 나타내었다. 겔 강도는 65°C에서 추출된 돈피 젤라틴(423 g)이 가장 높은 수치를 나타내었으며, 추출온도가 증가할수록 낮은 겔 강도를 나타내었다. 이는 높은 온도에서 젤라틴을 추출할 경우 고온에서의 저분자화가 주된 원인이라고 사료된다.



<Fig. 1-3> Effect of extracting temperature on gel strength of pork skin gelatin.

Gelatin gel (6% w/v) is prepared with each gelatin powder extracted by various extracting temperatures. <sup>A-C</sup>The different letters among each treatment are significantly different ( $p<0.05$ ).

미강 식이섬유 첨가량이 혈액을 포함하는 돈피 젤라틴 혼합물의 이화학적 특성에 미치는 영향은 <Table 1-3>에 나타내었다. 돈피 젤라틴 혼합물의 점도와 pH는 미강 식이섬유 첨가량이 증가함에 따라 유의적으로 증가하는 경향을 나타내었다( $p<0.05$ ). 이는 식이섬유의 기능적 특성으로 인하여 그 첨가량이 증가함에 따라 점성이 높아졌기 때문이다(Claus and Hunt, 1991). 명도는 미강 식이섬유 첨가 처리구가 대조구와 비교하여 유의적으로 높은 수치를 나타내었으나( $p<0.05$ ), 적색도와 황색도에서는 처리구들 사이의 유의적인 차이를 나타내지 않았다( $p>0.05$ ).

<Table 1-3> Effect of rice bran fiber on physico-chemical properties of pork skin gelatin mixture<sup>1)</sup>

Traits	Added levels of rice bran fiber (%)			
	0	1	2	3
Viscosity (pa·s)	5.91±0.33 <sup>D</sup>	8.13±0.43 <sup>C</sup>	18.97±0.57 <sup>B</sup>	47.50±0.98 <sup>A</sup>
pH value	6.31±0.01 <sup>C</sup>	6.34±0.01 <sup>B</sup>	6.45±0.01 <sup>A</sup>	6.46±0.01 <sup>A</sup>
CIE L* (lightness)	17.88±2.47 <sup>B</sup>	20.75±0.65 <sup>A</sup>	21.65±1.06 <sup>A</sup>	20.79±0.37 <sup>A</sup>
CIE a* (redness)	3.61±0.22	3.45±0.33	3.55±0.42	3.50±0.52
CIE b* (yellowness)	2.12±0.48	2.34±0.32	2.20±0.44	2.19±0.17

All values are mean±standard deviation.

<sup>1)</sup>Pork skin gelatin mixture: the mixture contains 25% pork blood and 75% gelatin gel (6% gelatin concentration).

<sup>A-D</sup>Means in a row with different letters are significantly different ( $p<0.05$ ).

미강 식이섬유 첨가량이 혈액을 포함하는 돈피 젤라틴 혼합물의 물성에 미치는 영향은 <Table 1-4>에 나타내었다. 미강 식이섬유 첨가량이 증가함에 따라 돈피 젤라틴 혼합물의 경도는 증가하는 경향을 나타내었으며, 3% 미강 식이섬유 처리구는 대조구와 비교하여 유의적으로 높은 경도를 나타내었다( $p<0.05$ ). 이는 식이섬유의 보수력, 결합력 및 무기질과의 결합력을 갖는 기능적 특성이 돈피 젤라틴 혼합물의 경도를 증가시킨 결과로서(Cofrades *et al.*, 2000), 3% 이상의 미강 식이섬유를 첨가할 경우 돈피 젤라틴 혼합물의 경도 증가를 기대할 수 있다고 사료된다. 그러나 미강 식이섬유 첨가량에 따른 처리구간의 탄력성, 응집성, 검성 및 씹음성은 유의적인 차이를 나타내지 않았다( $p>0.05$ ).

<Table 1-4> Effect of rice bran fiber on textural properties of pork skin gelatin mixture<sup>1)</sup>

Traits	Added levels of rice bran fiber (%)			
	0	1	2	3
Hardness (kg)	1.83±0.41 <sup>B</sup>	2.04±0.22 <sup>AB</sup>	2.11±0.46 <sup>AB</sup>	2.45±0.20 <sup>A</sup>
Springiness	0.95±0.01	0.94±0.03	0.94±0.07	0.96±0.05
Cohesiveness	0.28±0.04	0.42±0.25	0.33±0.09	0.29±0.06
Gumminess (kg)	0.51±0.16	0.88±0.58	0.71±0.30	0.72±0.13
Chewiness (kg)	0.49±0.16	0.83±0.56	0.64±0.29	0.69±0.12

All values are mean±standard deviation.

<sup>1)</sup>Pork skin gelatin mixture: the mixture contains 25% pork blood and 75% gelatin gel (6% gelatin concentration).

<sup>A,B</sup>Means in a row with different letters are significantly different ( $p<0.05$ ).

## 나. 다양한 천연식초로 팽윤된 돈피(pork skin)를 이용한 고기순대의 개발

### (1) 서론

우리나라의 전통육제품에 대한 관심이 증가하면서 순대에 대한 기호도가 증가하고 있다. 고기순대는 머리고기만을 넣은 머리고기형과 머리고기와 내장육을 혼합한 형태 및 머리고기와 내장육에 머리고기 스킨을 혼합한 형태가 있다. 고기순대의 결착력은 대체로 고급(고가)제품일수록 좋았지만, 고기순대의 결착력과 보수력이 낮아 쉽게 부서지기 때문에 순대를 고급화 하는데 어려움이 있다.

최근 다양한 기능성 소재들이 식육가공품의 품질특성 향상을 위하여 사용되고 있다. 특히 콜라겐은 식육가공품의 물성 형성에 중요한 역할을 하는 기능성 소재 중 하나로서, 그 효과는 가열과정 중 겔화(gelatization)능력 및 결합(comminution)능력에 크게 의존적이라고 하였다 (Prabhu *et al.*, 2004). 돈피(pork)는 다량의 콜라겐을 함유하고 있어 젤라틴 추출을 위한 유용한 가축부산물 중 하나이다(Kim *et al.*, 1988). 조직에 포함된 콜라겐은 산과 알칼리 조건하에서 콜라겐 가교결합(cross-linking)이 약화되어 젤라틴의 추출이 용이해지며, 돈피에 함유된 젤라틴은 type A형태로서 산처리 방법에 의하여 추출될 수 있다. Kim 등(1988)의 보고에 따르면 pH 2-3의 조건에서 돈피는 가장 높은 팽윤율을 나타내었으며, 산성 용액의 종류에 의해서는 5% 아세트산이 가장 높은 팽윤정도를 나타낸다고 하였다. Yeom 등(2004)의 연구에 의하면 돈피에서 추출된 젤라틴의 물성은 젖산(lactic acid), 구연산(citric acid)와 아세트산(acetic acid) 순으로 높은 수치를 나타낸다고 하였다.

위와 같은 젤라틴 추출공정의 최적화 연구와 더불어 최근에는 돈피 추출 콜라겐 및 유용성분의 생리활성에 관한 다양한 연구들이 진행되고 있다. Han과 Kang(2008)은 돈피에서 추출된 콜라겐 식이가 갱년기 여성의 피부 갈라짐을 개선할 수 있다고 보고하였다. Park 등(2012)은 난소가 제거되어 골다공증이 유발된 흰쥐에 돈피에서 추출된 젤라틴을 단백질 가수분해용 효소인 protamex와 flavourzyme으로 분해하여 저분자 펩타이드로 제조하여 급여한 결과 흰쥐의 골밀도가 증가한다고 보고하였다. 또한 Kim 등(2013)은 돈피 젤라틴 효소분해물이 항산화 및 신경보호효과를 갖는다고 보고하였다. 이러한 다양한 생리활성 효능이 밝혀짐에 따라 기능성 소재로서 돈피 콜라겐 및 이로부터 추출된 유용성분들의 활용가능성이 확대될 것으로 기대된다. 그러나 대부분의 돈피 콜라겐 추출공정이 산처리를 위하여 강산을 이용하고 있는 실정으로, 향후 돈피의 건강·기능성 향상을 위해서는 천연의 소재를 활용한 산처리 공정의 개발 및 품질특성 평가에 관한 연구가 필요한 실정이다.

따라서 본 연구에서는 현미, 사과, 감 및 복분자 식초 등의 천연 발효식초에 팽윤된 돈피를 이용하여 고기순대를 개발 및 제조하여 품질특성을 조사하였다. 또한 다양한 식이섬유를 고기순대에 활용하여 가공적성 및 품질특성을 비교함으로써, 다양한 발효식초 및 식이섬유를 활용한 고기순대를 개발하고자 한다.

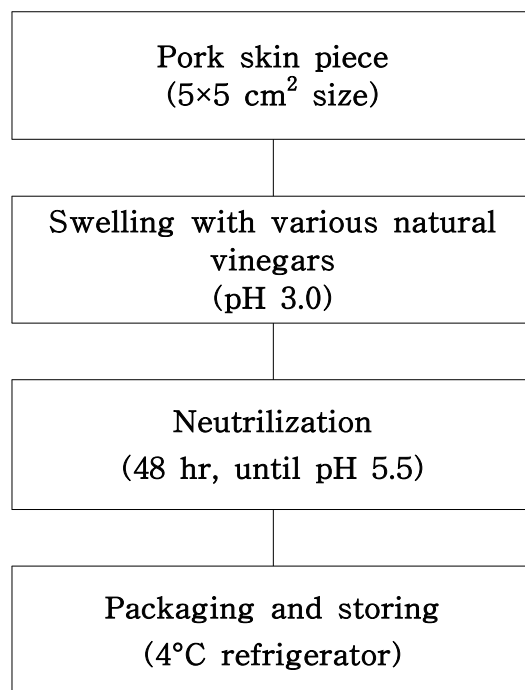
## (2) 재료 및 방법

### (가) 돈피 팽윤

등 부위의 생돈피(pork skin, 두께 약  $5\pm 2$  mm)를 시장에서 구입하여 눈에 보이는 피하지방을 제거하고,  $5\times 5$  cm<sup>2</sup> 크기로 절단하여 원료로 사용하였다<Fig. 1-4>. 일정한 크기로 절단된 돈피를 pH 3.0으로 희석된 현미식초(rice vinegar), 사과식초(apple vinegar), 감식초(persimmon vinegar), 복분자식초(rubus coreanus fruit vinegar)용액에서 48시간 팽윤시킨 후<Fig. 1-5>, 48시간 동안 흐르는 수돗물로 세척하여 산을 제거하고 polyethylene 포장하여 고기순대 제조 전까지 4°C에서 냉장 보관하였다.

### (나) 고기순대 제조

천연식초로 팽윤된 돈피를 이용한 고기순대의 배합비율은 <Table 1-6>와 같았으며, 고기순대의 제조 공정은 <Fig. 1-6>과 같이 실시하였다. 4°C에서 12시간 염지된 돈육과 앞서 팽윤된 돈피를  $80\pm 2$ °C로 설정된 water-bath에서 40분간 가열 후, 8 mm plate가 장착된 그라인더(chopper, Mainca, PM-100, Spain)로 분쇄하여 준비하였다. 이후 양념 및 부재료를 혼합하여 고기순대 혼합물을 제조하고 충전기(KONTI-A50, FREY, Germany)를 이용하여 돈장에 충전하였다. 제조된 고기순대는 스모크챔버(MAXI3501, KERRES, Germany)에서 가열( $80\pm 2$ °C, 50분) 및 냉각(20분)공정을 통하여 천연식초 팽윤 돈피를 활용한 고기순대를 제조하였고, polyethylene 포장지를 사용하여 진공포장 후 냉장 보관하면서 품질특성을 조사하였다.



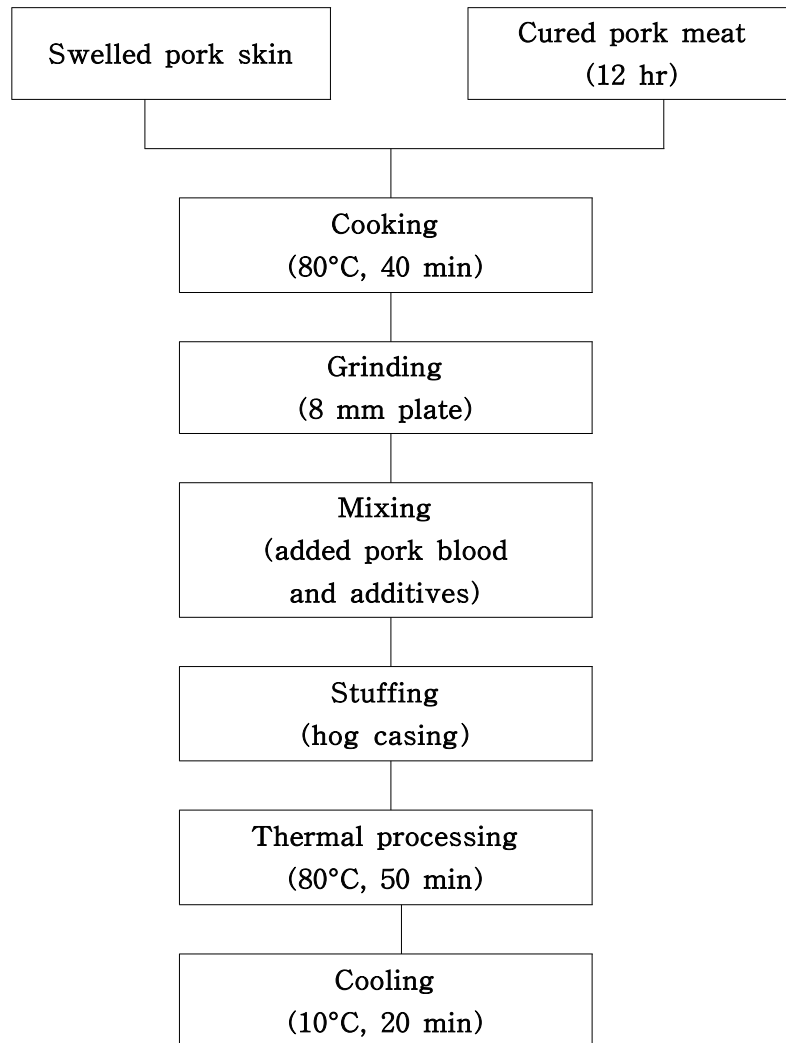
<Fig. 1-4> Preparing procedure of pork skin swelled with various natural vinegars.



<Fig. 1-5> Pork skins swelled with various natural vinegars.

<Table 1-5> Formulation of meat *soondae* prepared with pork skin swelled with natural vinegar

		(unit, %)
Main ingredients	Swelled pork skin	35
	Pork ham	60
	Pork blood	5
Total		100
Additives	Sugar	1.0
	Nitrite pickled salt (NPS, 99.4:0.6)	1.5
	Carrot	5.0
	Onion juice	4.0
	Green onion juice	3.0
	Garlic juice	3.0
	Ginger juice	0.5
	Black pepper	0.3
	Monosodium <sub>L</sub> -glutamate (MSG)	0.3
Isolated soy protein (ISP)	2.0	



<Fig. 1-6> Manufacturing procedure of meat *soondae* made with pork skin swelled with various natural vinegars.

(다) 실험방법

① 돈피 팽윤율(swelling ratio)

천연식초에 팽윤된 돈피의 팽윤율은 팽윤 이전 돈피의 무게에 대한 팽윤 이후 돈피의 무게를 백분율로 환산하여 산출하였다.

$$\text{돈피 팽윤율 (\%)} = \frac{\text{팽윤 이후 시료의 무게 (g)}}{\text{팽윤 이전에 시료의 무게 (g)}} \times 100$$

② 일반성분(proximate composition)

고기순대의 일반성분 정량은 AOAC법(1995)에 따라 수분함량은 105°C 상압건조법, 조단백질 함량은 Kjeldahl 법, 조지방 함량은 Soxhlet 법, 조회분 함량은 550°C에서 직접회화법으로 분석하였다.



③ pH 측정(pH measurement)

시료의 pH는 시료 5 g을 취하여 증류수 20 mL과 혼합하고 Ultra-turrax(Model NO. T25, Janken & Kunkel, Germany)를 사용하여 8,000 rpm에서 1분간 균질한 후 pH meter(Model 340, Mettler-Toledo, Switzerland)를 사용하여 측정하였다.

④ 가열감량(cooking loss)

천연식초로 팽윤된 돈피를 함유하는 고기순대의 가열감량은 가열 이전 무게에 대한 가열 이후 감량손실에 대한 백분율로 산출하여 나타내었다.

$$\text{가열감량 (\%)} = \frac{[\text{가열 이전 시료의 무게 (g)} - \text{가열 이후 시료의 무게 (g)}]}{\text{가열 이전 시료의 무게 (g)}} \times 100$$

⑤ 색도(color measurement)

천연식초로 팽윤된 돈피를 함유하는 고기순대의 표면을 Colorimeter(Chromameter, CR210, Minolta, Japan)를 사용하여 CIE L\* -값(명도), CIE a\* -값(적색도)과 CIE b\* -값(황색도)을 측정하였다. 이때의 표준색은 L\* -값은 +97.83, a\* -값이 -0.43, b\* -값이 +1.98인 백색 표준판을 사용하였다.

⑥ 물성 측정(texture profile analysis)

고기순대의 물성은 texture analyzer(TA-XT2i, Stable Micro Systems, England)에 5 mm 직경 실린더 모양 probe(5 mm diameter cylinder probe)를 장착한 후 제조된 시료의 근섬유 방향과 수직으로 관통시켜 hardness(경도, kg), springiness(탄력성), cohesiveness(응집성), gumminess(점성, kg) 및 chewiness(씹음성, kg)를 분석하였다. 이때의 분석조건은 stroke 20 g, test speed 2.0 mm/sec, distance 10.0 mm로 설정하여 측정하였다.

⑦ 관능검사(sensory evaluation)

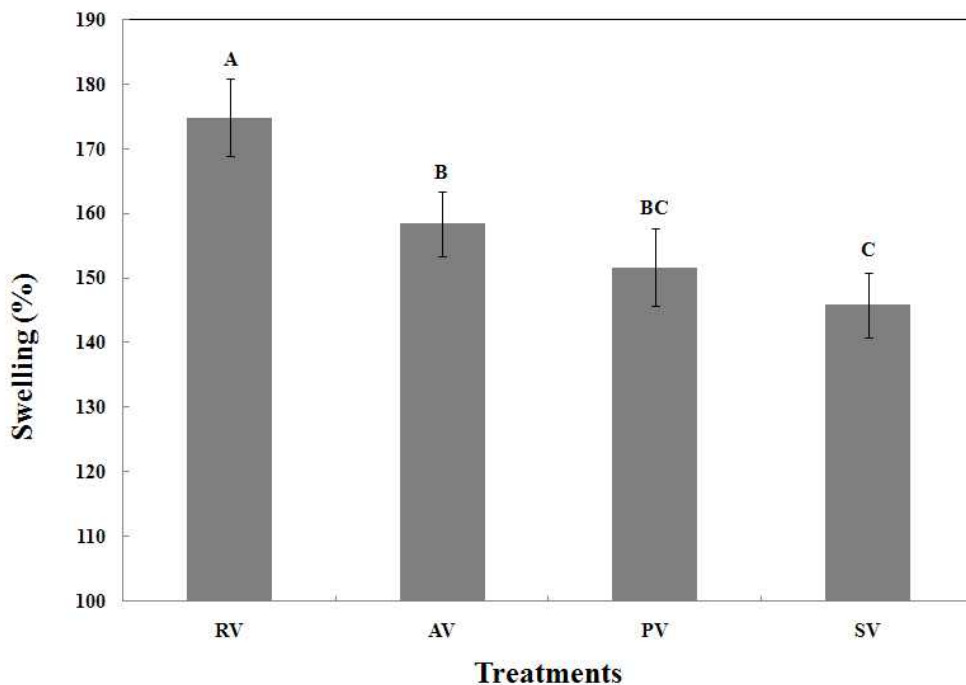
미리 훈련된 10명의 panel 요원을 구성하여 각각의 시료를 색(color), 풍미(flavor) 연도(tenderness), 다즙성(juiciness), 식초향(vinegar flavor), 전체적인 기호도(overall acceptability)에 대하여 각각 10점 만점으로 평점하고 그 평균치를 구하여 비교하였다. 평점표에서 10점은 가장 우수하고, 1점은 가장 열악한 품질 상태를 나타낸다.

⑧ 통계분석(statistical analysis)

통계분석은 SAS program(SAS, 2008)의 GLM(General Linear Model) procedure를 통하여 분석하였고, 처리구간의 평균간 비교는 Duncan의 다중검정을 통하여 유의성 검정( $p < 0.05$ )을 실시하였다.

### (3) 연구결과

천연식초의 종류에 따른 돈피의 팽윤율의 변화는 <Fig. 1-7>에 나타내었다. 현미식초를 사용하여 산처리된 돈피의 팽윤율은 175%로 사과, 감, 복분자 식초에서 팽윤된 처리구들과 비교하여 유의적으로 가장 높게 나타났다( $p < 0.05$ ). 돈피의 팽윤율은 돈피 팽윤 시 현미식초를 사용하는 것이 수율 측면에서 효과적이라고 사료되며, 이는 발효식초의 재료에 따른 식초의 산도가 영향을 미친 결과로 판단된다.



<Fig. 1-7> Comparison in the degree of swelling ratio of pork skin swelled with various natural vinegars. RV (rice vinegar), AV (apple vinegar), PV (persimmon vinegar), and SV (rubus coreanus fruit vinegar). <sup>A-C</sup>The different letters among each treatment are significantly different ( $p < 0.05$ ).

천연식초 팽윤된 돈피를 이용한 고기순대의 일반성분은 <Table 1-6>에 나타내었다. 팽윤된 돈피를 함유하는 고기순대의 지방함량은 천연식초를 이용하여 팽윤시킨 돈피가 함유된 처리구에서 6.75-7.80%로 대조구 15.11%에 비해 유의적으로 낮은 값을 보였으며( $p < 0.05$ ), 이와 반대로 천연식초로 팽윤된 돈피를 함유하는 고기순대의 수분함량(65.58-67.19%)은 대조구(61.94%)와 비교하여 유의적으로 높은 값을 나타내었다( $p < 0.05$ ). 이는 천연식초에 돈피가 팽윤되어 수분함량이 증가함에 따라 지방함량이 감소된 결과로 사료된다. 고기순대의 단백질과 회분함량은 모든 처리구간에 유의적 차이가 나타나지 않았다( $p > 0.05$ ). 따라서 돈피를 천연식초로 팽윤시킬 경우 수분함량 증가에 따른 지방함량을 감소로 인하여 그 활용도를 더욱 향상시킬 수 있다고 판단된다.

<Table 1-6> Proximate composition of meat *soondae* prepared with natural vinegar swelled pork skins

Traits	Control	Treatments <sup>1)</sup>			
		RV	AV	PV	SV
Moisture (%)	61.94±0.67 <sup>B</sup>	67.19±0.81 <sup>A</sup>	66.33±0.91 <sup>A</sup>	66.84±1.32 <sup>A</sup>	65.58±1.09 <sup>A</sup>
Fat (%)	15.11±0.42 <sup>A</sup>	7.80±0.57 <sup>B</sup>	7.29±0.50 <sup>B</sup>	6.96±0.54 <sup>B</sup>	6.76±0.65 <sup>B</sup>
Protein (%)	18.53±0.37	18.06±1.61	18.05±0.75	17.77±0.89	18.01±0.34
Ash (%)	1.94±0.08	1.90±0.06	1.88±0.04	1.88±0.09	1.88±0.11

All values are mean±standard deviation.

<sup>1)</sup>Treatments: control, un-swelled pork skin; RV, pork skin swelled with rice vinegar; AV, pork skin swelled with apple vinegar; PV, pork skin swelled with persimmon vinegar; SV, pork skin swelled with rubus coreanus fruit vinegar

<sup>A,B</sup>Means in a row with different letters are significantly different ( $p<0.05$ ).

천연식초 팽윤된 돈피를 이용한 고기순대의 이화학적 특성은 <Table 1-7>에 나타내었다. 고기순대의 pH는 대조구(6.22)가 처리구들(5.83-5.86)에 비해 유의적으로 높은 값을 나타내었으며 ( $p<0.05$ ), 이는 천연식초에 팽윤된 돈피가 낮은 pH를 나타내기 때문으로 사료된다. 가열감량은 4.51%로 대조구가 처리구에 비해 유의적으로 낮은 값을 나타내었다( $p<0.05$ ). 또한 고기순대의 색도를 비교한 결과, 대조구가 식초 처리구에 비해 명도와 황색도는 유의적으로 낮은 값을 보였지만( $p<0.05$ ), 적색도는 유의적으로 높은 값을 나타내었다( $p<0.05$ ).

<Table 1-7> Physicochemical properties of meat *soondae* prepared with natural vinegar swelled pork skins

Traits	Control	Treatments <sup>1)</sup>			
		RV	AV	PV	SV
pH value	6.22±0.05 <sup>A</sup>	5.83±0.01 <sup>B</sup>	5.83±0.02 <sup>B</sup>	5.86±0.04 <sup>B</sup>	5.83±0.01 <sup>B</sup>
Cooking loss (%)	4.51±0.55 <sup>C</sup>	7.10±0.55 <sup>AB</sup>	7.43±0.47 <sup>A</sup>	7.10±0.29 <sup>AB</sup>	6.81±0.58 <sup>B</sup>
<i>Color parameters</i>					
CIE L*	12.33±1.63 <sup>C</sup>	12.20±1.61 <sup>C</sup>	12.61±1.57 <sup>C</sup>	14.62±1.53 <sup>B</sup>	17.78±1.54 <sup>A</sup>
CIE a*	0.39±0.01 <sup>A</sup>	0.39±0.01 <sup>A</sup>	0.39±0.01 <sup>A</sup>	0.39±0.01 <sup>B</sup>	0.39±0.01 <sup>B</sup>
CIE b*	0.33±0.01 <sup>B</sup>	0.33±0.01 <sup>A</sup>	0.33±0.01 <sup>AB</sup>	0.33±0.01 <sup>AB</sup>	0.33±0.01 <sup>A</sup>

All values are mean±standard deviation.

<sup>1)</sup>Treatments: control, un-swelled pork skin; RV, pork skin swelled with rice vinegar; AV, pork skin swelled with apple vinegar; PV, pork skin swelled with persimmon vinegar; SV, pork skin swelled with rubus coreanus fruit vinegar

<sup>A-C</sup>Means in a row with different letters are significantly different ( $p<0.05$ ).

<Table 1-8>과 <Fig. 1-8>에서는 천연식초로 팽윤된 돈피를 이용한 고기순대의 조직학적 특성을 나타내었다. 대조구의 경도는 4.42 kg으로 처리구(2.0-2.7 kg)에 비해 유의적으로 높은 값을 나타내었으며( $p<0.05$ ), 현미식초 용액에 팽윤된 돈피를 이용한 처리구의 경도는 2.0 kg으로 대조구보다 50% 감소된 경도를 나타내었다. 이는 현미식초에서 돈피의 팽윤율이 가장 높았고 이로 인하여 현미식초에 팽윤된 돈피를 함유하는 고기순대의 수분함량이 증가하였기 때문에 가장 낮은 경도를 나타낸 것으로 사료된다. 탄력성은 처리구(0.58-0.71)가 대조구(0.52)에 비해 유의적으로 높은 값을 나타내었고( $p<0.05$ ), 대조구의 응집성, 검성, 씹음성은 처리구에 비해 유의적으로 높은 값을 나타내었다( $p<0.05$ ). 따라서 식초에 팽윤된 돈피를 이용하여 부드러운 순대를 제조할 수 있을 것으로 사료된다.

천연식초로 팽윤된 돈피를 이용한 고기순대의 관능검사에 대한 결과는 <Table 1-9>에 나타내었다. 색, 풍미, 연도, 다즙성, 식초향과 종합적 기호도에서 처리구가 대조구에 비해 높은 평가를 받았다. 이 중 풍미, 연도와 다즙성에서 현미식초 용액에 팽윤된 돈피를 이용한 고기순대가 높은 평가를 받았다. 종합적인 기호도는 감식초를 이용한 처리구가 가장 높게 나타났다.

따라서 식초에 팽윤된 돈피를 이용하여 고기순대를 제조 시 관능적으로 우수한 고기순대를 개발할 수 있으며, 그 중 현미식초에 팽윤된 돈피를 이용하여 고기순대를 제조한다면 부드러운 식감의 고기순대를 생산할 수 있을 것으로 사료된다<Fig. 1-9>.

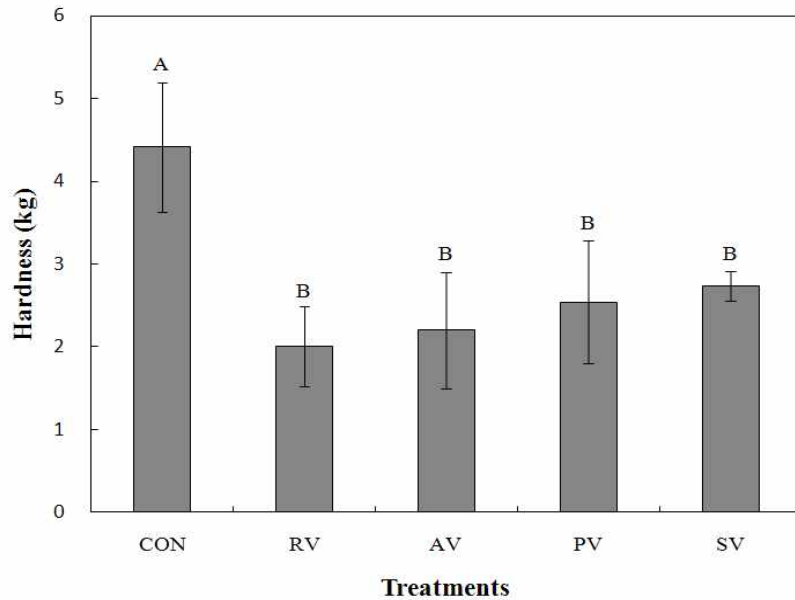
<Table 1-8> Texture profile analysis of meat *soondae* prepared with natural vinegar swelled pork skins

Traits	Control	Treatments <sup>1)</sup>			
		RV	AV	PV	SV
Springiness	0.52±0.04 <sup>D</sup>	0.71±0.07 <sup>A</sup>	0.58±0.03 <sup>C</sup>	0.70±0.05 <sup>A</sup>	0.63±0.04 <sup>B</sup>
Cohesiveness	0.15±0.03 <sup>A</sup>	0.14±0.02 <sup>AB</sup>	0.12±0.02 <sup>BC</sup>	0.13±0.02 <sup>BC</sup>	0.11±0.02 <sup>C</sup>
Gumminess (kg)	2.31±0.47 <sup>A</sup>	1.44±0.34 <sup>AB</sup>	1.27±0.38 <sup>BC</sup>	1.77±0.51 <sup>BC</sup>	1.72±0.14 <sup>C</sup>
Chewiness (kg)	0.35±0.13 <sup>A</sup>	0.20±0.07 <sup>B</sup>	0.15±0.05 <sup>B</sup>	0.22±0.07 <sup>AB</sup>	0.19±0.04 <sup>B</sup>

All values are mean±standard deviation.

<sup>1)</sup>Treatments: control, un-swelled pork skin; RV, pork skin swelled with rice vinegar; AV, pork skin swelled with apple vinegar; PV, pork skin swelled with persimmon vinegar; SV, pork skin swelled with rubus coreanus fruit vinegar

<sup>A-D</sup>Means in a row with different letters are significantly different ( $p<0.05$ ).



<Fig. 1-8> Comparison in hardness of meat *soondae* prepared with natural vinegars swelled pork skins. CON, un-swelled pork skin; RV, pork skin swelled with rice vinegar; AV, pork skin swelled with apple vinegar; PV, pork skin swelled with persimmon vinegar; SV, pork skin swelled with rubus coreanus fruit vinegar <sup>A,B</sup>The different letters among each treatment are significantly different ( $p<0.05$ ).

<Table 1-9> Sensory evaluation of meat *soondae* prepared with natural vinegar swelled pork skins

Traits	Control	Treatments <sup>1)</sup>			
		RV	AV	PV	SV
Color	8.00±0.73	8.42±0.66	8.50±0.52	8.50±0.52	8.42±0.51
Flavor	8.00±0.85 <sup>B</sup>	8.33±0.88 <sup>A</sup>	7.67±1.15 <sup>A</sup>	8.08±0.90 <sup>A</sup>	7.58±1.44 <sup>A</sup>
Tenderness	6.42±1.24 <sup>B</sup>	7.92±1.24 <sup>A</sup>	7.83±1.11 <sup>A</sup>	7.50±0.90 <sup>A</sup>	7.33±0.98 <sup>A</sup>
Juiciness	7.08±1.37 <sup>B</sup>	7.75±1.65 <sup>A</sup>	7.42±1.56 <sup>A</sup>	7.08±1.44 <sup>A</sup>	7.08±1.44 <sup>A</sup>
Vinegar flavor	1.50±0.79	3.75±1.48	4.42±1.56	3.00±1.59	3.67±1.37
Overall acceptability	7.83±0.93	8.13±1.09	8.38±1.26	8.83±0.83	8.50±1.16

All values are mean±standard deviation.

<sup>1)</sup>Treatments: control, un-swelled pork skin; RV, pork skin swelled with rice vinegar; AV, pork skin swelled with apple vinegar; PV, pork skin swelled with persimmon vinegar; SV, pork skin swelled with rubus coreanus fruit vinegar

<sup>A,B</sup>Means in a row with different letters are significantly different ( $p<0.05$ ).



<Fig. 1-9> Appearance of meat *soondae* prepared with natural vinegar swelled pork skin.

## 다. 다양한 식이섬유를 활용한 고기순대의 개발 및 품질특성 연구

### (1) 서론

식이섬유는 체내의 효소로는 분해되지 않는 올리고다당류(oligosaccharides), 다당류(polysaccharides) 및 리그닌(lignin) 등의 난소화성 다당류를 말한다. 식이섬유는 대장암 예방, 혈중 콜레스테롤 감소, 비만 예방, 당뇨병 조절 및 각종 심혈관계 질환의 예방에도 도움을 준다는 연구결과들이 보고됨에 따라 식이섬유에 대한 관심이 지속적으로 증대되고 있다. 최근 식이섬유는 앞서 언급된 생리학적 이로운과 더불어 보수력 향상, 무기질과의 결합력 증진 및 원료육간의 결합력 증대 등의 이유로 다양한 식육가공품 및 저지방 식육가공품의 품질특성 향상에 활용되고 있다(Kim *et al.*, 2010). 이러한 목적에서 밀겨(wheat bran), 귀리(oat bran), 레몬 알베도(lemon albedo) 및 오렌지 식이섬유(orange fiber) 등이 다양한 육제품에 첨가되어 품질특성에 미치는 영향을 연구되고 있다(Fernández-Ginés *et al.*, 2004; Fernández-López *et al.*, 2008; Yilmaz, 2005; Yilmaz and Daglioglu, 2003).

미강(rice bran)은 도정 중 발생하는 농산부산물의 일종으로서, 식이섬유, 단백질, 미네랄 및 비타민 B군을 풍부하게 함유하고 있다(Choi *et al.*, 2009a). 최근 미강은 식육가공품의 제조에 적용이 가능한 식이섬유 소재로서 각광받고 있으며, Kim 등(2011)에 의하면 미강을 활용한 식육가공품의 품질특성 연구 및 지방대체 소재로서 미강 식이섬유의 활용성에 관한 연구들이 진행되고 있다고 보고하였다. Kim 등(2010)의 보고에 따르면 2%의 미강 식이섬유를 첨가한 경우 반건조 재구성 육포의 가공수율을 향상시키면서도 부드러운 육포의 제조가 가능하다고 하였다. Choi 등(2009b)은 혈액소시지에 2% 미강 식이섬유를 첨가한 경우 기존의 제품과 비교하여 고품질의 혈액소시지 제조가 가능하다고 하였다. Choi 등(2008)은 미강 식이섬유 추출물을 첨가한 유화형 소시지의 품질특성에 관한 연구에서 미강 식이섬유의 첨가에 따른 유화형 소시지의 물성 증가는 식이섬유가 유화물 내에서 점도 향상에 기여하기 때문이라고 하였다. 현재 미강 식이섬유의 보수력 및 조직감 향상 효과를 이용하여 저지방 육제품의 지방대체 소재로서 활용방안이 연구되고 있다. Choi 등(2009a)은 미강 식이섬유와 식물성유를 이용하여 등지방의 50%를 대체가 가능하다고 보고하였고, 이후의 연구에서 미강 식이섬유와 포도씨유(grape seed oil)를 이용하여 품질의 저하가 없는 저지방 소시지의 제조가 가능하다고 하였다(Choi *et al.*, 2010). 이와 유사한 연구로서 현미 식이섬유(brown rice fiber)를 1-3% 첨가한 경우 고품질의 관능적 특성이 우수한 소시지의 제조가 가능하다고 보고되어 있다(Choi *et al.*, 2011).

따라서 본 연구에서는 원료육간의 결합력이 열악한 고기순대의 품질특성을 향상시키기 위하여 기능적 특성이 우수한 것으로 보고된 여러 식이섬유(미강 식이섬유, 현미 식이섬유 및 미강 식이섬유 혼합물)를 첨가하여 고기순대를 제조하고 그 품질특성을 평가하여 고기순대의 제조에 있어 식이섬유의 활용가능성을 알아보고자 한다.

## (2) 재료 및 방법

### (가) 식이섬유를 함유하는 고기순대의 제조

등 부위의 생돈피(pork skin, 두께 약  $5 \pm 2$  mm)를 시장에서 구입하여 눈에 보이는 피하지방을 제거하고,  $5 \times 5$  cm<sup>2</sup> 크기로 절단하여 원료로 사용하였다. 첨가된 식이섬유는 J사의 밀 식이섬유, C사의 단백질 함유 미강 식이섬유 혼합물 및 미강 추출 식이섬유를 사용하였다. 식이섬유를 함유하는 고기순대의 배합비율은 <Table 1-10>과 같으며, 제조공정은 <Fig. 1-10>과 같다. 4°C에서 12시간 염지된 돈육과 돈피를  $80 \pm 2$ °C로 설정된 water-bath에서 40분간 가열 후, 8 mm plate가 장착된 그라인더(chopper, Mainca, PM-100, Spain)로 분쇄하여 준비하였다. 이후 사일런트커터(silent cutter, Nr-963009, Scharfen, Witten, Germany)를 이용하여 가열된 돈피와 돈육, 혈액, 식이섬유, 분리대두단백(ISP) 및 부재료를 세절·혼합하였다. 등지방은 일정한 크기( $1 \times 1 \times 1$  cm<sup>3</sup>)로 정형한 이후 30분간 데친 뒤 앞서 제조된 고기순대 혼합물과 혼합하여 충전기(KONTI-A50, FREY, Germany)를 이용하여 돈장에 충전하였다. 제조된 고기순대는 스모크챔버(MAXI3501, KERRES, Germany)에서 건조(55°C, 30분), 훈연(60°C, 30분) 및 가열(75°C, 60분)공정을 실시한 뒤 20분간 냉각을 실시하였다. 이후 PE/nylon 포장지를 이용하여 진공포장 후 고기순대의 품질특성 분석을 위한 공시재료로 사용하였다.

### (나) 실험방법

#### ① pH 측정(pH measurement)

고기순대의 pH는 시료 5 g을 취하여 증류수 20 mL과 혼합하고 Ultra-turrax(Model NO. T25, Janke & Kunkel, Germany)를 사용하여 8,000 rpm에서 1분간 균질한 후 pH meter(Model 340, Mettler-Toledo, Switzerland)를 사용하여 측정하였다.

#### ② 가열감량(cooking loss)

돈피와 식이섬유를 함유하는 고기순대의 가열감량은 가열 이전 무게에 대한 가열 이후 감량 손실에 대한 백분율로 산출하여 나타내었다.

$$\text{가열감량 (\%)} = \frac{[\text{가열 이전 시료의 무게 (g)} - \text{가열 이후 시료의 무게 (g)}]}{\text{가열 이전 시료의 무게 (g)}} \times 100$$

#### ③ 색도(color measurement)

돈피와 식이섬유를 함유하는 고기순대의 표면을 Colorimeter(Chromameter, CR210, Minolta, Japan)를 사용하여 CIE L\* -값(명도), CIE a\* -값(적색도)과 CIE b\* -값(황색도)을 측정하였다. 이때의 표준색은 L\* -값은 +97.83, a\* -값이 -0.43, b\* -값이 +1.98인 백색 표준판을 사용하였다.



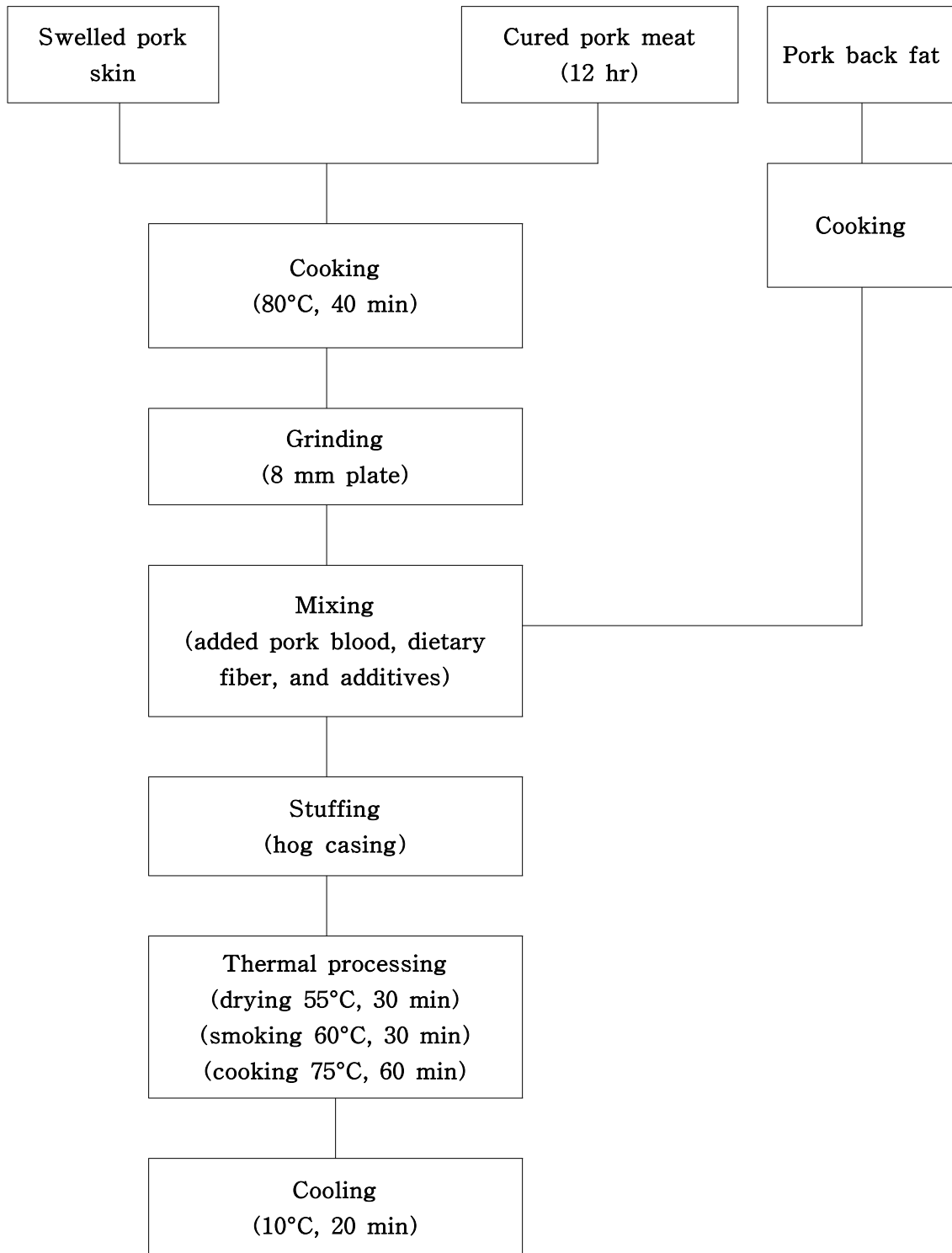
<Table 1-10> Formulation of meat *soondae* prepared with pork skin swelled with natural vinegar

(unit, %)

Ingredients	Control	Treatments <sup>1)</sup>		
		WF	RB	RF
Pork skin	30	30	30	30
Pork ham	35	35	35	35
Pork blood	25	25	25	25
Pork back fat	10	10	10	10
Total	100	100	100	100
Sugar	1.0	1.0	1.0	1.0
Nitrite pickled salt (NPS, 99.4:0.6)	1.5	1.5	1.5	1.5
Carrot	5.0	5.0	5.0	5.0
Onion juice	4.0	4.0	4.0	4.0
Green onion juice	3.0	3.0	3.0	3.0
Garlic juice	3.0	3.0	3.0	3.0
Ginger juice	0.5	0.5	0.5	0.5
Black pepper	0.3	0.3	0.3	0.3
Monosodium L-glutamate (MSG)	0.3	0.3	0.3	0.3
Isolated soy protein (ISP)	2.0	2.0	2.0	2.0
Wheat fiber	-	2.0	-	-
Rice bran fiber extract <sup>2)</sup>	-	-	2.0	-
Rice bran fiber	-	-	-	2.0

<sup>1)</sup>Treatments: control, no added dietary fiber; WF, meat *soondae* containing wheat fiber; RB, meat *soondae* containing rice bran fiber extract; RF, meat *soondae* containing rice bran fiber.

<sup>2)</sup>Rice bran fiber extract: unremoved protein in rice bran.



<Fig. 1-10> Manufacturing procedure of meat *soondae* made with pork skin and various dietary fibers.

④ 일반성분(proximate composition)

고기순대의 일반성분 정량은 AOAC법(1995)에 따라 수분함량은 105°C 상압건조법, 조단백질 함량은 Kjeldahl 법, 조지방 함량은 Soxhlet 법, 조회분 함량은 550°C에서 직접회화법으로 분석하였다.

⑤ 물성 측정(texture profile analysis)

고기순대의 물성은 texture analyzer(TA-XT2i, Stable Micro Systems, England)에 5 mm 직경 실린더 모양 probe(5 mm diameter cylinder probe)를 장착한 후 제조된 시료의 근섬유 방향과 수직으로 관통시켜 hardness(경도, kg), springiness(탄력성), cohesiveness(응집성), gumminess(검성, kg) 및 chewiness(씹음성, kg)를 분석하였다. 이때의 분석조건은 stroke 20 g, test speed 2.0 mm/sec, distance 10.0 mm로 설정하여 측정하였다.

⑥ 관능검사(sensory evaluation)

미리 훈련된 10명의 panel 요원을 구성하여 각각의 시료를 색(color), 풍미(flavor) 연도(tenderness), 다즙성(juiciness), 전체적인 기호도(overall acceptability)에 대하여 각각 10점 만점으로 평점하고 그 평균치를 구하여 비교하였다. 평점표에서 10점은 가장 우수하고, 1점은 가장 열악한 품질 상태를 나타낸다.

⑦ 통계분석(statistical analysis)

통계분석은 SAS program(SAS, 2008)의 GLM(General Linear Model) procedure를 통하여 분석하였고, 처리구간의 평균간 비교는 Duncan의 다중검정을 통하여 유의성 검정( $p < 0.05$ )을 실시하였다.

다. 연구결과

고기 순대의 pH는 가열 전·후 식이섬유를 첨가한 처리구가 대조구에 비하여 유의적으로 높은 pH를 나타내었다<Table 1-11>. 고기 순대의 가열 감량은 식이섬유를 첨가한 처리구(5.47-5.74%)가 대조구(8.22%)에 비하여 유의적으로 낮게 나타났는데( $p < 0.05$ ), 이는 식이섬유의 첨가가 수분과 지방의 결합력을 증가시켜 주기 때문이다(Choi *et al.*, 2008). 명도는 미강추출 식이섬유를 첨가한 처리구(80.15)가 대조구(80.98)에 비해 유의적으로 낮게 나타났으며( $p < 0.05$ ), 대조구와 미강추출 식이섬유를 제외한 다른 처리구들 간에는 유의적인 차이가 없었다( $p > 0.05$ ). 적색도의 경우 미강추출 식이섬유를 첨가한 처리구(4.81)가 대조구 및 다른 식이섬유 첨가 처리구에 비해 유의적으로 높게 나타났고( $p < 0.05$ ), 대조구와 다른 식이섬유 처리구들 간에는 유의적인 차이가 없었다( $p > 0.05$ ). 또한 황색도의 경우 단백질 함유 미강 식이섬유를 첨가한 고기 순대(19.77)가 유의적으로 높은 수치를 나타내었다( $p < 0.05$ ).

<Table 1-11> Effect of dietary fiber types on physicochemical properties of meat *soondae*

Traits	Control	Treatments <sup>1)</sup>		
		WF	RB	RF
pH value of raw <i>soondae</i>	6.28±0.30 <sup>C</sup>	6.48±0.60 <sup>A</sup>	6.43±0.37 <sup>B</sup>	6.40±0.39 <sup>B</sup>
pH value of cooked <i>soondae</i>	6.46±0.51 <sup>C</sup>	6.61±0.41 <sup>A</sup>	6.56±0.20 <sup>B</sup>	6.55±0.28 <sup>B</sup>
Cooking loss (%)	8.22±0.71 <sup>A</sup>	5.74±0.38 <sup>B</sup>	5.69±0.27 <sup>B</sup>	5.47±0.41 <sup>B</sup>
<i>Color parameters</i>				
CIE L*	80.98±0.23 <sup>A</sup>	80.45±0.62 <sup>AB</sup>	80.64±0.43 <sup>AB</sup>	80.15±0.24 <sup>B</sup>
CIE a*	4.23±0.33 <sup>B</sup>	4.30±0.25 <sup>B</sup>	4.17±0.35 <sup>B</sup>	4.81±0.50 <sup>A</sup>
CIE b*	18.05±0.52 <sup>C</sup>	18.73±0.29 <sup>B</sup>	19.77±0.44 <sup>A</sup>	19.19±0.36 <sup>B</sup>

All values are mean±standard deviation.

<sup>1)</sup>Treatments: control, no added dietary fiber; WF, meat *soondae* containing wheat fiber; RB, meat *soondae* containing rice bran fiber extract; RF, meat *soondae* containing rice bran fiber. Rice bran fiber extract contains unremoved protein in rice bran.

<sup>A-C</sup>Means in a row with different letters are significantly different ( $p<0.05$ ).

돈피와 식이섬유를 활용한 고기 순대의 일반성분은 <Table 1-12>에 나타내었다. 고기 순대의 수분 함량은 식이섬유를 첨가한 처리구들이 대조구에 비하여 유의적으로 높게 나타났으며 ( $p<0.05$ ), 지방 함량은 식이섬유를 첨가한 처리구들이 대조구에 비하여 유의적으로 낮은 값을 나타냈다( $p<0.05$ ). 하지만 고기 순대의 회분 함량은 대조구와 모든 처리구들 간에 유의적 차이가 없었다( $p>0.05$ ). 이는 Choi 등(2008)은 식이섬유의 첨가가 물과의 결합력이 증가하여, 수분 함량이 증가한다고 보고된 결과와 유사한 결과이다.

돈피와 식이섬유를 활용한 고기 순대의 물리적 특성은 <Table 1-13>에 나타내었다. 대조구 (6.09 kg)의 경도는 처리구(7.36-7.76 kg) 보다 유의적으로 낮은 경도를 나타내었는데( $p>0.05$ ), 이는 유화형 소시지에 식이섬유를 첨가하여 경도가 증가된 것과 유사한 결과이다(Choi *et al.*, 2008). 응집성은 대조구와 모든 처리구들 간에 유의적 차이가 없는 것으로 나타났다( $p>0.05$ ). 그러나 고기 순대의 탄력성은 미강추출 식이섬유를 첨가한 처리구가 0.83으로 유의적으로 높게 나타났으며( $p<0.05$ ), 검성과 씹음성은 식이섬유를 첨가한 처리구가 대조구에 비하여 유의적으로 높은 수치를 보였다( $p<0.05$ ). 따라서 식이섬유를 첨가함에 따라 고기순대의 조직감을 향상시킨다고 사료된다.

<Table 1-12> Effect of dietary fiber types on proximate composition of meat *soondae*

Traits	Control	Treatments <sup>1)</sup>		
		WF	RB	RF
Moisture (%)	54.88±0.15 <sup>D</sup>	56.28±0.28 <sup>C</sup>	57.15±0.33 <sup>B</sup>	58.31±0.35 <sup>A</sup>
Protein (%)	19.18±0.27 <sup>A</sup>	18.47±0.47 <sup>C</sup>	18.88±0.41 <sup>B</sup>	18.22±0.22 <sup>C</sup>
Fat (%)	22.18±0.27 <sup>A</sup>	18.47±0.47 <sup>C</sup>	19.88±0.41 <sup>B</sup>	17.22±0.22 <sup>D</sup>
Ash (%)	2.30±0.41	2.43±0.52	2.39±0.25	2.41±0.45

All values are mean±standard deviation.

<sup>1)</sup>Treatments: control, no added dietary fiber; WF, meat *soondae* containing wheat fiber; RB, meat *soondae* containing rice bran fiber extract; RF, meat *soondae* containing rice bran fiber. Rice bran fiber extract contains unremoved protein in rice bran.

<sup>A-D</sup>Means in a row with different letters are significantly different ( $p<0.05$ ).

<Table 1-13> Effect of dietary fiber types on textural properties of meat *soondae*

Traits	Control	Treatments <sup>1)</sup>		
		WF	RB	RF
Hardness (kg)	6.09±0.31 <sup>B</sup>	7.52±0.46 <sup>A</sup>	7.36±0.33 <sup>A</sup>	7.76±0.24 <sup>A</sup>
Springiness	0.78±0.27 <sup>B</sup>	0.79±0.27 <sup>AB</sup>	0.79±0.31 <sup>AB</sup>	0.83±0.62 <sup>A</sup>
Cohesiveness	0.23±0.65	0.24±0.62	0.25±0.38	0.24±0.48
Gumminess (kg)	1.50±0.33 <sup>B</sup>	1.70±0.51 <sup>A</sup>	1.88±0.41 <sup>A</sup>	1.83±0.62 <sup>A</sup>
Chewiness (kg)	1.31±0.71 <sup>B</sup>	1.54±0.25 <sup>A</sup>	1.59±0.37 <sup>A</sup>	1.56±0.41 <sup>A</sup>

All values are mean±standard deviation.

<sup>1)</sup>Treatments: control, no added dietary fiber; WF, meat *soondae* containing wheat fiber; RB, meat *soondae* containing rice bran fiber extract; RF, meat *soondae* containing rice bran fiber. Rice bran fiber extract contains unremoved protein in rice bran.

<sup>A,B</sup>Means in a row with different letters are significantly different ( $p<0.05$ ).

돈피와 식이섬유를 활용한 고기 순대의 관능적 특성은 <Table 1-14>에 나타내었다. 색과 연도는 대조구와 모든 처리구들 간에 유의적 차이가 없는 것으로 나타났다( $p>0.05$ ). 풍미, 다즙성과 종합적 기호도에서 밀 식이섬유를 첨가한 처리구가 가장 높았으나, 미강식이섬유를 첨가한 처리구와 유의적 차이를 나타내지 않았다( $p>0.05$ ). 결론적으로 식이섬유를 고기순대 제조에 활용한다면 결착력과 보수력을 증진 시킬 수 있는 최종제품을 제조 할 수 있을 것으로 사료된다 <Fig. 1-11>.

<Table 1-14> Effect of dietary fiber types on sensory properties of meat *soondae*

Traits	Control	Treatments <sup>1)</sup>		
		WF	RB	RF
Color	8.50±0.37	8.75±0.58	8.63±0.23	8.63±0.38
Flavor	8.13±0.41 <sup>AB</sup>	8.45±0.73 <sup>A</sup>	7.94±0.27 <sup>B</sup>	8.00±0.63 <sup>AB</sup>
Tenderness	8.13±0.52	7.94±0.81	8.00±0.64	7.60±0.52
Juiciness	7.81±0.59 <sup>B</sup>	8.53±0.39 <sup>A</sup>	7.88±0.61 <sup>B</sup>	8.21±0.18 <sup>AB</sup>
Overall acceptability	7.81±0.43 <sup>B</sup>	8.50±0.61 <sup>A</sup>	7.93±0.46 <sup>B</sup>	8.13±0.70 <sup>AB</sup>

All values are mean±standard deviation.

<sup>1)</sup>Treatments: control, no added dietary fiber; WF, meat *soondae* containing wheat fiber; RB, meat *soondae* containing rice bran fiber extract; RF, meat *soondae* containing rice bran fiber. Rice bran fiber extract contains unremoved protein in rice bran.

<sup>A,B</sup>Means in a row with different letters are significantly different ( $p<0.05$ ).



<Fig. 1-11> Appearance and cross section of meat *soondae* prepared with dietary fiber.

## 라. 연잎과 취잎 분말이 함유된 기능성 고기순대의 냉장저장 중 품질특성 평가

### (1) 서론

우리 민족의 전통음식 중 하나인 순대는 가축의 창자 속에 고기, 야채, 곡류와 돈혈 등을 양념하여 양쪽 끝을 동여매고 익힌 것으로 주로 즉석식품으로 소비되는 제품이다. 순대는 축산의 산업적 부산물로 생산되는 혈액과 내장을 이용하므로 산업폐기물의 감소, 이용가능한 단백질 자원의 효율 증대, 나아가서 환경오염을 최소화하는데 기여할 수 있다. 외국의 경우 순대와 유사한 혈액 소시지에 대한 연구는 오래전부터 수행되어 많은 자료가 축적되어 있으며, 근래에는 국내에서도 다양한 방법으로 연구가 진행되고 있다. 특히 순대는 혈액과 부산물을 이용하여 제조하기 때문에 저장성이 저하된다고 알려져 있다.

최근 식육가공품의 지방산화 및 미생물 생육 억제를 통한 저장안정성 향상을 위한 연구가 다양하게 이루어지고 있으며, 그중 광범위하게 사용되는 방법이 기능성 천연소재의 첨가이다. 기능성 소재는 주로 식물에서 유용성분을 추출하여 사용하게 된다. 취(*Solidago virgaurea*)는 전세계적으로 산과 들판에 자생하는 국화과 식물의 일종이다(Choe *et al.*, 2011a). Choe 등(2011a)의 보고에 의하면 취는 잎과 줄기에 함유된 식이섬유로 인하여 유화형 소시지의 품질특성을 증진시키는 효과를 갖는다고 하였다. Kim 등(2013)은 열풍건조 취잎 및 줄기분말을 분쇄돈육에 첨가하여 15일 동안 냉장저장 중 품질특성을 평가한 결과 취잎과 줄기분말의 첨가는 공액이중산가, 유리지방산가 및 TBA가 등을 크게 억제하는 것으로 평가되었다. 따라서 취는 저장안정성을 확보하면서도 이에 포함된 식이섬유 등에 의한 품질특성 향상을 기대할 수 있는 유용한 천연소재라고 판단된다.

연잎(*Nelumbo nucifera*)은 다양한 생리활성 물질들을 포함하고 있어 전통적으로 식품과 더불어 의약소재로서 활용되어 왔다. 최근의 연구에서 연잎은 진정 작용, 해열 작용, 항산화 작용 및 고지혈증 개선 효과를 갖는다고 보고되었다(Park *et al.*, 2009). Choi 등(2011)은 0.1, 0.2 및 0.4%의 연잎 분말을 계육 패티에 첨가한 결과 냉장 저장 중 TBA가 및 VBN 수치에서 대조구와 비교하여 낮은 수치를 나타낸다고 하였다. Choe 등(2011b)은 연잎 분말과 보리잎 분말을 혼합 첨가하여 분쇄 돈육의 냉장저장 중 저장안정성을 향상시킬 수 있다고 하였다. Choe 등(2011c)의 연구에 의하면 0.1 및 0.5%의 연잎분말과 0.1 및 0.5%의 보리잎 분말을 첨가한 경우가열된 돈육 패티의 냉장 저장 중 산화적 및 색도 안정성을 확보할 수 있다고 보고하여, 연잎은 저장 중 발생될 수 있는 산화적 변화를 억제 혹은 지연시킬 수 있는 유용한 천연소재로 평가되었다.

고기순대는 혈액 및 지방함량이 높은 부위의 사용에 따라 저장기간 중 지방산패 등이 발생될 우려가 높으며, 따라서 본 연구에서는 천연식초를 활용하여 팽윤된 돈피를 함유하는 고기순대에 연잎과 취잎 분말을 첨가하여 고기순대의 저장 중 품질특성의 변화를 비교하였다.

## (2) 재료 및 방법

### (가) 현미식초를 이용한 돈피 팽윤

등 부위의 생돈피(pork skin, 두께 약  $5 \pm 2$  mm)를 시장에서 구입하여 눈에 보이는 피하지방을 제거하고,  $5 \times 5$  cm<sup>2</sup> 크기로 절단하여 원료로 사용하였다. 일정한 크기로 절단된 돈피를 pH 3.0으로 희석된 현미식초(rice vinegar)용액에서 48시간 팽윤시킨 후, 48시간 동안 흐르는 수돗물로 세척하여 산을 제거하고 polyethylene포장지를 사용하여 진공포장 이후 고기순대 제조 전까지 4°C에서 냉장 보관하였다.

### (나) 고기순대 제조

기능성 고기순대의 제조에 사용된 취잎 및 연잎 분말은 시중에 유통되는 분말제품을 구입하여 사용하였다. 현미식초에 팽윤된 돈피와 취, 연잎 분말(Control: 팽윤 머리스킨 무첨가구, Control1: 현미식초 팽윤 머리스킨, RL1:현미식초 팽윤 머리스킨 + 연잎분말 1%, RL2:현미식초 팽윤 머리스킨 + 연잎분말 2%, RG1:현미식초 팽윤 머리스킨 + 취잎분말 1%, RG2:현미식초 팽윤 머리스킨 + 취잎분말 2%, RA:현미식초 팽윤 머리스킨 + ascorbic acid 0.05%)을 이용하여 제조된 고기순대의 배합비율은 다음 <Table 1-15>와 같이 실시하였으며, 고기순대의 제조공정은 <Fig. 1-12>와 같다. 4°C에서 12시간 염지된 돈육과 앞서 팽윤된 돈피를  $80 \pm 2$ °C로 설정된 water-bath에서 40분간 가열 후, 8 mm plate가 장착된 그라인더(chopper, Mainca, PM-100, Spain)로 분쇄하여 준비하였다. 이후 양념 및 부재료를 혼합하여 고기순대 혼합물을 제조하고 충전기(KONTI-A50, FREY, Germany)를 이용하여 돈장에 충전 하였다. 제조된 고기순대는 스모크챔버(MAXI3501, KERRES, Germany)에서 가열( $80 \pm 2$ °C, 50분) 및 냉각(20분)공정을 통하여 천연식초로 팽윤된 돈피를 활용한 기능성 고기순대를 제조하였고, polyethylene 포장지를 사용하여 진공포장 후 냉장 보관하면서 20일 동안 품질특성의 변화 및 저장안정성을 평가하였다.

### (다) 실험방법

#### ① pH 측정(pH measurement)

기능성 고기순대의 pH는 시료 5 g을 취하여 증류수 20 mL과 혼합하고 Ultra-turrax(Model NO. T25, Janken & Kunkel, Germany)를 사용하여 8,000 rpm에서 1분간 균질한 후 pH meter(Model 340, Mettler-Toledo, Switzerland)를 사용하여 측정하였다. pH는 냉장저장 기간 중 각각 1, 5, 10, 15 및 20일에 측정하였다.

#### ② 색도(color measurement)

기능성 고기순대의 표면을 Colorimeter(Chromameter, CR210, Minolta, Japan)를 사용하여 CIE L\* -값(명도), CIE a\* -값(적색도)과 CIE b\* -값(황색도)을 측정하였다. 이때의 표준색은 L\* -값은 +97.83, a\* -값이 -0.43, b\* -값이 +1.98인 백색 표준판을 사용하였다. 색도는 냉장저장 기간 중 각각 1, 5, 10, 15 및 20일에 측정하였다.



<Table 1-15> The formulation of functional meat *soondae*

(unit, %)

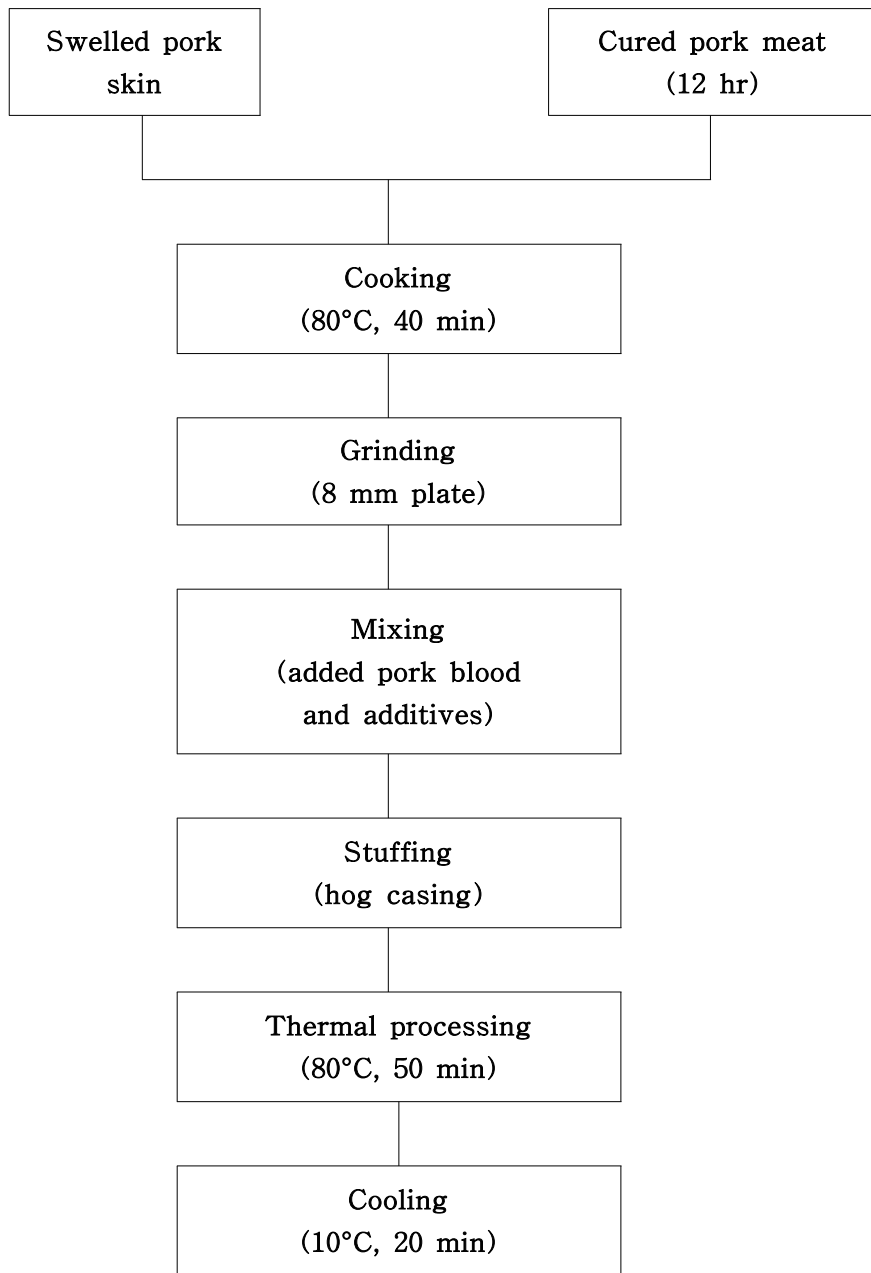
Ingredients	Control	Controll	Treatments <sup>1)</sup>				
			RL1	RL2	RG1	RG2	RA
Un-swelled pork skin	35	-	-	-	-	-	-
Swelled pork skin	-	35	35	35	35	35	35
Pork ham	60	60	60	60	60	60	60
Pork blood	5	5	5	5	5	5	5
Total	100	100	100	100	100	100	100
Sugar	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
NPS <sup>2)</sup>	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
Carrot	5	5	5	5	5	5	5
Onion juice	4	4	4	4	4	4	4
Green onion juice	3	3	3	3	3	3	3
Garlic juice	3	3	3	3	3	3	3
Ginger juice	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Black pepper	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3
MSG <sup>3)</sup>	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3
ISP <sup>4)</sup>	2	2	2	2	2	2	2
Rice bran fiber	-	2	2	2	2	2	2
Lotus leaf powder	-	-	1	2	-	-	-
Goldenrod leaf powder	-	-	-	-	1	2	-
Ascorbic acid	-	-	-	-	-	-	0.05

<sup>1)</sup>Treatments: Control, meat *soondae* made with un-swelled pork skin; Controll, meat *soondae* made with swelled pork skin; RL1, meat *soondae* made with rice vinegar swelled pork skin and 1% lotus leaf powder; RL2, meat *soondae* made with rice vinegar swelled pork skin and 2% lotus leaf powder; RG1, meat *soondae* made with rice vinegar swelled pork skin and 1% goldenrod leaf powder; RG2, meat *soondae* made with rice vinegar swelled pork skin and 2% goldenrod leaf powder; RA, meat *soondae* made with rice vinegar swelled pork skin and 0.05% ascorbic acid.

<sup>2)</sup>NPS: nitrite pickled salt (99.4:0.6).

<sup>3)</sup>MSG: monosodium L-glutamate.

<sup>4)</sup>ISP: isolated soy protein.



<Fig. 1-12> Manufacturing procedure of functional meat *soondae* made with swelled pork skin, dietary fiber, lotus leaf powder or goldenrod leaf powder.

③ 지질산패도(2-thiobarbituric acid value)

냉장저장 중 고기순대의 지질산패도(TBA value)는 Tarladgis 등(1960)의 증류법을 응용하여 실시하였다. 지방 산화에 의하여 유리되는 malonaldehyde와 2-thiobarbituric acid(TBA)를 반응시킨 후 spectrophotometer를 이용하여 538 nm에서 흡광도를 측정하여 아래의 공식에 의해 TBA가를 산출하였으며, TBA수치는 mg malonaldehyde/kg으로 나타내었다.

$$\text{TBA value (mg malonaldehyde/kg sample)} = 7.8 \times \text{O.D.}$$

④ 휘발성 염기태 질소화합물(volatilic basic nitrogen)

냉장저장 중 고기순대의 VBN(휘발성 염기태 질소)은 Kohsaka(1975)에 의한 conway 미량화산법을 이용하여 측정하였다. 시료 10 g을 취하여 증류수 30 mL을 가한 후 균질기를 이용하여 2분간 교반하고 100 mL로 mass up한 뒤 whatman No.1 여과지로 여과하였다. 여액 1 mL를 conway 수기 외실에 넣고 내실에 0.01 N H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> 1 mL과 conway 시약 100 µL를 넣고, 50% K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 용액 1 mL를 빠르게 외실에 주입하고 밀폐한 다음 조심스럽게 흔들어 외실내의 용액을 혼합한 후 37°C 하에서 2시간 동안 반응시켰다. 반응이 끝난 수기에 0.02 N 황산용액으로 적정하여 계산하였다.

$$\text{VBN value (mg\%)} = \frac{\text{적정량}(\mu\text{L}) \times 1 \times 0.02 \times 14.007 \times 100 \times 100}{\text{시료량}(\text{mg})}$$

⑤ 물성 측정(texture profile analysis)

고기순대의 물성은 texture analyzer(TA-XT2i, Stable Micro Systems, England)에 5 mm 직경 실린더 모양 probe(5 mm diameter cylinder probe)를 장착한 후 제조된 시료의 근섬유 방향과 수직으로 관통시켜 hardness(경도, kg), springiness(탄력성), cohesiveness(응집성), gumminess(점성, kg) 및 chewiness(씹음성, kg)를 분석하였다. 이때의 분석조건은 stroke 20 g, test speed 2.0 mm/sec, distance 10.0 mm로 설정하여 측정하였다.

⑥ 관능검사(sensory evaluation)

미리 훈련된 10명의 panel 요원을 구성하여 각각의 시료를 색(color), 풍미(flavor) 연도(tenderness), 다즙성(juiciness), 전체적인 기호도(overall acceptability)에 대하여 각각 10점 만점으로 평점하고 그 평균치를 구하여 비교하였다. 평점표에서 10점은 가장 우수하고, 1점은 가장 열악한 품질 상태를 나타낸다.

⑦ 통계분석(statistical analysis)

통계분석은 SAS program(SAS, 2008)의 GLM(General Linear Model) procedure를 통하여 분석하였고, 처리구간의 평균간 비교는 Duncan의 다중검정을 통하여 유의성 검정( $p < 0.05$ )을 실시하였다.

(3) 연구결과

연잎과 취잎분말 첨가에 따른 고기순대의 저장 중 pH의 변화는 <Table 1-16>에 나타내었다. 고기 순대의 pH는 저장기간이 경과함에 따라 감소하는 추세를 나타내었다. 또한 대조구에 비해 연잎과 취잎 분말을 첨가한 처리구가 더 낮은 경향을 나타내었는데( $p<0.05$ ), 이는 연잎과 취잎의 낮은 pH(5.4-5.6) 때문으로 사료된다.

<Table 1-16> Change in pH value of functional meat soondae containing lotus leaf or goldenrod powder during refrigerated storage (4°C)

Treatments <sup>1)</sup>	Storage period (day)				
	1	5	10	15	20
Control	6.70±0.01 <sup>Aa</sup>	6.60±0.03 <sup>Ba</sup>	6.58±0.02 <sup>BCa</sup>	6.56±0.00 <sup>Ca</sup>	6.47±0.05 <sup>Da</sup>
Control1	6.36±0.01 <sup>Ab</sup>	6.35±0.01 <sup>Bb</sup>	6.26±0.01 <sup>Cc</sup>	6.25±0.01 <sup>Dd</sup>	6.23±0.00 <sup>Eb</sup>
RL1	6.31±0.01 <sup>Ae</sup>	6.25±0.01 <sup>Bd</sup>	6.23±0.01 <sup>Cd</sup>	6.22±0.01 <sup>De</sup>	6.21±0.01 <sup>Dc</sup>
RL2	6.26±0.00 <sup>Af</sup>	6.22±0.03 <sup>Be</sup>	6.21±0.00 <sup>BCe</sup>	6.20±0.01 <sup>Cf</sup>	6.18±0.01 <sup>Dd</sup>
RG1	6.32±0.00 <sup>Ad</sup>	6.30±0.01 <sup>Bc</sup>	6.28±0.02 <sup>Cc</sup>	6.26±0.00 <sup>Dc</sup>	6.14±0.01 <sup>Ee</sup>
RG2	6.33±0.00 <sup>Ac</sup>	6.32±0.01 <sup>Bc</sup>	6.31±0.01 <sup>BCb</sup>	6.31±0.01 <sup>Cb</sup>	6.16±0.02 <sup>De</sup>
RA	6.24±0.00 <sup>Ag</sup>	6.19±0.00 <sup>Bde</sup>	6.18±0.01 <sup>Cf</sup>	6.17±0.01 <sup>Cg</sup>	6.11±0.01 <sup>Bde</sup>

All values are mean±standard deviation.

<sup>1)</sup>Treatments: Control, meat *soondae* made with un-swelled pork skin; Control1, meat *soondae* made with swelled pork skin; RL1, meat *soondae* made with rice vinegar swelled pork skin and 1% lotus leaf powder, RL2, meat *soondae* made with rice vinegar swelled pork skin and 2% lotus leaf powder; RG1, meat *soondae* made with rice vinegar swelled pork skin and 1% goldenrod leaf powder; RG2, meat *soondae* made with rice vinegar swelled pork skin and 2% goldenrod leaf powder; RA, meat *soondae* made with rice vinegar swelled pork skin and 0.05% ascorbic acid.

<sup>A-E</sup>Means in a row with different letters are significantly different ( $p<0.05$ ).

<sup>a-g</sup>Means in a column with different letters are significantly different ( $p<0.05$ ).

저장기간이 경과함에 따라 명도와 황색도는 증가하는 경향을 보였으며<Table 1-17>, 적색도는 감소하는 경향을 나타내었다( $p<0.05$ ). 또한 대조구보다 현미식초로 팽윤한 돈피를 첨가한 대조구1(control1)의 적색도가 더 높은 경향을 나타내었고, ascorbic acid를 첨가한 처리구가 가장 높은 적색도를 나타내었다( $p<0.05$ ).

<Table 1-17> Change in color parameters of functional meat *soondae* containing lotus leaf or goldenrod powder during refrigerated storage (4°C)

Treatments <sup>1)</sup>	Storage period (day)					
	1	5	10	15	20	
CIE L*	Control	41.88±2.62 <sup>c</sup>	42.02±3.86 <sup>c</sup>	41.04±2.13 <sup>c</sup>	43.34±3.64 <sup>bc</sup>	43.67±2.71 <sup>ab</sup>
	Control1	47.62±2.37 <sup>a</sup>	47.36±2.37 <sup>a</sup>	47.66±4.19 <sup>a</sup>	47.21±2.24 <sup>a</sup>	47.49±4.37 <sup>a</sup>
	RL1	41.76±0.88 <sup>c</sup>	42.27±1.49 <sup>c</sup>	42.40±0.91 <sup>bc</sup>	42.24±0.92 <sup>bc</sup>	42.88±1.23 <sup>b</sup>
	RL2	39.31±1.39 <sup>Bd</sup>	39.45±0.84 <sup>Bd</sup>	42.02±1.24 <sup>Ac</sup>	42.18±0.66 <sup>Abc</sup>	42.16±0.62 <sup>Ab</sup>
	RG1	42.71±3.28 <sup>bc</sup>	42.79±1.72 <sup>bc</sup>	42.36±1.41 <sup>bc</sup>	43.29±1.95 <sup>bc</sup>	44.37±3.67 <sup>b</sup>
	RG2	39.50±1.32 <sup>Cd</sup>	39.72±0.70 <sup>BCd</sup>	40.77±1.11 <sup>ABCc</sup>	41.25±0.89 <sup>ABc</sup>	41.94±2.47 <sup>Ab</sup>
	RA	44.18±1.43 <sup>b</sup>	44.74±2.06 <sup>b</sup>	44.43±0.97 <sup>b</sup>	44.57±1.73 <sup>ab</sup>	44.56±2.59 <sup>ab</sup>
CIE a*	Control	13.00±2.20 <sup>b</sup>	12.41±1.63 <sup>c</sup>	12.25±1.63 <sup>b</sup>	12.97±1.43 <sup>b</sup>	11.88±1.33 <sup>b</sup>
	Control1	15.00±2.08 <sup>Ab</sup>	14.10±1.43 <sup>ABb</sup>	13.13±1.48 <sup>Bb</sup>	13.30±0.97 <sup>ABb</sup>	12.85±1.51 <sup>Bb</sup>
	RL1	11.30±0.82 <sup>Ac</sup>	10.07±1.20 <sup>Bd</sup>	9.95±0.76 <sup>Bcd</sup>	9.49±0.64 <sup>Bcd</sup>	9.64±0.28 <sup>Bc</sup>
	RL2	9.24±0.80 <sup>d</sup>	9.70±0.45 <sup>d</sup>	9.68±1.42 <sup>c</sup>	9.59±1.54 <sup>c</sup>	9.37±0.47 <sup>c</sup>
	RG1	9.38±1.37 <sup>ABd</sup>	8.84±2.36 <sup>Bd</sup>	8.70±0.51 <sup>ABd</sup>	8.62±0.56 <sup>Bd</sup>	8.61±1.04 <sup>Bc</sup>
	RG2	7.02±1.22 <sup>Ae</sup>	6.22±0.85 <sup>ABe</sup>	5.67±0.51 <sup>BCe</sup>	5.92±0.43 <sup>Be</sup>	4.92±0.64 <sup>Cd</sup>
	RA	17.48±1.01 <sup>A</sup>	17.27±0.93 <sup>a</sup>	17.42±1.13 <sup>a</sup>	17.13±1.25 <sup>a</sup>	17.34±1.07 <sup>a</sup>
CIE b*	Control	8.57±0.82 <sup>d</sup>	8.80±0.61 <sup>d</sup>	8.83±1.55 <sup>c</sup>	8.93±0.32 <sup>c</sup>	9.19±0.51 <sup>c</sup>
	Control1	11.06±0.58 <sup>a</sup>	11.60±0.71 <sup>a</sup>	11.20±0.82 <sup>ab</sup>	11.29±0.60 <sup>a</sup>	11.31±0.62 <sup>a</sup>
	RL1	11.20±0.54 <sup>a</sup>	11.28±0.86 <sup>ab</sup>	10.71±0.71 <sup>ab</sup>	11.35±0.44 <sup>a</sup>	11.37±1.10 <sup>a</sup>
	RL2	10.78±0.28 <sup>ab</sup>	10.85±0.77 <sup>b</sup>	10.90±0.47 <sup>ab</sup>	10.72±1.06 <sup>ab</sup>	10.90±0.61 <sup>ab</sup>
	RG1	10.34±1.02 <sup>bc</sup>	10.11±0.57 <sup>c</sup>	10.69±0.78 <sup>ab</sup>	10.46±0.96 <sup>ab</sup>	10.82±0.80 <sup>ab</sup>
	RG2	9.99±0.67 <sup>c</sup>	10.92±0.41 <sup>ab</sup>	10.96±1.16 <sup>b</sup>	10.45±0.91 <sup>b</sup>	10.60±1.17 <sup>bc</sup>
	RA	11.27±0.60 <sup>BCa</sup>	11.43±0.35 <sup>ABCab</sup>	11.85±0.49 <sup>Aa</sup>	11.17±0.39 <sup>Cab</sup>	11.74±0.52 <sup>ABa</sup>

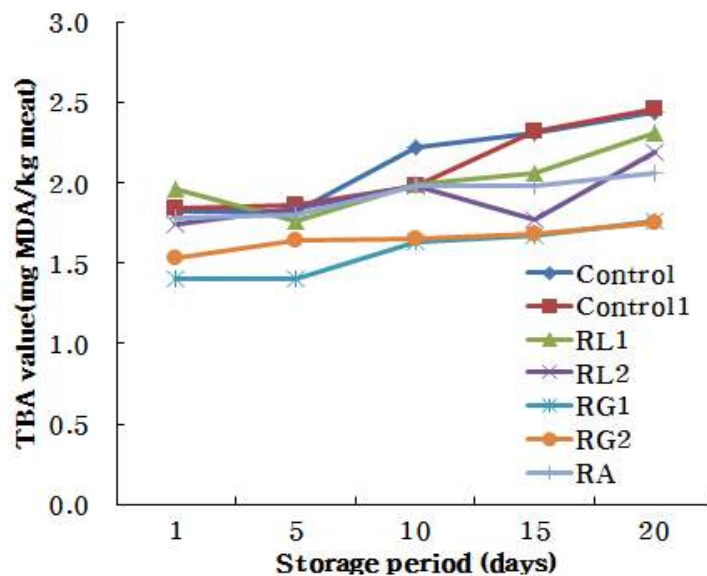
All values are mean±standard deviation.

<sup>1)</sup>Treatments: Control, meat *soondae* made with un-swelled pork skin; Control1, meat *soondae* made with swelled pork skin; RL1, meat *soondae* made with rice vinegar swelled pork skin and 1% lotus leaf powder; RL2, meat *soondae* made with rice vinegar swelled pork skin and 2% lotus leaf powder; RG1, meat *soondae* made with rice vinegar swelled pork skin and 1% goldenrod leaf powder; RG2, meat *soondae* made with rice vinegar swelled pork skin and 2% goldenrod leaf powder; RA, meat *soondae* made with rice vinegar swelled pork skin and 0.05% ascorbic acid.

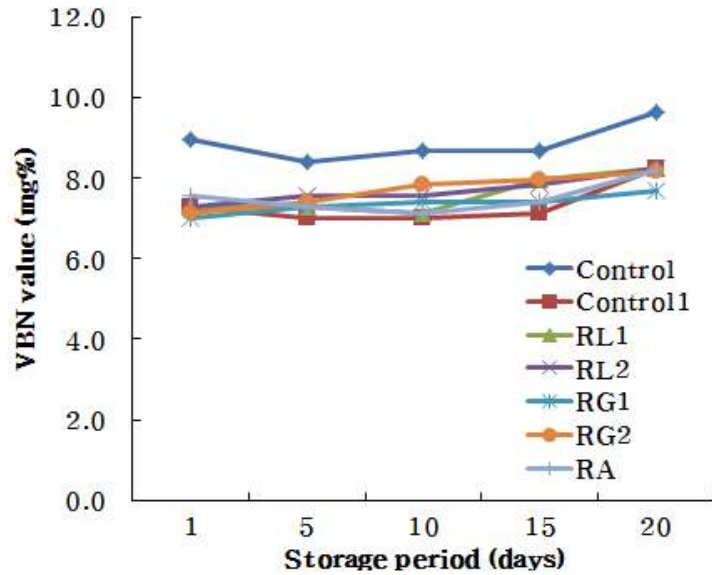
<sup>A-C</sup>Means in a row with different letters are significantly different ( $p<0.05$ ).

<sup>a-e</sup>Means in a column with different letters are significantly different ( $p<0.05$ ).

연잎과 취분말 첨가가 고기 순대의 저장기간에 따른 지질산패도(TBA value)의 변화는 <Fig. 1-13>에 나타내었는데, 취잎을 첨가한 처리구가 20일의 저장 기간 동안 지속적으로 낮은 지방산패도 값을 나타내었다( $p<0.05$ ). 그리고 고기 순대의 저장기간에 따른 휘발성 염기태 질소 화합물(VBN value)의 변화는 <Fig. 1-14>에 나타내었으며 현미식초로 팽윤된 돈피 첨가구가 대조구보다 낮은 염기태 질소 화합물 값을 나타내었고, 현미식초로 팽윤된 돈피와 취잎 분말을 첨가한 처리구가 가장 낮은 값을 나타내었다( $p<0.05$ ).



<Fig. 1-13> Change in 2-thiobarbituric acid (TBA) value of functional meat *soondae* containing lotus leaf or goldenrod powder during refrigerated storage (4°C). Control, meat *soondae* made with un-swelled pork skin; Control1, meat *soondae* made with swelled pork skin; RL1, meat *soondae* made with rice vinegar swelled pork skin and 1% lotus leaf powder, RL2, meat *soondae* made with rice vinegar swelled pork skin and 2% lotus leaf powder; RG1, meat *soondae* made with rice vinegar swelled pork skin and 1% goldenrod leaf powder; RG2, meat *soondae* made with rice vinegar swelled pork skin and 2% goldenrod leaf powder; RA, meat *soondae* made with rice vinegar swelled pork skin and 0.05% ascorbic acid.



<Fig. 1-14> Change in volatile basic nitrogen (VBN) value of functional meat *soondae* containing lotus leaf or goldenrod powder during refrigerated storage (4°C). Control, meat *soondae* made with un-swelled pork skin; Control1, meat *soondae* made with swelled pork skin; RL1, meat *soondae* made with rice vinegar swelled pork skin and 1% lotus leaf powder, RL2, meat *soondae* made with rice vinegar swelled pork skin and 2% lotus leaf powder; RG1, meat *soondae* made with rice vinegar swelled pork skin and 1% goldenrod leaf powder; RG2, meat *soondae* made with rice vinegar swelled pork skin and 2% goldenrod leaf powder; RA, meat *soondae* made with rice vinegar swelled pork skin and 0.05% ascorbic acid.

<Table 1-18>은 연잎과 취잎분말을 첨가한 고기 순대의 저장기간에 따른 물리적 특성 변화를 나타낸 것으로, 저장기간이 경과함에 따라 경도는 유의적으로 증가하는 경향을 나타냈으며 ( $p<0.05$ ), 대조구가 가장 높은 경도값을 나타내었다. 또한 연잎과 취잎 분말의 첨가 비율이 증가함에 따라 경도가 감소하였고, 경도가 높은 값을 보일 때 검성 및 씹음성도 높게 나타났으며, 응집성과 탄력성은 저장기간이 경과함에 따라 증가하였다.

관능평가 결과 색은 ascorbic acid를 첨가한 처리구가 붉은 색을 띠어 높은 점수를 받았으며, 모든 고기순대 처리구에서 저장기간이 경과함에 따라 색은 감소하는 경향을 나타내었다<Table 1-19>. 또한 연잎과 취잎 분말을 첨가할수록 연잎과 취잎 분말이 진한녹색을 지니기 때문에 어두운 색을 나타내었다. 풍미는 저장기간에 따라 감소하였으며 연잎과 취잎 분말 모두 1%를 첨가하였을 때 우수한 풍미 평가를 받았으나, 2% 첨가 시에는 제품의 풍미가 낮은 평가를 받았다. 연도와 다즙성은 팽윤된 머리스킨 무첨가구가 가장 높은 점수를 나타내었으며, 2%의 천연 식재료를 첨가한 RL2와 RG2 모두 낮은 연도를 나타내었다. 전체적인 기호도에서는 현미식초 팽윤 머리스킨과 2% 취잎 분말을 첨가한 처리구가 가장 높은 점수를 받았으나, 모든 대조구 및 처리구들간의 유의적인 차이는 나타나지 않았다( $p>0.05$ ).

<Table 1-18> Change in textural properties of functional meat *soondae* containing lotus leaf or goldenrod powder during refrigerated storage (4°C)

Treatments <sup>1)</sup>		Storage period (day)				
		1	5	10	15	20
Hardness (kg)	Control	41.88±2.62 <sup>c</sup>	42.02±3.86 <sup>c</sup>	41.04±2.13 <sup>c</sup>	43.34±3.64 <sup>bc</sup>	43.67±2.71 <sup>ab</sup>
	Controll	47.62±2.37 <sup>a</sup>	47.36±2.37 <sup>a</sup>	47.66±4.19 <sup>a</sup>	47.21±2.24 <sup>a</sup>	47.49±4.37 <sup>a</sup>
	RL1	41.76±0.88 <sup>c</sup>	42.27±1.49 <sup>c</sup>	42.40±0.91 <sup>bc</sup>	42.24±0.92 <sup>bc</sup>	42.88±1.23 <sup>b</sup>
	RL2	39.31±1.39 <sup>Bd</sup>	39.45±0.84 <sup>Bd</sup>	42.02±1.24 <sup>Ac</sup>	42.18±0.66 <sup>Abc</sup>	42.16±0.62 <sup>Ab</sup>
	RG1	42.71±3.28 <sup>bc</sup>	42.79±1.72 <sup>bc</sup>	42.36±1.41 <sup>bc</sup>	43.29±1.95 <sup>bc</sup>	44.37±3.67 <sup>b</sup>
	RG2	39.50±1.32 <sup>Cd</sup>	39.72±0.70 <sup>BCd</sup>	40.77±1.11 <sup>ABCc</sup>	41.25±0.89 <sup>ABc</sup>	41.94±2.47 <sup>Ab</sup>
	RA	44.18±1.43 <sup>b</sup>	44.74±2.06 <sup>b</sup>	44.43±0.97 <sup>b</sup>	44.57±1.73 <sup>ab</sup>	44.56±2.59 <sup>ab</sup>
Springiness	Control	13.00±2.20 <sup>b</sup>	12.41±1.63 <sup>c</sup>	12.25±1.63 <sup>b</sup>	12.97±1.43 <sup>b</sup>	11.88±1.33 <sup>b</sup>
	Controll	15.00±2.08 <sup>Ab</sup>	14.10±1.43 <sup>ABb</sup>	13.13±1.48 <sup>Bb</sup>	13.30±0.97 <sup>ABb</sup>	12.85±1.51 <sup>Bb</sup>
	RL1	11.30±0.82 <sup>Ac</sup>	10.07±1.20 <sup>Bd</sup>	9.95±0.76 <sup>Bcd</sup>	9.49±0.64 <sup>Bcd</sup>	9.64±0.28 <sup>Bc</sup>
	RL2	9.24±0.80 <sup>d</sup>	9.70±0.45 <sup>d</sup>	9.68±1.42 <sup>c</sup>	9.59±1.54 <sup>c</sup>	9.37±0.47 <sup>c</sup>
	RG1	9.38±1.37 <sup>ABd</sup>	8.84±2.36 <sup>Bd</sup>	8.70±0.51 <sup>ABd</sup>	8.62±0.56 <sup>Bd</sup>	8.61±1.04 <sup>Bc</sup>
	RG2	7.02±1.22 <sup>Ae</sup>	6.22±0.85 <sup>ABe</sup>	5.67±0.51 <sup>BCe</sup>	5.92±0.43 <sup>Bc</sup>	4.92±0.64 <sup>Cd</sup>
	RA	17.48±1.01 <sup>A</sup>	17.27±0.93 <sup>a</sup>	17.42±1.13 <sup>a</sup>	17.13±1.25 <sup>a</sup>	17.34±1.07 <sup>a</sup>
Cohesiveness	Control	8.57±0.82 <sup>d</sup>	8.80±0.61 <sup>d</sup>	8.83±1.55 <sup>c</sup>	8.93±0.32 <sup>c</sup>	9.19±0.51 <sup>c</sup>
	Controll	11.06±0.58 <sup>a</sup>	11.60±0.71 <sup>a</sup>	11.20±0.82 <sup>ab</sup>	11.29±0.60 <sup>a</sup>	11.31±0.62 <sup>a</sup>
	RL1	11.20±0.54 <sup>a</sup>	11.28±0.86 <sup>ab</sup>	10.71±0.71 <sup>ab</sup>	11.35±0.44 <sup>a</sup>	11.37±1.10 <sup>a</sup>
	RL2	10.78±0.28 <sup>ab</sup>	10.85±0.77 <sup>b</sup>	10.90±0.47 <sup>ab</sup>	10.72±1.06 <sup>ab</sup>	10.90±0.61 <sup>ab</sup>
	RG1	10.34±1.02 <sup>bc</sup>	10.11±0.57 <sup>c</sup>	10.69±0.78 <sup>ab</sup>	10.46±0.96 <sup>ab</sup>	10.82±0.80 <sup>ab</sup>
	RG2	9.99±0.67 <sup>c</sup>	10.92±0.41 <sup>ab</sup>	10.96±1.16 <sup>b</sup>	10.45±0.91 <sup>b</sup>	10.60±1.17 <sup>bc</sup>
	RA	11.27±0.60 <sup>BCa</sup>	11.43±0.35 <sup>ABCab</sup>	11.85±0.49 <sup>Aa</sup>	11.17±0.39 <sup>Cab</sup>	11.74±0.52 <sup>ABa</sup>
Gumminess (kg)	Control	8.57±0.82 <sup>d</sup>	8.80±0.61 <sup>d</sup>	8.83±1.55 <sup>c</sup>	8.93±0.32 <sup>c</sup>	9.19±0.51 <sup>c</sup>
	Controll	11.06±0.58 <sup>a</sup>	11.60±0.71 <sup>a</sup>	11.20±0.82 <sup>ab</sup>	11.29±0.60 <sup>a</sup>	11.31±0.62 <sup>a</sup>
	RL1	11.20±0.54 <sup>a</sup>	11.28±0.86 <sup>ab</sup>	10.71±0.71 <sup>ab</sup>	11.35±0.44 <sup>a</sup>	11.37±1.10 <sup>a</sup>
	RL2	10.78±0.28 <sup>ab</sup>	10.85±0.77 <sup>b</sup>	10.90±0.47 <sup>ab</sup>	10.72±1.06 <sup>ab</sup>	10.90±0.61 <sup>ab</sup>
	RG1	10.34±1.02 <sup>bc</sup>	10.11±0.57 <sup>c</sup>	10.69±0.78 <sup>ab</sup>	10.46±0.96 <sup>ab</sup>	10.82±0.80 <sup>ab</sup>
	RG2	9.99±0.67 <sup>c</sup>	10.92±0.41 <sup>ab</sup>	10.96±1.16 <sup>b</sup>	10.45±0.91 <sup>b</sup>	10.60±1.17 <sup>bc</sup>
	RA	11.27±0.60 <sup>BCa</sup>	11.43±0.35 <sup>ABCab</sup>	11.85±0.49 <sup>Aa</sup>	11.17±0.39 <sup>Cab</sup>	11.74±0.52 <sup>ABa</sup>
Chewiness (kg)	Control	8.57±0.82 <sup>d</sup>	8.80±0.61 <sup>d</sup>	8.83±1.55 <sup>c</sup>	8.93±0.32 <sup>c</sup>	9.19±0.51 <sup>c</sup>
	Controll	11.06±0.58 <sup>a</sup>	11.60±0.71 <sup>a</sup>	11.20±0.82 <sup>ab</sup>	11.29±0.60 <sup>a</sup>	11.31±0.62 <sup>a</sup>
	RL1	11.20±0.54 <sup>a</sup>	11.28±0.86 <sup>ab</sup>	10.71±0.71 <sup>ab</sup>	11.35±0.44 <sup>a</sup>	11.37±1.10 <sup>a</sup>
	RL2	10.78±0.28 <sup>ab</sup>	10.85±0.77 <sup>b</sup>	10.90±0.47 <sup>ab</sup>	10.72±1.06 <sup>ab</sup>	10.90±0.61 <sup>ab</sup>
	RG1	10.34±1.02 <sup>bc</sup>	10.11±0.57 <sup>c</sup>	10.69±0.78 <sup>ab</sup>	10.46±0.96 <sup>ab</sup>	10.82±0.80 <sup>ab</sup>
	RG2	9.99±0.67 <sup>c</sup>	10.92±0.41 <sup>ab</sup>	10.96±1.16 <sup>b</sup>	10.45±0.91 <sup>b</sup>	10.60±1.17 <sup>bc</sup>
	RA	11.27±0.60 <sup>BCa</sup>	11.43±0.35 <sup>ABCab</sup>	11.85±0.49 <sup>Aa</sup>	11.17±0.39 <sup>Cab</sup>	11.74±0.52 <sup>ABa</sup>

All values are mean±standard deviation.

<sup>1)</sup>Treatments: Control, meat *soondae* made with un-swelled pork skin; Controll, meat *soondae* made with swelled pork skin; RL1, meat *soondae* made with rice vinegar swelled pork skin and 1% lotus leaf powder, RL2, meat *soondae* made with rice vinegar swelled pork skin and 2% lotus leaf powder; RG1, meat *soondae* made with rice vinegar swelled pork skin and 1% goldenrod leaf powder; RG2, meat *soondae* made with rice vinegar swelled pork skin and 2% goldenrod leaf powder; RA, meat *soondae* made with rice vinegar swelled pork skin and 0.05% ascorbic acid.

<sup>A-C</sup>Means in a row with different letters are significantly different ( $p<0.05$ ).

<sup>a-e</sup>Means in a column with different letters are significantly different ( $p<0.05$ ).



<Table 1-19> Change in sensory properties of functional meat *soondae* containing lotus leaf or goldenrod powder during refrigerated storage (4°C)

Treatments <sup>1)</sup>		Storage period (day)				
		1	5	10	15	20
Color	Control	8.63±0.52 <sup>Aab</sup>	8.63±0.52 <sup>Aab</sup>	7.50±0.53 <sup>B</sup>	5.71±0.49 <sup>Cab</sup>	5.43±0.53 <sup>C</sup>
	Controll	8.50±0.53 <sup>Aab</sup>	8.50±0.53 <sup>Aabc</sup>	7.75±0.71 <sup>B</sup>	5.57±0.53 <sup>Cabc</sup>	4.71±0.76 <sup>C</sup>
	RL1	8.38±0.52 <sup>Aab</sup>	8.25±0.71 <sup>Aabc</sup>	7.75±0.71 <sup>A</sup>	5.29±0.76 <sup>Babc</sup>	4.71±0.76 <sup>C</sup>
	RL2	8.13±0.83 <sup>Ab</sup>	7.88±0.83 <sup>Abc</sup>	7.63±0.74 <sup>A</sup>	5.86±0.90 <sup>Bbc</sup>	4.57±0.79 <sup>B</sup>
	RG1	8.50±0.53 <sup>Aab</sup>	8.38±0.74 <sup>Aabc</sup>	7.88±0.83 <sup>A</sup>	5.43±0.79 <sup>Babc</sup>	4.86±0.90 <sup>B</sup>
	RG2	8.00±0.93 <sup>Ab</sup>	7.75±0.89 <sup>Ac</sup>	7.38±0.52 <sup>A</sup>	5.71±0.95 <sup>Bc</sup>	4.29±0.49 <sup>B</sup>
	RA	9.00±0.93 <sup>Aa</sup>	8.75±0.71 <sup>ABa</sup>	8.00±1.07 <sup>B</sup>	5.86±0.69 <sup>Ca</sup>	4.00±1.15 <sup>D</sup>
Flav or	Control	8.75±0.46 <sup>Aa</sup>	8.50±0.76 <sup>Aa</sup>	7.50±0.53 <sup>B</sup>	5.57±0.79 <sup>Ca</sup>	4.43±0.53 <sup>D</sup>
	Controll	8.50±0.53 <sup>Aab</sup>	8.13±0.64 <sup>ABab</sup>	7.75±0.71 <sup>B</sup>	5.14±0.69 <sup>Cab</sup>	4.71±0.76 <sup>D</sup>
	RL1	8.38±0.52 <sup>Aab</sup>	8.00±0.76 <sup>ABab</sup>	7.50±0.53 <sup>B</sup>	5.00±0.82 <sup>Cab</sup>	4.43±0.53 <sup>D</sup>
	RL2	8.13±0.64 <sup>Aab</sup>	7.75±0.71 <sup>ABab</sup>	7.38±0.74 <sup>B</sup>	5.71±0.76 <sup>Cab</sup>	4.29±0.76 <sup>D</sup>
	RG1	8.50±0.53 <sup>Aab</sup>	8.13±0.83 <sup>ABab</sup>	7.63±0.74 <sup>B</sup>	5.14±0.90 <sup>Cab</sup>	4.57±0.79 <sup>D</sup>
	RG2	7.88±0.64 <sup>Ab</sup>	7.63±0.74 <sup>Ab</sup>	7.25±0.71 <sup>B</sup>	5.57±0.79 <sup>Cb</sup>	4.14±0.69 <sup>D</sup>
	RA	8.38±0.52 <sup>Aab</sup>	8.25±0.71 <sup>Aab</sup>	7.88±0.83 <sup>B</sup>	5.29±0.76 <sup>Cab</sup>	4.86±0.90 <sup>D</sup>
Ten dern ess	Control	8.50±0.53 <sup>Aa</sup>	8.25±0.46 <sup>ABab</sup>	7.88±0.64 <sup>B</sup>	5.29±0.49 <sup>Cab</sup>	4.86±0.69 <sup>Da</sup>
	Controll	8.25±0.46 <sup>Aab</sup>	8.13±0.64 <sup>Aab</sup>	7.75±0.71 <sup>A</sup>	5.14±0.69 <sup>Bb</sup>	4.71±0.76 <sup>Bb</sup>
	RL1	8.38±0.52 <sup>Aab</sup>	8.25±0.46 <sup>Aab</sup>	7.63±0.52 <sup>B</sup>	5.29±0.49 <sup>Cab</sup>	4.57±0.53 <sup>Dab</sup>
	RL2	8.00±0.76 <sup>Aab</sup>	7.63±0.74 <sup>ABb</sup>	7.13±0.83 <sup>B</sup>	5.57±0.79 <sup>Cb</sup>	4.00±0.82 <sup>Db</sup>
	RG1	8.50±0.53 <sup>Aa</sup>	8.38±0.52 <sup>Aa</sup>	7.75±0.71 <sup>B</sup>	5.43±0.53 <sup>Ca</sup>	4.71±0.76 <sup>Dab</sup>
	RG2	7.75±0.71 <sup>bA</sup>	7.63±0.74 <sup>bA</sup>	7.25±0.71 <sup>A</sup>	5.57±0.79 <sup>Cb</sup>	4.14±0.69 <sup>Db</sup>
	RA	8.38±0.52 <sup>Aab</sup>	8.00±0.53 <sup>ABab</sup>	7.63±0.52 <sup>B</sup>	5.00±0.58 <sup>Cab</sup>	4.57±0.53 <sup>Dab</sup>
Juici ness	Control	8.63±0.52 <sup>A</sup>	8.50±0.53 <sup>A</sup>	7.75±0.71 <sup>B</sup>	5.57±0.53 <sup>C</sup>	4.71±0.76 <sup>D</sup>
	Controll	8.13±0.83 <sup>A</sup>	8.00±0.76 <sup>A</sup>	7.75±0.71 <sup>A</sup>	5.00±0.82 <sup>B</sup>	4.71±0.76 <sup>C</sup>
	RL1	8.25±0.71 <sup>A</sup>	8.13±0.64 <sup>A</sup>	7.88±0.64 <sup>A</sup>	5.14±0.69 <sup>B</sup>	4.86±0.69 <sup>C</sup>
	RL2	8.00±0.76 <sup>A</sup>	7.88±0.64 <sup>A</sup>	7.63±0.92 <sup>A</sup>	5.86±0.69 <sup>B</sup>	4.57±0.98 <sup>C</sup>
	RG1	8.50±0.53 <sup>A</sup>	8.25±0.71 <sup>A</sup>	8.13±0.64 <sup>A</sup>	5.29±0.76 <sup>B</sup>	4.14±0.69 <sup>C</sup>
	RG2	7.88±0.83 <sup>A</sup>	7.75±0.71 <sup>A</sup>	7.75±0.71 <sup>A</sup>	5.71±0.76 <sup>B</sup>	4.71±0.76 <sup>C</sup>
	RA	8.25±0.71 <sup>A</sup>	7.88±0.83 <sup>A</sup>	7.63±0.92 <sup>A</sup>	5.86±0.90 <sup>B</sup>	4.57±0.98 <sup>C</sup>
Over all acce ptabi lity	Control	8.63±0.52 <sup>A</sup>	8.25±0.71 <sup>AB</sup>	7.63±0.74 <sup>B</sup>	5.29±0.76 <sup>C</sup>	4.57±0.79 <sup>D</sup>
	Controll	8.75±0.46 <sup>A</sup>	8.50±0.53 <sup>A</sup>	8.25±0.71 <sup>A</sup>	5.57±0.53 <sup>B</sup>	4.29±0.76 <sup>C</sup>
	RL1	8.63±0.74 <sup>A</sup>	8.63±0.52 <sup>A</sup>	8.25±0.71 <sup>A</sup>	5.71±0.49 <sup>B</sup>	4.29±0.76 <sup>C</sup>
	RL2	8.38±0.74 <sup>A</sup>	8.38±0.74 <sup>A</sup>	7.88±0.99 <sup>A</sup>	5.43±0.79 <sup>B</sup>	4.86±1.07 <sup>C</sup>
	RG1	8.63±0.74 <sup>A</sup>	8.63±0.52 <sup>A</sup>	8.25±0.71 <sup>A</sup>	5.75±0.46 <sup>B</sup>	4.38±0.74 <sup>C</sup>
	RG2	8.13±0.83 <sup>A</sup>	8.25±0.89 <sup>A</sup>	8.00±0.76 <sup>A</sup>	5.29±0.95 <sup>B</sup>	4.00±0.82 <sup>C</sup>
	RA	8.63±0.52 <sup>A</sup>	8.50±0.53 <sup>A</sup>	8.13±0.64 <sup>A</sup>	5.57±0.53 <sup>B</sup>	4.14±0.69 <sup>C</sup>

All values are mean±standard deviation.

<sup>1)</sup>Treatments: Control, meat *soondae* made with un-swelled pork skin; Controll, meat *soondae* made with swelled pork skin; RL1, meat *soondae* made with rice vinegar swelled pork skin and 1% lotus leaf powder, RL2, meat *soondae* made with rice vinegar swelled pork skin and 2% lotus leaf powder; RG1, meat *soondae* made with rice vinegar swelled pork skin and 1% goldenrod leaf powder; RG2, meat *soondae* made with rice vinegar swelled pork skin and 2% goldenrod leaf powder; RA, meat *soondae* made with rice vinegar swelled pork skin and 0.05% ascorbic acid.

<sup>A-D</sup>Means in a row with different letters are significantly different ( $p<0.05$ ).

<sup>a-c</sup>Means in a column with different letters are significantly different ( $p<0.05$ ).

따라서 위의 연구 결과 고기순대 제조 시 연잎 및 취잎 분말을 첨가할 때, 냉장저장 중 고기순대의 지질 산패도와 휘발성 염기태 질소 화합물의 증가를 억제할 수 있으며, 1%의 연잎과 취잎 분말을 첨가한 처리구의 관능적 기호도가 높은 평가를 받았으므로, 연잎과 취잎 분말을 고기순대에 활용시 효과적으로 고기순대의 품질특성과 저장안정성을 향상시킬 수 있다고 사료된다.

## 2. 돈피(pork skin) 콜라겐과 식이섬유를 이용한 기능성 저지방 소시지 개발

### 가. 돈피와 식이섬유의 혼합물을 지방대체재로 이용한 저지방 유화형 육제품의 개발

#### (1) 서론

웰빙 트렌드의 영향으로 소비자들은 고지방·고열량 식품을 기피하게 되었으며, 저지방 식품들이 주목받게 되었다. 육가공품에서 지방은 조직감과 향미를 부여하여 소비자의 기호도를 높일 뿐만 아니라 체내에서 합성되지 않는 필수 지방산을 공급하는 역할을 한다. 지방의 함량이 감소됨에 따라 소비자의 기호도가 저하되는 문제점이 발생할 수 있으며, 이러한 문제점을 보완하기 위해 조직감과 향미를 증진시킬 수 있는 지방대체재가 저지방 육제품에 이용되고 있다.

그러나 지방의 감소 혹은 대체소재의 활용은 식육가공품의 제조에 있어 상당한 기술적 난이도를 요구한다. Tokusoglu와 Ünal (2003)은 식육가공품에 함유된 지방함량은 향미 형성, 조직감 및 식감 등의 다양한 이화학적 및 관능적 특성에 영향을 미친다고 하였다. 또한 지방대체재로서 검류(gums), 이눌린(inulin), 말토덱스트린(maltodextrin), 전분(starch)이 탄수화물계 대체재로서 사용되고 있으며, 대두단백농축물(soy protein concentrate)과 완두단백(pea protein)이 단백질계 대체재 및 olestra 등의 합성지질대체재가 현재 저지방 식육가공품의 개발에 활용되었다고 보고하였다.

콜라겐(collagen)은 동물의 피부, 뼈, 연골, 힘줄, 인대, 혈관과 기타 결체조직에 존재하는 섬유상 단백질 중 하나이다. 기본적인 구조는 3중 나선구조로서 구성 아미노산은 일반적으로 글리신(glycine), 프로린(proline) 및 히드록시프로린(hydroxyproline)의 순서로 아미노산 조성을 갖는다고 알려져 있다. Prabhu 등(2004)은 0-3.5%의 콜라겐을 유화형 소시지에 첨가한 결과 1% 이상의 콜라겐을 첨가하면 가열수율 및 저장수율이 향상된다고 보고하였다. 또한 0-3%의 콜라겐을 햄류에 첨가하면 저장 4주 이후 저장감량이 감소된다고 하였고, 유화형 소시지와 햄 모두에서 2% 첨가수준의 콜라겐 첨가는 관능적 특성에 영향을 미치지 않는다고 하였다. 더욱이 Schilling 등(2003)은 가공적성이 열악한 것으로 알려진 PSE이상육에 콜라겐을 첨가하여 보수력 향상과 최종제품의 제조에 있어 단백질의 기능적 특성을 개선할 수 있다고 하였다. 즉 콜라겐은 지방 첨가량 감소에 따른 가공적성 저하를 개선할 수 있는 기능성 소재로서 활용될 수 있다고 판단된다.

따라서 본 연구에서는 다량의 콜라겐을 함유하는 돈피와 현재 가공적성 향상 및 품질특성 개선을 위하여 널리 사용되고 있는 식이섬유를 혼합하여 새로운 지방대체재를 개발하고, 이를 이용하여 등지방을 대체한 저지방 유화형 소시지를 제조하여 이화학적, 조직학적 및 관능적 특성을 평가하였다.

(2) 재료 및 방법

(가) 돈피와 식이섬유 혼합물의 제조

돈피는 선진포크에서 구입하여 흐르는 물에 수세한 후 80°C에서 40분간 가열하여 3 mm plate가 장착된 분쇄기(Mainca, PM-100, Spain)로 분쇄하였다. 분쇄한 돈피를 사일런트 커터(Nr-963009, Scharfen, Witten, Germany)로 세절하면서 빙수와 식이섬유(Central fiber chemical Inc., Seoul, Korea, insoluble dietary fiber: 94.5%, soluble dietary fiber: 2.5%, moisture: 8%, protein: 0.4%, fat: 0.2%, ash: 3%)를 첨가하여 혼합물을 제조하였다. <Table 2-1>은 돈피:수분:식이섬유의 비율을 5:3:2, 4:4:2, 3:5:2로 하여 제조한 혼합물의 품질특성을 각각 나타낸 것이다. 이 실험결과 품질특성이 가장 우수하게 나타난 4:4:2의 비율을 본 연구에 적용하여 돈피와 식이섬유의 혼합물을 제조하였다.

<Table 2-1> Quality characteristics of mixture prepared with pork skin and dietary fiber

Traits	Pork skin : ice : wheat fiber		
	5 : 3 : 2	4 : 4 : 2	3 : 5 : 2
Moisture (%)	59.07±1.37 <sup>B</sup>	59.02±1.32 <sup>B</sup>	64.44±0.37 <sup>A</sup>
Protein (%)	13.24±1.11 <sup>A</sup>	11.43±0.82 <sup>AB</sup>	10.86±0.72 <sup>B</sup>
Fat (%)	13.41±0.04 <sup>A</sup>	9.56±0.82 <sup>B</sup>	8.38±0.71 <sup>C</sup>
Hardness (kg)	20.96±3.58 <sup>A</sup>	14.67±2.83 <sup>B</sup>	10.22±3.68 <sup>C</sup>
Springiness	0.92±0.03 <sup>A</sup>	0.92±0.02 <sup>A</sup>	0.84±0.07 <sup>B</sup>

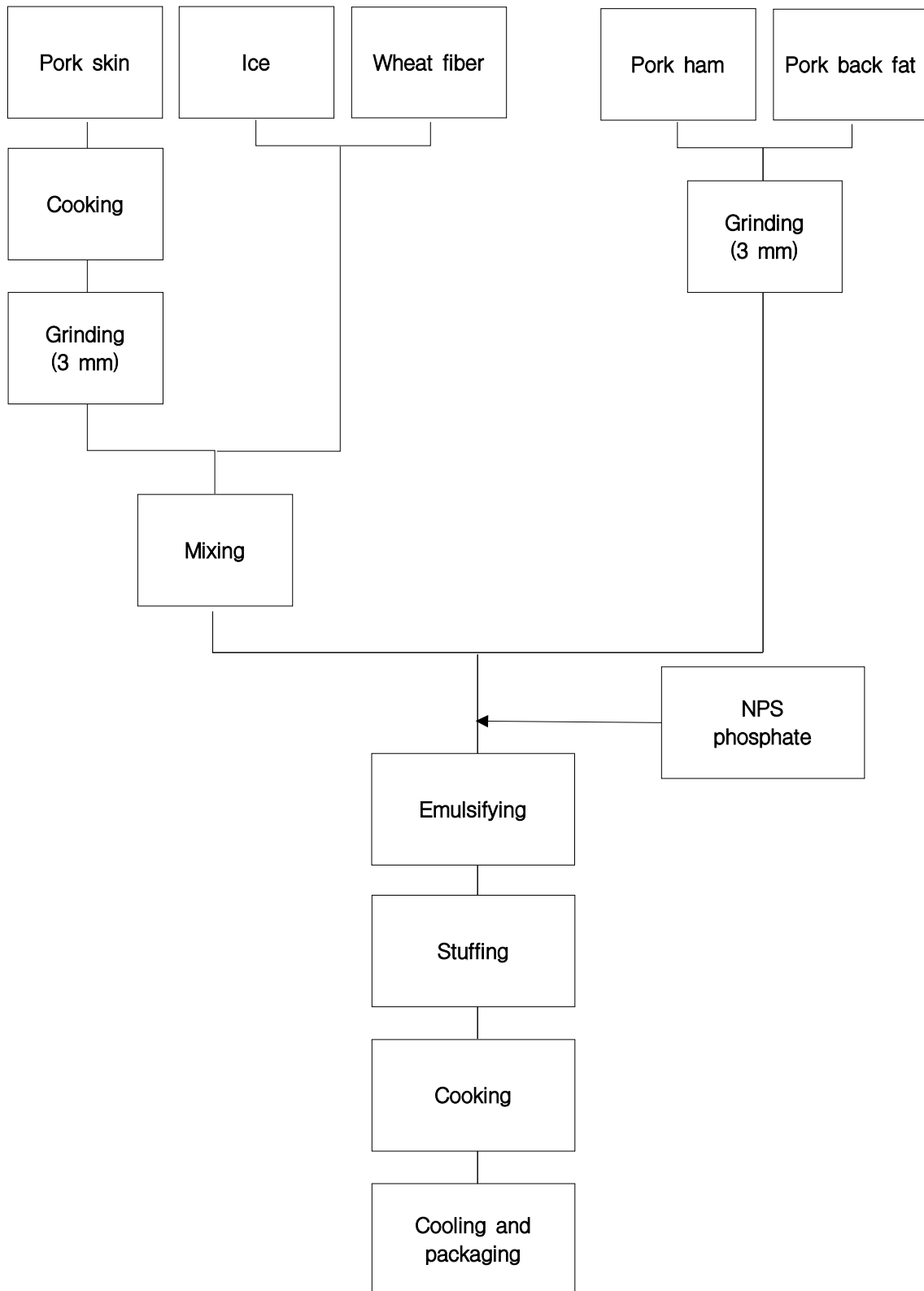
All values are mean±standard deviation.

<sup>A-C</sup>Means in a row with different letters are significantly different ( $p<0.05$ ).

(나) 돈피와 식이섬유의 혼합물을 첨가한 소시지의 제조

돈피와 식이섬유 혼합물의 첨가량을 다르게 하여 제조한 저지방 소시지의 배합비율은 <Table 2-2>와 같으며, 그 제조 과정을 <Fig. 2-1>로 나타내었다. 소시지의 원료육은 도축 후 48시간이 경과된 국내산 돈육 후지부위를 과도한 지방과 결체조직을 제거한 후 사용하였으며, 등지방은 도축장에서 구입한 것을 사용하였다. 돈육과 등지방을 3 mm plate가 장착된 분쇄기(Mainca, PM-100, Spain)를 이용하여 분쇄한 후 원료육을 사일런트 커터(Nr-963009, Scharfen, Witten, Germany)로 세절하면서 지방과 얼음, 소금, 인산염 및 돈피와 식이섬유 혼합물을 첨가하여 유화물을 만들었다. 유화물을 충전기(IS-8, Sirman, Marsango, Italy)를 이용하여 콜라겐 케이싱(#240, NIPPI Inc., Tokyo, Japan; approximate 25 mm diameter)에 충전하였다. 충전한 유화물은 훈연기(MAXI 3501, Kerres, Backnang, Germany)를 이용하여 80°C의

온도에서 40분간 가열한 후 냉수로 냉각하여 4°C에서 저장하였으며 일반성분, 열량, pH, 가열 감량, 색도, 물성 및 관능검사 등의 실험을 실시하였다.



<Fig. 2-1> Manufacturing procedure of reduced-fat emulsion sausage prepared with pork skin and dietary fiber.

<Table 2-2> Formulations of reduced-fat emulsion sausages prepared with pork skin and dietary fiber

(unit, %)

Ingredients	Control	Replacement ratio <sup>1)</sup>		
		10%	15%	20%
Pork ham	50	50	50	50
Pork back fat	30	20	15	10
Fat replacer <sup>2)</sup>	-	10	15	20
Ice	20	20	20	20
Total	100	100	100	100
NaCl	1.5	1.5	1.5	1.5
Sodium tri-polyphosphate	0.2	0.2	0.2	0.2

<sup>1)</sup>Replacement ratio: the ratio of replacement of pork back fat with fat replacer.

<sup>2)</sup>Fat replacer: the pre-emulsion contains pork skin, ice, and dietary fiber (4:4:2).

(다) 실험방법

① 일반성분(proximate composition)

저지방 소시지의 일반성분 정량은 AOAC법(1995)에 따라 수분함량은 105°C 상압건조법, 조단백질 함량은 Kjeldahl 법, 조지방 함량은 Soxhlet 법, 조회분 함량은 550°C에서 직접회화법으로 분석하였다.

② 칼로리 분석(caloric content)

칼로리 분석을 위하여 저지방 소시지를 분쇄하여 50 g을 취한 후 전처리하여 calorimeter(Model 1261, Parr Instrument Co., USA)로 분석하였다.

③ pH 측정(pH measurement)

저지방 소시지의 pH는 시료 5 g을 취하여 증류수 20 mL과 혼합하고 Ultra-turrax(Model NO. T25, Janken & Kunkel, Germany)를 사용하여 8,000 rpm에서 1분간 균질한 후 pH meter(Model 340, Mettler-Toledo, Switzerland)를 사용하여 측정하였다.

④ 가열감량(cooking loss)

저지방 소시지의 가열감량은 가열 이전 무게에 대한 가열 이후 감량손실에 대한 백분율로

산출하여 나타내었다.

$$\text{가열감량 (\%)} = \frac{[\text{가열 이전 시료의 무게 (g)} - \text{가열 이후 시료의 무게 (g)}]}{\text{가열 이전 시료의 무게 (g)}} \times 100$$

⑤ 색도(color measurement)

저지방 소시지의 색도는 colorimeter(Chromameter, CR210, Minolta, Japan)를 사용하여 CIE L\* -값(명도), CIE a\* -값(적색도)과 CIE b\* -값(황색도)을 측정하였다. 이때의 표준색은 L\* -값은 +97.83, a\* -값이 -0.43, b\* -값이 +1.98인 백색 표준판을 사용하였다.

⑥ 물성 측정(texture profile analysis)

저지방 소시지의 물성은 texture analyzer(TA-XT2i, Stable Micro Systems, England)에 5 mm 직경 실린더 모양 probe(5 mm diameter cylinder probe)를 장착한 후 제조된 시료의 근섬유 방향과 수직으로 관통시켜 hardness(경도, kg), springiness(탄력성), cohesiveness(응집성), gumminess(겉성, kg) 및 chewiness(씹음성, kg)를 분석하였다. 이때의 분석조건은 stroke 20 g, test speed 2.0 mm/sec, distance 10.0 mm로 설정하여 측정하였다.

⑦ 관능검사(sensory evaluation)

미리 훈련된 10명의 panel 요원을 구성하여 각각의 시료를 색(color), 풍미(flavor) 연도(tenderness), 다즙성(juiciness), 이취(off-flavor), 전체적인 기호도(overall acceptability)에 대하여 각각 10점 만점으로 평점하고 그 평균치를 구하여 비교하였다. 평점표에서 10점은 가장 우수하고, 1점은 가장 열악한 품질 상태를 나타낸다.

⑧ 통계분석(statistical analysis)

통계분석은 SAS program(SAS, 2008)의 GLM(General Linear Model) procedure를 통하여 분석하였고, 처리구간의 평균간 비교는 Duncan의 다중검정을 통하여 유의성 검정( $p < 0.05$ )을 실시하였다.

(3) 연구결과

돈피와 식이섬유의 혼합물로 지방을 대체하는 비율을 다르게 하여 제조한 저지방 소시지의 일반성분 및 열량을 분석하여 <Table 2-3>에 나타내었다. 처리구 간에 회분 함량은 유의적 차이가 없었으나 지방을 돈피와 식이섬유 혼합물로 대체한 비율이 높을수록 수분과 단백질의 함량은 유의적으로 높아졌으며( $p<0.05$ ), 지방 함량은 유의적으로 낮아지는 결과를 보였다. 또한 지방 함량이 낮아짐에 따라 소시지의 열량이 유의적으로 감소하는 경향을 나타내었다( $p<0.05$ ).

돈피와 식이섬유 혼합물의 첨가량을 달리한 유화형 저지방 소시지의 pH 및 가열감량을 측정 한 결과를 <Table 2-4>에 나타내었다. 모든 처리구에서 가열 전보다 가열 후에 소시지의 pH가 유의적으로 높은 값을 나타내었으며 이는 가열 중에 일어나는 단백질 변성의 영향으로 사료된다(Tanford, 1968). 돈피와 식이섬유 혼합물을 15% 첨가한 처리구까지 돈피와 식이섬유의 혼합물의 첨가량이 증가할수록 가열감량이 유의적으로 감소( $p<0.05$ )하는 결과를 보였으며, 돈피와 식이섬유 혼합물을 20% 첨가한 처리구는 모든 처리구 중에서 가장 낮은 가열감량을 나타내었다. 이러한 결과로 돈피와 식이섬유 혼합물이 가열감량의 감소에 기여함을 확인할 수 있었다.

<Table 2-5>는 돈피와 식이섬유 혼합물을 첨가한 저지방 소시지의 색도를 측정한 결과를 나타내었다. 돈피와 식이섬유 혼합물의 첨가량이 증가할수록 황색도가 유의적으로 증가( $p<0.05$ )하였으며, 이러한 결과는 돈피 고유의 색에 의한 결과로 사료된다. 또한 가열 전과 가열 후의 소시지에서 돈피와 식이섬유 혼합물의 첨가량이 증가함에 따라 명도는 유의적으로 감소하는 경향을 나타내었으나( $p<0.05$ ), 적색도는 큰 차이를 나타내지 않았다.

<Table 2-3> Proximate composition and caloric content of reduced-fat sausages prepared with pork skin and dietary fiber

Traits	Control	Replacement ratio <sup>1)</sup>		
		10%	15%	20%
Moisture (%)	58.14±0.60 <sup>D</sup>	63.68±0.77 <sup>C</sup>	66.21±0.74 <sup>B</sup>	68.13±0.60 <sup>A</sup>
Protein (%)	12.60±0.11 <sup>D</sup>	12.85±0.10 <sup>C</sup>	13.56±0.07 <sup>B</sup>	13.79±0.48 <sup>A</sup>
Fat (%)	26.17±1.31 <sup>A</sup>	19.22±0.96 <sup>B</sup>	15.73±0.94 <sup>C</sup>	13.09±0.41 <sup>D</sup>
Ash (%)	2.04±0.04	2.03±0.02	2.04±0.03	2.07±0.03
Caloric content (Kcal/100 g)	358.44±0.52 <sup>A</sup>	289.78±0.26 <sup>B</sup>	262.04±0.88 <sup>C</sup>	244.08±0.11 <sup>D</sup>

All values are mean±standard deviation.

<sup>1)</sup>Replacement ratio: the ratio of replacement of pork back fat with fat replacer. Fat replacer contains pork skin, ice, and dietary fiber (4:4:2).

<sup>A-D</sup>Means in a row with different letters are significantly different ( $p<0.05$ ).



<Table 2-4> The pH value and cooking loss of reduced-fat sausages prepared with pork skin and dietary fiber

Traits	Control	Replacement ratio <sup>1)</sup>		
		10%	15%	20%
pH value of meat batter	6.22±0.02 <sup>C**</sup>	6.27±0.02 <sup>B**</sup>	6.28±0.02 <sup>B**</sup>	6.30±0.02 <sup>A**</sup>
pH value of cooked sausage	6.40±0.02 <sup>B**</sup>	6.43±0.02 <sup>A**</sup>	6.44±0.02 <sup>A**</sup>	6.45±0.03 <sup>A**</sup>
Cooking loss (%)	6.43±0.58 <sup>A</sup>	4.76±0.44 <sup>B</sup>	3.92±0.18 <sup>C</sup>	3.89±0.25 <sup>C</sup>

All values are mean±standard deviation.

<sup>1)</sup>Replacement ratio: the ratio of replacement of pork back fat with fat replacer. Fat replacer contains pork skin, ice, and dietary fiber (4:4:2).

<sup>A-C</sup>Means in a row with different letters are significantly different ( $p<0.05$ ).

<sup>\*\*</sup>,  $p<0.001$  the significance of t-test between pH values of meat batter and cooked sausage.

<Table 2-5> Color parameters of reduced-fat sausages prepared with pork skin and dietary fiber

Traits	Control	Replacement ratio <sup>1)</sup>			
		10%	15%	20%	
Meat batter	CIE L*	77.88±0.75 <sup>A</sup>	76.38±0.36 <sup>AB</sup>	73.60±1.23 <sup>B</sup>	71.73±0.99 <sup>C</sup>
	CIE a*	4.58±0.25 <sup>B</sup>	5.03±0.16 <sup>A</sup>	4.81±0.14 <sup>A</sup>	4.85±0.15 <sup>A</sup>
	CIE b*	17.61±0.26 <sup>B</sup>	17.89±0.36 <sup>AB</sup>	17.98±0.43 <sup>AB</sup>	18.08±0.31 <sup>A</sup>
Cooked sausage	CIE L*	75.91±1.27 <sup>A</sup>	74.81±0.93 <sup>A</sup>	72.22±0.63 <sup>B</sup>	70.02±0.90 <sup>B</sup>
	CIE a*	4.74±0.31	4.87±0.36	4.89±0.22	5.04±0.56
	CIE b*	12.94±0.49 <sup>B</sup>	13.47±0.37 <sup>AB</sup>	13.75±0.40 <sup>A</sup>	13.86±0.56 <sup>A</sup>

All values are mean±standard deviation.

<sup>1)</sup>Replacement ratio: the ratio of replacement of pork back fat with fat replacer. Fat replacer contains pork skin, ice, and dietary fiber (4:4:2).

<sup>A-C</sup>Means in a row with different letters are significantly different ( $p<0.05$ ).

돈피와 식이섬유 혼합물로 지방을 대체한 유화형 소시지의 물성을 측정된 결과는 <Table 2-6>와 같다. 돈피와 식이섬유 혼합물의 첨가 비율이 높아질수록 경도, 응집성, 감성, 씹음성이 모두 유의적으로 증가하는 경향이 나타났다( $p<0.05$ ). 소시지의 관능검사에 대한 결과는 <Table 2-7>에 나타내었다. 관능검사 결과 돈피와 식이섬유 혼합물로 지방을 대체한 비율이 높을수록 풍미의 저하 및 이취가 발생하였으나 유의적 차이는 없었으며, 지방함량의 감소에도 불구하고 색도, 연도, 다즙성 및 전체적인 기호도에서 유의적 차이는 나타나지 않았다.

**<Table 2-6> Textural properties of reduced-fat sausages prepared with pork skin and dietary fiber**

Traits	Control	Replacement ratio <sup>1)</sup>		
		10%	15%	20%
Hardness (N)	49.89±0.78 <sup>C</sup>	62.39±0.27 <sup>B</sup>	80.78±0.63 <sup>A</sup>	82.25±0.52 <sup>A</sup>
Springiness	0.92±0.02 <sup>A</sup>	0.81±0.09 <sup>B</sup>	0.80±0.03 <sup>B</sup>	0.78±0.07 <sup>B</sup>
Cohesiveness	0.27±0.03 <sup>C</sup>	0.29±0.03 <sup>BC</sup>	0.32±0.03 <sup>AB</sup>	0.34±0.02 <sup>A</sup>
Gumminess (N)	13.49±0.21 <sup>C</sup>	17.88±0.20 <sup>B</sup>	25.58±0.34 <sup>A</sup>	26.69±0.21 <sup>A</sup>
Chewiness (N)	12.40±0.19 <sup>B</sup>	14.41±0.20 <sup>B</sup>	20.43±0.29 <sup>A</sup>	20.63±0.19 <sup>A</sup>

All values are mean±standard deviation.

<sup>1)</sup>Replacement ratio: the ratio of replacement of pork back fat with fat replacer. Fat replacer contains pork skin, ice, and dietary fiber (4:4:2).

<sup>A-C</sup>Means in a row with different letters are significantly different ( $p<0.05$ ).

**<Table 2-7> Sensory properties of reduced-fat sausages prepared with pork skin and dietary fiber**

Traits	Control	Replacement ratio <sup>1)</sup>		
		10%	15%	20%
Color	7.89±0.78	8.00±0.71	8.44±0.73	8.33±0.71
Flavor	8.78±0.64	8.33±0.78	8.44±0.78	8.22±0.87
Tenderness	8.79±0.60	8.67±0.50	8.56±0.73	8.42±0.83
Juiciness	8.11±0.78	8.33±0.71	8.56±0.53	8.63±0.44
Off-flavor	8.46±0.53	8.44±0.53	8.22±0.67	8.11±0.60
Overall acceptability	8.56±0.53	8.22±0.44	8.33±0.70	8.11±1.00

All values are mean±standard deviation.

<sup>1)</sup>Replacement ratio: the ratio of replacement of pork back fat with fat replacer. Fat replacer contains pork skin, ice, and dietary fiber (4:4:2).

## 나. 돈피 콜라겐과 식이섬유를 활용한 저지방 및 저칼로리 한국형 소시지 개발

### (1) 서론

소시지는 2011년 기준 우리나라 식육가공품 생산량(약 188,000톤) 중 28.5%를 차지하는 대표적인 식육가공 제품의 하나이다(Korea Meat Industries Association, 2013). 그러나 일반적인 소시지의 경우 제조 시에 약 20-30%의 등지방이 첨가되며, 이는 건강한 삶을 추구하는 소비자의 선호도에 어긋나기 때문에 저지방 소시지의 개발을 위한 다양한 지방대체제의 개발에 관한 연구가 활발히 진행되고 있다.

현재까지 보고된 저지방 소시지의 지방대체 소재 및 지방대체에 따른 저지방 소시지의 품질 특성 변화는 다음과 같이 보고되었다. Paneras와 Bloukas(1994)는 올리브유, 옥수수유, 해바라기유 및 대두유를 활용하여 저지방 프랑크푸르터를 제조한 결과 기존의 제품과 비교하여 67%의 지방함량이 감소된 제품의 제조가 가능하였으나, 대두유의 사용은 관능적 만족도와 저장성을 저하시킨다고 하였다. Yang 등(2001)은 지방함량이 50% 감소된 저지방 프랑크푸르터에서 8가지의 지방대체제 및 결합제의 활용가능성을 평가한 결과 변성옥수수전분(modified waxy maize starch), 분리대두단백(isolated soy protein) 및 분리근단백(isolated muscle protein)을 첨가한 경우 대조구와 유사한 관능적 특성 및 물성을 나타낸다고 하였다. Lurueña-Martínez 등(2004)은 로커스트검(locust bean gum)과 잔탄검(xanthan gum) 및 올리브유를 이용하여 관능적 및 조직학적 특성의 저하없이 저지방 프랑크푸르터의 제조가 가능하다고 하였다. 식이섬유를 지방대체 소재로 사용한 연구에서 복숭아 식이섬유를 활용하여 25%의 지방함량을 갖는 대조구와 비교하여 관능적 특성의 저하가 없는 저지방 프랑크푸르터(10-20% 지방함량)의 개발이 가능하였다(Grigelmo-Miguel *et al.*, 1999). 이전의 많은 연구들에서 지방함량 감소에 따른 풍미저하 등의 관능적 특성 변화는 저지방 소시지 개발에 주된 해결과제였다.

간장은 우리나라 전통장류 중 하나로서 식품의 조리에 광범위하게 사용되는 향미료이다. 최근 미국과 유럽에서 간장에 대한 관심이 크게 증대되고 있으며(Aoshima and Ooshima, 2009), 이러한 원인은 최근 보고되고 있는 간장의 다양한 생리활성 효과 때문이라고 판단된다. 일반적으로 간장은 염분(15-20%) 및 대두에서 유래된 펩타이드, 이소플라본(isoflavon) 및 발효 중 생성되는 유리당과 유기산을 풍부하게 함유하다고 알려져 있다(Jeon *et al.*, 2002). 최근 McGough 등(2012)의 보고에 따르면 양조간장을 활용하여 상대적으로 낮은 염농도로 제조된 저염 프랑크푸르터의 풍미저하를 개선할 수 있다고 하였다.

따라서 본 연구에서는 돈피와 식이섬유를 활용한 저지방 소시지를 제조하고, 지방함량 감소에 따른 풍미 저하를 개선하기 위하여 우리나라 전통장류인 간장을 활용하여 한국형 저지방 소시지를 개발하고자 한다.

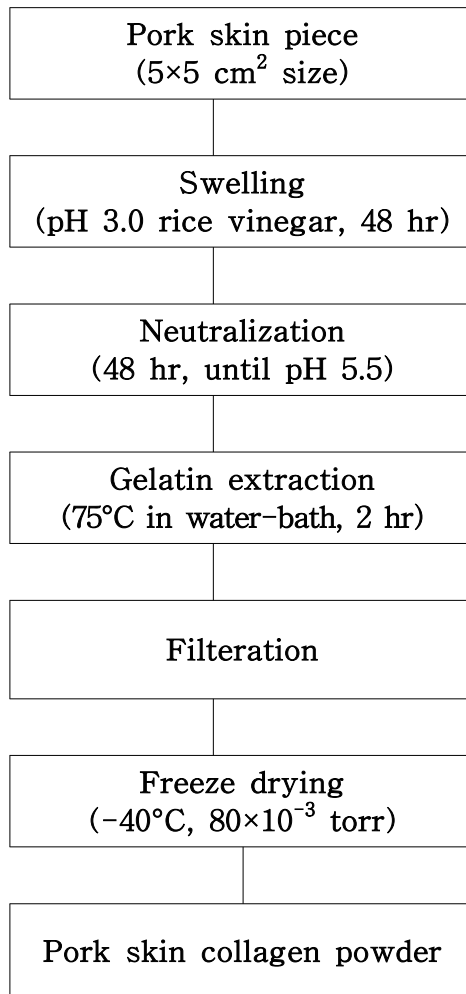
## (2) 재료 및 방법

### (가) 현미식초로 팽윤한 돈피 콜라겐 및 이를 이용한 혼합물의 제조

등 부위의 생돈피(pork skin, 두께 약  $5\pm 2$  mm)를 시장에서 구입하여 눈에 보이는 피하지방을 제거하고,  $5\times 5$  cm<sup>2</sup> 크기로 절단하여 원료로 사용하였다. 일정한 크기로 절단된 돈피를 pH 3.0으로 희석된 현미식초(rice vinegar)용액에서 48시간 팽윤시킨 후, 48시간 동안 흐르는 수돗물로 세척하여 산을 제거하였다. 이후 polyethylene 포장지를 이용하여 팽윤된 돈피를 포장한 뒤 water-bath를 이용하여  $75\pm 2^\circ\text{C}$ 에서 2시간 동안 추출하였다. 추출된 sol 용액을 여과하여 상온에서 충분히 냉각시킨 후 상층의 지방을 제거한 시료를 동결 건조 하였다. 돈피에서 추출된 콜라겐 분말 제조공정은 <Fig. 2-2>에 나타내었다. 제조된 분말을 사일런트 커터(Nr-963009, Scharfen, Witten, Germany)로 빙수와 식이섬유(Central fiber chemical Inc., Seoul, Korea, insoluble dietary fiber: 94.5%, soluble dietary fiber: 2.5%, moisture: 8%, protein: 0.4%, fat: 0.2%, ash: 3%)와 함께 세절하여 혼합물을 제조하였다. <Table 2-8>에 돈피 콜라겐 분말:수분:식이섬유의 비율을 1:8:1, 2:7:1, 3:6:1로 다르게 하여 제조한 혼합물의 품질 특성을 나타내었다. 실험 결과 품질특성이 우수하게 나타난 2:7:1의 혼합비율을 본 연구에 적용하여 돈피 콜라겐 분말:수분:식이섬유의 비율을 2:7:1로 조절하여 혼합물을 제조하였다.

### (나) 현미식초로 팽윤한 돈피 콜라겐 분말과 식이섬유를 함유하는 혼합물을 첨가한 한국형 저지방 소시지의 제조

현미식초로 팽윤시킨 돈피 콜라겐 분말과 식이섬유의 혼합물을 첨가한 소시지의 배합비율은 <Table 2-9>에 나타내었다. 저지방 유화형 소시지의 제조공정은 <Fig. 2-3>과 같다. 소시지의 원료육은 도축 후 48시간이 경과된 국내산 돈육 후지부위를 구입하여 냉동시킨 후 과도한 지방과 결체조직을 제거하여 사용 하였으며, 등지방은 도축장에서 구입한 것을 사용하였다. 유화형 소시지는 원료육 50%, 등지방 30%, 얼음 20%, 소금 1.5% 및 인산염 0.2%를 배합하여 제조하였으며, 등지방 30%를 각각 10, 20, 30%의 돈피와 식이섬유 혼합물로 대체하여 총 4개의 처리구로 제조하였다. 대조구의 경우 1.5%의 소금을 첨가하였고 저지방 처리구들은 풍미저하를 개선하기 위하여 1.0%의 소금과 0.5%의 염농도에 해당하는 3.125%의 간장을 첨가하였다. 돈육과 등지방을 3 mm plate가 장착된 분쇄기(Mainca, PM-100, Spain)를 이용하여 분쇄한 후 원료육을 사일런트 커터(Nr-963009, Scharfen, Witten, Germany)로 세절하면서 지방과 얼음, 소금, 인산염 및 돈피 콜라겐 분말과 식이섬유 혼합물을 첨가하여 유화물을 만들었다. 유화물은 충전기(IS-8, Sirman, Marsango, Italy)를 이용하여 콜라겐 케이싱(#240, NIPPI Inc., Tokyo, Japan; approximate 25 mm diameter)에 충전하였다. 충전한 유화물은  $80^\circ\text{C}$ 의 훈연기(MAXI 3501, Kerres, Backnang, Germany)를 이용하여  $80^\circ\text{C}$ 에서 40분간 가열한 후 냉수로 냉각하여 본 실험의 공시재료로 사용하였다.



<Fig. 2-2> Processing procedure of pork skin collagen powder with rice vinegar

<Table 2-8> Quality characteristics of emulsion prepared with pork skin collagen powder and wheat fiber

Traits	Pork skin collagen powder : ice : wheat fiber		
	1 : 8 : 1	2 : 7 : 1	3 : 6 : 1
Moisture (%)	82.12±0.02 <sup>A</sup>	77.61±0.63 <sup>B</sup>	66.14±1.12 <sup>C</sup>
Protein (%)	9.21±0.69 <sup>C</sup>	15.35±0.01 <sup>B</sup>	25.48±1.66 <sup>A</sup>
Fat (%)	0.44±0.06 <sup>C</sup>	0.64±0.06 <sup>B</sup>	0.94±0.06 <sup>A</sup>
CIE L*	81.00±1.21 <sup>B</sup>	81.27±1.41 <sup>B</sup>	88.99±0.37 <sup>A</sup>
CIE a*	-1.01±0.06 <sup>A</sup>	-1.18±0.13 <sup>B</sup>	-1.26±0.09 <sup>C</sup>
CIE b*	4.15±0.27 <sup>C</sup>	5.59±1.18 <sup>B</sup>	6.37±0.79 <sup>A</sup>

All values are mean±standard deviation.

<sup>A-C</sup>Means in a row with different letters are significantly different ( $p<0.05$ ).

<Table 2-9> Formulations of Korean style reduced-fat emulsion sausages prepared with pork skin collagen powder extracted with rice vinegar and dietary fiber

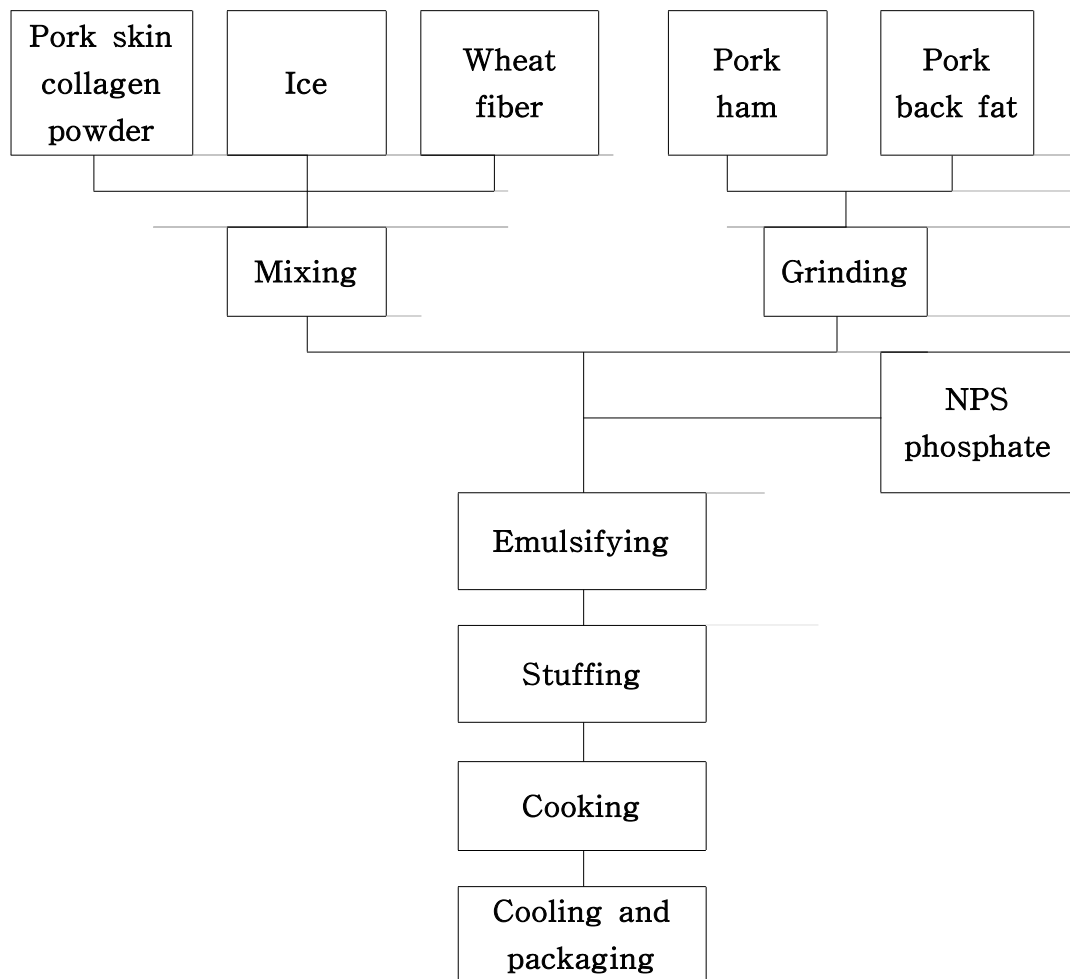
(unit, %)

Ingredients	Control	Replacement ratio <sup>1)</sup>		
		10%	20%	30%
Pork ham	50	50	50	50
Pork back fat	30	20	10	0
Fat replacer <sup>2)</sup>	-	10	20	30
Ice	20	20	20	20
Total	100	100	100	100
NaCl	1.5	1.0	1.0	1.0
Soy sauce <sup>3)</sup>	-	3.125	3.125	3.125
Sodium tri-polyphosphate	0.2	0.2	0.2	0.2

<sup>1)</sup>Replacement ratio: the ratio of replacement of pork back fat with fat replacer. Fat replacer contains pork skin extracted with rice vinegar, ice, and dietary fiber (1:7:2). Control contains 30% pork back fat.

<sup>2)</sup>Fat replacer: the pre-emulsion contains pork skin collagen powder extracted with rice vinegar, ice, and dietary fiber (2:7:1).

<sup>3)</sup>Soy sauce: naturally brewed soy sauce of 3.125% is added to adjust 0.5% salt concentration based on total weight in low-fat emulsion sausages.



<Fig. 2-3> Processing procedure of reduced-fat sausage prepared with pork skin collagen mixture.

(다) 실험방법

① 일반성분(proximate composition)

저지방 소시지의 일반성분 정량은 AOAC법(1995)에 따라 수분함량은 105°C 상압건조법, 조단백질 함량은 Kjeldahl 법, 조지방 함량은 Soxhlet 법, 조회분 함량은 550°C에서 직접회화법으로 분석하였다.

② 칼로리 분석(caloric content)

칼로리 분석을 위하여 저지방 소시지를 분쇄하여 50 g을 취한 후 전처리하여 calorimeter(Model 1261, Parr Instrument Co., USA)로 분석하였다.

③ pH 측정(pH measurement)

저지방 소시지의 pH는 시료 5 g을 취하여 증류수 20 mL과 혼합하고 Ultra-turrax(Model NO. T25, Janken & Kunkel, Germany)를 사용하여 8,000 rpm에서 1분간 균질한 후 pH

meter(Model 340, Mettler-Toledo, Switzerland)를 사용하여 측정하였다.

④ 가열감량(cooking loss)

저지방 소시지의 가열감량은 가열 이전 무게에 대한 가열 이후 감량손실에 대한 백분율로 산출하여 나타내었다.

$$\text{가열감량 (\%)} = \frac{[\text{가열 이전 시료의 무게 (g)} - \text{가열 이후 시료의 무게 (g)}]}{\text{가열 이전 시료의 무게 (g)}} \times 100$$

⑤ 색도(color measurement)

소시지 배터와 저지방 소시지의 색도는 colorimeter(Chromameter, CR210, Minolta, Japan)를 사용하여 CIE L\* -값(명도), CIE a\* -값(적색도)과 CIE b\* -값(황색도)을 측정하였다. 이때의 표준색은 L\* -값은 +97.83, a\* -값이 -0.43, b\* -값이 +1.98인 백색 표준판을 사용하였다.

⑥ 물성 측정(texture profile analysis)

저지방 소시지의 물성은 texture analyzer(TA-XT2i, Stable Micro Systems, England)에 5 mm 직경 실린더 모양 probe(5 mm diameter cylinder probe)를 장착한 후 hardness(경도, kg), springiness(탄력성), cohesiveness(응집성), gumminess(겉성, kg) 및 chewiness(씹음성, kg)를 분석하였다. 이때의 분석조건은 stroke 20 g, test speed 2.0 mm/sec, distance 10.0 mm 로 설정하여 측정하였다.

⑦ 관능검사(sensory evaluation)

미리 훈련된 10명의 panel 요원을 구성하여 각각의 시료를 색(color), 풍미(flavor) 연도(tenderness), 다즙성(juiciness), 이취(off-flavor), 전체적인 기호도(overall acceptability)에 대하여 각각 10점 만점으로 평점하고 그 평균치를 구하여 비교하였다. 평점표에서 10점은 가장 우수하고, 1점은 가장 열악한 품질 상태를 나타낸다.

⑧ 통계분석(statistical analysis)

통계분석은 SAS program(SAS, 2008)의 GLM(General Linear Model) procedure를 통하여 분석하였고, 처리구간의 평균간 비교는 Duncan의 다중검정을 통하여 유의성 검정( $p < 0.05$ )을 실시하였다.



(4) 연구결과

돈피 콜라겐 분말과 식이섬유 혼합물의 등지방 대체비율에 따른 소시지의 일반 성분과 열량의 변화는 <Table 2-10>에 나타내었다. 혼합물의 돈육 등지방 대체비율이 증가함에 따라 단백질 함량과 수분의 함량은 증가하였고 지방 함량과 열량은 감소하였다( $p<0.05$ ).

<Table 2-10> Proximate composition and caloric content of Korean style reduced-fat sausages prepared with pork skin collagen powder extracted with rice vinegar and dietary fiber

Traits	Control	Replacement ratio <sup>1)</sup>		
		10%	20%	30%
Moisture (%)	59.26±0.07 <sup>D</sup>	65.51±0.28 <sup>C</sup>	71.77±0.52 <sup>B</sup>	78.75±0.04 <sup>A</sup>
Protein (%)	9.30±0.05 <sup>C</sup>	10.00±0.45 <sup>BC</sup>	10.79±0.44 <sup>AB</sup>	11.27±0.49 <sup>A</sup>
Fat (%)	29.23±0.36 <sup>A</sup>	20.67±0.07 <sup>B</sup>	12.51±0.17 <sup>C</sup>	4.95±0.06 <sup>D</sup>
Ash (%)	1.99±0.02	1.97±0.03	1.95±0.07	1.93±0.04
Caloric content (Kcal/100 g)	291.69±0.32 <sup>A</sup>	244.35±1.07 <sup>B</sup>	183.14±0.06 <sup>C</sup>	114.37±4.13 <sup>D</sup>

All values are mean±standard deviation.

<sup>1)</sup>Replacement ratio: the ratio of replacement of pork back fat with fat replacer. Fat replacer contains pork skin extracted with rice vinegar, ice, and dietary fiber (2:7:1). Control contains 30% pork back fat. Control contains 1.5% NaCl, and reduced-fat treatments contains 1.0% NaCl and 3.125% soy sauce (0.5% salt concentration).

<sup>A-D</sup>Means in a row with different letters are significantly different ( $p<0.05$ ).

혼합물의 첨가량에 따른 pH와 가열 감량의 변화는 <Table 2-11>과 같다. 10%와 20%의 혼합물이 첨가된 소시지의 pH가 혼합물이 0%, 30% 첨가된 소시지의 pH보다 높은 값을 나타내었다( $p<0.05$ ). 가열 감량의 경우 혼합물이 10%, 20% 첨가된 소시지 처리구가 다른 처리구들과 비교하여 유의적으로 낮은 값을 나타내었다( $p<0.05$ ). 이는 혼합물의 대체비율이 20%가 초과되어 첨가 될 경우 소시지의 유화 안정성에 악영향을 미치는 것을 의미한다.

혼합물의 등지방 대체비율에 따른 저지방 유화형 소시지의 색도 변화는 <Table 2-12>에 나타내었다. 가열 전 30%의 혼합물이 첨가된 소시지 처리구의 유화물이 다른 처리구들에 비하여 명도가 유의적으로 낮은 값을 나타내었다( $p<0.05$ ). 가열전과 비교하여 가열 후에는 모든 처리구에서의 명도는 감소하였고, 가열 후 처리구들간의 명도와 적색도의 유의적인 차이는 발견되지 않았으나 황색도의 경우 혼합물을 20% 첨가한 소시지가 대조구에 비해 유의적으로 높은 값을 나타내었다( $p<0.05$ ).

<Table 2-11> The pH value and cooking loss of reduced-fat sausages prepared with pork skin collagen powder extracted with rice vinegar and dietary fiber

Traits	Control	Replacement ratio <sup>1)</sup>		
		10%	20%	30%
pH value of meat batter	6.25±0.01 <sup>B</sup>	6.27±0.02 <sup>A</sup>	6.25±0.02 <sup>B</sup>	6.11±0.02 <sup>C</sup>
pH value of cooked sausage	6.34±0.03 <sup>B</sup>	6.38±0.02 <sup>A</sup>	6.36±0.01 <sup>A</sup>	6.23±0.02 <sup>C</sup>
Cooking loss (%)	17.90±0.31 <sup>A</sup>	16.78±0.44 <sup>B</sup>	16.42±0.34 <sup>B</sup>	18.20±0.60 <sup>A</sup>

All values are mean±standard deviation.

<sup>1)</sup>Replacement ratio: the ratio of replacement of pork back fat with fat replacer. Fat replacer contains pork skin extracted with rice vinegar, ice, and dietary fiber (2:7:1). Control contains 30% pork back fat. Control contains 1.5% NaCl, and reduced-fat treatments contains 1.0% NaCl and 3.125% soy sauce (0.5% salt concentration).

<sup>A-C</sup>Means in a row with different letters are significantly different ( $p<0.05$ ).

<Table 2-12> Color parameters of reduced-fat sausages prepared with pork skin collagen powder extracted with rice vinegar and dietary fiber

Traits	Control	Replacement ratio <sup>1)</sup>			
		10%	20%	30%	
Meat batter	CIE L*	77.88±0.75 <sup>A</sup>	76.38±0.36 <sup>AB</sup>	73.60±1.23 <sup>B</sup>	71.73±0.99 <sup>C</sup>
	CIE a*	4.58±0.25 <sup>B</sup>	5.03±0.16 <sup>A</sup>	4.81±0.14 <sup>A</sup>	4.85±0.15 <sup>A</sup>
	CIE b*	17.61±0.26 <sup>B</sup>	17.89±0.36 <sup>AB</sup>	17.98±0.43 <sup>AB</sup>	18.08±0.31 <sup>A</sup>
Cooked sausage	CIE L*	75.91±1.27 <sup>A</sup>	74.81±0.93 <sup>A</sup>	72.22±0.63 <sup>B</sup>	70.02±0.90 <sup>B</sup>
	CIE a*	4.74±0.31	4.87±0.36	4.89±0.22	5.04±0.56
	CIE b*	12.94±0.49 <sup>B</sup>	13.47±0.37 <sup>AB</sup>	13.75±0.40 <sup>A</sup>	13.86±0.56 <sup>A</sup>

All values are mean±standard deviation.

<sup>1)</sup>Replacement ratio: the ratio of replacement of pork back fat with fat replacer. Fat replacer contains pork skin extracted with rice vinegar, ice, and dietary fiber (2:7:1). Control contains 30% pork back fat. Control contains 1.5% NaCl, and reduced-fat treatments contains 1.0% NaCl and 3.125% soy sauce (0.5% salt concentration).

<sup>A-C</sup>Means in a row with different letters are significantly different ( $p<0.05$ ).

<Table 2-13>은 돈피 콜라겐 분말과 식이섬유 혼합물의 첨가량에 따른 소시지의 물리적 특성 변화를 나타낸 것으로 혼합물이 첨가되지 않은 처리구에 비해 혼합물이 첨가된 소시지의 경도가 유의적으로 높은 값을 나타냈으며, 혼합물이 10% 첨가되었을 때 가장 높은 경도값을 나타내었다( $p<0.05$ ). 응집성과 탄력성은 처리구들간의 유의적인 차이를 나타내지 않았다 ( $p>0.05$ ). 겹침 및 씹음성은 혼합물이 20% 첨가된 소시지에서 가장 높은 값을 나타내었다. ( $p<0.05$ ).

돈피 콜라겐 분말과 식이섬유 혼합물의 첨가량에 따른 소시지의 관능적 특성의 변화는 <Table 2-14>에 나타내었다. 색에서는 혼합물이 첨가되지 소시지 처리구가 가장 높은 점수를 나타내었다. 풍미, 연도, 다즙성, 이취 항목에서는 처리구들 사이에 유의적인 차이는 나타나지 않았다. 전체적인 기호도 항목에서는 30%의 혼합물을 첨가한 소시지가 유의적으로 낮은 점수를 나타내었는데, 이는 지방의 첨가가 없기 때문에 소시지 특유의 풍미가 감소하였기 때문으로 보인다.

위의 연구 결과에 따르면 소시지 제조 시 돈피 콜라겐 분말과 식이섬유 혼합물을 20% 첨가했을 때, 단백질 함량은 16% 증가시키고 지방 함량을 57%, 열량을 37% 감소시키면서 물성과 관능적 특성에 부정적인 영향을 미치지 않았다. 따라서 20% 돈피 콜라겐 분말과 식이섬유 혼합물의 첨가가 돈피 콜라겐 분말과 식이섬유를 이용한 저지방, 저칼로리 소시지 제조에 적합하다고 판단된다.

**<Table 2-13> Texture profile analysis of reduced-fat sausages prepared with pork skin collagen powder extracted with rice vinegar and dietary fiber**

Traits	Control	Replacement ratio <sup>1)</sup>		
		10%	20%	30%
Hardness (kg)	3.10±0.53 <sup>C</sup>	4.19±0.33 <sup>A</sup>	3.97±0.25 <sup>AB</sup>	3.70±0.42 <sup>B</sup>
Springiness	0.20±0.04	0.19±0.02	0.21±0.03	0.19±0.02
Cohesiveness	0.77±0.17	0.78±0.12	0.80±0.08	0.66±0.16
Gumminess (kg)	0.62±0.08 <sup>C</sup>	0.78±0.07 <sup>AB</sup>	0.84±0.12 <sup>A</sup>	0.71±0.07 <sup>B</sup>
Chewiness (kg)	0.49±0.05 <sup>B</sup>	0.61±0.12 <sup>AB</sup>	0.68±0.13 <sup>A</sup>	0.48±0.15 <sup>B</sup>

All values are mean±standard deviation.

<sup>1)</sup>Replacement ratio: the ratio of replacement of pork back fat with fat replacer. Fat replacer contains pork skin extracted with rice vinegar, ice, and dietary fiber (2:7:1). Control contains 30% pork back fat. Control contains 1.5% NaCl, and reduced-fat treatments contains 1.0% NaCl and 3.125% soy sauce (0.5% salt concentration).

<sup>A-C</sup>Means in a row with different letters are significantly different ( $p<0.05$ ).

<Table 2-14> Sensory properties of reduced-fat sausages prepared with pork skin collagen powder extracted with rice vinegar and dietary fiber

Traits	Control	Replacement ratio <sup>1)</sup>		
		10%	20%	30%
Color	8.78±0.50 <sup>A</sup>	8.67±0.53 <sup>AB</sup>	8.00±0.78 <sup>AB</sup>	7.78±0.71 <sup>B</sup>
Flavor	8.22±0.44	8.33±0.50	8.33±0.50	8.11±0.78
Tenderness	8.33±0.50	8.11±0.60	8.11±0.60	7.89±0.78
Juiciness	8.13±0.50	8.44±0.53	8.11±0.60	8.19±0.78
Off-flavor	8.78±0.67	8.78±0.67	8.67±0.71	8.56±0.88
Overall acceptability	8.56±0.53 <sup>A</sup>	8.56±0.53 <sup>A</sup>	8.56±0.53 <sup>A</sup>	7.89±0.60 <sup>B</sup>

All values are mean±standard deviation.

<sup>1)</sup>Replacement ratio: the ratio of replacement of pork back fat with fat replacer. Fat replacer contains pork skin extracted with rice vinegar, ice, and dietary fiber (2:7:1). Control contains 30% pork back fat. Control contains 1.5% NaCl, and reduced-fat treatments contains 1.0% NaCl and 3.125% soy sauce (0.5% salt concentration).

<sup>A,B</sup>Means in a row with different letters are significantly different ( $p < 0.05$ ).

## 가. 감과피 추출물의 첨가가 돈피 콜라겐 분말과 식이섬유를 이용한 저지방 소시지의 냉장저장 중 품질특성에 미치는 영향

### (1) 서론

소시지는 일반적으로 생육에 비해 많은 지방을 함유하고 있고 제조 중 세절과 가열 등 지방 산패를 촉진시킬 수 있는 공정을 포함하고 있어 지방 산패가 발생할 확률이 높다. 소시지 내에 지방 산패가 발생하면 저장성에 부정적인 영향을 미치므로 저장성의 향상을 위해서는 지방 산패의 억제가 필요하다. 그 동안 지방산패를 억제하기 위해 합성 항산화제가 널리 사용되어 왔으나 최근 안전성에 문제가 발견되어 사용이 규제되고 있어 이를 대체하기 위한 천연 항산화제에 대한 연구가 요구되고 있다. 감과피는 항산화능을 가진 것으로 알려져 있으며 항고혈압성, 혈당강화 효과 및 지질대사의 개선에도 효과가 있는 것으로 보고되었다. Moon 등(1995)의 보고에 따르면 감과피는 껍감 제조시 발생하는 농산부산물로서 감과육과 비교하여 단백질, 지방 및 회분 함량이 높다고 보고하였다. 또한 기능성 사료소재로서 감 껍질 분말을 급여한 결과, 5%의 감 껍질을 급여한 돈육의 연도, 다즙성 및 풍미 등의 관능적 특성을 향상시켰다고 보고되어 있다(Kim and Kim, 2005).

따라서 본 연구에서는 농산부산물의 고부가가치 활용방안 마련 및 저지방 소시지의 기능성 향상을 위하여 감과피로부터 유용성분을 추출하고 이를 첨가하여 저지방 소시지를 제조하여 냉장저장 중 품질특성 변화를 비교하였다.

### (2) 재료 및 방법

#### (가) 감과피 추출물의 제조

껍감을 제조하면서 발생한 감과피를 구입하여 원료로 사용하였다. 감과피는 3번 수세한 후 물기를 제거한 뒤 50°C에서 열풍 건조한 뒤 분쇄하여 분말로 제조하였다. 제조한 분말 15 g을 70% 에탄올 500 mL과 혼합 후, 30°C의 진탕 배양기에서 48시간 동안 진탕배양 후 rotary evaporator에서 추출용매를 증발시켜 고형 추출물을 얻었다. 이 추출물을 100 mg/mL의 농도로 희석하여 사용하였다.

#### (나) 감과피 추출물을 첨가한 저지방 유화형 소시지의 제조

돈피 콜라겐 분말과 식이섬유의 혼합물을 이용한 저지방 유화형 소시지의 배합비율 및 감과피 추출물의 첨가량은 다음 <Table 2-15>와 같다. 감과피 추출물은 각각 0.3%, 0.5%, 1% 첨가하였으며, 양성 대조군으로써 BHT 0.01%를 첨가하였다. 돈육과 등지방을 3 mm plate가 장착된 분쇄기(Mainca, PM-100, Spain)를 이용하여 분쇄한 후 원료육을 사일런트 커터(Nr-963009, Scharfen, Witten, Germany)로 세절하면서 지방과 얼음, 소금, 인산염 및 돈피 콜라겐 분말과 식이섬유 혼합물을 첨가하여 유화물을 만든 후 감과피 추출물과 BHT를 첨가하였다. 유화물은 충진기(IS-8, Sirman, Marsango, Italy)를 이용하여 콜라겐 케이싱(#240, NIPPI Inc., Tokyo,

Japan; approximate 25 mm diameter)에 충전하였다. 충전한 유화물을 80°C의 훈연기(MAXI 3501, Kerres, Backnang, Germany)에서 40분간 가열한 후 냉수로 냉각하여 진공포장하였다. 실험 전 까지 4°C에서 저장 후, pH, 색도, 지방산패도, 휘발성 염기태 질소화합물, 공액이중결합가, 과산화물가 및 관능검사 등의 실험을 4주에 걸쳐 진행하였다.

<Table 2-15> Formulations of reduced-fat emulsion sausages prepared with persimmon peel extract

Ingredients	Control	BHT	(unit, %)		
			Treatments <sup>1)</sup>		
			P1	P2	P3
Pork ham	50	50	50	50	50
Pork back fat	10	10	10	10	10
Fat replacer <sup>2)</sup>	20	20	20	20	20
Ice	20	20	20	20	20
Total	100	100	100	100	100
NaCl	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
ISP (isolated soy protein)	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4
Sodium tri-polyphosphate	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
BHT (butylated hydroxytoluen)	-	0.01	-	-	-
Persimmon peel extract	-	-	0.3	0.5	1.0

<sup>1)</sup>Treatments: control, without antioxidant; BHT, added 0.01% BHT; P1, added 0.3% persimmon peel extract; P2, added 0.5% persimmon peel extract; P3, added 1.0% persimmon peel extract.

<sup>2)</sup>Fat replacer: the pre-emulsion contains pork skin collagen powder extracted with rice vinegar, ice, and dietary fiber (2:7:1).

(다) 실험방법

① pH 측정(pH measurement)

감과피 추출물을 함유하는 저지방 유화형 소시지의 pH는 시료 5 g을 취하여 증류수 20 mL 과 혼합하고 Ultra-turrax(Model NO. T25, Janken & Kunkel, Germany)를 사용하여 8,000 rpm에서 1분간 균질한 후 pH meter(Model 340, Mettler-Toledo, Switzerland)를 사용하여 측정하였다. pH는 냉장저장 기간 중 각각 0, 1, 2, 3 및 4주에 측정하였다.

② 지질산패도(2-thiobarbituric acid value)

냉장저장 중 감과피 추출물을 함유하는 저지방 유화형 소시지의 지질산패도(TBA value)는 Tarladgis 등(1960)의 증류법을 응용하여 실시하였다. 지방 산화에 의하여 유리되는 malonaldehyde와 2-thiobarbituric acid(TBA)를 반응시킨 후 spectrophotometer를 이용하여 538 nm에서 흡광도를 측정하여 아래의 공식에 의해 TBA가를 산출하였으며, TBA수치는 mg malonaldehyde/kg으로 나타내었다.

$$\text{TBA value (mg malonaldehyde/kg sample)} = 7.8 \times \text{O.D.}$$

③ 휘발성 염기태 질소화합물(volatilic basic nitrogen)

냉장저장 중 감과피 추출물을 함유하는 저지방 유화형 소시지의 VBN(휘발성 염기태 질소)은 Kohsaka(1975)에 의한 conway 미량확산법을 이용하여 측정하였다. 시료 10 g을 취하여 증류수 30 mL을 가한 후 균질기를 이용하여 2분간 교반하고 100 mL로 mass up한 뒤 whatman No.1 여과지로 여과하였다. 여액 1 mL를 conway 수기 외실에 넣고 내실에 0.01 N H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> 1 mL과 conway 시약 100  $\mu$ L를 넣고, 50% K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 용액 1 mL를 빠르게 외실에 주입하고 밀폐한 다음 조심스럽게 흔들어 외실내의 용액을 혼합한 후 37°C에서 2시간 동안 반응시켰다. 반응이 끝난 수기에 0.02 N 황산용액으로 적정하여 계산하였다.

$$\text{VBN value (mg\%)} = \frac{\text{적정량}(\mu\text{L}) \times 1 \times 0.02 \times 14.007 \times 100 \times 100}{\text{시료량}(\text{mg})}$$

④ 관능검사(sensory evaluation)

미리 훈련된 10명의 panel 요원을 구성하여 각각의 시료를 색(color), 풍미(flavor), 이취(off-flavor), 전체적인 기호도(overall acceptability)에 대하여 각각 10점 만점으로 평점하고 그 평균치를 구하여 비교하였다. 평점표에서 10점은 가장 우수하고, 1점은 가장 열악한 품질 상태를 나타낸다.

⑤ 통계분석(statistical analysis)

통계분석은 SAS program(SAS, 2008)의 GLM(General Linear Model) procedure를 통하여 분석하였고, 처리구간의 평균간 비교는 Duncan의 다중검정을 통하여 유의성 검정( $p < 0.05$ )을 실시하였다.

(3) 연구결과

감과피 추출물의 첨가에 따른 저지방 소시지의 저장기간 동안의 pH의 변화는 <Table 2-16>에 나타내었다. 저지방 소시지의 pH는 저장기간이 경과함에 따라 증가하는 추세를 나타내었다. 또한 P3처리구가 다른 처리구에 비해 모든 저장 기간 동안 유의적으로 가장 낮은 pH 값을 나타내었다( $p<0.05$ ).

<Table 2-16> Effect of persimmon peel extract on change in pH value of reduced-fat emulsion sausages prepared with pork skin collagen powder during refrigerated storage (4°C)

Treatments <sup>1)</sup>	Storage period (weeks)				
	0	1	2	3	4
Control	6.16±0.01 <sup>Ea</sup>	6.19±0.02 <sup>D</sup>	6.24±0.01 <sup>Ca</sup>	6.29±0.02 <sup>Ba</sup>	6.32±0.01 <sup>Aa</sup>
BHT	6.15±0.00 <sup>Dab</sup>	6.17±0.01 <sup>C</sup>	6.23±0.02 <sup>Ba</sup>	6.26±0.01 <sup>Ab</sup>	6.29±0.02 <sup>Ab</sup>
P1	6.17±0.01 <sup>Ea</sup>	6.19±0.02 <sup>D</sup>	6.22±0.01 <sup>Cab</sup>	6.26±0.02 <sup>Bb</sup>	6.29±0.01 <sup>Abc</sup>
P2	6.15±0.01 <sup>Eab</sup>	6.18±0.02 <sup>D</sup>	6.22±0.01 <sup>Cab</sup>	6.25±0.01 <sup>Bb</sup>	6.28±0.02 <sup>Abc</sup>
P3	6.14±0.02 <sup>Db</sup>	6.18±0.02 <sup>C</sup>	6.20±0.02 <sup>Bb</sup>	6.24±0.01 <sup>Ab</sup>	6.26±0.01 <sup>Ac</sup>

All values are mean±standard deviation.

<sup>1)</sup>Treatments: control, without antioxidant; BHT, added 0.01% BHT; P1, added 0.3% persimmon peel extract; P2, added 0.5% persimmon peel extract; P3, added 1.0% persimmon peel extract.

<sup>A-E</sup>Means in a row with different letters are significantly different ( $p<0.05$ ).

<sup>a-c</sup>Means in a column with different letters are significantly different ( $p<0.05$ ).

감과피 추출물의 첨가가 저지방 소시지의 저장기간에 따른 지질 산패도에 미치는 영향은 <Table 2-17>에 나타내었다. 지질 산패도는 모든 처리구에서 저장 기간이 늘어날수록 지속적으로 증가하였으며 감과피 추출물과 BHT를 첨가한 처리구가 대조구에 비해 낮은 지방산패도 값을 나타내었다( $p<0.05$ ). 그 중에서도 P2처리구가 가장 낮은 값을 나타내었다. 저지방 소시지의 저장기간에 따른 휘발성 염기태 질소 화합물의 변화는 <Table 2-18>에 나타내었으며 감과피 추출물 첨가구가 대조구보다 낮은 휘발성 염기태 질소화합물 수치를 나타내었고, P2처리구에서 가장 낮은 휘발성 염기태 질소 화합물 함량을 나타내었다( $p<0.05$ ).



**<Table 2-17> Effect of persimmon peel extract on change in 2-thiobarbituric acid (TBA) value of reduced-fat emulsion sausages prepared with pork skin collagen powder during refrigerated storage (4°C)**

Treatments <sup>1)</sup>	Storage period (weeks)				
	0	1	2	3	4
Control	0.36±0.04 <sup>Ea</sup>	0.44±0.02 <sup>Da</sup>	0.53±0.01 <sup>Ca</sup>	0.63±0.01 <sup>Ba</sup>	0.74±0.04 <sup>Aa</sup>
BHT	0.29±0.01 <sup>Eb</sup>	0.35±0.02 <sup>Db</sup>	0.42±0.02 <sup>Cb</sup>	0.48±0.01 <sup>Bb</sup>	0.56±0.02 <sup>Ab</sup>
P1	0.27±0.05 <sup>Eb</sup>	0.35±0.01 <sup>Dbc</sup>	0.40±0.01 <sup>Cbc</sup>	0.46±0.04 <sup>Bbc</sup>	0.51±0.01 <sup>Ac</sup>
P2	0.25±0.03 <sup>Eb</sup>	0.29±0.02 <sup>Dd</sup>	0.34±0.02 <sup>Cd</sup>	0.40±0.02 <sup>Bd</sup>	0.47±0.03 <sup>Ad</sup>
P3	0.28±0.03 <sup>Eb</sup>	0.32±0.02 <sup>Dc</sup>	0.37±0.04 <sup>Cc</sup>	0.44±0.02 <sup>Bc</sup>	0.51±0.01 <sup>Ac</sup>

All values are mean±standard deviation.

<sup>1)</sup>Treatments: control, without antioxidant; BHT, added 0.01% BHT; P1, added 0.3% persimmon peel extract; P2, added 0.5% persimmon peel extract; P3, added 1.0% persimmon peel extract.

<sup>A-E</sup>Means in a row with different letters are significantly different ( $p<0.05$ ).

<sup>a-d</sup>Means in a column with different letters are significantly different ( $p<0.05$ ).

**<Table 2-18> Effect of persimmon peel extract on change in volatile basic nitrogen (VBN) value of reduced-fat emulsion sausages prepared with pork skin collagen powder during refrigerated storage (4°C)**

Treatments <sup>1)</sup>	Storage period (weeks)				
	0	1	2	3	4
Control	6.91±0.43 <sup>Da</sup>	7.00±0.28 <sup>Da</sup>	8.03±0.71 <sup>Ca</sup>	11.11±0.43 <sup>Ba</sup>	12.14±0.43 <sup>Aa</sup>
BHT	6.82±0.43 <sup>Da</sup>	6.91±0.16 <sup>Da</sup>	8.03±0.58 <sup>Ca</sup>	10.09±0.56 <sup>Bb</sup>	11.49±0.28 <sup>Aa</sup>
P1	6.82±0.32 <sup>Da</sup>	6.72±0.56 <sup>Da</sup>	7.66±0.43 <sup>Ca</sup>	9.24±0.28 <sup>Bc</sup>	10.65±0.28 <sup>Ab</sup>
P2	5.98±0.16 <sup>Db</sup>	6.35±0.43 <sup>Da</sup>	7.56±0.28 <sup>Ca</sup>	8.96±0.28 <sup>Bc</sup>	9.80±0.56 <sup>Ac</sup>
P3	6.82±0.16 <sup>Ca</sup>	6.72±0.28 <sup>Ca</sup>	7.28±0.74 <sup>Ca</sup>	9.24±0.40 <sup>Bc</sup>	10.18±0.43 <sup>Abc</sup>

All values are mean±standard deviation.

<sup>1)</sup>Treatments: control, without antioxidant; BHT, added 0.01% BHT; P1, added 0.3% persimmon peel extract; P2, added 0.5% persimmon peel extract; P3, added 1.0% persimmon peel extract.

<sup>A-D</sup>Means in a row with different letters are significantly different ( $p<0.05$ ).

<sup>a-c</sup>Means in a column with different letters are significantly different ( $p<0.05$ ).

감과피 추출물을 첨가한 저지방 소시지의 저장 중 관능적 특성의 변화는 <Table 2-19>에 나타내었다. 모든 처리구에서 저장일수가 증가할수록 관능점수가 낮아지는 경향을 나타내었으며, 처리구간에 유의적인 차이는 3주, 4주의 이취 항목을 제외하고 나타나지 않았다. 3주, 4주의 이취 항목에서는 감과피 분말을 첨가한 처리구들이 대조구보다 유의적으로 높은 값을 나타내었다.

<Table 2-19> Effect of persimmon peel extract on change in sensory properties of reduced-fat emulsion sausages prepared with pork skin collagen powder during refrigerated storage (4°C)

Traits	Treatments <sup>1)</sup>	Storage period (weeks)				
		0	1	2	3	4
Color	Control	8.43±0.67 <sup>A</sup>	7.90±0.63 <sup>AB</sup>	7.70±0.58 <sup>BC</sup>	7.30±0.87 <sup>CD</sup>	7.20±0.72 <sup>D</sup>
	BHT	8.56±0.88 <sup>A</sup>	8.00±0.71 <sup>B</sup>	7.89±0.60 <sup>BC</sup>	7.44±0.73 <sup>BC</sup>	7.33±0.71 <sup>C</sup>
	P1	8.56±0.73 <sup>A</sup>	8.00±0.57 <sup>B</sup>	7.60±0.70 <sup>BC</sup>	7.40±0.70 <sup>BC</sup>	7.20±0.72 <sup>C</sup>
	P2	8.47±0.82 <sup>A</sup>	7.80±0.83 <sup>B</sup>	7.70±0.82 <sup>B</sup>	7.30±0.67 <sup>BC</sup>	7.10±0.64 <sup>C</sup>
	P3	8.63±0.82 <sup>A</sup>	7.80±0.79 <sup>AB</sup>	7.50±0.85 <sup>AB</sup>	7.30±0.67 <sup>B</sup>	7.10±0.78 <sup>B</sup>
Flavor	Control	7.89±0.73 <sup>A</sup>	7.60±0.52 <sup>B</sup>	7.40±0.72 <sup>BC</sup>	6.90±0.79 <sup>CD</sup>	6.80±0.64 <sup>D</sup>
	BHT	8.44±0.81 <sup>A</sup>	7.89±0.78 <sup>AB</sup>	7.53±0.87 <sup>B</sup>	7.00±1.02 <sup>B</sup>	7.44±0.92 <sup>B</sup>
	P1	8.22±0.91 <sup>A</sup>	7.70±0.48 <sup>B</sup>	7.48±0.64 <sup>BC</sup>	7.10±0.67 <sup>C</sup>	7.00±0.67 <sup>C</sup>
	P2	8.67±1.02 <sup>A</sup>	7.90±0.74 <sup>B</sup>	7.70±0.67 <sup>BC</sup>	7.10±0.88 <sup>BC</sup>	7.00±0.78 <sup>C</sup>
	P3	8.67±0.92 <sup>A</sup>	8.00±0.57 <sup>B</sup>	7.80±0.83 <sup>BC</sup>	7.20±0.63 <sup>D</sup>	7.40±0.64 <sup>CD</sup>
Off-flavor	Control	8.67±0.83 <sup>A</sup>	8.20±0.72 <sup>A</sup>	7.33±0.81 <sup>B</sup>	6.62±0.72 <sup>BCb</sup>	5.70±0.56 <sup>Cb</sup>
	BHT	8.43±0.60 <sup>A</sup>	8.26±1.29 <sup>A</sup>	7.62±1.43 <sup>AB</sup>	7.20±1.29 <sup>Ba</sup>	6.10±0.82 <sup>Cab</sup>
	P1	8.57±0.91 <sup>A</sup>	8.20±0.88 <sup>A</sup>	7.50±1.18 <sup>AB</sup>	7.35±1.20 <sup>Ca</sup>	6.30±0.87 <sup>Cab</sup>
	P2	8.71±0.83 <sup>A</sup>	8.26±0.63 <sup>A</sup>	7.75±0.96 <sup>AB</sup>	7.45±1.01 <sup>Ba</sup>	6.63±0.87 <sup>Ba</sup>
	P3	8.83±0.33 <sup>A</sup>	8.30±0.52 <sup>A</sup>	7.90±0.71 <sup>AB</sup>	7.20±0.62 <sup>Ba</sup>	6.72±0.74 <sup>Ca</sup>
Overall acceptability	Control	8.01±0.55 <sup>A</sup>	7.80±0.42 <sup>A</sup>	7.20±0.46 <sup>B</sup>	7.00±0.530 <sup>BC</sup>	6.78±0.41 <sup>C</sup>
	BHT	8.44±0.53 <sup>A</sup>	7.40±0.70 <sup>AB</sup>	7.40±0.52 <sup>BC</sup>	7.20±1.23 <sup>C</sup>	6.91±0.70 <sup>C</sup>
	P1	8.23±0.50 <sup>A</sup>	7.80±0.63 <sup>AB</sup>	7.60±0.70 <sup>BC</sup>	7.10±0.99 <sup>CD</sup>	6.70±0.47 <sup>D</sup>
	P2	8.57±0.73 <sup>A</sup>	7.70±0.72 <sup>B</sup>	7.70±0.72 <sup>BC</sup>	7.30±1.16 <sup>BC</sup>	6.93±0.82 <sup>C</sup>
	P3	8.33±0.50 <sup>A</sup>	7.90±0.57 <sup>BC</sup>	7.60±0.56 <sup>BC</sup>	7.20±0.42 <sup>D</sup>	7.33±0.66 <sup>D</sup>

All values are mean±standard deviation.

<sup>1)</sup>Treatments: control, without antioxidant; BHT, added 0.01% BHT; P1, added 0.3% persimmon peel extract; P2, added 0.5% persimmon peel extract; P3, added 1.0% persimmon peel extract.

<sup>A-D</sup>Means in a row with different letters are significantly different ( $p<0.05$ ).

<sup>a,b</sup>Means in a column with different letters are significantly different ( $p<0.05$ ).

따라서 위의 연구 결과 저지방 소시지 제조 시 감과피 추출물을 첨가하면, 저지방 소시지의 지질 산패도와 휘발성 염기태 질소 화합물을 낮추어 줄 수 있으며, 감과피 추출물의 첨가가 저지방 소시지의 관능적 기호도에 영향을 미치지 않으므로, 감과피 추출물의 1% 첨가가 저지방 소시지의 품질을 떨어뜨리지 않으면서 지방산패를 억제 저장성을 향상시킬 수 있을 것으로 보인다.

### 3. 돈피(pork skin) 콜라겐 및 식이섬유를 이용한 기능성 저지방 발효소시지의 개발

#### 가. 발효소시지 제조시 돈피 콜라겐의 최적 첨가량 확립

##### (1) 서론

발효 소시지는 유산균을 이용하여 만드는 건조 소시지의 일종으로 유럽과 미국에서는 살라미, 페퍼로니, 초리조 같은 종류의 발효소시지가 널리 판매되고 있다. 발효 과정에서 생성되는 산미와 독특한 풍미가 특징이다. 최근 축산물의 가공기준 및 성분규격 법안에서 생햄과 발효소시지에 대한 미생물 기준규격이 새로이 신설되는 것에서 알 수 있듯이 국내에서도 발효소시지에 대한 관심이 점점 높아지고 있는 추세이다. 하지만 전통적인 발효소시지의 경우 지방함량이 높은 대표적인 고지방·고열량 식품으로(Wirth, 1991) 저지방·저열량 제품을 선호하는 현재 소비자의 기호에는 부적합한 면이 존재한다. 이를 극복하기 위해서는 발효소시지의 지방함량을 효과적으로 감소시킬 수 있는 방법의 개발이 시급하다. 일반적으로 육제품에서 지방함량을 감소시키기 위해 널리 사용하는 방법은 수분의 첨가이다. 하지만 이 방법은 발효소시지의 제조에 적용하기 어려운 점이 있다. 발효 소시지는 일반적으로 비가열 소시지에 속하며 발효·숙성 과정 중에 일어나는 건조를 통해 수분활성도가 감소하여 제품의 저장안전성을 확보하기 때문이다. 따라서 수분을 첨가하기 위해서는 다량의 수분이 첨가되더라도 낮은 수분활성도를 확보하는 것이 중요하다. 이를 위해 새로운 지방대체재의 개발이 필요하며 그 원료중 하나로 돈피 콜라겐을 이용할 수 있다. 돈피 콜라겐은 육제품에 널리 이용되고 있는 첨가제 중 하나로 단백질 함량을 증가시키고 보수력을 향상시키는 특성을 가지고 있다. 콜라겐 자체는 무색·무미의 특성을 지니지만 돈피에서 콜라겐을 생산할 때 유입되는 성분들이 특유의 맛과 색을 띄게 하므로 적절한 첨가량에 대한 연구가 필요하다.

따라서 본 연구에서는 돈피 콜라겐을 이용한 새로운 지방대체재를 개발하기 위하여 돈피 콜라겐의 최적 첨가량을 확립하기 하였고, 이를 첨가한 발효소시지를 제조하여 품질 및 관능적 특성을 평가하였다.

## (2) 재료 및 방법

### (가) 원료육의 준비

도축 후 48시간 경과된 국내산 냉장 돈육 후지를 구입하여 과도한 지방을 제거한 후 사용하였다. 돈육과 등지방 모두 미생물학적 안정성과 가공의 용이성을 위해 제조 전  $-20^{\circ}\text{C}$  이하에서 48시간 동안 냉동 보관 후 사용하였다.

### (나) 돈피 콜라겐을 첨가한 발효소시지의 제조

돈피 콜라겐의 첨가량을 다르게 하여 제조한 발효소시지의 배합비율은 <Table 3-1> 과 같다. 돈피 콜라겐은 프랑스 C사의 분말 형태로 제조된 돈피 콜라겐(CAPork 90) 제품을 이용하였다. 원료육과 등지방을 각각 사일런트 커터(Nr-963009, Scharfen, Witten, Germany)를 이용하여 1차 세절을 진행하여 직경 8mm 이하로 세절한 후 NPS, 향신료, 포도당, glucono- $\delta$ -lactone(GDL), 스타터 컬처를 첨가 후 돈피 콜라겐 분말을 각각 무첨가, 1%, 2%, 3%를 첨가하여 2차 세절을 시행하였다. 완성된 배터는 충전기(IS-8, Sirman, Marsango, Italy)를 이용하여 셀룰로오스 케이싱(직경 18 mm)에 충전하였다. 이후 숙성을 위해  $18^{\circ}\text{C}$ (상대습도 85-90%)에서 3시간 숙성시킨 후  $5-7^{\circ}\text{C}$ 의 저온 염지실에서 18시간동안 숙성을 진행하였다. 이후 냉훈법을 통해 훈연공정을 거친후  $15^{\circ}\text{C}$ (상대습도 75-80%)에서 수분활성도가 0.9 이하가 될 때까지 2차 숙성을 진행하였다.

<Table 3-1> Formulation of fermented sausages containing various collagen powder levels

(unit, %)

Ingredients	Control <sup>1)</sup>	Pork collagen powder levels		
		1%	2%	3%
Pork ham	80	80	80	80
Pork back fat	20	20	20	20
Total	100	100	100	100
Pork collagen powder	-	1	2	3
NPS <sup>2)</sup>	1.5	1.5	1.5	1.5
Seasoning	1	1	1	1
Glucose	0.5	0.5	0.5	0.5
Garlic powder	0.5	0.5	0.5	0.5
Ginger powder	0.5	0.5	0.5	0.5
White pepper	0.5	0.5	0.5	0.5
GDL <sup>3)</sup>	0.5	0.5	0.5	0.5
Stater culture <sup>4)</sup>	0.5	0.5	0.5	0.5

<sup>1)</sup>Control, no added pork collagen powder.

<sup>2)</sup>NPS: nitrite pickled salt (99.4:0.6).

<sup>3)</sup>GDL: glucono- $\delta$ -lactone.

<sup>4)</sup>Stater culture: commercial product (a mixture of *Lactobacillus pentosus* + *Staphylococcus carnosus*, Bactoferm<sup>TM</sup> C-P-77).

(다) 실험방법

① pH 측정(pH measurement)

돈피 콜라겐을 함유하는 발효소시지의 pH는 시료 5 g을 취하여 증류수 20 mL과 혼합하고 Ultra-turrax(Model NO. T25, Janken & Kunkel, Germany)를 사용하여 8,000 rpm에서 1분간 균질한 후 pH meter(Model 340, Mettler-Toledo, Switzerland)를 사용하여 측정하였다.

② 색도(color measurement)

돈피 콜라겐을 함유하는 발효소시지의 색도는 Colorimeter(Chromameter, CR210, Minolta, Japan)를 사용하여 CIE L\* -값(명도), CIE a\* -값(적색도)과 CIE b\* -값(황색도)을 측정하였다. 이때의 표준색은 L\* -값은 +97.83, a\* -값이 -0.43, b\* -값이 +1.98인 백색 표준판을 사용하였다.

③ 수분활성도 측정(Aw measurement)

수분활성은 수분활성측정기(BT-RS1, Rotronic, Swiss)를 이용하여 측정하였다. 측정기의 내부 감지기 온도를 25°C로 고정하여 30분 간격으로 측정기의 상대습도를 기록하였으며, 상대습도의 끝자리 수가 30분 동안 변동이 없을 때를 측정값으로 하였다.

④ 전단력(Shearforce) 측정

시료를 약 2.5 cm 길이로 절단하여 Blade set(Warner-Bratzler blade)가 장착된 texture analyser (TA-XT2i, Stable Micro Systems, England)를 이용하여 시료의 전단력을 측정하였으며, 이때의 cross head speed는 2 mm/sec 이었다.

⑤ 관능적 특성 측정

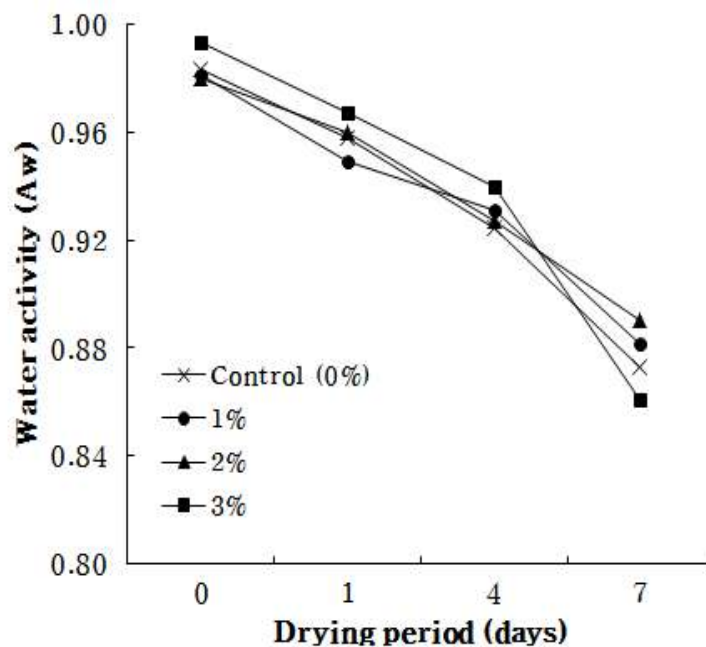
미리 훈련된 15명의 panel 요원을 구성하여 돈피 콜라겐을 함유하는 발효소시지의 색(color), 풍미(flavor), 조직감(texture), 이취(off-flavor), 산도(sourness) 및 전체적인 맛(overall acceptability)에 대하여 각각 10점 만점으로 평점하고 그 평균치를 구하여 비교하였다. 평점표에서 10점은 가장 우수하고, 1점은 가장 열악한 품질 상태를 나타낸다.

⑥ 통계처리

통계분석은 SAS program(SAS, 2008)의 GLM(General Linear Model) procedure를 통하여 분석하였고, 처리구간의 평균간 비교는 Duncan의 다중검정을 통하여 유의성 검정( $p < 0.05$ )을 실시하였다.

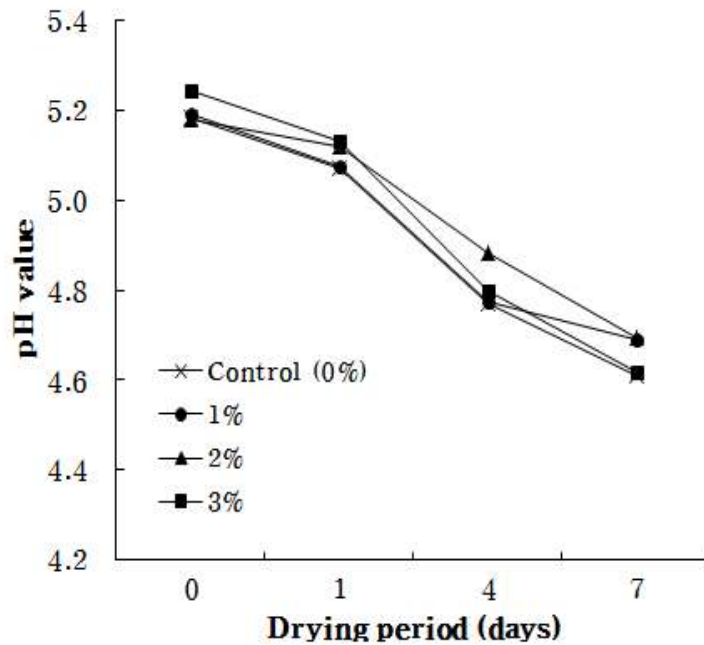
(3) 연구결과

돈피 콜라겐을 첨가하는 비율을 다르게 하여 제조한 발효소시지의 수분활성도의 변화는 <Fig. 3-1> 에 나타내었다. 발효소시지에 있어서 수분활성도는 발효소시지의 안정성을 평가하는 중요한 지표이며 낮은 수분활성도를 나타낼수록 제품의 미생물적, 산화적 안정성이 높아지게 된다. 모든 처리구에서 발효·숙성 기간이 길어질수록 수분활성도는 유의적으로 감소하였다 ( $p < 0.05$ ). 처리구 간에 수분활성도를 비교한 결과는 유의적인 차이가 나타나지 않았다 ( $p > 0.05$ ). 일반적인 발효소시지의 경우 수분활성도가 0.9를 넘지 않아야 하므로 7일의 발효·숙성 기간을 거친 돈피 콜라겐을 첨가한 발효소시지를 색도와 전단력 및 관능검사에 이용하였다.



<Fig. 3-1> Change in water activity ( $A_w$ ) of fermented sausages containing pork collagen powder during drying period. The fermented sausages contain 0 (x), 1 (●), 2 (▲), and 3% (■) pork collagen powder, respectively.

돈피 콜라겐의 첨가량을 달리한 발효소시지의 pH 변화는 <Fig. 3-2>에 나타내었다. 발효소시지의 pH감소는 유산균의 발효에서 기인하며 발효가 충분히 일어날수록 발효소시지의 pH는 낮은 값을 나타낸다. 돈피 콜라겐을 3% 첨가한 처리구의 경우 초기 pH에서 다른 처리구들 보다 높은 값을 나타내었는데, 이는 돈피 콜라겐의 다량 첨가에 의한 영향으로 사료된다. 발효·숙성 기간 동안 pH는 유의적으로 감소하는 결과를 나타내었으며 저장 7일차에서는 모든 처리구의 pH가 4.7 이하로 감소하였고, 돈피 콜라겐을 3% 처리한 처리구가 유의적으로 가장 낮은 pH를 나타내었다 ( $p < 0.05$ ). 이는 돈피 콜라겐의 첨가가 유산균의 발효를 방해하지 않는다는 것을 뜻하며 새로 개발할 지방대체재의 원료로 사용함에 있어서 적합하다는 것을 의미한다.



<Fig. 3-2> Change in pH value of fermented sausages containing pork collagen powder during drying period. The fermented sausages contain 0 (×), 1 (●), 2 (▲), and 3% (■) pork collagen powder, respectively.

<Table 3-2>는 돈피 콜라겐을 첨가한 발효소시지의 색도를 측정된 결과이다. 발효 전 돈피 콜라겐을 3% 첨가한 발효소시지 배터의 경우 대조구와 비교하여 적색도는 감소, 황색도는 유의적으로 증가( $p < 0.05$ )하는 경향을 나타내었다. 이러한 결과는 돈피 콜라겐이 가지고 있는 색에 의한 것으로 사료된다. 하지만 발효·숙성 과정을 거친 후에는 처리구들에 적색도의 유의적인 차이는 나타나지 않았으며( $p > 0.05$ ), 1%, 2%의 돈피 콜라겐을 첨가한 처리구의 경우 대조구보다 유의적으로 낮은 황색도를 나타내었다( $p < 0.05$ ). 이러한 결과로 보아 돈피 콜라겐 분말의 첨가는 발효소시지의 색도에 큰 영향을 주지 않는 것으로 사료된다.

돈피 콜라겐을 첨가한 발효소시지의 전단력을 측정된 결과는 <Fig. 3-3>과 같다. 전단력의 경우 관능검사의 조직감 항목과 연관이 있는 것으로 알려져 있다. 대조구와 1%의 돈피 콜라겐을 첨가한 처리구가 다른 처리구들보다 유의적으로 높은 전단력을 나타내었다( $p < 0.05$ ).

<Table 3-3>에서는 돈피 콜라겐을 첨가한 발효 소시지의 관능적 특성을 나타내었다. 색도, 조직감, 이취, 산도 등의 항목에서 처리구간에 유의적인 차이는 나타나지 않았으나( $p > 0.05$ ), 3%의 돈피 콜라겐을 첨가한 처리구의 경우 풍미나 전체적인 기호도 항목에서 다른 처리구들보다 유의적으로 낮은 값을 나타내었다. 이는 돈피 콜라겐이 가지는 특유의 맛이 관능적인 측면에 영향을 끼친 것으로 보인다.



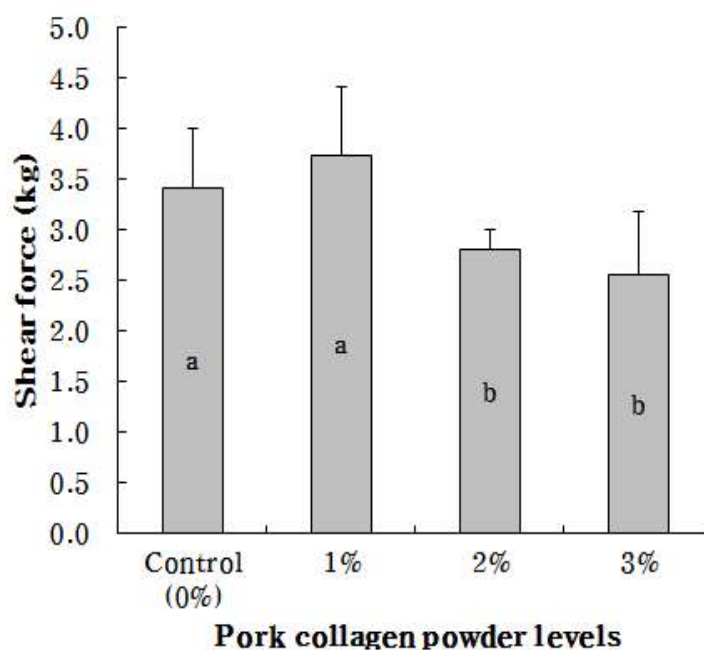
<Table 3-2> Effect of pork collagen on color parameters of fermented sausages

Condition	Traits	Control <sup>1)</sup>	Pork collagen powder levels		
			1%	2%	3%
Before drying	CIE L*	52.97±1.01	53.27±0.93	52.95±0.66	53.24±0.62
	CIE a*	14.93±0.67 <sup>A</sup>	15.12±0.43 <sup>A</sup>	14.69±0.24 <sup>AB</sup>	14.25±0.43 <sup>B</sup>
	CIE b*	20.19±0.93 <sup>AB</sup>	20.32±0.36 <sup>B</sup>	20.45±0.36 <sup>B</sup>	21.29±0.75 <sup>A</sup>
After drying	CIE L*	45.68±2.57 <sup>A</sup>	42.03±1.70 <sup>B</sup>	42.57±2.34 <sup>B</sup>	45.79±2.37 <sup>A</sup>
	CIE a*	15.33±1.39	15.75±1.02	15.75±1.53	15.25±1.45
	CIE b*	23.95±2.19 <sup>A</sup>	22.11±1.74 <sup>B</sup>	22.37±1.77 <sup>B</sup>	24.07±1.50 <sup>A</sup>

All values are mean±standard deviation.

<sup>1)</sup>Control, no added pork collagen powder.

<sup>A,B</sup>Means in a row with different letters are significantly different ( $p<0.05$ ).



<Fig. 3-3> Effect of pork collagen on shear force of fermented sausages. The fermented sausages contain 0 (×), 1 (●), 2 (▲), and 3% (■) pork collagen powder, respectively. <sup>a,b</sup>The different letters among each treatment are significantly different ( $p<0.05$ ).

위의 연구 결과에 따르면 돈피 콜라겐의 첨가는 발효소시지의 발효나 수분활성도에는 영향을 끼치지 않으나 3% 이상의 첨가시에는 관능적 특성의 저하를 가져오기 때문에 새로운 지방대체제를 만드는 공정에 있어서 전체 중량 대비 3%를 초과하지 않고 1% 내지 2%의 첨가하는 것이 적합한 것으로 판단된다.

<Table 3-3> Effect of pork collagen on sensory properties of fermented sausages

Traits	Control <sup>1)</sup>	Pork collagen powder levels		
		1%	2%	3%
Color	8.80±0.42	8.70±0.48	8.40±0.70	8.20±0.79
Flavor	8.60±0.64 <sup>A</sup>	8.40±0.70 <sup>A</sup>	8.20±0.92 <sup>A</sup>	7.70±0.67 <sup>B</sup>
Texture	8.40±0.52	8.30±0.48	8.40±0.84	8.10±0.57
Off-flavor	8.80±0.79	8.60±0.70	8.70±0.82	8.20±0.79
Sourness	5.88±2.60	6.17±2.68	6.48±2.76	6.28±2.50
Overall acceptability	8.50±0.71 <sup>A</sup>	8.30±0.48 <sup>A</sup>	8.10±0.57 <sup>A</sup>	7.50±0.53 <sup>B</sup>

All values are mean±standard deviation.

<sup>1)</sup>Control, no added pork collagen powder.

<sup>2)</sup>Traits: color (1=extremely undesirable, 10=extremely desirable), flavor (1=extremely undesirable, 10=extremely desirable), texture (1=extremely undesirable, 10=extremely desirable), off-flavor (1=strong off-flavor, 10=weak off-flavor), Sourness (1=weak sour taste, 10=strong sour taste), and overall acceptance (1=extremely undesirable, 10=extremely desirable).

<sup>A,B</sup>Means in a row with different letters are significantly different ( $p < 0.05$ ).

## 나. 돈피 콜라겐 분말과 식이섬유를 활용한 저지방 발효소시지의 표준화

### (1) 서론

발효소시지는 지중해 지역에서 건조한 기후를 바탕으로 발달하게 되었으며(Lucke, 1985; Perez-Alvarez *et al.*, 1999), 유럽을 비롯한 세계 각국에서 널리 소비되고 있는 비가열 육가공품 중 하나이다. 국내에서는 아직 발효소시지의 시장규모가 크지 않지만, 소비경향의 변화로 미래에 발효소시지 시장이 점차 성장될 것으로 예상된다. 일반적으로, 발효소시지를 제조할 때에 10-20%정도의 지방이 첨가되며, 발효 및 건조 공정을 거치면서 지방 함량은 30% 이상으로 상승한다(Bloukas *et al.*, 1997; Wirth, 1988). 이러한 지방은 대부분이 포화 지방산으로 이루어져 있는 동물성 지방으로, 과도하게 섭취할 경우 혈중 콜레스테롤 농도 증가 및 심혈관계 질환, 비만 등의 각종 성인병의 발병률을 높이는 요인이 되기 때문에 세계보건기구(WHO)에서는 지방의 섭취량을 줄일 것을 권장하고 있다. 그러나 지방은 식품의 조직감 및 다즙성, 그리고 풍미를 결정짓는 중요한 구성성분이다(Muguerza *et al.*, 2004). 따라서, 식육가공품에 첨가되는 지방을 대체하여 지방 함량을 감소시킴과 동시에 이에 따른 특성의 저하를 최소화 할 수 있는 지방대체재에 관한 연구가 많이 이루어지고 있다.

본 연구에서는 앞서 수행했던 발효소시지에서의 돈피 콜라겐의 최적 첨가량에 관한 연구를 바탕으로 하여 식이섬유와 일반 육가공품에 비해 과량의 지방을 함유하는 발효소시지의 지방 함량을 낮추기 위해서 돈피 콜라겐을 이용한 지방대체재를 제조하고 이를 발효소시지에 첨가한 후 품질특성을 평가하였다.

### (2) 재료 및 방법

#### (가) 원료육의 준비

도축 후 48시간 경과된 국내산 냉장 돈육 후지를 구입하여 과도한 지방을 제거한 후 사용하였다. 돈육은 외부의 과도한 지방과 결체조직을 제거하였고, 돈육과 등지방 모두 미생물적 안정성과 가공의 용이성을 위해 제조 전  $-20^{\circ}\text{C}$  이하에서 48시간 냉동 보관 후 사용하였다.

#### (나) 돈피 콜라겐과 식이섬유를 이용한 지방대체재 제조

돈피 콜라겐은 프랑스 C사의 분말형태로의 콜라겐(CAPork 90, CAP DIANA, Z.I DU Brétin 56410 PLEUCDEUC, France)을 사용하였고 식이섬유는 VITACEL의 cabroxymethyl cellulose 계열의 MCG 0018을 사용하였다. MCG와 얼음을 사일런트 커터에서 세절하여 혼합시키고, 돈피 콜라겐을 혼합시켜서 지방대체재를 제조하였다. 돈피 콜라겐 식이섬유 돈피 콜라겐과 MCG 0018의 배합비율에 따른 지방대체재의 일반성분은 <Table 3-4>에 나타내었다.

<Table 3-4> Proximate composition of pre-emulsions made with different levels of pork collagen

Traits	Ratios of collagen and dietary fiber <sup>1)</sup>		Significant of t-test <sup>2)</sup>
	(collagen:ice:dietary fiber)		
	1:8:1	2:7:1	
Moisture (g/100 g)	80.95±0.10	71.33±0.02	*
Protein (g/100 g)	8.41±0.40	17.53±0.04	**
Fat (g/100 g)	0.95±0.03	2.70±0.10	**
Ash (g/100 g)	0.35±0.00	0.50±0.00	NS

Mean values±standard deviation.

<sup>1)</sup>Dietary fiber: carboxymethyl cellulose.

<sup>2)</sup>NS, no significant; \*,  $p < 0.05$ ; \*\*,  $p < 0.01$ ; \*\*\*,  $p < 0.001$ .

(다) 돈피 콜라겐 지방대체재를 첨가한 저지방 발효소시지의 제조

원료육과 등지방을 각각 사일런트 커터(Nr-963009, Scharfen, Witten, Germany)를 이용하여 1차 세절을 진행하여 직경 8mm 이하로 세절한 후 NPS, 향신료, 포도당, GDL, 스타터 킬처를 첨가 후 각각 콜라겐과 MCG 0018의 혼합비율이 다른 지방대체재(RF1; MCG:물:돈피콜라겐 1:8:1, RF2; MCG:물:돈피 콜라겐 1:7:2)를 첨가해 2차 세절을 실시하였다. 완성된 배터는 충전기(IS-8, Sirman, Marsango, Italy)를 이용하여 셀룰로오스 케이싱(직경 18 mm)에 충전하였다. 이후 숙성을 위해 18°C(상대습도 85-90%)에서 3시간 숙성시킨 후 5-7°C의 저온 염지실에서 18시간동안 숙성을 진행하였다. 이후 냉훈법을 통해 훈연공정을 실시한 후 15°C(상대습도 75-80%)에서 수분활성도가 0.9 이하가 될 때까지 2차 숙성을 진행하였다. 이후 관능적 특성이 우수하게 나타난 RF1을 이용하여 첨가량을 각각 5%, 10%, 15% 로 조절하여 저지방 발효소시지를 제조하였다.

(라)실험방법

① 일반성분(proximate composition)

일반성분은 AOAC법(2007)에 따라 수분 함량은 105°C 상압건조법, 조단백질 함량은 Micro kjeldahl 방법, 조지방 함량은 Soxhlet 추출법, 조회분함량은 직접회화법으로 측정하였다.

② 건조수율(drying yield)

건조일자에 따라 돈피 콜라겐과 MCG를 이용해 제조한 지방대체재를 첨가한 발효소시지의 무게를 측정하였다. 이때 건조수율은 다음 식에 의하여 구하였다.

$$\text{건조수율 (\%)} = \frac{\text{건조 이후 시료의 무게 (g)}}{\text{건조 이전 시료의 무게 (g)}} \times 100$$

③ pH 측정(pH measurement)

돈피 콜라겐 지방대체재를 함유하는 발효소시지의 pH는 시료 5 g을 취하여 증류수 20 mL과 혼합하고 Ultra-turrax(Model NO. T25, Janken & Kunkel, Germany)를 사용하여 8,000 rpm에서 1분간 균질한 후 pH meter(Model 340, Mettler-Toledo, Switzerland)를 사용하여 측정하였다.

④ 색도(color measurement)

돈피 콜라겐 지방대체재를 함유하는 발효소시지의 색도는 Colorimeter(Chromameter, CR210, Minolta, Japan)를 사용하여 CIE L\* -값(명도), CIE a\* -값(적색도)과 CIE b\* -값(황색도)을 측정하였다. 이때의 표준색은 L\* -값은 +97.83, a\* -값이 -0.43, b\* -값이 +1.98인 백색 표준판을 사용하였다.

⑤ 수분활성도 측정(Aw measurement)

수분활성은 수분활성측정기(BT-RS1, Rotronic, Swiss)를 이용하여 측정하였다. 측정기의 내부 감지기 온도를 25°C로 고정하여 30분 간격으로 측정기의 상대습도를 기록하였으며, 상대습도의 끝자리 수가 30분 동안 변동이 없을 때를 측정값으로 하였다.

⑥ 전단력 측정(shear force)

시료를 약 2.5 cm 길이로 절단하여 Blade set(Warner-Bratzler blade)가 장착된 texture analyser (TA-XT2i, Stable Micro Systems, England)를 이용하여 시료의 전단력을 측정하였으며, 이때의 cross head speed는 2 mm/sec 이었다.

⑦ 관능적 특성 측정

미리 훈련된 15명의 panel 요원을 구성하여 돈피 콜라겐을 함유하는 발효소시지의 색(color), 풍미(flavor), 조직감(texture), 이취(off-flavor), 산미(sourness) 및 전체적인 맛(overall acceptability)에 대하여 각각 10점 만점으로 평점하고 그 평균치를 구하여 비교하였다. 평점표에서 10점은 가장 우수하고, 1점은 가장 열악한 품질 상태를 나타낸다.

⑧ 지질산패도(2-thiobarbituric acid value)

냉장저장 중 발효소시지의 지질산패도(TBA value)는 Tarladgis 등(1960)의 증류법을 응용하여 실시하였다. 지방산화에 의하여 유리되는 malonaldehyde와 2-thiobarbituric acid(TBA)를

반응시킨 후 spectrophotometer를 이용하여 538 nm에서 흡광도를 측정하여 아래의 공식에 의해 TBA가를 산출하였으며, TBA수치는 mg malonaldehyde/kg으로 나타내었다.

$$\text{TBA value (mg malonaldehyde/kg sample)} = 7.8 \times \text{O.D.}$$

#### ⑨ 미생물 분석(microbiological analysis)

시료 10 g에 0.1% 멸균 펩톤수 90 mL를 첨가하여 stomacher를 이용하여 1분 동안 균질화하였고, 0.1% 멸균 펩톤수를 이용하여 단계 희석하였다. 총균수(total viable count)는 plate count agar(PCA, Difco Lab., Detroit, MI, USA)에 도말하여 각각 36°C에서 48시간 배양하였다. 젖산균(lactic acid bacteria)은 MRS 한천배지(Difco Lab., USA)에 도말하여 36°C에서 48시간 동안 배양하였다. 모든 균수는 배양한 후 콜로니(colony)수가 30-300개인 평판을 선택하여 그람 당 콜로니형성단위(CFU/g)로 산출하여 나타내었다.

#### ⑩ 통계처리(statistical analysis)

통계분석은 SAS program(SAS, 2008)의 GLM(General Linear Model) procedure를 통하여 분석하였고, 처리구간의 평균간 비교는 Duncan의 다중검정을 통하여 유의성 검정( $p < 0.05$ )을 실시하였다.

### (3) 연구결과

저지방 발효소시지 제조에 적합한 지방대체재의 돈피 콜라겐 배합비율을 알아보기 위하여 MCG와 물 돈피콜라겐을 각각 1:8:1(RF1) 과 1:7:2(RF2)로 혼합한 지방대체재를 전체 지방함량의 50%를 대체하여 첨가한 저지방 발효소시지를 제조하여 품질특성을 조사하였다.

혼합비율이 다른 지방대체재를 첨가한 저지방 발효 소시지의 일반성분은 표 <Table 3-5>와 같다. RF1, RF2 두 처리구에서 건조가 끝난 후 지방함량이 유의적으로 감소하였다( $p < 0.05$ ). 지방을 50% 대체했음에도 불구하고 최종적으로 제품이 완성되었을 때의 지방함량 차이는 그에 미치지 못했는데 그 이유는 건조과정중에 증발한 수분 때문에 제품 내에서 지방의 비율이 높아졌기 때문이다. 이와 같은 이유로 건조가 완료된 저지방 발효소시지의 단백질 함량의 경우 첨가된 돈피 콜라겐의 양에 비해 높은 증가량을 나타내었다. 수분의 경우 두 처리구 모두에서 대조구보다 유의적으로 증가하였다( $p < 0.05$ ).

<Table 3-5> Effect of collagen pre-emulsions on proximate composition of reduced-fat fermented sausages

Traits	Types	Control	Reduced-fat treatments <sup>1)</sup>	
			RF1	RF2
Moisture (g/100 g)	Batter	57.54±0.16 <sup>Ba</sup>	65.23±0.79 <sup>Aa</sup>	57.21±0.79 <sup>Ba</sup>
	Sausage	31.78±0.89 <sup>b</sup>	35.88±0.02 <sup>b</sup>	35.16±0.85 <sup>b</sup>
Protein (g/100 g)	Batter	16.08±0.84 <sup>Bb</sup>	16.64±0.35 <sup>Bb</sup>	18.35±0.14 <sup>Ab</sup>
	Sausage	28.15±0.85 <sup>Ba</sup>	31.79±1.31 <sup>Aa</sup>	32.70±0.62 <sup>Aa</sup>
Fat (g/100 g)	Batter	21.71±0.21 <sup>Ab</sup>	14.70±0.02 <sup>Bb</sup>	11.32±0.12 <sup>Cb</sup>
	Sausage	32.62±0.54 <sup>Aa</sup>	19.43±0.61 <sup>Ca</sup>	21.30±0.33 <sup>Ba</sup>
Ash (g/100 g)	Batter	3.37±0.53 <sup>b</sup>	3.17±0.11 <sup>b</sup>	3.17±0.11 <sup>b</sup>
	Sausage	5.50±0.03 <sup>a</sup>	5.86±0.18 <sup>a</sup>	5.58±0.11 <sup>a</sup>

Mean values±standard deviation.

The batter was analyzed immediately after processing, the fermented sausage was analyzed after cold smoking, fermentation, and drying.

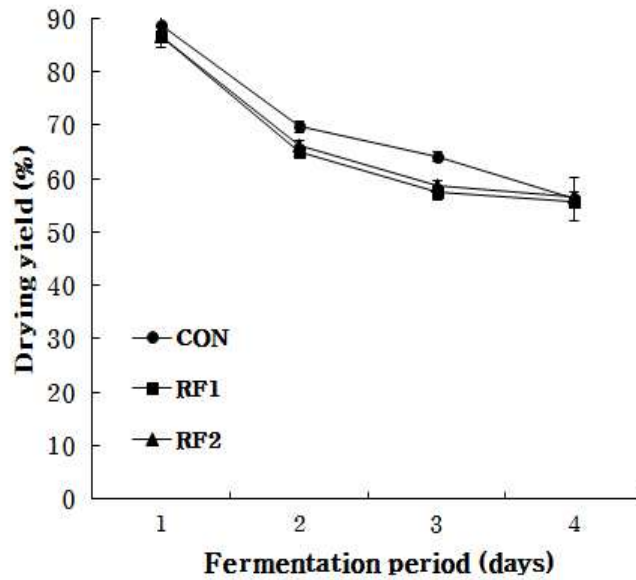
<sup>1)</sup>Reduced-fat treatments: RF1, the fermented sausage replaced of 50% pork back fat with collagen pre-emulsion (collagen:ice:dietary fiber=1:8:1); RF2, the fermented sausage replaced of 50% pork back fat with collagen pre-emulsion (collagen:ice:dietary fiber=2:7:1).

<sup>A-C</sup>Means with different letters within a row are significantly different ( $p<0.05$ ).

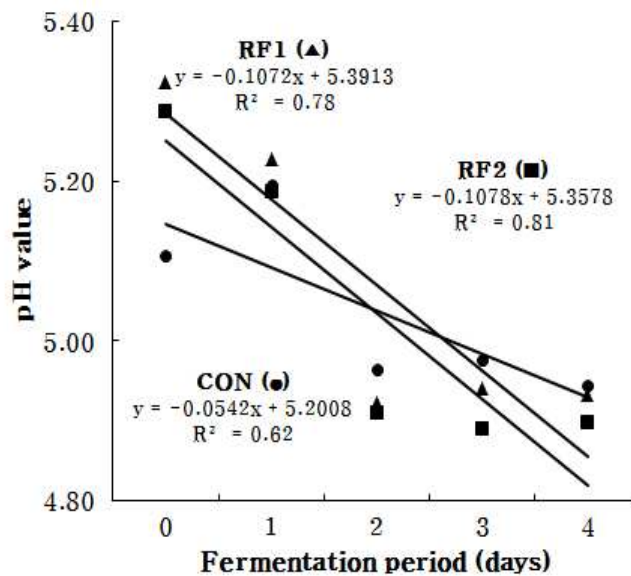
<sup>a,b</sup>Means with different letters within a column are significantly different ( $p<0.05$ ).

돈피 콜라겐 지방대체재를 활용하여 등지방의 50%를 대체한 저지방 발효소시지의 건조기간 중 수율의 변화를 <Fig. 3-4>에 나타내었다. 건조 3일차까지 대조구는 저지방 처리구들과 비교하여 높은 건조수율을 나타내었으나, 건조종료일인 4일차에는 대조구와 저지방 처리구들간에 유의적인 차이를 나타내지 않았다( $p>0.05$ ).

돈피 콜라겐 지방대체재를 활용하여 등지방의 50%를 대체한 저지방 발효소시지의 건조기간 중 pH의 변화 및 회귀분석 결과를 <Fig. 3-5>에 나타내었다. 저지방 발효소시지 처리구들은 대조구와 비교하여 높은 결정계수(RF1, 0.78 및 RF2, 0.81)를 나타내었고, 건조 종료일인 4일차에서 RF2처리구는 가장 낮은 pH를 나타내었다. 이는 지방대체재의 첨가에 따른 발효소시지의 수분함량 증가로 인하여 스타터컬쳐로 사용된 발효균주가 생육할 수 있는 유리한 환경이 형성되었기 때문으로 사료된다. 그 결과 발효균주에 의한 젖산 등의 활발한 생성으로 인하여 동일한 건조기간 중 더 낮은 pH가 형성되었다고 판단된다.



<Fig. 3-4> Effect of collagen pre-emulsions on change in drying yield of reduced-fat fermented sausages during fermentation period. CON (●), without collagen pre-emulsion; RF1 (▲), the fermented sausage replaced of 50% pork back fat with collagen pre-emulsion (collagen:ice:dietary fiber=1:8:1); RF2 (■), the fermented sausage replaced of 50% pork back fat with collagen pre-emulsion (collagen:ice:dietary fiber=2:7:1).



<Fig. 3-5> Effect of collagen pre-emulsions on change in pH value of reduced-fat fermented sausages during fermentation period. CON (●), without collagen pre-emulsion; RF1 (▲), the fermented sausage replaced of 50% pork back fat with collagen pre-emulsion (collagen:ice:dietary fiber=1:8:1); RF2 (■), the fermented sausage replaced of 50% pork back fat with collagen pre-emulsion (collagen:ice:dietary fiber=2:7:1).



색도는 소비자에게 있어서 제품 선택에 큰 영향을 미치는 요소중 하나이다. 명도의 경우 건조 이후 대조구와 처리구들간의 유의적인 차이를 나타내지 않았다<Table 3-6>. 두 지방대체재를 첨가한 저지방 발효소시지의 경우 건조 전 적색도에 있어 유의적인 차이를 나타내지 않았으나, 건조 이후 지방대체재를 첨가한 처리구들이 대조구와 비교하여 유의적으로 높은 적색도를 나타내었다( $p<0.05$ ). 또한 황색도에 있어서도 적색도와 유사한 결과로서 돈피 콜라겐 지방대체재를 포함하는 저지방 처리구들이 대조구에 비해 유의적으로 높은 황색도를 나타내었다 ( $p<0.05$ ).

수분활성도는 식품 내에 존재하는 미생물의 생육에 이용이 가능한 자유수를 나타낸다. 돈피 콜라겐 지방대체재를 이용하여 등지방의 50%를 대체한 저지방 발효소시지의 건조기간 중 수분활성도의 변화는 <Fig. 3-6>에 나타내었다. 모든 대조구 및 처리구들은 0.9 이상의 결정계수를 나타내어 건조기간의 경과에 따른 수분활성도의 선형적 감소를 나타내었다. 특히 지방대체재의 첨가에 따른 높은 수분함량을 나타낸 저지방 발효소시지 처리구들은 건조기간 중 대조구와 비교하여 높은 수분활성도를 나타내었다. 대부분의 세균은 0.9이상의 수분활성도에서 번식이 가능하며, 본 연구결과 저장 3일 이후 대조구와 모든 처리구에서 그 이하의 수분활성도를 나타내었다.

<Table 3-6> Effect of collagen pre-emulsions on color parameters of reduced-fat fermented sausages

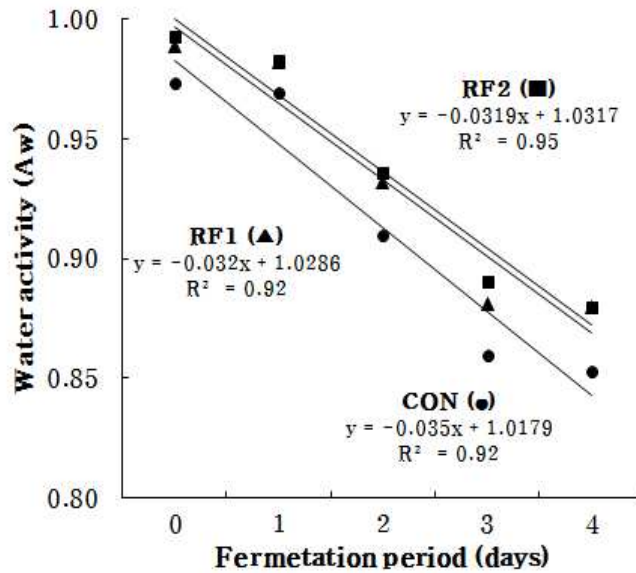
Traits	Types	Control	Reduced-fat treatments <sup>1)</sup>	
			RF1	RF2
CIE L* (lightness)	Batter	48.22±2.19 <sup>B</sup>	50.50±1.27 <sup>A</sup>	50.03±1.55 <sup>A</sup>
	Sausage	38.69±1.86	37.03±1.82	38.37±2.95
CIE a* (redness)	Batter	16.45±1.21	16.23±1.42	15.59±1.33
	Sausage	11.89±0.94 <sup>B</sup>	14.64±1.55 <sup>A</sup>	14.24±1.74 <sup>A</sup>
CIE b* (yellowness)	Batter	27.59±2.23 <sup>B</sup>	30.22±1.76 <sup>A</sup>	29.29±1.68 <sup>AB</sup>
	Sausage	15.52±1.70 <sup>B</sup>	17.98±2.44 <sup>A</sup>	19.17±2.54 <sup>A</sup>

Mean values±standard deviation.

The batter was analyzed immediately after processing, the fermented sausage was analyzed after cold smoking, fermentation, and drying.

<sup>1)</sup>Reduced-fat treatments: RF1, the fermented sausage replaced of 50% pork back fat with collagen pre-emulsion (collagen:ice:dietary fiber=1:8:1); RF2, he fermented sausage replaced of 50% pork back fat with collagen pre-emulsion (collagen:ice:dietary fiber=2:7:1).

<sup>A,B</sup>Means with different letters within a row are significantly different ( $p<0.05$ ).



<Fig. 3-6> Effect of collagen pre-emulsions on change in water activity ( $A_w$ ) of reduced-fat fermented sausages during fermentation period. CON (●), without collagen pre-emulsion; RF1 (▲), the fermented sausage replaced of 50% pork back fat with collagen pre-emulsion (collagen:ice:dietary fiber=1:8:1); RF2 (■), the fermented sausage replaced of 50% pork back fat with collagen pre-emulsion (collagen:ice:dietary fiber=2:7:1).

전단력 측정 결과 지방대체재를 함유하는 저지방 발효소시지들과 대조구간의 유의적인 차이는 나타나지 않았다<Table 3-7>. 이전의 저지방 식육가공품의 결과들에서 지방 첨가량의 감소는 조직감을 저하시킨다고 보고되었으나, 본 연구결과 돈피 콜라겐을 활용한 지방대체재가 지방과 유사한 조직학적 특성을 형성하기 때문에 지방 첨가량의 감소에도 불구하고 전단력에 있어 차이를 나타내지 않았다고 사료된다.

<Table 3-7> Effect of collagen pre-emulsions on shear force of reduced-fat fermented sausages

Traits	Control	Reduced-fat treatments <sup>1)</sup>	
		RF1	RF2
Shear force (kg)	4.57±0.56	4.30±0.46	4.10±0.44

Mean values±standard deviation.

<sup>1)</sup>Reduced-fat treatments: RF1, the fermented sausage replaced of 50% pork back fat with collagen pre-emulsion (collagen:ice:dietary fiber=1:8:1); RF2, he fermented sausage replaced of 50% pork back fat with collagen pre-emulsion (collagen:ice:dietary fiber=2:7:1).

돈피 콜라겐 지방대체제를 활용하여 제조된 저지방 발효소시지의 관능적 특성은 <Table 3-8>에 나타내었다. 색도와 조직감의 경우 대조구와 처리구간의 유의적인 차이를 나타내지 않았다( $p>0.05$ ). 풍미의 경우 대조구와 비교하여 RF2처리구는 유의적으로 낮은 점수를 나타내었다. 이는 지방대체제 내의 돈피 콜라겐 함량이 증가함에 따라 콜라겐 특유의 향미로 인한 관능적 풍미를 저하를 야기하였기 때문으로 사료된다. 이를 반영하듯 이취에 대한 평가에서도 RF2 처리구는 가장 이취가 많이 발생된 것으로 평가되었다. 산미에 있어서는 대조구와 처리구간의 유의적인 차이를 없어 돈피 콜라겐을 활용한 지방대체제를 첨가하여 저지방 발효소시지를 제조할 경우 맛에 대한 관능적 품질저하는 없다고 평가되었다. 전체적인 만족도의 경우 풍미에 대한 결과와 유사한 경향을 나타내어 RF2처리구가 가장 낮은 만족도를 나타내었고( $p<0.05$ ), 대조구와 RF1처리구간에는 유의적 차이를 나타내지 않아( $p>0.05$ ) 돈피 콜라겐, 얼음 및 식이 섬유를 1:8:1의 비율로 혼합하여 지방대체제를 제조하고 이를 활용함이 저지방 발효소시지의 제조에 바람직한 배합비율이 될 수 있다고 평가되었다.

<Table 3-8> Effect of collagen pre-emulsions on sensory properties of reduced-fat fermented sausages

Traits <sup>2)</sup>	Control	Reduced-fat treatments <sup>1)</sup>	
		RF1	RF2
Color	9.00±0.50	8.44±0.88	8.33±0.71
Flavor	8.67±0.50 <sup>A</sup>	8.22±0.44 <sup>AB</sup>	8.11±0.60 <sup>B</sup>
Texture	8.33±0.50	8.11±0.60	8.11±0.78
Off-flavor	8.78±0.83 <sup>A</sup>	8.56±0.73 <sup>AB</sup>	8.00±0.71 <sup>B</sup>
Sourness	7.18±2.40	7.07±2.36	7.27±2.49
Overall acceptability	8.78±0.44 <sup>A</sup>	8.44±0.53 <sup>AB</sup>	8.00±0.50 <sup>B</sup>

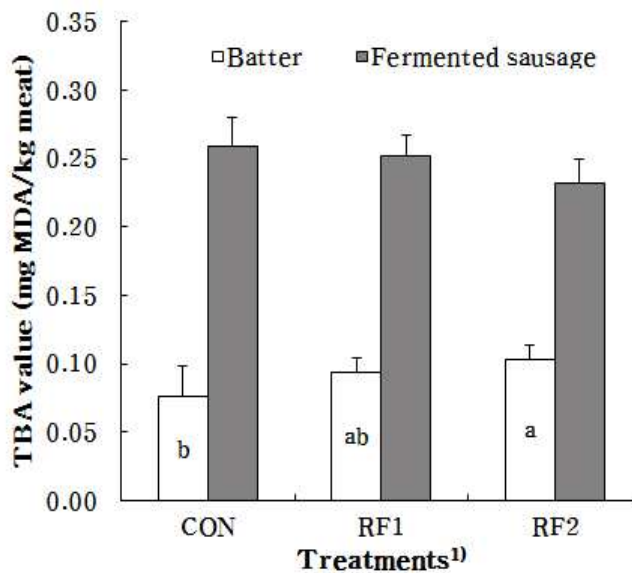
Mean values±standard deviation.

<sup>1)</sup>Reduced-fat treatments: RF1, the fermented sausage replaced of 50% pork back fat with collagen pre-emulsion (collagen:ice:dietary fiber=1:8:1); RF2, he fermented sausage replaced of 50% pork back fat with collagen pre-emulsion (collagen:ice:dietary fiber=2:7:1).

<sup>2)</sup>Traits: color (1=extremely undesirable, 10=extremely desirable), flavor (1=extremely undesirable, 10=extremely desirable), texture (1=extremely undesirable, 10=extremely desirable), off-flavor (1=strong off-flavor, 10=weak off-favor), Sourness (1=weak sour taste, 10=strong sour taste), and overall acceptability (1=extremely undesirable, 10=extremely desirable).

<sup>A,B</sup>Means with different letters within a row are significantly different ( $p<0.05$ ).

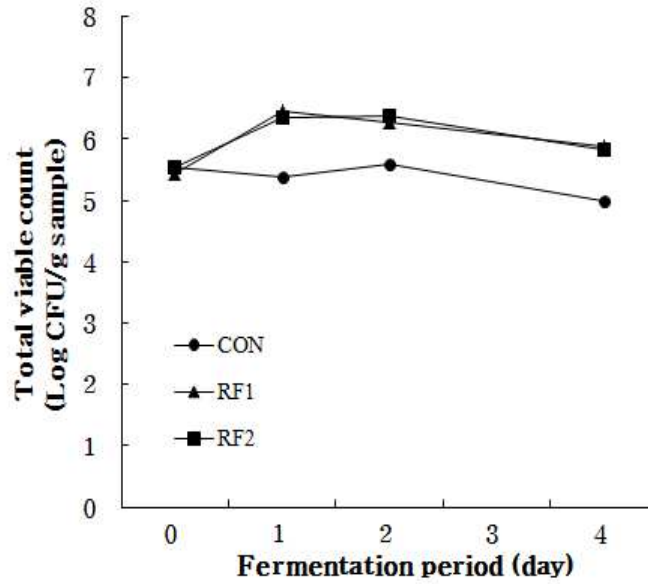
돈피 콜라겐 지방대체재를 함유하는 저지방 발효소시지의 지질산패도(TBA value)는 <Fig. 3-7>에 나타내었다. 제조 직후 배터의 경우 대조구와 비교하여 RF2처리구가 유의적으로 높은 지질산패정도를 나타내었다. 건조공정 실시 이후 대조구와 모든 처리구의 지질산패도가 증가하였으며, 이는 건조과정 중 지질의 분해에 따른 풍미형성 결과로 사료된다. 발효소시지에서 대조구와 처리구간의 지질산패도는 유의적인 차이를 나타내지 않았다( $p>0.05$ ).



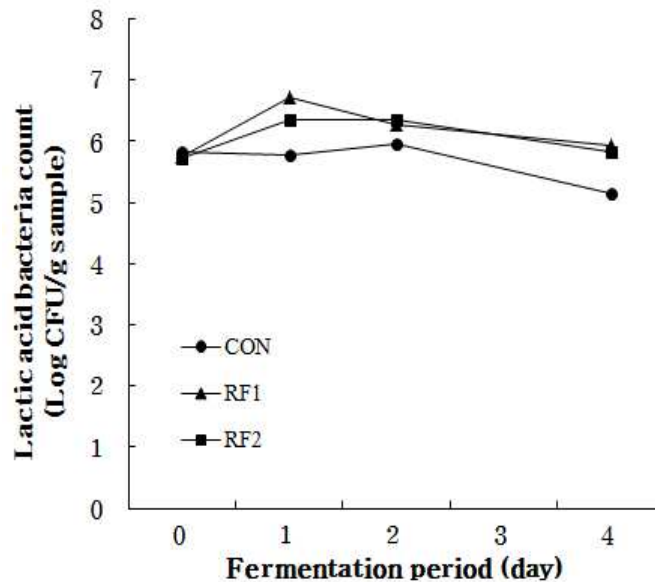
<Fig. 3-7> Effect of collagen pre-emulsions on 2-thiobarbituric acid (TBA) value of reduced-fat batter and fermented sausages during fermentation period. CON (●), without collagen pre-emulsion; RF1 (▲), the fermented sausage replaced of 50% pork back fat with collagen pre-emulsion (collagen:ice:dietary fiber=1:8:1); RF2 (■), the fermented sausage replaced of 50% pork back fat with collagen pre-emulsion (collagen:ice:dietary fiber=2:7:1).

돈피 콜라겐 지방대체재를 함유하는 저지방 발효소시지의 총균수(TVC)는 <Fig. 3-8>에 나타내었다. 제조 당일(0일차)에서는 총균수의 경우 대조구(CON)에서 5.5 CFU/g, RF1처리구에서 5.4 CFU/g 및 RF2처리구 5.5 CFU/g으로 대조구와 처리구간의 총균수 집락에 있어 큰 차이를 나타내지 않았다. 그러나 건조 이후 발효소시지에서는 대조구에서 5.0 CFU/g, RF1처리구에서 5.9 CFU/g 및 RF2처리구에서 5.8 CFU/g으로 저지방 처리구들이 대조구와 비교하여 다소 높은 총균수를 나타내었다. 이는 저지방 발효소시지에서 대조구와 비교하여 상대적으로 높은 수분활성도를 갖은 결과와 밀접한 관련이 있다고 사료된다.

젖산균의 생육에서도 건조 종료일인 4일차에서 대조구는 5.1 CFU/g, RF1처리구는 5.9 CFU/g 및 RF2처리구는 5.8 CFU/g의 수치를 나타내어, 저지방 발효소시지 처리구들은 대조구와 비교하여 높은 젖산균 생육 결과를 나타내었다.



<Fig. 3-8> Effect of collagen pre-emulsions on total viable count (TVC) of reduced-fat batter and fermented sausages during fermentation period. CON, without collagen pre-emulsion; RF1, the fermented sausage replaced of 50% pork back fat with collagen pre-emulsion (collagen:ice:dietary fiber=1:8:1); RF2, the fermented sausage replaced of 50% pork back fat with collagen pre-emulsion (collagen:ice:dietary fiber=2:7:1).



<Fig. 3-9> Effect of collagen pre-emulsions on lactic acid bacteria (LAB) of reduced-fat batter and fermented sausages during fermentation period. CON, without collagen pre-emulsion; RF1, the fermented sausage replaced of 50% pork back fat with collagen pre-emulsion (collagen:ice:dietary fiber=1:8:1); RF2, the fermented sausage replaced of 50% pork back fat with collagen pre-emulsion (collagen:ice:dietary fiber=2:7:1).

이상의 결과를 종합해 본다면 총 중량대비 1% 및 2%의 돈피 콜라겐 분말과 식이섬유를 이용하여 지방대체재를 제조하고 이를 활용하여 등지방의 50%를 대체한 저지방 발효소시지의 제조가 가능하였다. 저지방 발효소시지는 대조구와 비교하여 높은 수분 및 단백질함량을 나타내었다. 미생물 생육에 있어서는 지방대체재에 포함된 추가적인 수분의 첨가로 인하여 저지방 발효소시지에서 상대적으로 높은 생육 정도를 나타내었다. 관능적 특성에 있어 총 중량대비 2%의 콜라겐 분말을 함유하는 저지방 발효소시지는 콜라겐 특유의 이취로 인하여 낮은 관능적 만족도를 나타내었다. 따라서 콜라겐 분말, 얼음 및 식이섬유를 1:8:1의 비율로 첨가한 지방대체재를 이용하여 등지방 첨가량이 50% 감소된 저지방 발효소시지의 제조가 효과적이라고 사료된다.

## 다. 돈피 콜라겐 지방대체재의 첨가비율에 따른 저지방 발효소시지의 품질특성 및 저장성 평가

### (1) 서론

최근 건강에 삶에 대한 소비자들의 관심증대는 식육가공품에서도 저지방 제품을 요구하고 있으며, 이미 외국에서는 지방함량이 3% 미만인 소시지류 및 패티류가 제조되어 판매되고 있다. 그러나 저지방 육가공품에서 지방함량의 감소는 단순히 첨가량을 감소시키는 것이 아니라 지방이 식육가공품 내에서 작용하는 가공적 특성의 저하를 개선해야하는 기술적 어려움이 있다. 따라서 식이섬유, 비육단백질 등의 지방대체재를 활용하여 지방함량 감소에 따른 가공적성 저하를 개선하기 위한 시도들이 이루어지고 있다. 그 예로 Choi과 Chin(2002)은 곤약, 카라기난, 대두단백질 등을 수화시킨 후 지방대체재를 첨가하여 기존의 유회형 소시지와 유사한 조직감을 갖는 저지방 소시지를 제조할 수 있다고 하였다. 또한 Osburn과 Keeton(2004)의 보고에 따르면, 20%의 곤약 껍을 첨가하여 저지방 양고기 소시지를 제조하였을 경우 저지방 소시지에서 나타나는 물성의 저하를 개선할 수 있다고 하였다. 이외에도 주로 식이섬유 및 식물성유로 제조된 지방대체재를 활용한 저지방 식육가공품의 제조공정 개발 및 이에 대한 품질특성 연구가 활발히 이루어지고 있다.

발효소시지는 건조와 숙성 등의 제조공정을 거치며 다른 식육가공품에 비하여 30% 이상의 높은 지방 함량을 갖게 되는 것이 특징이다(Bloukas *et al.*, 1997; Wirth, 1988). 발효소시지에 첨가되는 지방은 건조 및 숙성기간 중에 분해되어 유리지방산을 생성하게 된다(Gandemer, 2002). 지방의 분해에 따른 유리지방산의 생성은 발효소시지의 풍미형성에 영향을 미치는 주된 풍미성분으로 알려져있다(Zanardi *et al.*, 2004). 그러나 발효소시지의 높은 지방함량은 저장기간 중 과도한 지방산패가 일어날 가능성이 있다. Soyer와 Ertas(2007)의 연구에 의하면 높은 지방함량을 갖는 발효소시지가 저지방 발효소시지보다 지방분해가 더 많이 일어났다고 보고되었다. 따라서 발효소시지에 함유된 과도한 지방함량은 소비자들에게 과도한 열량을 공급할 뿐만 아니라 발효소시지의 품질저하를 야기할 수 있다. 그러므로 발효소시지의 지방함량을 낮추면서도 그에 따른 제품의 풍미나 조직감 등의 저하가 일어나지 않도록 지방대체재를 활용한

저지방 발효소시지를 개발할 필요가 있다.

따라서 기능성 소재인 돈피 콜라겐과 식이섬유 등을 활용하여 지방대체재를 제조하고, 이를 활용한 등지방의 최적 대체비율을 확립함으로써 저지방 발효소시지를 개발하고자 돈피 콜라겐 지방대체재를 포함하는 저지방 발효소시지의 품질특성 및 저장기간 중 품질변화를 평가하였다.

## (2) 재료 및 방법

### (가) 원료육의 준비

도축 후 48시간 경과된 국내산 냉장 돈육 후지를 구입하여 과도한 지방을 제거한 후 사용하였다. 돈육과 등지방 모두 미생물적 안정성과 가공의 용이성을 위해 제조 전  $-20^{\circ}\text{C}$  이하에서 48시간 냉동 보관 후 사용하였다.

### (나) 돈피 콜라겐과 식이섬유를 이용한 지방대체재 제조

돈피 콜라겐은 프랑스 C사의 분말형태로의 콜라겐(CAPork 90, CAP DIANA, Z.I DU Brétin 56410 PLEUCDEUC, France)을 사용하였고 식이섬유는 VITACEL의 cabroxymethyl cellulose 계열의 MCG 0018을 사용하였다. 돈피 콜라겐, 얼음 및 식이섬유는 1:8:1의 비율로 혼합하여 돈피 콜라겐 지방대체재를 제조하였다.

### (다) 돈피 콜라겐 지방대체재를 첨가한 저지방 발효소시지의 제조

원료육과 등지방을 각각 사일런트 커터(Nr-963009, Scharfen, Witten, Germany)를 이용하여 1차 세절을 진행하여 직경 8mm 이하로 세절한 후 NPS, 향신료, 포도당, GDL, 스타터 컬처를 첨가 후 앞서 제조된 돈피 콜라겐 지방대체재를 각각 등지방의 0(전체 중량대비 0%), 25(5%), 50(10%) 및 75%(20%)의 비율로 대체하여 저지방 발효소시지를 제조하였다<Table 3-9>. 완성된 배터는 충전기(IS-8, Sirman, Marsango, Italy)를 이용하여 셀룰로오스 케이싱(직경 18 mm)에 충전하였다. 이후 숙성을 위해  $18^{\circ}\text{C}$ (상대습도 85-90%)에서 3시간 숙성시킨 후  $5-7^{\circ}\text{C}$ 의 저온 염지실에서 18시간동안 숙성을 진행하였다. 이후 냉훈법을 통해 훈연공정을 거친후  $15^{\circ}\text{C}$ (상대습도 75-80%)에서 수분활성도가 0.9 이하가 될 때까지 2차 숙성을 진행하였다. 이후 PE/nylon 포장지에 진공포장하여 0, 7, 14, 21, 및 28일간 냉장저장하며 본 실험의 공시재료로 사용하였다.

### (라) 실험방법

#### ① 일반성분(proximate composition)

일반성분은 AOAC법(2007)에 따라 수분 함량은  $105^{\circ}\text{C}$  상압건조법, 조단백질 함량은 Micro kjeldahl 방법, 조지방 함량은 Soxhlet 추출법, 조회분함량은 직접회화법으로 측정하였다.

#### ② pH 측정(pH measurement)

저지방 발효소시지의 pH는 시료 5 g을 취하여 증류수 20 mL과 혼합하고

Ultra-turrax(Model NO. T25, Janken & Kunkel, Germany)를 사용하여 8,000 rpm에서 1분간 균질한 후 pH meter(Model 340, Mettler-Toledo, Switzerland)를 사용하여 측정하였다.

③ 건조수율(drying yield)

건조일자에 따라 돈피 콜라겐과 MCG를 이용하여 제조된 지방대체재를 첨가한 발효소시지의 무게를 측정하였다. 이때 건조수율은 다음 식에 의하여 구하였다.

$$\text{건조수율 (\%)} = \frac{\text{건조 이후 시료의 무게 (g)}}{\text{건조 이전 시료의 무게 (g)}} \times 100$$

<Table 3-9> The formulation of fermented sausages containing pork collagen pre-emulsion

(Unit, %)

Ingredients	CON	Treatments <sup>1)</sup>		
		T1	T2	T3
Pork ham	80	80	80	80
Pork back fat	20	15	10	5
Pork collagen pre-emulsion <sup>2)</sup>	0	5	10	15
Total	100	100	100	100
NPS <sup>3)</sup>	2.5	2.5	2.5	2.5
Seasoning	1.5	1.5	1.5	1.5
Glucose	1.0	1.0	1.0	1.0
Garlic powder	0.05	0.05	0.05	0.05
Ginger powder	0.05	0.05	0.05	0.05
White pepper	0.05	0.05	0.05	0.05
GDL <sup>4)</sup>	0.5	0.5	0.5	0.5
Starter culture <sup>5)</sup>	0.5	0.5	0.5	0.5

<sup>1)</sup>Treatments: CON, 20% pork back fat; T1, replacement of 25% pork back fat with pork collagen pre-emulsion (collagen:ice:dietary fiber=1:8:1); T2, replacement of 50% pork back fat with pork collagen pre-emulsion (collagen:ice:dietary fiber=1:8:1); T3, replacement of 75% pork back fat with pork collagen pre-emulsion (collagen:ice:dietary fiber=1:8:1).

<sup>2)</sup>Pork collagen pre-emulsion: the emulsion contains pork skin collagen powder, ice, and dietary fiber (1:8:1).

<sup>3)</sup>NPS: nitrite pickled salt (99.4:0.06).

<sup>4)</sup>GDL: glucono-δ-lactone.

<sup>5)</sup>Starter culture: commercial product (a mixture of *Lactobacillus pentosus* + *Staphylococcus carnosus*,



Bactoferm™ C-P-77).

④ 관능평가(sensory evaluation)

미리 훈련된 15명의 panel 요원을 구성하여 저지방 발효소시지의 색(color), 풍미(flavor), 조직감(texture), 이취(off-flavor), 산미(sourness) 및 전체적인 맛(overall acceptability)에 대하여 각각 10점 만점으로 평점하고 그 평균치를 구하여 비교하였다. 평점표에서 10점은 가장 우수하고, 1점은 가장 열악한 품질 상태를 나타낸다.

⑤ 지질산패도(2-thiobarbituric acid value)

냉장저장 중 저지방 발효소시지의 지질산패도(TBA value)는 Tarladgis 등(1960)의 증류법을 응용하여 실시하였다. 지방 산화에 의하여 유리되는 malonaldehyde와 2-thiobarbituric acid(TBA)를 반응시킨 후 spectrophotometer를 이용하여 538 nm에서 흡광도를 측정하여 아래의 공식에 의해 TBA가를 산출하였으며, TBA수치는 mg malonaldehyde/kg으로 나타내었다.

$$\text{TBA value (mg malonaldehyde/kg sample)} = 7.8 \times \text{O.D.}$$

⑥ 미생물 분석(microbiological analysis)

시료 10 g에 0.1% 멸균 펩톤수 90 mL를 첨가하여 stomacher를 이용하여 1분 동안 균질화하였고, 0.1% 멸균 펩톤수를 이용하여 단계 희석하였다. 총균수(total viable count)는 plate count agar(PCA, Difco Lab., Detroit, MI, USA)에 도말하여 각각 36°C에서 48시간 배양하였다. 젖산균(lactic acid bacteria)은 MRS 한천배지(Difco Lab., USA)에 도말하여 36°C에서 48시간 동안 배양하였다. 모든 균수는 배양한 후 콜로니(colony)수가 30-300개인 평판을 선택하여 그람 당 콜로니형성단위(CFU/g)로 산출하여 나타내었다.

⑦ 통계처리(statistical analysis)

통계분석은 SAS program(SAS, 2008)의 GLM(General Linear Model) procedure를 통하여 분석하였고, 처리구간의 평균간 비교는 Duncan의 다중검정을 통하여 유의성 검정( $p < 0.05$ )을 실시하였다.

(3) 연구결과

저지방 발효소시지에서 지방대체재의 첨가비율에 따른 저장성을 알아보기 위하여 MCG와 물, 돈피 콜라겐을 각각 1:8:1로 혼합한 지방대체제로 전체 지방함량의 25, 50, 75%를 대체하여 저지방 발효소시지를 제조한 이후 저장기간에 따른 품질 특성을 조사하였다. 지방대체재의 첨가비율이 다른 저지방 발효 소시지의 일반성분을 <Table 3-10>에 나타내었다. 지방대체재의 첨가비율이 증가함에 따라 수분함량은 유의적으로 증가하는 경향을 보였으며( $p<0.05$ ), 건조 공정을 거친 발효 소시지에서 지방대체재의 첨가 비율이 높을수록 단백질과 회분 함량이 유의적으로 증가하였다( $p<0.05$ ). 지방함량은 지방대체재의 첨가 비율이 높을수록 유의적으로 감소하였으며( $p<0.05$ ), 지방의 75%를 대체한 발효 소시지는 대조구보다 16% 지방함량이 감소되었다.

<Table 3-10> Effect of replacing pork back fat with pork collagen pre-emulsion on proximate composition of reduced-fat fermented sausages

Traits	Types	Control	Reduced-fat treatments <sup>1)</sup>		
			T1	T2	T3
Moisture (g/100 g)	Batter	60.85±1.02 <sup>d</sup>	63.29±0.76 <sup>c</sup>	65.42±0.24 <sup>b</sup>	68.82±0.38 <sup>a</sup>
	Sausage	36.53±0.30 <sup>c</sup>	37.25±0.60 <sup>bc</sup>	38.56±0.55 <sup>a</sup>	37.92±0.68 <sup>ab</sup>
Protein (g/100 g)	Batter	16.19±0.45	16.40±0.15	16.56±0.54	16.82±0.07
	Sausage	26.10±0.93 <sup>d</sup>	30.71±1.45 <sup>c</sup>	33.02±0.58 <sup>b</sup>	34.92±0.34 <sup>a</sup>
Fat (g/100 g)	Batter	16.40±0.87 <sup>a</sup>	15.73±0.63 <sup>a</sup>	11.05±0.67 <sup>b</sup>	6.84±2.90 <sup>c</sup>
	Sausage	29.10±1.80 <sup>a</sup>	25.08±0.59 <sup>b</sup>	16.67±0.23 <sup>c</sup>	13.72±0.97 <sup>c</sup>
Ash (g/100 g)	Batter	3.10±0.07	3.07±0.18	3.29±0.01	3.17±0.04
	Sausage	4.26±0.04 <sup>d</sup>	4.76±0.04 <sup>c</sup>	5.31±0.26 <sup>b</sup>	5.98±0.02 <sup>a</sup>

Mean values±standard deviation.

The batter was analyzed immediately after processing, the fermented sausage was analyzed after cold smoking, fermentation, and drying.

<sup>1)</sup>Reduced-fat treatments: T1, replacement of 25% pork back fat with pork collagen pre-emulsion (collagen:ice:dietary fiber=1:8:1); T2, replacement of 50% pork back fat with pork collagen pre-emulsion (collagen:ice:dietary fiber=1:8:1); T3, replacement of 75% pork back fat with pork collagen pre-emulsion (collagen:ice:dietary fiber=1:8:1).

<sup>A-C</sup>Means with different letters within a row are significantly different ( $p<0.05$ ).

<sup>a,b</sup>Means with different letters within a column are significantly different ( $p<0.05$ ).

지방대체재의 첨가 비율을 다르게 한 발효 소시지의 관능평가 결과는 <Table 3-11>과 같다. 물성 항목에서 7일부터 28일에 걸쳐 지방을 대체한 다른 처리구보다 대조구의 관능평가 점수가 유의적으로 높게 나타났다( $p<0.05$ ). 또한, 대조구와 돈피 콜라겐 지방대체재로 지방의 75%를 대체한 처리구인 T3에서 저장기간이 길어짐에 따라 이취 항목의 점수가 감소되었으며, 28일차에 유의적으로 감소되는 결과를 나타내었다( $p<0.05$ ).

<Table 3-11> Effect of replacing pork back fat with pork collagen pre-emulsion on sensory properties of reduced-fat fermented sausages during refrigerated storage

Traits	Storage period (days)	CON	Reduced-fat treatments <sup>1)</sup>		
			T1	T2	T3
Color	0	8.44±0.73	8.56±0.53	8.33±0.50	8.00±0.87
	7	8.44±1.13	8.67±0.71	8.67±0.50	8.56±0.73
	14	7.89±0.50	8.00±0.50	8.33±0.50	7.78±0.67
	21	7.70±0.82	8.00±0.94	8.20±0.63	7.90±0.99
	28	7.78±0.83	8.11±0.78	8.11±0.78	7.89±0.78
Flavor	0	8.22±0.83	8.00±0.71	8.22±0.83	8.00±1.32
	7	8.11±0.78	8.00±1.12	7.56±1.13	8.00±1.00
	14	7.89±0.60	7.89±0.93	7.78±0.67	7.56±1.13
	21	7.50±0.85	7.90±0.99	7.90±0.57	7.70±0.82
	28	7.67±0.87	8.44±0.73	8.22±0.83	7.78±0.67
Texture	0	8.22±0.67	7.56±1.13 <sup>ab</sup>	8.00±0.50 <sup>a</sup>	7.11±1.69
	7	8.33±0.87 <sup>A</sup>	7.33±1.00 <sup>Bab</sup>	6.67±0.71 <sup>Bb</sup>	7.33±0.50 <sup>B</sup>
	14	8.44±0.73 <sup>A</sup>	8.22±0.67 <sup>Aa</sup>	7.56±0.53 <sup>Ba</sup>	7.22±0.67 <sup>B</sup>
	21	7.90±1.10 <sup>A</sup>	7.20±1.03 <sup>ABb</sup>	7.50±0.71 <sup>ABa</sup>	6.80±0.92 <sup>B</sup>
	28	8.33±1.00 <sup>A</sup>	7.44±0.73 <sup>ABab</sup>	7.44±0.73 <sup>ABa</sup>	7.00±1.22 <sup>B</sup>
Off-flavor	0	8.78±0.97 <sup>a</sup>	8.56±1.01	8.67±0.87	8.44±1.01 <sup>a</sup>
	7	8.33±1.00 <sup>ab</sup>	8.22±1.09	8.11±1.05	8.11±1.05 <sup>ab</sup>
	14	8.44±1.01 <sup>ab</sup>	8.33±0.87	8.22±0.83	8.11±0.78 <sup>ab</sup>
	21	8.20±0.92 <sup>ab</sup>	8.10±0.88	8.10±0.88	8.00±0.67 <sup>ab</sup>
	28	7.33±1.32 <sup>b</sup>	7.89±0.93	7.89±0.93	7.33±1.12 <sup>b</sup>
Sourness	0	7.33±1.00	7.33±1.22	7.44±1.13	7.33±1.00
	7	6.67±1.12	6.89±1.36	7.00±1.00	7.33±0.87
	14	6.33±1.00	7.11±1.17	7.00±1.00	7.33±1.22
	21	7.10±0.74	7.60±0.84	7.70±0.95	7.90±1.10
	28	6.89±1.17	6.89±1.36	7.22±1.20	6.89±1.83
Overall acceptability	0	8.11±0.78 <sup>a</sup>	7.89±0.78	8.11±0.78	8.11±0.78
	7	8.11±0.78 <sup>a</sup>	7.78±1.09	7.33±1.00	8.00±1.12
	14	7.78±0.44 <sup>b</sup>	8.00±0.50	7.89±0.78	7.44±0.73
	21	7.30±0.82 <sup>b</sup>	7.80±0.92	7.90±0.99	7.50±0.97
	28	7.50±0.87 <sup>ab</sup>	8.00±0.71	7.89±0.60	7.33±0.71

Mean values±standard deviation.

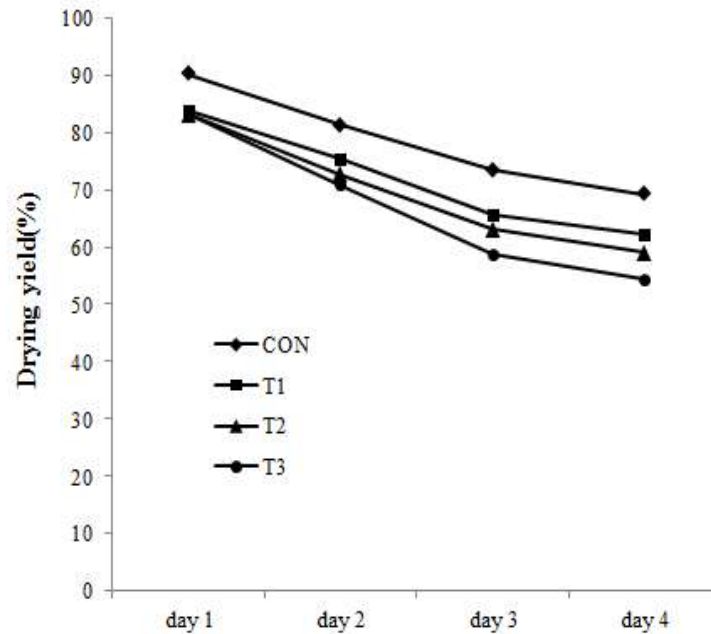
The batter was analyzed immediately after processing, the fermented sausage was analyzed after cold smoking, fermentation, and drying.

<sup>1)</sup>Reduced-fat treatments: T1, replacement of 25% pork back fat with pork collagen pre-emulsion (collagen:ice:dietary fiber=1:8:1); T2, replacement of 50% pork back fat with pork collagen pre-emulsion (collagen:ice:dietary fiber=1:8:1); T3, replacement of 75% pork back fat with pork collagen pre-emulsion (collagen:ice:dietary fiber=1:8:1).

<sup>A-C</sup>Means with different letters within a row are significantly different ( $p<0.05$ ).

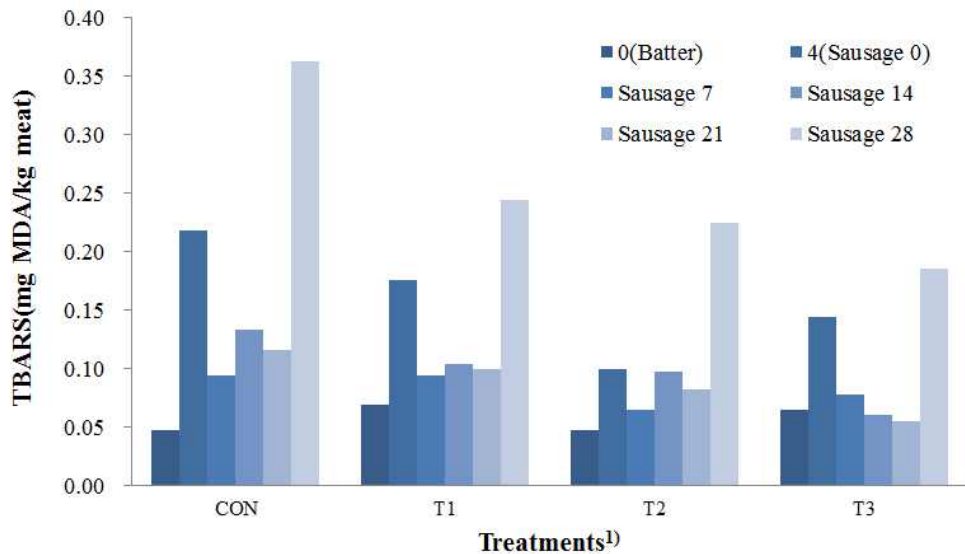
<sup>a,b</sup>Means with different letters within a column are significantly different ( $p<0.05$ ).

<Fig. 3-11>에 지방대체 비율을 다르게 한 저지방 발효소시지의 건조 수율을 나타내었다. 지방을 대체한 처리구들에 비해 대조구의 건조 수율이 높게 나타났으며, 지방을 대체한 비율이 높을수록 유의적으로 건조 감량이 증가하였다( $p<0.05$ ).



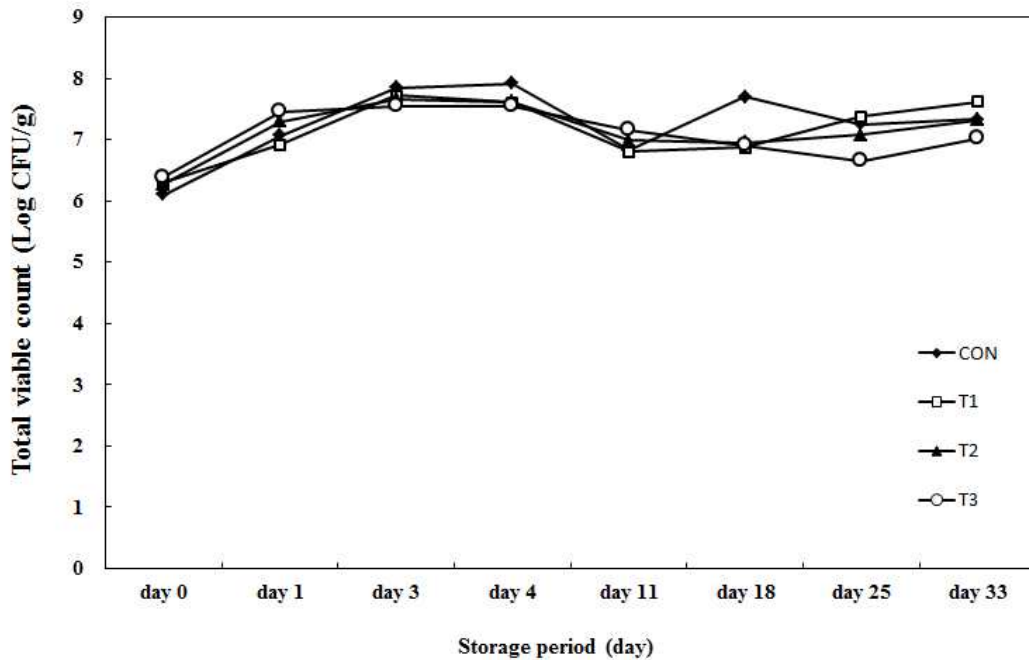
<Fig. 3-11> Effect of replacing pork back fat with pork collagen pre-emulsion on drying yield of reduced-fat fermented sausages. CON, 20% pork back fat; T1, replacement of 25% pork back fat with pork collagen pre-emulsion (collagen:ice:dietary fiber=1:8:1); T2, replacement of 50% pork back fat with pork collagen pre-emulsion (collagen:ice:dietary fiber=1:8:1); T3, replacement of 75% pork back fat with pork collagen pre-emulsion (collagen:ice:dietary fiber=1:8:1).

돈피 콜라겐과 식이섬유를 혼합하여 제조한 지방대체재를 이용하여 지방의 대체 비율을 다르게 한 저지방 발효소시지의 지질산패도 측정(TBA value) 결과를 <Fig. 3-12>에 나타내었다. 모든 처리구에서 제조 직후의 배터에서 보다 건조 및 숙성공정을 거친 후의 발효 소시지에서 지질산패도가 높게 나타났다. 이는 발효 및 건조·숙성 과정을 거치며 발효 소시지의 배터에 있는 지질이 분해되면서 풍미가 형성되기 때문인 것으로 보인다. 저장기간을 거치며 저장 28일차에 모든 처리구에서 유의적으로 가장 높은 지질산패도 값이 나타났으며( $p<0.05$ ), 그 중 다른 처리구에 비하여 대조구의 지질산패정도가 유의적으로 높았다( $p<0.05$ ).



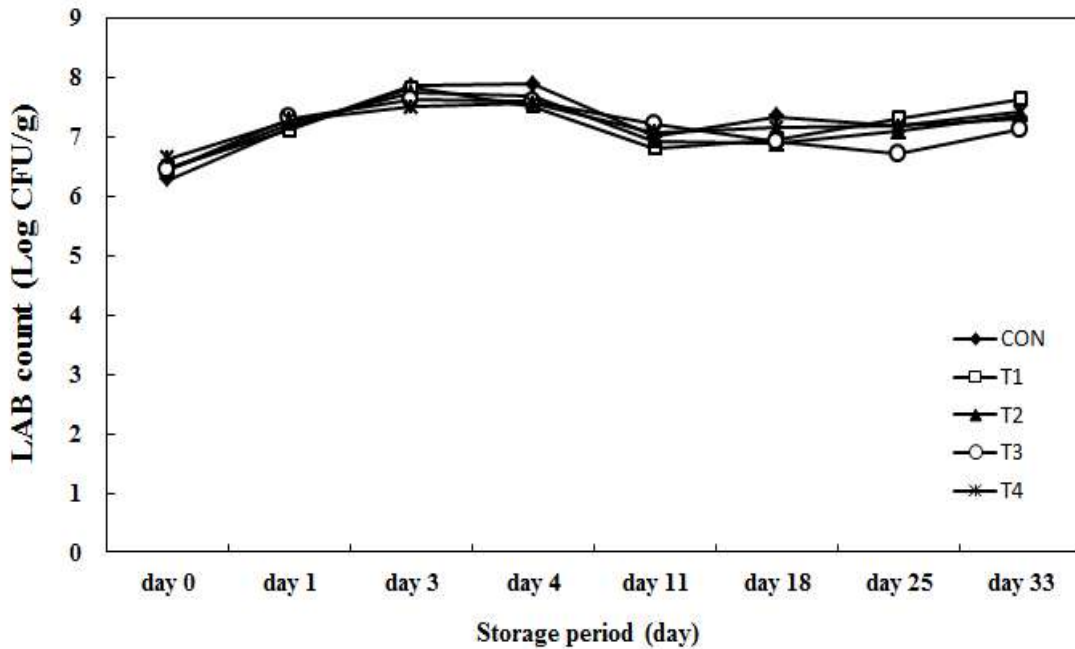
<Fig. 3-12> Effect of replacing pork back fat with pork collagen pre-emulsion on 2-thiobarbituric acid (TBA) value of reduced-fat fermented sausages during refrigerated storage. <sup>1)</sup>Treatments: CON, 20% pork back fat; T1, replacement of 25% pork back fat with pork collagen pre-emulsion (collagen:ice:dietary fiber=1:8:1); T2, replacement of 50% pork back fat with pork collagen pre-emulsion (collagen:ice:dietary fiber=1:8:1); T3, replacement of 75% pork back fat with pork collagen pre-emulsion (collagen:ice:dietary fiber=1:8:1).

돈피 콜라겐 지방대체재의 등지방 대체비율에 따른 저지방 발효소시지의 저장기간 중 총균수 (TVC)의 변화를 <Fig. 3-13>에 나타내었다. 제조 당일(0일차)에서는 총균수의 경우 등지방의 75%를 돈피 콜라겐 지방대체재로 대체한 처리구에서 대조구 및 다른 처리구들과 비교하여 다소 높은 총균수를 나타내었다. 저장기간 중 총균수는 6-8 CFU/g 사이에서 증감이 이루어지는 추세를 나타내었으며, 저장 33일차(건조종료 이후 28일차)에서는 등지방의 25%를 돈피 콜라겐 지방대체재로 대체한 처리구에서 다소 높은 총균수를 나타내었다.



<Fig. 3-13> Effect of replacing pork back fat with pork collagen pre-emulsion on total viable count (TVC) value of reduced-fat fermented sausages during refrigerated storage. <sup>1)</sup>Treatments: CON, 20% pork back fat; T1, replacement of 25% pork back fat with pork collagen pre-emulsion (collagen:ice:dietary fiber=1:8:1); T2, replacement of 50% pork back fat with pork collagen pre-emulsion (collagen:ice:dietary fiber=1:8:1); T3, replacement of 75% pork back fat with pork collagen pre-emulsion (collagen:ice:dietary fiber=1:8:1).

돈피 콜라겐 지방대체제를 활용하여 지방을 대체한 비율에 따른 저지방 발효소시지의 저장기간 동안의 유산균수(LAB count)의 변화를 <Fig. 3-14>에 나타내었다. 제조 당일(0일차)부터 저장 11일차(건조종료 이후 7일차)까지는 모든 처리구에서 유산균수가 유사하게 나타났으며, 총균수의 결과와 유사한 경향을 나타내었다. 저장 18일차(건조종료 이후 14일차)에 대조구의 유산균수가 다른 처리구에 비하여 다소 높게 나타났으며, 저장 33일차(건조종료 이후 28일차)에서는 등지방의 25%를 돈피 콜라겐 지방대체제로 대체한 처리구에서 다소 높은 유산균수를 나타내었다. 돈피 콜라겐 지방대체제를 활용한 저지방 발효소시지의 저장기간 동안 유산균수는 총  $10^6$ - $10^8$  CFU/g 사이에서 증감이 이루어지는 추세를 나타내었다.



<Fig. 3-14> Effect of replacing pork back fat with pork collagen pre-emulsion on lactic acid bacteria (LAB) value of reduced-fat fermented sausages during refrigerated storage. <sup>1)</sup>Treatments: CON, 20% pork back fat; T1, replacement of 25% pork back fat with pork collagen pre-emulsion (collagen:ice:dietary fiber=1:8:1); T2, replacement of 50% pork back fat with pork collagen pre-emulsion (collagen:ice:dietary fiber=1:8:1); T3, replacement of 75% pork back fat with pork collagen pre-emulsion (collagen:ice:dietary fiber=1:8:1).

실험결과를 종합하여 보면 돈피 콜라겐 분말을 식이섬유와 물로 혼합하여 혼합물의 형태로 발효소시지에 첨가하였을 경우, 지방을 대체하는 비율은 지방첨가량의 50%가 넘지 않는 것이 관능적 특성에 영향을 미치지 않는다고 판단되며, 저장 기간 중 28일 이후부터 지방의 산패가 급격히 이루어지나, 저지방 발효소시지의 경우 지방 함량의 감소를 통해 지방의 산패를 저하시킬 수 있으므로 기존의 제품과 비교하여 저장기간을 연장할 수 있을 것으로 판단된다. 따라서 돈피 콜라겐 분말과 식이섬유를 활용하여 저장성이 향상된 저지방 발효소시지를 제조할 수 있다고 사료된다<Fig. 3-15>.



<Fig. 3-15> Appearance of reduced-fat fermented sausages prepared with pork skin collagen and dietary fiber.



# 제 3 절 기능성 유산균을 이용한 소비자 맞춤형 축산가공품 제조 및 상품화 개발

## 1. 기능성 유산균을 이용한 소비자 맞춤형 축산가공품 제조 및 상품화 개발

### 가. 발효생햄 품질 분석

#### (1) 발효생햄 품질 분석을 위한 공시재료

공시재료로써 사용된 돼지는 시중에서 대중적으로 소비되는 삼원교잡종인 YLD(Yorkshire×Landrace×Duroc)종으로 사용하였으며, 대조군으로는[YBD(Yorkshire×Berkshire×Duroc)]종으로, 생후 180일령, 육질등급 1등급, 생체 중 110-120kg 규격돈의 뒷다리를 10개씩 사용하여 2반복 실험을 실시하였다. 제조 과정은 발효생햄 과정 중 품질 변화 실험과 동일하며, 숙성과정(aging)이 완료된 뒷다리를 10cm 두께로 절단하여 대퇴두갈래근(biceps femoris)을 채취한 후 발효생햄 품질 분석에 공시하였다.

#### (2) 발효생햄 제조공정

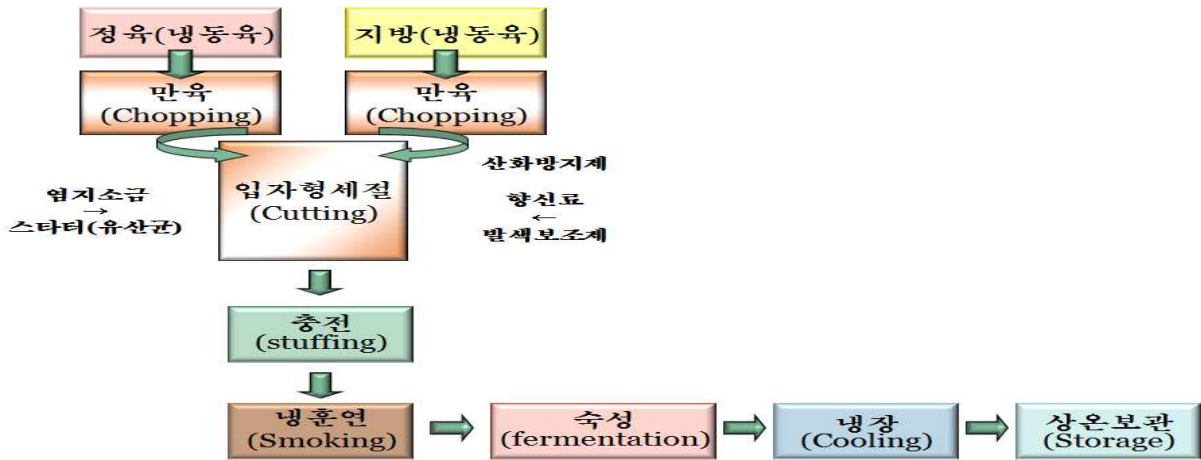
##### (가) 하몽 제조 공정



##### (나) 하몽 예비 실험



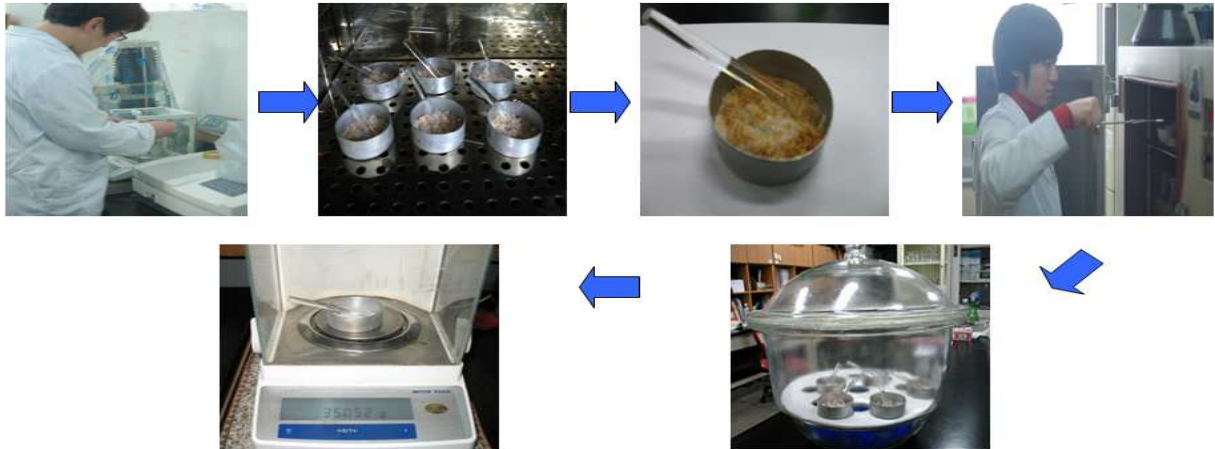
(다) 반건조 및 건조 육제품 제조 공정



나. 일반성분분석

(1) 실험방법

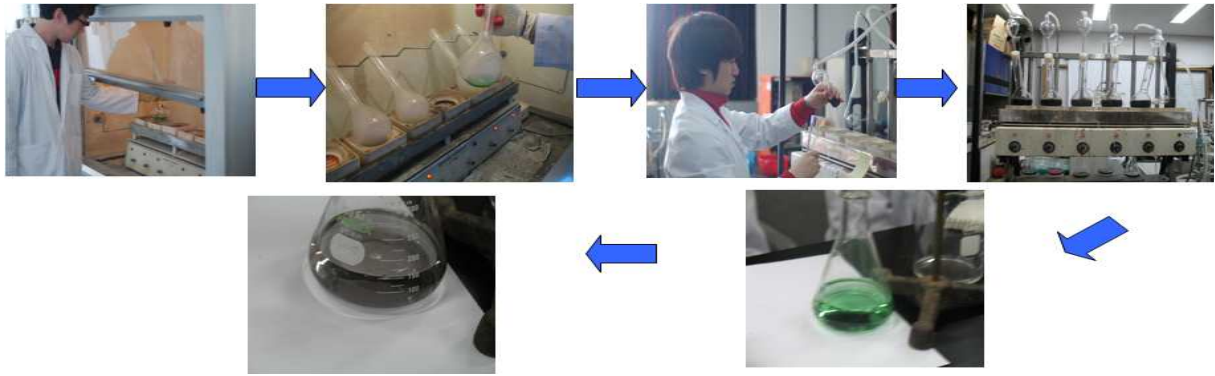
수분은 oven 건조법, 조지방은 Soxhlet법, 조단백질은 Kjeldahl법, 조회분은 회화법으로 실시하였으며, 성분분석은 AOAC(1998)의 실험방법에 준수하여 실시하였다.



<그림 1> 수분 분석과정.



<그림 2> 조지방 분석과정.



<그림 3> 조단백질 분석과정



<그림 4> 조회분 분석과정.

## (2) 결과

발효생햄의 일반성분을 비교 분석한 결과는 다음 표 1 과 같다. 수분 함량은 실험군이 56.00%로 대조군중의 53.89%보다 유의적으로 높았으며, 조단백질 함량 또한 실험군이 28.04%로 대조군의 26.87% 보다 유의적으로 높게 나타났다( $p < 0.05$ ). 조지방 함량은 대조군이 6.17%로 실험군의 11.86% 보다 유의적으로 높게 나타났으며, 조회분함량 또는 대조군이 13.00%로 실험군의 11.86%보다 유의적으로 높게 나타났다( $p < 0.05$ ). 처리구간의 차이는 원료육의 육질 특성의 차이에서 기인한 것으로 사료된다. Zanardi 등(2000)은 건조 숙성 공정이 15개월 정도의 파마햄(parma ham, 뒷다리 건조발효햄)의 수분 함량은 55%, 단백질 31.1%, 지방 7.0%였다고 보고하였다.

<표 1> Comparison of chemical composition of dry-cured ham manufactured by T1 and Control group crossbreed pigs

Composition	Pig breed	
	Control group	T1
moisture(%)*	53.89±0.60 <sup>b</sup>	56.00±0.60 <sup>a</sup>
crude protein(%)*	26.87±0.07 <sup>b</sup>	28.04±0.05 <sup>a</sup>
crude fat(%)*	6.17±0.63 <sup>a</sup>	3.24±0.21 <sup>b</sup>
crude ash(%)*	13.00±0.00 <sup>a</sup>	11.86±0.03 <sup>b</sup>

T1 : Yorkshire×Landrace× Duroc.

Control group : Yorkshire× Berkshire×Duroc.

\* :  $p < 0.05$

Mean±S.D.

## 다. 물리 · 화학적 분석

### (1) 실험방법

#### (가) pH

Eikelenboo 등(1974)의 방법을 응용하여 시료 10g과 증류수 90ml을 혼합한 후 Homogenizer(Ultra-turrax, T25-S1, Germany)를 사용하여 14,000 rpm에서 1분간 균질한 후, pH meter (PHM201, Radiometer, France)로 측정하였다.

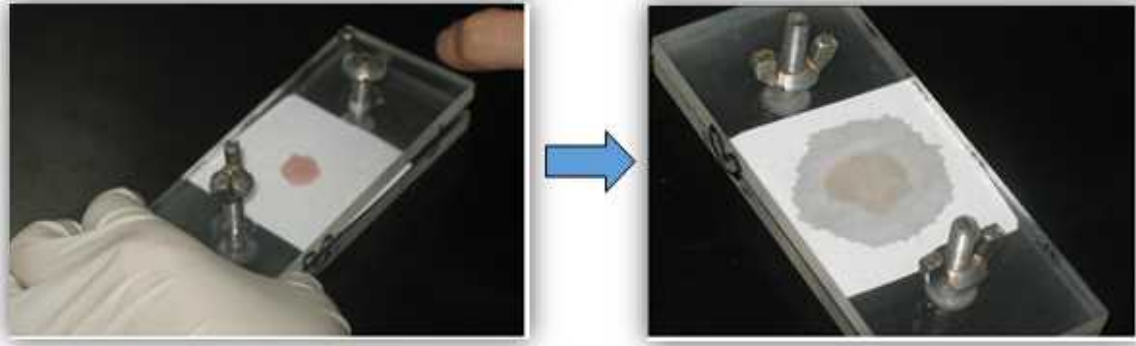


<그림 5> pH 측정과정.

#### (나) WHC (water holding capacity)

Grau 와 Hamm(1953)의 Filter paper press법을 응용하여 특수 plexi-glass plate 중앙에 여과지(Watman No.2)를 놓고 그 위에 diameter 5mm, height 5mm의 원기둥 모양으로 자른 시료를 놓은 다음 plexi-glass plate를 그 위에 포개 놓고 일정한 압력으로 5분간 압착시킨 후 여과지를 꺼내어 시료가 묻어 있는 부분의 면적과 육즙이 젖어 있는 부분의 총 면적을 이용하여 다음과 같이 보수력 지수를 산출했다.

$$WHC(\%) = 100 - \left( \frac{\text{육의면적}}{\text{육즙의면적}} \times 100 \right)$$



<그림 6> 보수력 측정과정.

(다) 염도 (salt content)

시료는 동량의 증류수를 넣어 2배로 희석한 후 분쇄하여 그 분쇄액의 염도를 측정하였다. 염도는 실온에서 디지털 염도계(PAL-03S, ATAGO, Japan)를 사용하여 측정하였다.

(라) 수분활성도 (water activity)

수분활성도는 25°C 조건에서 수분활성도측정기(Auaspector AQS-2-TC, NAGY, Germany)를 사용하여 조사하였으며, Sensor의 표준화를 위해 수분활성도 0.940 과 0.754의 standard를 사용하였다.

(마) 육색 (meat color)

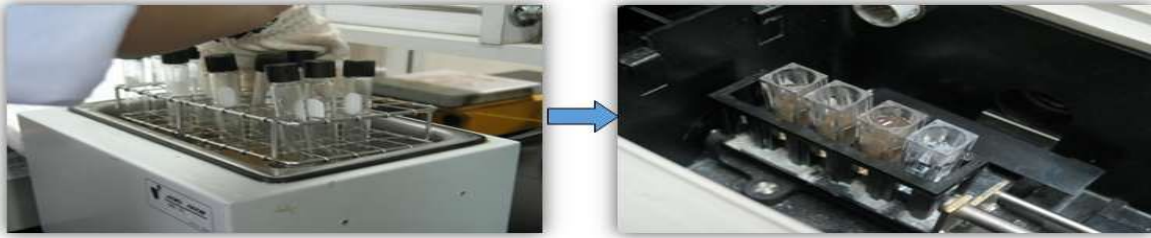
색차계(Color meter, CR-310, Data Processor DP-301, MINOLTA, Japan)를 사용하여 동일한 시료를 5회 반복하여 L-값(lightness, 명도), a-값(redness, 적색도), b-값(yellowness, 황색도)를 CIE(Commision Internationale de Leclairage) 값으로 측정하였다. 이대 사용된 표준 백색판은 기기의 manual에 따라 Y=94.40, x=0.3131, y=0.3194 값으로 표준화시킨 후 측정하였다.



<그림 7> 육색 측정과정.

(바) TBA (thiobarbituric acid)

저장 중에 식육의 내부에서 발생하는 지방산패의 측정으로 널리 사용되는 방법인 TBA는 Witte 등(1970)의 방법을 이용하여 TBA extraction method로 측정하였다. 실온 암소에서 15시간 동안 반응시킨 후 UV-Spectrophotometer를 이용하여 530nm에서 흡광도를 측정하였다. TBA 값은 malonaldehyde mg/kg의 값으로 표시하였고, 공시료는 시료대신 증류수를 가하여 측정하였다.



<그림 8> TBA 분석과정.

(사) VBN (volatile basic nitrogen)

시료의 신선도를 판단하기 위한 일반적인 기준이 되는 단백질의 변패정도를 조사하기 위하여 휘발성 염기태질소를 高坂(1991)의 conway 미량확산법을 이용하여 측정하였다. 시료를 10g 정량하여 증류수 50ml을 가한 후 Homogenizer(Ultra-turrax, T25-S1, Germany)을 이용하여 30초간 균질화한 후 증류수를 첨가하여 100mL를 적정한 후 여과(Whatman No.1)하였다. 여과액 1mL을 conway 용기 외실에 넣고 내실에 0.01N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>를 넣고 K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>용액 1mL를 빠르게 외실에 주입하고 밀폐한 다음 조심스럽게 흔들어 주고 난 후 25℃ 항온조에서 60분간 보관하였다. 보관이 끝난 conway용기를 조심스럽게 열어 내실에 Brunswik시약 한방울을 넣은 후 0.01N NaOH용액으로 적정하였다. 공시료는 시료대신 증류수를 가하여 같은 방법으로 측정하였다. 계산식은 다음과 같다.

$$VBN(mg\%) = 0.14 \times \frac{(b-a) \times f}{w} \times 100 \times d$$

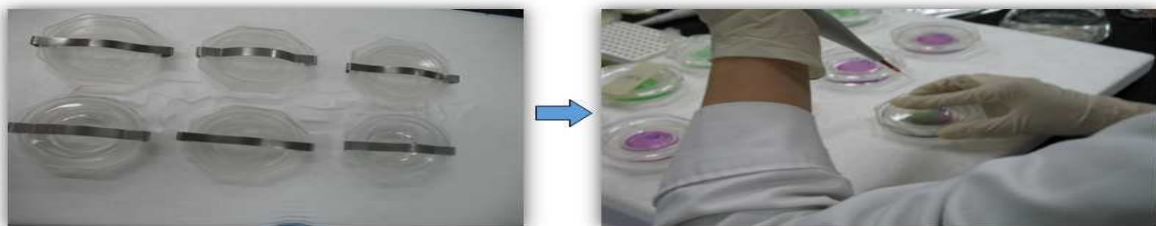
w : Sample weight

a : Sample ml (0.01N NaOH amount)

b : Blank ml (0.01N NaOH amount)

f : 0.01N NaOH factor value

d : 시료의 희석배수



<그림 9> VBN 측정과정

(2) 결과

(가) pH, WHC, A<sub>w</sub>, Salt content 결과

발효생햄의 pH, 수분활성도, 보수력, 및 염도를 비교 분석한 결과는 다음 표 2와 같다. pH의 결과 실험군이 pH 5.83, 대조군은 pH 5.74 으로 처리구간 유의적인 차이를 나타내지 않았다. 본 실험의 결과는 파마햄의 pH는 5.9 라고 한 Zanardi 등(2000)의 보고 보다 다소 낮은 값을 나타내었지만, 이는 염의 처리 수준과 제조과정 등의 차이에 의한 것이라고 사료된다. 또한 Wierbicki 등(1957)은 염도가 높을수록 육제품의 pH가 증가한다고 하였지만, 본 실험의 결과와는 일치하지 않았다. 이는 미생물 중 젖산균이 실험군보다 대조군에서 보다 많이 증식하였기 때문이라 사료된다.

보수력의 결과, 실험군과 대조군은 각각 24.36%, 23.70%로 처리구간 유의적인 차이를 나타내지 않았다. Hamm 등(1986)은 일반적으로 pH가 높을수록 보수력이 높다고 보고 하였는데, 본 실험에서는 각 처리구간 유의적 차이는 없었으나 평균값은 실험군이 다소 높게 나타나 비슷한 경향을 나타냈다.

수분활성도의 결과 대조군은 0.836, 실험군은 0.853으로 처리구간 유의적 차이를 나타내지 않았다. 염도의 결과는 대조군이 17.30%로 실험군의 14.15% 보다 유의적으로 높은 값을 나타냈다( $p < 0.05$ ). 이는 대조군이 실험군에 비해 수분함량이 유의적으로 낮게 나타남에 따라 상대적으로 염분이 농축되었기 때문이라 사료된다.

**<표 2> Comparison of pH, water holding capacity, water activity, and Salt content of dry-cured ham manufactured by T1 and Control group crossbreed pigs**

Traits	Pig breed	
	Control group	T1
pH	5.74±0.01 <sup>a</sup>	5.83±0.01 <sup>a</sup>
WHC(%)	23.70±0.75 <sup>a</sup>	24.36±0.51 <sup>a</sup>
a <sub>w</sub>	0.836±0.03 <sup>a</sup>	0.853±0.05 <sup>a</sup>
Salt content(%)*	17.30±0.00 <sup>a</sup>	14.15±0.07 <sup>b</sup>

T1 : Yorkshire×Landrace× Duroc.

Control group : Yorkshire× Berkshire×Duroc.

\* :  $p < 0.05$

Mean±S.D

(나) 육색 결과

발효생햄의 육색을 비교 분석한 결과는 다음 <표 3> 와 같다. 명도(L\*)는 그 값이 100이면 백색, 0이면 흑색을 의미한다. 실험 결과, 대조군이 53.33으로 실험군의 49.02 보다 유의적으로 높은 값을 나타냈다( $p < 0.05$ ). Lee와 Joo(1999)은 육의 명도는 근내 지방도와 상관관계를 가진다고 보고 하였다. 본 실험의 조지방 함량 분석시 대조군이 실험군에 비해 높은 함량을 나타내어 육의 명도값과 상관관계를 가졌다.

적색도(a\*)는 육의 적색의 정도를 나타내는 것으로 그 값이 높으면 적색, 낮으면 녹색을 의미한다. 실험군이 14.12로 대조군의 12.43 보다 유의적으로 높은 값을 나타냈다( $p < 0.05$ ).

황색도(b\*)는 그 값이 높으면 황색, 낮으면 청색을 나타낸다. 실험결과, 실험군이 1.27로 대조군의 2.84 보다 유의적으로 낮게 나타났었다( $p < 0.05$ ).

**<표 3> Comparison of meat color of dry-cured ham manufactured by T1 and Control group crossbreed pigs**

Meat color	Pig breed	
	Control group	T1
L-value*	53.33±0.91 <sup>a</sup>	49.02±0.46 <sup>b</sup>
a-value*	12.43±0.31 <sup>b</sup>	14.12±0.35 <sup>a</sup>
b-value*	2.84±0.22 <sup>a</sup>	1.27±0.22 <sup>b</sup>

T1 : Yorkshire×Landrace× Duroc.

Control group : Yorkshire× Berkshire×Duroc.

L-value : lightness. a-value : redness. b-value : yellowness.

\* :  $p < 0.05$

Mean±S.D

(다) TBA, VBN 결과

발효생햄의 TBA가, VBN가 및 미생물 수를 비교 분석한 결과는 다음 표 4 과 같다. TBA의 결과, 실험군 2.12, 대조군 2.24로 처리구간 유의적인 차이를 나타내지 않았다. 대조군중의 경우 조지방 함량이 실험군에 비해 유의적으로 높았음에도 불구하고 TBA 실험결과 처리구간에 유의적인 차이를 나타내지 않은 것은 대조군의 높은 염도에 기인 한 것이라 판단된다. 건조 발효햄에 있어서 Christian 등(1999)은 12-24개월 숙성한 파마햄의 TBA 값이 0.3-0.5, Andes 등(2004)은 6개월간 저장한 건조 발효햄의 TBA 값은 0.13-0.35 수준이라고 한 보고 보다는 본 실험의 결과가 높았으나, 전통 Iberiam 햄의 TBA 값이 4.7 이라는 Bosi 등(2000)보고와 Christisn 등(1999)의 시중에 판매되는 건조 숙성햄의 저장 중 12-18개월에서는 1.9-5.5라는 보고 보다는 낮게 나타났다.

VBN의 결과 대조군이 51.67로 실험군의 44.65보다 유의적으로 높게 나타났다( $p < 0.05$ ). Cilla 등(2006)은 VBN의 증가 원인은 미생물의 증식이라고 보고하였는데 본 실험에서도 미생물 실험 결과 총균수, 젖산균 모두 대조군이 실험군에 비해 다소 높게 나타나 VBN의 결과에 영향을 미친 것이라 사료된다.

**<표 4> Comparison of VBN, TBA of dry-cured ham manufactured by T1 and Control group crossbreed pigs**

Traits	Pig breed	
	Control group	T1
TBA(mgMA/kg)*	2.24±0.13 <sup>a</sup>	2.12±0.13 <sup>a</sup>
VBN(mg/%)*	51.67±0.50 <sup>b</sup>	44.65±0.49 <sup>a</sup>

T1 : Yorkshire×Landrace× Duroc., Control group(YBD) : Yorkshire× Berkshire×Duroc.

TBA : thiobarbituric acid value. VBN : volatile basic nitrogen value. \* :  $p < 0.05$

Mean±S.D

라. 통계처리

실험결과의 통계분석은 Statistical Analysis System (SAS 9.1 ver.)을 이용하여 처리구간 평균간의 유의성 검정( $p < 0.05$ )은 Duncan의 다중검정방법(Multiple range test)과 t-검정을 이용했다.



## 2. 발효건조 소시지의 원료육 배합 및 제조시 공정확립에 관한 조사

### 가. 공시재료

국내산 우육(우둔살) 15kg 및 돈육(불기살) 25kg, 돼지 등지방 10kg 등 HACCP인증을 받은 황성 인근의 가공장에서 원료육과 등지방을 구입하여 정사각형으로 세절한 후 2일간 -24℃ 냉동고(CA-H17DC, LG, Korea)에서 동결시킨 후 원료육으로 사용하였다.

### 나. 발효소시지의 제조

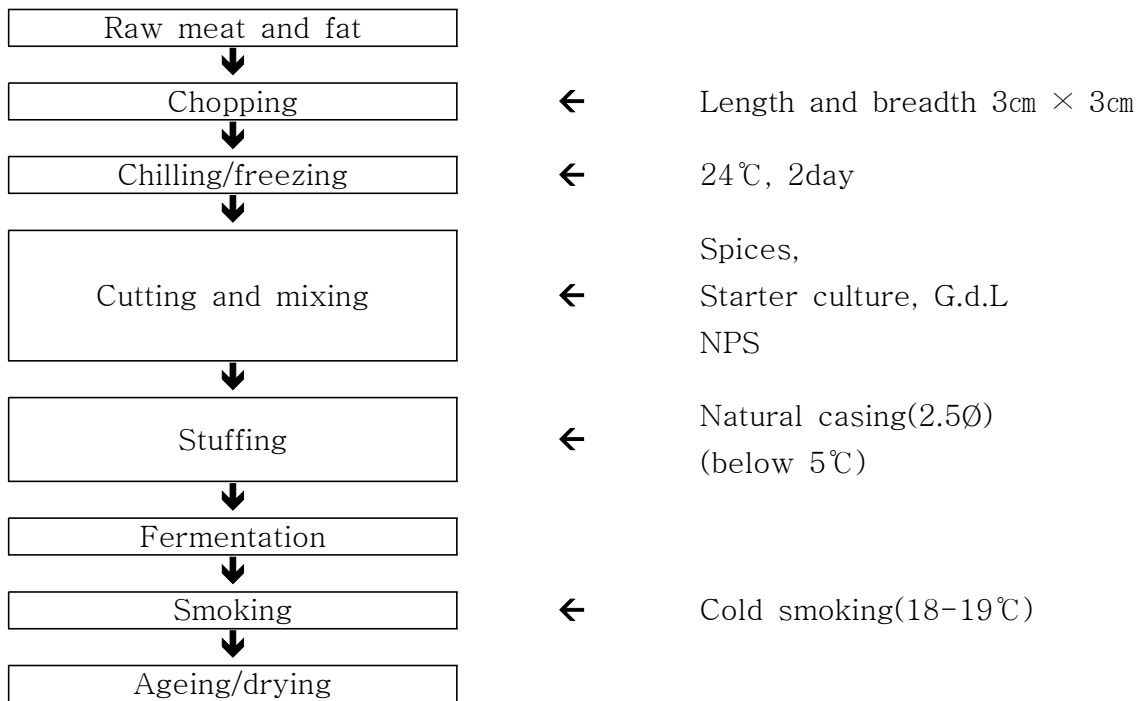
원료육의 배합은 냉동우육 30%, 냉동돈육 19.6%, 냉장육 16.5%, 냉동지방 30% 등을 혼합하여 발발효소시지를 제조하였으며 발효건조소시지 염지소금 2.8%, 첨가물 0.05%, GdL 0.1% 스타터0.4%와 향신료 0.1%등을 혼합하여 100%로 혼합비율 하였다.

발효소시지의 유산균은 Italy의 SACCO사의 Lyocarni RBL-73(*Staphylococcus carnosus* with  $2.5 \times 10^6$ CFU/g *Staphylococcus xylosus* with  $2.5 \times 10^6$  CFU/g, 그리고 *Lactobacillus curvatus* with  $2 \times 10^6$ CFU/g의 혼합균주) 제품을 0.04% 수준으로 첨가하였다.

제조 공정으로는 냉동우육, 유산균, 향신료 및 첨가물, 냉동돈육, 냉장돈육, 염지소금, 등지방 순으로 Silent Cutter에 세절하였으며, 지방의 크기가 약 3~5mm 정도 되었을 때 세절과정을 중지하고, Stuffer(H20E, TALSA, EU)를 이용하여 두께 2.5cm의 돈장에 충전하여 시료를 완성하였다.



<그림 10> 발효소시지 제조공정



<그림 11> Flow chart of fermented sausage manufacture.

다. 실험방법

실험방법으로는 이화학적검사 방법인 일반성분 분석과 물리,화학적분석인 증량감소, pH검사, 육색검사를 실시하였으며 그 방법은 아래와 같다.

(1) 일반성분

수분은 oven 건조법, 조지방은 Soxhlet법, 조단백질은 Kjeldahl법, 조회분은 회화법으로 실시하였으며, 성분분석은 AOAC(1998)의 실험방법에 준수하여 실시하였다.

(2) 물리 · 화학적 분석

(가) 증량감소율(weight loss)

발효소시지의 건조·숙성 기간별 무게를 측정하여 각 단계에서 발생된 감량을 최초 충전 된 무게에 대한 백분율(%)로 표시하였다.

$$\text{건조·숙성 과정에서의 감량(\%)} = 100 - \left( \frac{\text{건조·숙성 과정 중 감량}}{\text{최초 충전 된 무게}} \times 100 \right)$$

(나) pH

Eikelenboom 등(1974)의 방법을 응용하여 시료 10g과 증류수 90ml을 혼합한 후 Homogenizer(Ultra-turrax, T25-S1, Germany)를 사용하여 14,000 rpm에서 1분간 균질한 후, pH meter (PHM201, Radiometer, France)로 측정하였다.

(다) 육색 (meat color)

색차계(Color meter, CR-310, Data Processor DP-301, MINOLTA, Japan)를 사용하여 동일한 시료를 3회 반복하여 L-값(lightness, 명도), a-값(redness, 적색도), b-값(yellowness, 황색도)를 CIE(Commision Internationale de Leclairage) 값으로 측정하였다. 이때 사용된 표준 백색판

은 기기의 manual에 따라  $Y=94.40$ ,  $x=0.3131$ ,  $y=0.3194$  값으로 표준화시킨 후 측정하였다.

라. 결과

발효소시지에 대한 실험검사결과는 다음과 같다.

(1) 일반성분을 통한 품질평가

제조된 발효소시지의 일반성분 분석결과는 다음 <표 1>과 같다. 표준이 되는 대조구(C)의 경우 대체로 제품이 완성되었을 경우 수분 함량은 51.48%, 조지방 함량은 32.29%, 조단백질함량은 12.82% 조회분 함량은 3.31% 이었으며 건조 기간이 21일 경과하면서 수분의 함량은 17.69%, 조지방의함량은 47.27%, 조단백질의 함량은 29.98%, 조회분의 함량은 5.42%로 변화되었다. 이 실험에서 표준이 되는 대조구의 수분은 51.48%에서 17.69%로 급격하게 감소하였으며 ( $p<0.05$ ), 조지방의 함량은 32.29%에서 47.27%로, 조단백질은 12.82%에서 29.78%로 수분의 함량이 건조기간에 따라 감소함으로 최초 함량에 비하여 각각 약 10%, 17% 증가하는 경향을 나타냈다( $p<0.05$ ). 조회분 함량은 0일째 대조구의 경우 3.31%에서 21일째에는 5.42%로 유의적인 차이가 나타냈다( $p<0.05$ ). 이 결과는 건조기간 중 유의적 차이가 없었다는 Seong (2008)의 보고와는 상반된 결과를 나타냈다. 이는 중량감소에 따른 결과로서 상대적으로 조회분의 함량이 높게 측정된 것이라 사료된다. 건조·숙성 초기와 종료 후의 실험결과 수분함량은 건조가 진행됨에 따라 점차 감소한 반면 단백질과 지방의 함량을 수분증발로 인하여 상대적으로 증가하는 경향을 보인다는 보고(Kim 등, 2008)와도 일치하였다. 건조·숙성 초기와 종료 후의 일반성분의 함량은 우리나라의 식품성분표(농촌진흥청, 2006)에서 제시하고 있는 건조소시지의 평균 수치는 수분 24.8%, 단백질 25.4%, 그리고 지방 43.0%, 회분 4.7%로 유사한 결과를 나타냈다. Beiken (1991)등도 12종류의 Australian sausage를 수거하여 분석한 결과 수분 61.3%(51.4~76.1%), 단백질 15.5%(10.4~22.9%), 지방17.0%(3.0~31.9%)로 보고된 결과와도 유사한 경향을 나타냈다.

<표 5> Proximate analyses of raw and fermented sausages with reduced fat levels

Treatment	composition							
	Moisture(%)		Crude fat(%)		Crude protein(%)		Crude ash(%)	
	Ripening time(day)							
	0	21	0	21	0	21	0	21
C	51.48 <sup>dA</sup> ±0.37	17.69 <sup>dB</sup> ±0.09	32.29 <sup>dB</sup> ±0.21	47.27 <sup>aA</sup> ±0.15	12.82 <sup>dB</sup> ±0.38	29.78 <sup>dA</sup> ±0.14	3.31 <sup>dB</sup> ±0.08	5.42 <sup>dA</sup> ±0.29
T1	56.93 <sup>cA</sup> ±0.50	25.00 <sup>aB</sup> ±0.75	22.82 <sup>bB</sup> ±0.95	34.82 <sup>bA</sup> ±0.61	17.02 <sup>bB</sup> ±0.44	33.29 <sup>cA</sup> ±0.14	3.60 <sup>abB</sup> ±0.10	6.28 <sup>cA</sup> ±0.21
T2	62.73 <sup>ba</sup> ±0.35	25.03 <sup>aB</sup> ±0.26	13.57 <sup>cB</sup> ±0.16	25.71 <sup>cA</sup> ±0.73	20.04 <sup>aB</sup> ±0.61	41.00 <sup>ba</sup> ±0.85	3.66 <sup>aB</sup> ±0.12	7.68 <sup>ba</sup> ±0.25
T3	63.91 <sup>aA</sup> ±0.73	23.24 <sup>bb</sup> ±0.72	13.87 <sup>cB</sup> ±0.54	22.49 <sup>dA</sup> ±0.79	19.14 <sup>aB</sup> ±0.74	43.42 <sup>aA</sup> ±0.74	3.84 <sup>aB</sup> ±0.26	9.41 <sup>aA</sup> ±0.07

<sup>a-d</sup> : Means with different letter in the same column are significantly different( $p<0.05$ )

<sup>A-B</sup> : Means with different letter in the same row are significantly different( $p<0.05$ )

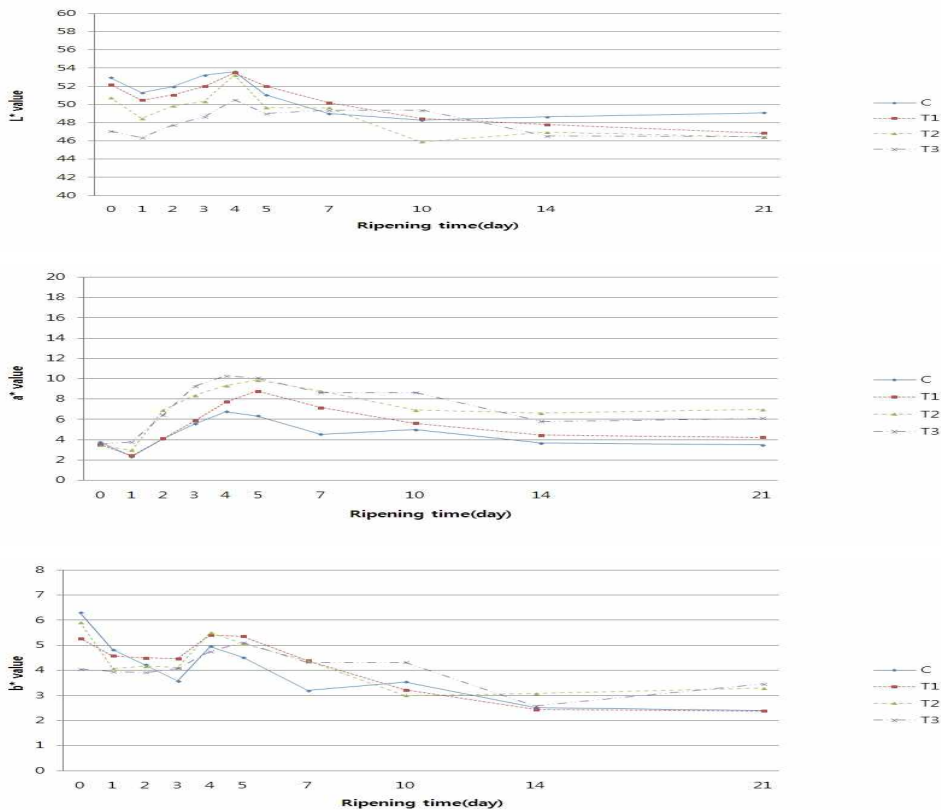
C : adding 30% fat, T1 : adding 20% fat, T2 : adding 10% fat, T3 : adding 5% fat

(2) 육색

지방함량에 따른 발효소시지의 건조·숙성 기간 중 육색 변화는 <그림 3>과 같다. 육색은 식육의 품질 평가에 있어 중요한 요인으로 작용하고 있으며, 정상적인 식육의 판별, 신선도의 판별, 축종별 식육의 판별 등에 이용되고 있다. 명도를 분석한 결과 건조·숙성 기간 중 대조구는 53.62, 53.50, 53.21, 50.54의 수치로 가장 높게 나타났고( $p<0.05$ ), 21일째에는 49.10이었으며 유의적인 차이가 나타냈다( $p<0.05$ ). 이는 Lee와 Joo(1999)의 육의 명도는 지방 함량과 상관관계를 가진다는 보고와 유사한 경향을 나타냈다.

적색도( $a^*$ )를 분석한 결과 대조구는 4일째 각각 6.75으로 가장 높았으며 대조구의 경우 2일째 이후로 유의적으로 급격한 상승을 나타냈는데( $p<0.05$ ), Leistner(1995)는 소시지의 발색은 낮은 pH에 의해 촉진된다는 보고와 일치하였으며, 건조·숙성이 진행됨에 따라 21일째에는 대조구가 3.47로 유의적으로 감소( $p<0.05$ )하고 있는 경향을 나타냈다. Park 등(1997b)의 저장 중 발효소시지의 적색도는 감소하는 경향을 보였다는 보고와 일치하였다.

황색도( $b^*$ )를 분석한 결과, 건조·숙성 기간 중 0일째 대조구는 6.30의 수치를 나타냈고, 반대로 21일째 대조구는 2.41로 가장 낮은 수치를 나타냈다. 전체적으로 3일째까지는 대조구는 감소하였으며 4일째 일괄적으로 증가하는 경향을 보이다가( $p<0.05$ ), 21일째까지 완만하게 감소하는 경향을 나타냈다( $p<0.05$ ). Harms 등(2003)은 건조 발효 육제품의 저장 중 'b'값의 변화는 지방산화와 관련 있다고 보고하였는데 이와도 비슷한 결과를 나타냈다.



<그림 12> Changes in CIE Lab values for the fermented sausages with reduced fat levels during ripening.

C : adding 30% fat, T1 : adding 20% fat, T2 : adding 10% fat, T3 : adding 5% fat  
 L\* : lightness a\* : redness b\* : yellowness

마. 요약

일반성분의 결과는 대조구는 0일째 수분의 함량이 가장 높고, 조지방, 조단백, 조회분의 함량이 유의적으로 낮게 나타났으나( $p < 0.05$ ), 21일째 건조·숙성 종료 후 대조구는 수분의 함량이 50% 이상 유의적으로 감소하였으며( $p < 0.05$ ), 조지방, 조단백, 조회분의 함량은 유의적으로 증가하였다( $p < 0.05$ ). 이는 건조·숙성 종료 후 수분함량의 감소로 상대적으로 증가한 것이라고 사료된다.

pH의 결과는 0일째 대조구 5.35의 값을 나타냈으며, 대조구는 유의적인 감소( $p < 0.05$ )를 보이며 3일째에 대조구 4.38으로 가장 낮은 값을 나타냈고, 이후로는 대조군이 유의적인 증가를 나타냈다( $p < 0.05$ ).

수분감소의 결과는 대조구가 53.87%로 56.46의 함량에서 꾸준한 감소로 21일째 대조구가 22.36%, 23.31의 값을 나타냈다.

중량감소율은 0일째 대조구가 3.23%의 값을 나타냈고, 3일째 급격한 증가를 나타낸 이후 꾸준한 증가를 보였고, 21일째 가장 높은 값을 나타냈다.

육색에서 명도( $L^*$ )를 분석한 결과 4일째 대조구가 유의적으로 높은 53.62의 값을 나타냈으며( $p < 0.05$ ), 21일째 유의적인 차이는 없었다. 적색도( $a^*$ )는 1일째 대조구가 2.32의 값으로 가장 낮은 값을 나타냈고, 21일째에는 유의적으로 높은 값을 나타냈다( $p < 0.05$ ). 황색도( $b^*$ )의 결과로는 대조구가 0일째 6.30으로 유의적으로 높은 값을 나타냈고( $p < 0.05$ ), 21일째는 가장 낮은 값을 나타냈다.

### 3. 발효건조육제품 제조시 숙성 및 건조에 따른 조건 연구

#### 가. 공시재료

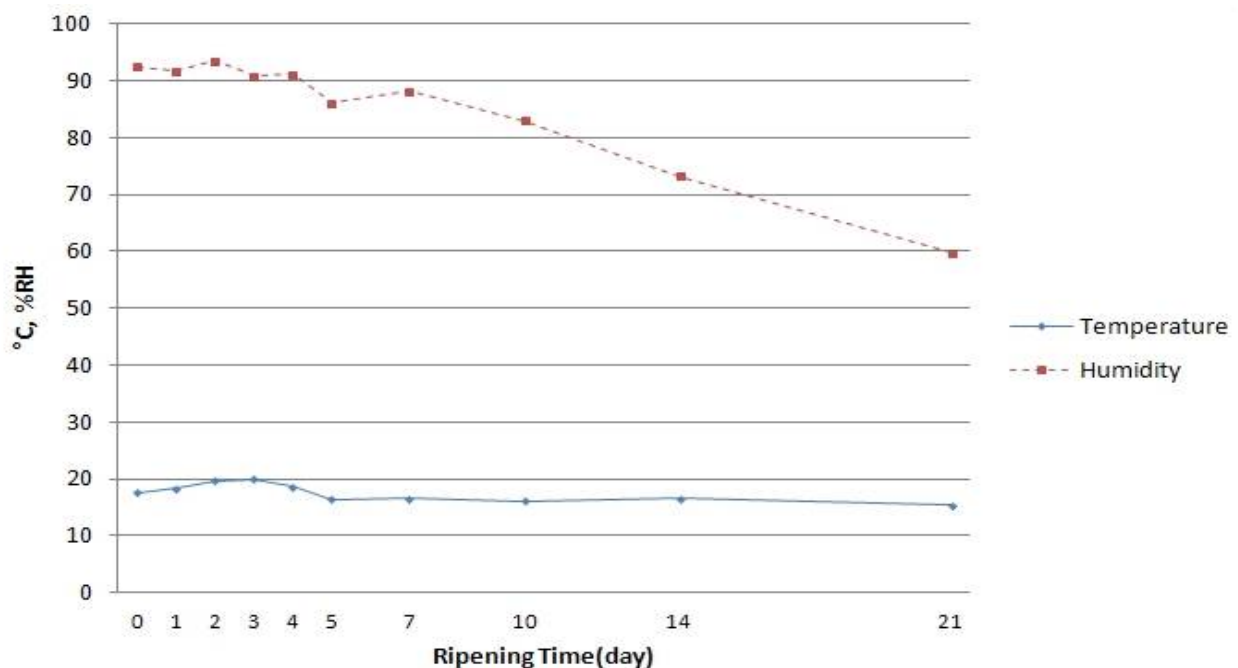
국내산 우육(우둔살) 15kg 및 돈육(볼기살) 25kg, 돼지 등지방 10kg 등 HACCP인증을 받은 횡성 가공장에서 가공된 원료육을 구입하였으며, 지방 및 근막을 제거하여 정육면체로 자른 후 3일간 -24℃ 냉동고(CA-H17DC, LG, Korea)에서 동결하여 육제품의 시료로 사용하였다.

#### 나. 발효육제품 건조 및 숙성에 따른 조건

고지방의 발효소시지는 지방의 함량을 30% 수준으로 염지소금 (NPS 2.8%) 및 향신료 (mettwurst 1%, garlic powder 0.05%) 등을 첨가한 후 혼합하였다.

본 과제에 가장 큰 예로사항은 외국에서 생산제조 되는 발효건조 소시지처럼 냉훈연기를 이용한 제품을 생산하려 하였으나, 3천만원 이상의 고가 장비가 소요됨으로 실험실을 개조하여 숙성실을 완성하였으나 이는 일시적인 실험적 시제품 생산의 공간시설로 이용되었다.

건조·숙성 기간에 따른 온도조절은 삼성에어컨(AR-CM628)으로 실시하였으며, 습도는 가습기((주)부방테크론 MHS-M5551A)를 이용하여 수시로 조절하고 data logger (testo-174, Testo, Germany)를 사용하여 숙성실의 온도와 습도를 측정하였다. 이때 건조·숙성실의 조건은 시제품 제조 후 0~3일에는 19-20℃를 유지하며, 습도 93%이상을 유지시켰으며, 3일째부터는 냉훈연조절기(BTDS76P, Bradley SMOKER, USA)를 이용하여 훈연하였으며 이때의 온도와 습도는 16-17℃, 81-85%의 조건하에서 1차 실시하였다. 숙성기간 4~7일째에는 18-16℃, 습도 90-88%를 유지하였으며, 7일째에 2차 냉훈연을 1차 냉훈연과 같은 조건으로 실시하였다. 7일부터 10일까지는 16℃이하를 습도는 평균 87%로 유지 하였으며 10일 이후부터는 숙성온도 16℃ 습도 80%이하를 유지하여 건조·숙성 하였다.(그림 4). 제품의 품질평가는 제조 후 0, 1, 2, 3, 4, 5, 7, 10, 14 및 21일에 시료를 채취하여 3회 반복하여 실시하였다.



<그림 13> Changes in temperature and humidity of the ripening room during reipening.

## 다. 실험방법

실험방법으로는 지방산패를 측정하는 TBA가와 단백질의 변패를 측정하는 VBN가를 다음과 같이 조사하였다.

### (1) TBA (thiobarbituric acid)

저장 중에 식육의 내부에서 발생하는 지방산패의 측정으로 널리 사용되는 방법인 TBA는 Witte 등(1970)의 방법을 이용하여 TBA extraction method로 측정하였다. 실온 암소에서 15시간 동안 반응시킨 후 UV-Spectrophotometer(Human corporation, X-ma 3000series, Korea)를 이용하여 530nm에서 흡광도를 측정하였다. TBA 값은 malonaldehyde mg/kg의 값으로 표시하였고, 공시료는 시료대신 증류수를 가하여 측정하였다.

### (2) VBN (volatile basic nitrogen)

시료의 신선도를 판단하기 위한 일반적인 기준이 되는 단백질의 변패정도를 조사하기 위하여 휘발성 염기태질소를 高坂(1991)의 conway 미량확산법을 이용하여 측정하였다. 시료를 10g 정량하여 증류수 50ml을 가한 후 Homogenizer(Ultra-turrax, T25-S1, Germany)을 이용하여 30초간 균질화한 후 증류수를 첨가하여 100ml를 적정한 후 여과(Whatman No.1)하였다. 여과액 1ml을 conway 용기 외실에 넣고 내실에 0.01N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>를 넣고 K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>용액 1ml를 빠르게 외실에 주입하고 밀폐한 다음 조심스럽게 흔들어 주고 난 후 25℃ 항온조에서 60분간 보관하였다. 보관이 끝난 conway용기를 조심스럽게 열어 내실에 Brunswik시약 한 방울을 넣은 후 0.01N NaOH용액으로 적정하였다. 공시료는 시료대신 증류수를 가하여 같은 방법으로 측정하였다. 계산식은 다음과 같다.

$$VBN(mg\%) = 0.14 \times \frac{(b-a) \times f}{w} \times 100$$

w : sample weight

a : sample ml (0.01N NaOH amount)

b : blank ml (0.01N NaOH amount)

f : 0.01N NaOH factor value

d : 시료의 회석배수

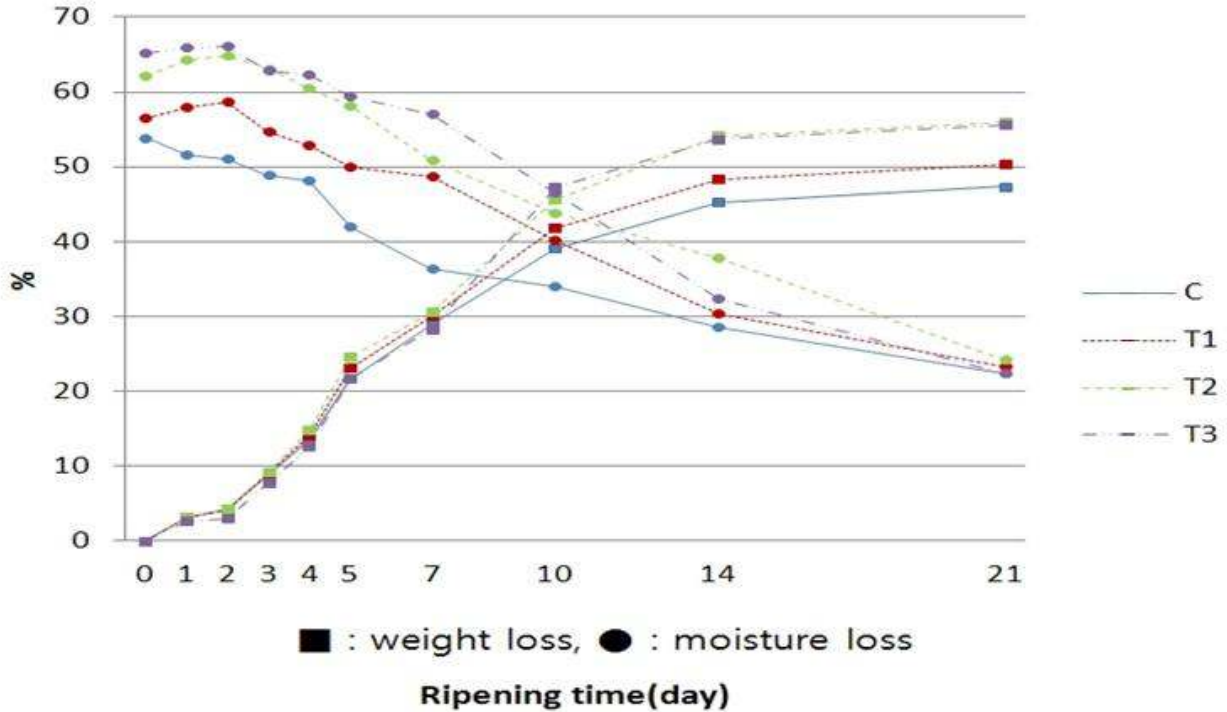
## 라. 결과 및 고찰

### (1) 수분감소 및 중량감소율

건조·숙성기간 중 수분감소 및 중량감소율을 조사한 결과는 <그림 5>와 같다. 수분함량 감소 결과는 0일째 대조구는 53.87%인 56.46의 값을 나타냈고( $p < 0.05$ ), 3일째 훈연 후 93%의 습도에서 90~88%의 습도로 낮추는 기간을 기준으로 4일째 대조구는 48.10%인 52.92%로 유의적인 감소를 나타냈다( $p < 0.05$ ). 건조·숙성 21일 후 대조구는 22.36%인 23.31%를 나타냈다. 초기 무게로부터 약 30%의 감량이 일어나는 지점을 제품의 수분함량이 38.9%라고 보고한 Kim 등(2008)과 김치 분말 스타터를 첨가하여 발효소시지를 제조한 Han 등(2006)이 보고한 40~40.36%의 수치와 유사한 결과를 나타냈다.

건조기간이 경과할수록 중량감소율은 꾸준한 증가의 수치를 나타냈다( $p < 0.05$ ). 0일째 대조구는 3.23%인 3.14%의 수치를 나타냈다. 3일째 훈연 후 습도를 낮춰 유지하는 과정부터 대조구 C는

8.74로 높았다. 건조·숙성 21일 후 대조구는 47.34%인 50.32%로 나타났다. pH가 3일째 가장 낮은 수치를 나타낸 결과와 낮은 pH는 소시지의 건조를 촉진시키는 효과가 있다고 보고한 결과 (Lee 와 Kunz, 2003)와도 일치하였다. 또한 동일한 가공시간에 지방의 함량이 낮을수록 무게감량이 높다고 보고한 Mugerza등 (2002)의 결과와 일치하였다.



<그림 14> Changes in weight loss and moisture loss of the fermented sausages with reduced fat levels during ripening.

C : adding 30% fat, T1 : adding 20% fat, T2 : adding 10% fat, T3 : adding 5% fat

(1) VBN 및 TBA

(가) VBN

지방첨가량에 따른 발효소시지 제조의 VBN 분석결과는 다음 <표 2>과 같다. 단백질 변패도를 확인하는 실험으로써 육제품에서 VBN값은 30mg/% 이상이 될 경우 단백질 분해에 의한 이취가 감지된다고 보고하였다(高坂, 1975). 본 실험에서의 VBN값은 0일째 대조군이 2.32mg/%로 가장 낮았으며 4.96mg/%로 T2군이 가장 높게 나타났다( $p < 0.05$ ). 1일째에 모든 실험군이 유의적인 차이를 나타내지 않으며 수치가 증가하였다. 3일째 다시 감소하였고, 3일째 이후로는 꾸준한 증가로 21일째에 대조구는 16.11mg/%인 27.33mg/%의 수치를 나타냈다. YBD종의 뒷다리로 제조한 발효햄의 VBN은 51.67mg/%, YLD종의 뒷다리로 제조한 발효햄은 44.65mg/%라는 보고(홍, 2009)와 뒷다리 발효햄의 134.65mg/%, 목심으로 제조한 발효햄 47.25mg/%라는 보고(김, 2009)보다 낮게 나타났다. 대조구의 경우에는 신선육의 수치인 10~20mg/%의 범위에 포함되었으나 건조·숙성기간이 경과함에 따라 수분의 감소로 인해 지방함량보다 단백질의 함량이 높아졌기 때문이라고 사료된다. 또한 Cilla 등(2006)은 VBN의 증가 원인은 미생물의 증식이라고 보고하였는데 본 실험에서도 유사한 경향을 나타낸 것으로 보아 미생물의 증식이 VBN결과물에 영향을 준 것이라 사료된다.



<표 6> VBN values for the fermented sausages with reduced fat levels during ripening

Parameters	Treatment	Ripening time(day)									
		0	1	2	3	4	5	7	10	14	21
VBN (mg/%)	C	2.32 <sup>a</sup>	7.12 <sup>o</sup>	4.87 <sup>p</sup>	4.75 <sup>p</sup>	8.02 <sup>no</sup>	8.11 <sup>no</sup>	12.45 <sup>l</sup>	17.72 <sup>i</sup>	19.13 <sup>h</sup>	16.11 <sup>j</sup>
	T1	2.46 <sup>q</sup>	8.94 <sup>n</sup>	6.91 <sup>o</sup>	7.13 <sup>o</sup>	10.27 <sup>m</sup>	9.80 <sup>mn</sup>	13.85 <sup>k</sup>	21.93 <sup>f</sup>	20.45 <sup>g</sup>	27.33 <sup>d</sup>
	T2	4.96 <sup>p</sup>	8.85 <sup>n</sup>	7.42 <sup>o</sup>	10.21 <sup>m</sup>	12.12 <sup>l</sup>	14.13 <sup>k</sup>	18.88 <sup>h</sup>	31.12 <sup>a</sup>	30.30 <sup>b</sup>	28.11 <sup>c</sup>
	T3	4.98 <sup>p</sup>	9.61 <sup>mn</sup>	8.89 <sup>n</sup>	10.20 <sup>m</sup>	11.61 <sup>l</sup>	11.9 <sup>l</sup>	15.11 <sup>j</sup>	32.27 <sup>a</sup>	26.06 <sup>e</sup>	28.71 <sup>c</sup>

<sup>a-d</sup> : Means with different letter in the same column are significantly different( $p < 0.05$ )

<sup>A-J</sup> : Means with different letter in the same row are significantly different( $p < 0.05$ )

C : adding 30% fat, T1 : adding 20% fat, T2 : adding 10% fat, T3 : adding 5% fat

(나) TBA

TBA의 실험결과는 다음 <표 3>와 같다. TBA는 지방 산화에 의해 발생하는 malonaldehyde(MDA)와 thiobarbituric acid가 반응하여 생성되는 복합체의 양을 측정하는 방법이다(Sallarn 등, 2004; An 과 Kim 2003). 모든 실험군에서 건조·숙성 기간 동안 대조구가 0.38mgMA/%에서 21일째 1.57mgMA/%로 유의적으로 증가하였다. 高坂(1975)은 0.46mgMA/% 이하에서는 가식권, 0.5mgMA/% 이상에서 산패취를 느낀다고 보고하였다. 또한 박 등(1988)은 TBA가 0.25mgMA/%일 때 산패취를 느낀다고 하였으나, 육제품에서는 그 이상도 가식권으로 인정되는 경우가 많다고 보고하였다. 본 실험에서는 대조구가 14일째에서 1.68mgMA/%으로 가장 높은 수치를 보여 부패권에 가까운 수치를 보였으나, 저장 0일째 등심의 TBA값은 2.15mgMA/%, 안심과 양지는 각각 2.22, 1.85mgMA/%로 Kim 등(2004)이 보고한 TBA값 보다 낮은 수치를 나타냈다. Demeyer 등(1974)은 육의 숙성 중 지방은 지방 분해효소에 의한 가수분해적 변화와 미생물대사에 의한 산화적 변화가 되면서 alcohol, carbonyl complex, ketone, aldehyde 등의 부산물로 분해된다고 하였으며, 낮은 pH는 다양한 육제품에서 지방 산화를 촉진한다고 보고되어 있다(Juncher 등, 2001; Martínez 등, 2005).

<표 7> TBA values for the fermented sausages with reduced fat levels during ripening

Parameters	Treatment	Ripening time(day)									
		0	1	2	3	4	5	7	10	14	21
TBA (mgMA/ %)	C	0.38 <sup>ef</sup>	0.52 <sup>e</sup>	1.00 <sup>cd</sup>	1.44 <sup>ab</sup>	1.49 <sup>ab</sup>	1.52 <sup>ab</sup>	1.50 <sup>ab</sup>	1.62 <sup>aB</sup>	1.68 <sup>a</sup>	1.57 <sup>ab</sup>
	T1	0.36 <sup>ef</sup>	0.53 <sup>e</sup>	0.80 <sup>de</sup>	1.30 <sup>bc</sup>	1.30 <sup>bc</sup>	1.13 <sup>bc</sup>	1.14 <sup>bc</sup>	1.26 <sup>bc</sup>	1.35 <sup>b</sup>	1.10 <sup>c</sup>
	T2	0.19 <sup>f</sup>	0.48 <sup>e</sup>	0.59 <sup>e</sup>	0.61 <sup>de</sup>	0.73 <sup>de</sup>	0.73 <sup>de</sup>	0.57 <sup>e</sup>	0.78 <sup>de</sup>	0.84 <sup>d</sup>	0.74 <sup>de</sup>
	T3	0.40 <sup>ef</sup>	0.48 <sup>e</sup>	0.60 <sup>de</sup>	0.59 <sup>e</sup>	0.62 <sup>de</sup>	0.63 <sup>de</sup>	0.37 <sup>ef</sup>	0.70 <sup>de</sup>	0.77 <sup>de</sup>	0.77 <sup>de</sup>

<sup>a-d</sup> : Means with different letter in the same column are significantly different( $p < 0.05$ )

<sup>A-J</sup> : Means with different letter in the same row are significantly different( $p < 0.05$ )

C : adding 30% fat, T1 : adding 20% fat, T2 : adding 10% fat, T3 : adding 5% fat

마. 요약

VBN의 결과는 0일째 대조구는 2.32mg/%값을 나타냈다. 이는 미생물의 증식이 VBN의 증가에 영향을 주었다고 사료되며, 21째에는 T1군이 27.33mg/%으로 가장 높은 값을, 대조구가 16.11mg/%로 가장 낮은 값을 나타냈다( $p < 0.05$ ).

TBA의 결과는 VBN과 비슷하게 0일째 대조구과 T1군 간의 유의적 차이는 없었지만, T1군이 0.36mgMA/%의 값으로 가장 낮게 나타났고, 14일째 대조구가 1.68mgMA/%로 가장 높은 값을 나타냈는데 이는 낮은 pH가 지방산화를 촉진시켰다고 사료된다.

#### 4. 발효건조 소시지의 품질특성 및 저장성 조사

##### 가. 공시재료

국내산 우육(우둔살) 15kg 및 돈육(볼기살) 25kg, 돼지 등지방 10kg 등 HACCP인증을 받은 A가공장에서 가공된 원료육을 구입하여 원료육 및 등지방은 외부지방 및 근막을 제거하여 정육면체(3×3×3cm)로 자른 후 3일간 -24℃ 냉동고(CA-H17DC, LG, Korea)에서 동결시켰다. 유산균은 Italy의 SACCO사의 Lyocarni RBL-73(*Staphylococcus carnosus*, *Staphylococcus xylosum* 그리고 *Lactobacillus curvatus*의 혼합균주) 제품을 이용하였다.

##### 나. 지방 함량에 따른 발효소시지의 제조

고지방의 발효소시지는 지방의 함량을 30% 수준으로 염지소금 (NPS 2.8%) 및 향신료 (mettwurst 1%, garlic powder 0.05%) 등을 첨가한 후 혼합하여 대조군(C)으로 구분하였다.

처리구는 지방의 함량을 20%(T1), 10%(T2), 5%(T3)로 낮추고 염지소금 및 향신료는 동일하게 첨가하였다. 발효소시지의 유산균은 Italy의 SACCO사의 Lyocarni RBL-73(*Staphylococcus carnosus* with  $2.5 \times 10^6$ CFU/g *Staphylococcus xylosum* with  $2.5 \times 10^6$  CFU/g, 그리고 *Lactobacillus curvatus* with  $2 \times 10^6$ CFU/g의 혼합균주) 제품을 0.04% 수준으로 첨가하였다.

Silent cutter(CM-22, MANCA, Spain)를 이용하여 우육, 유산균, 향신료 및 첨가물, 냉동돈육, 냉장돈육, 염지소금, 등지방 순으로 세절하였으며, 지방의 크기가 약 3~5mm 정도 되었을 때 세절과정을 중지하고, Stuffer(H20E, TALSA, EU)를 이용하여 두께 2.5cm의 돈장에 충전하여 건조·숙성하였다.

본 과제 의 가장 큰 에로사항은 외국에서 생산제조 되는 발효건조 소시지처럼 냉훈연기를 이용한 제품을 생산하려 하였으나, 3천만원 이상의 고가 장비가 소요됨으로 실험실을 개조하여 숙성실을 완성하였으나 이는 일시적인 실험적 시제품 생산의 공간시설로 이용되었다.

건조·숙성 기간에 따른 온도조절은 삼성에어컨(AR-CM628)으로 실시하였으며, 습도는 가슴기((주)부방테크론 MHS-M5551A)를 이용하여 수시로 조절하고 data logger (testo-174, Testo, Germany)를 사용하여 숙성실의 온도와 습도를 측정하였다. 이때 건조·숙성실의 조건은 시제품 제조 후 0~3일에는 19-20℃를 유지하며, 습도 93%이상을 유지시켰으며, 3일째부터는 냉훈연조절기(BTDS76P, Bradley SMOKER, USA)를 이용하여 훈연하였으며 이때의 온도와 습도는 16-17℃, 81-85%의 조건하에서 1차 실시하였다. 숙성기간 4~7일째에는 18-16℃, 습도 90-88%를 유지하였으며, 7일째에 2차 냉훈연을 1차 냉훈연과 같은 조건으로 실시하였다. 7일부터 10일까지는 16℃이하를 습도는 평균 87%로 유지 하였으며 10일 이후부터는 숙성온도 16℃ 습도 80%이하를 유지하여 건조·숙성 하였다.

제품의 품질평가는 제조 후 저장기간인 0, 1, 2, 3, 4, 5, 7, 10, 14 및 21일로 시료를 숙성고에 저장하고 채취하여 3회 반복하여 조사실시하였다.

<표 8> The formulation of fermented sausage

Composition	Control(30% fat)		T1(20% fat)		T2(10% fat)		T3(5% fat)	
	Weight (Kg)	Percentage (%)	Weight (Kg)	Percentage (%)	Weight (Kg)	Percentage (%)	Weight (Kg)	Percentage (%)
Lean beef (frozen)	3	30	3	30	3	30	3	30
Lean pork (frozen)	1.96	19.6	2.96	29.6	3.96	39.6	4.46	44.6
Lean pork (refrigerate)	1.65	16.5	1.65	16.5	1.65	16.5	1.65	16.5
Pork back fat (frozen)	3	<b>30</b>	2	<b>20</b>	1	<b>10</b>	0.5	<b>5</b>
NPS	0.28	2.8	0.28	2.8	0.28	2.8	0.28	2.8
Mettwurst	0.01	0.1	0.01	0.1	0.01	0.1	0.01	0.1
MSG	0.005	0.05	0.005	0.05	0.005	0.05	0.005	0.05
Garlic powder	0.005	0.05	0.005	0.05	0.005	0.05	0.005	0.05
Glucose	0.04	0.4	0.04	0.4	0.04	0.4	0.04	0.4
G.d.L <sup>1</sup>	0.01	0.1	0.01	0.1	0.01	0.1	0.01	0.1
Starter culture	0.04	0.4	0.04	0.4	0.04	0.4	0.04	0.4
Total	10	100	100	100	100	100	100	100

다. 실험방법

실험방법으로는 전단력, 미생물검사를 다음과 같이 실시하였다.

(1) 전단력

Bourne(1978)의 방법을 응용하여 Texture Analyser(TA-XT2i, Stable micro system, England)를 이용하여 전단력(Shear force)를 측정하였다. Warner-Bratzler Blade를 이용하였으며, 분석조건은 Pre Test speed 3.0mm/s, Test speed 1.0mm/s, Post Test speed 1.0mm/s, Distance 120%, Force 10g으로 하였으며, 육단면적이 완전히 절단 될 때까지 실시하였다.

(2) 미생물 검사

(가) 총균수(total plate counts)

총균수 검사는 축산물의 가공기준 및 성분규격(농림수산검역검사본부 고시 제 2010-16호)에 나온 축산물 시험방법에 준하여 검사하였다. Clean bench 안에서 무균적으로 시료 10g을 채취한 후 Stomacher bag에 멸균생리식염수 90ml와 함께 넣어 희석한 후, Stomacher(BA 7021, England)로 90초간 균질화 시켰다. 균질액을 희석액에 십진희석법으로 희석시킨 후 Plate count agar(Difco, USA)에 도말 한 후 Table 2과 같은 조건으로 배양하였다. 성장한 균락은 계수하여 logCFU/cm<sup>2</sup>로 나타냈다.

(나) *Pseudomonas*

총균수의 축산물의 가공기준 및 성분규격(농림수산검역검사본부 고시 제 2010-16호)에 나온 축산물 시험방법에 준하여 검사하였다. 희석액은 *Pseudomonas* F agar(Difco, USA)에 도말 한 후 <표 5>과 같은 조건으로 배양하였다. 성장한 균락은 계수하여 logCFU/cm<sup>2</sup>로 나타냈다.

<표 9> Survey of microbiological parameters

Microorganism species	Culture medium	Incubation temperature	Incubation time
Total plate counts	Plate Count agar(Difco)	35℃	24h
<i>Pseudomonas</i>	<i>Pseudomonas</i> F agar(Difco)	35℃	24h

라. 결과

(1) 전단력

전단력의 실험결과는 다음 <표 6>과 같다. 중량감소율이 건조·숙성 기간이 지남에 따라 증가하는 수치와 비슷한 경향을 나타냈다. 대조구과 T1의 군은 3일째에 각각 1.34, 1.45kg을 나타냈지만 T2군과 T3군은 2일째에 각각 1.28, 1.35으로 대조구과 T1군과의 유의적인 차이를 나타냈다( $p<0.05$ ). 3일이 지난 후로는 대조구 및 처리구 모두 유의적인 증가를 하였으며( $p<0.05$ ), 21일째에는 대조구과 T1군이 각각 5.23 7.08kg을 T2군이 17.67kg, T3군이 20.14kg의 수치를 나타냈고, 지방의 비율이 낮은 발효소시지가 지방이 많은 발효소시지에 비해 연함과 탄력이 적다는 보고(Muguerza 등, 2002)와도 일치하였다.

<표 10> Shear values for the fermented sausages with reduced fat levels during ripening

Parameters	Treatment	Ripening time(day)									
		0	1	2	3	4	5	7	10	14	21
Shear force (kg)	C	0.19 <sup>l</sup>	0.18 <sup>l</sup>	0.71 <sup>kl</sup>	1.34 <sup>jk</sup>	1.43 <sup>jk</sup>	1.43 <sup>jk</sup>	1.72 <sup>j</sup>	2.20 <sup>ij</sup>	3.50 <sup>h</sup>	5.23 <sup>f</sup>
	T1	0.19 <sup>l</sup>	0.22 <sup>kl</sup>	0.91 <sup>k</sup>	1.45 <sup>jk</sup>	1.46 <sup>jk</sup>	2.19 <sup>ij</sup>	2.48 <sup>i</sup>	3.22 <sup>hi</sup>	4.39 <sup>g</sup>	7.08 <sup>e</sup>
	T2	0.25 <sup>aj</sup>	0.24 <sup>kl</sup>	1.28 <sup>jk</sup>	1.6 <sup>jk</sup>	1.68 <sup>j</sup>	3.58 <sup>h</sup>	2.72 <sup>i</sup>	5.72 <sup>f</sup>	8.63 <sup>d</sup>	17.67 <sup>b</sup>
	T3	0.28 <sup>kl</sup>	0.26 <sup>kl</sup>	1.35 <sup>jk</sup>	2.49 <sup>i</sup>	2.07 <sup>ij</sup>	3.03 <sup>hi</sup>	3.24 <sup>hi</sup>	4.33 <sup>g</sup>	13.29 <sup>c</sup>	20.14 <sup>a</sup>

<sup>a-d</sup> : Means with different letter in the same column are significantly different( $p<0.05$ )

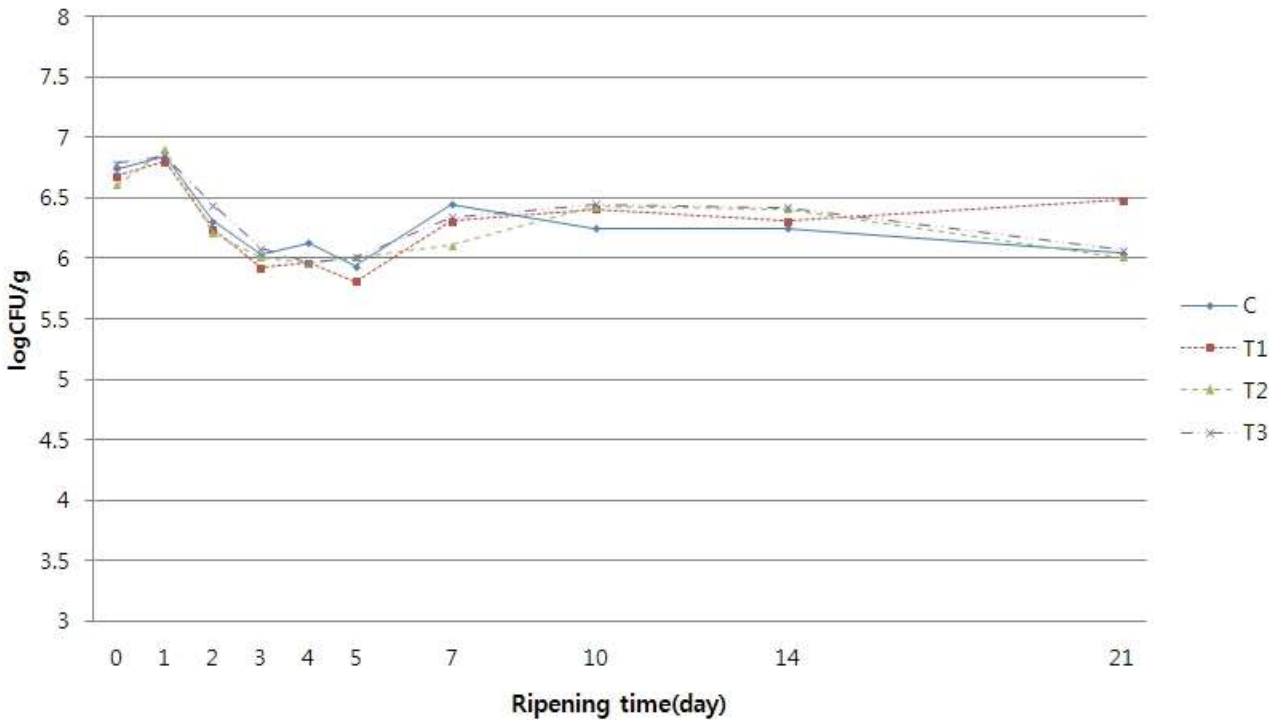
<sup>A-J</sup> : Means with different letter in the same row are significantly different( $p<0.05$ )

C : adding 30% fat, T1 : adding 20% fat, T2 : adding 10% fat, T3 : adding 5% fat

(2) 미생물

(가) 총균수

건조·숙성과정 중의 총균수의 분석결과는 다음 <그림 6>과 같다. 건조·숙성기간에 나타낸 수치는 1일째 대조구와 처리군 각각 6.84, 6.8, 6.9, 6.85logCFU/g으로 가장 높은 수치를 나타냈고, 대조구와 T1군은 5일째에서 각각 5.94, 5.81logCFU/g으로 가장 낮은 수치( $p < 0.05$ )를 T2와 T3군은 4일째에서 각각 5.96의 수치로 가장 낮은 수치를 나타냈다. pH의 그래프 결과와도 비슷한 경향을 나타냈는데, 이는 젖산균의 에너지원이 되는 당류의 첨가가 낮은 pH를 유도하여 유해 미생물의 성장을 막는다는 보고와 유사한 결과를 나타냈다. James(1972)는 육에서 총균수가  $10^8$ - $10^9$ /g 일 때 부패가 되었다고 보고하였고, Nottingham(1982)은 한계치를  $10^7$ /cm<sup>2</sup>, Zattola(1972) 그리고 Egan과 Grau(1981)는  $10^8$ /cm<sup>2</sup> 제시하였고, 이무하(1995)는 일반적인 미생물로서 총균수가  $10^7$ /g이하이면 식품에 안전하다고 보고하였다. 이와 같은 보고들로 보아 대조구 및 처리구 모두 7logCFU/g의 범위 안에 있으므로 식품으로서 안전하다고 사료된다.



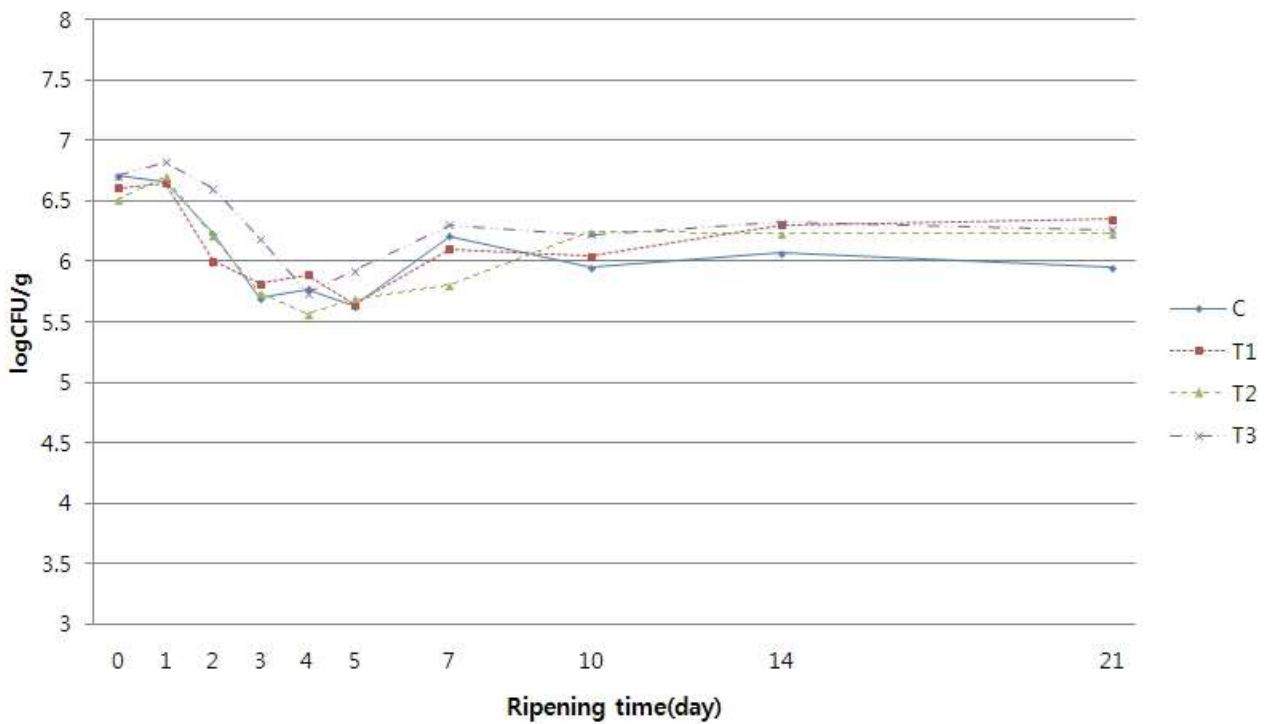
<그림 15> Changes in TPC for the fermented sausages with reduced fat levels during ripening.

C : adding 30% fat, T1 : adding 20% fat, T2 : adding 10% fat, T3 : adding 5% fat

(나) *Pseudomonas*

건조·숙성기간에 따른 슈도모나스의 결과는 <그림 7>와 같다. 슈도모나스의 결과는 총균수와 흡사한 경향을 나타냈다.

Koutsoumanis 등(2006)에 의하면 호기조건에서 부패한 식육의 총균수, *Pseudomonas*, Enterobacteriaceae, *Brochothrix thermosphacta*, Lactic acid bacteria 등을 측정하여 분석한 결과 다른 세균의 증식은 미미한데 반하여 *Pseudomonas* 증식과 총균수 증가는 미량의 수적인 차이는 있으나 거의 일치한다고 보고하였다. 따라서 슈도모나스균은 호기적 조건에서 저장 시 발생하는 미생물 중 가장 큰 품질변화 요인임을 알 수 있다(최, 2009). 대조군이 0day에서 6.71 logCFU/g으로 가장 높게 나타났고, T1, T2, T3군은 1일째에서 각각 6.65, 6.70, 6.82로 가장 높은 값을 나타냈다( $p < 0.05$ ). 슈도모나스도 총균수와 비슷하나 대조구와 T1군이 5일째 가장 낮은 수치인 5.70, 5.82logCFU/g를 나타냈고( $p < 0.05$ ), T2군과 T3군도 4일째에 각각 5.56, 5.74log CFU/g의 값으로 가장 낮은 값을 나타냈다. 대조구와 처리군 모두 5일 이후부터는 유의적인 증가의 경향을 나타냈다.



<그림 16> Changes in *pseudomonas* for the fermented sausages with reduced fat levels during ripening.

C : adding 30% fat, T1 : adding 20% fat, T2 : adding 10% fat, T3 : adding 5% fat

마. 요약

전단력을 측정된 결과는 0일째 대조구와 T1군이 0.19kg으로 가장 낮았으며, 대조군과 처리군 모두 10일 이후 유의적으로 증가하여( $p<0.05$ ), 21일째에는 T3군이 20.14kg으로 가장 높은 값을 나타냈다( $p<0.05$ ).

총균수의 분석결과는 건조·숙성 시작 1일째 6.85logCFU/g T3군이 가장 높은 수치를 나타냈고, 5일째 T1군이 5.81logCFU/g로 가장 낮은 값을 나타냈다. 3일과 5일째 총균수의 감소한 것은 젖산균의 에너지원이 되는 당류의 첨가가 유해미생물의 성장을 억제한 것이라고 사료된다. 건조·숙성 종료 후에는 대조구와 T2군 간의 유의적인 차이는 없었지만 T2군이 6.02logCFU/g의 값으로 가장 낮은 값을 나타냈다.

슈도모나스의 결과는 대조군이 0일째 6.71logCFU/g의 값으로 가장 높게 나타났으며, 4일째 T2군이 5.56logCFU/g으로 가장 낮은 값을 나타냈다. 대조군과 처리군 모두 5일 이후부터는 유의적인 증가의 경향을 나타냈다( $p<0.05$ ).



5. 대학생 및 일반인을 대상으로 기호도 조사 및 품평회 실시



<그림 16> 상지대학교 식육가공. 유통 전문가 양성과정반 발효육제품 시식회

6. 가내수공업형 제품개발 및 농가이전



<그림 17> 강원농업마이스터대학 한우 가공유통과정 교육생들을 대상으로한 발효육제품 생산 기술이전

## 제 4 절 식품 부산물의 유용 기능성 부재료화 및 식품 응용 (3차년도 연구기간 중 1차년도만 참여)

### 1. 돈혈분의 분해 및 펩타이드 및 아미노산 조성물의 조제법

#### 가. 돈혈액 이용 현황

축산 부산물로서 거의 폐기되는 돈혈액의 연간 수만톤에 이른다. 이 폐기 돈혈액은 소각이 대단히 어려움은 물론이고 오염의 문제도 무시할 수 없는 현실이다. 일부 비료나 사료첨가제로 활용되기도 하지만 대부분은 산업적으로 그 가치를 활용하지 못하고 있다.

돈혈액도 일반적인 동물의 혈청 단백질과 조성이 유사하여 다양한 혈청 단백질이 존재하므로 이 단백질 및 그 분해산물, 즉 펩타이드 분해물 또는 아미노산의 활용 가능성에 주목하였다.

#### 나. 돈혈분의 분해법의 모색

##### (1) 수분제거

- Pilot study; 단백질의 변성을 막기 위하여 가능한 한 저온 및 냉동 상태에서 단시간에 동결 및 건조를 실시하여 수분함량을 최대로 줄여 분말 상태로 제조하였다.
- Mass scale; 향후 대용량의 건조가 필요할 경우를 대비하여 전문업체를 섭외하였다.

##### (2) 강염기와 강산을 활용한 펩타이드 및 아미노산 분해

- 효소 자체가 갖는 단백질의 특성을 배제하기 위하여 화학적 분해를 통한 순수 돈혈분의 분해를 실시하기 위하여 화학적 분해를 실시하였다.
- 무기 염기 및 무기산에 의한 분해; 강염기인 potassium hydroxide (KOH)를 최종 농도 1N 정도를 유지하며 교반하여 1~2시간 분해를 실시하였다. 그 후, 질산을 최종적으로 동 농도 정도에 이를 때까지 추가해가며 중화 반응을 실시하였다. (돈혈 분해물 완성)

### 2. 돈혈 분해물의 1차 성분 분석

#### 가. 돈혈 분해물의 SDS-PAGE 분석

(1) 전체적인 분해물의 기본적 분리 양상을 알아보기 위하여 고밀도의 polyacrylamide gel을 활용한 SDS-PAGE를 실시하였다. 분해물은 초기 농도를 분광광도계로 측정하여 (데이터 미 표시) 분리 가능한 범위의 양을 계량하여 원액과 10배 희석액을 각각 분리하였다.

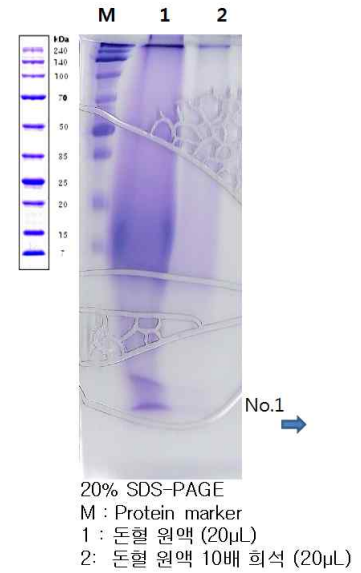
##### ① SDS-PAGE 조건

###### <표 1> SDS-PAGE 실행 조건

Laemmli gel 조건	Separating gel (20%) Stacking gel (5%)
시료양	20 $\mu$ L

영동조건	140V, 2시간 30분
------	---------------

② 결과 분석; 혼합 조성물이 갖는 다양한 분리 패턴을 최대한 줄이기 위하여, 낮은 정전압의 조건으로 충분한 시간을 두고 서서히 전기 영동을 실시하였다 (그림 1). 그림 1에서 보듯이 예상하였던 대로 다양한 분해산물이 보였으나 10 kD 이하의 분자량의 위치에서 비교적 많은 분해 산물이 검출되었다. 원액에서 전체적으로 많은 산물이 보인 것은 겔의 분해 용양을 다소 초과한 것으로 사료되나 대개 10 kD 부근의 분해 산물을 추가 분석하기로 하였다.



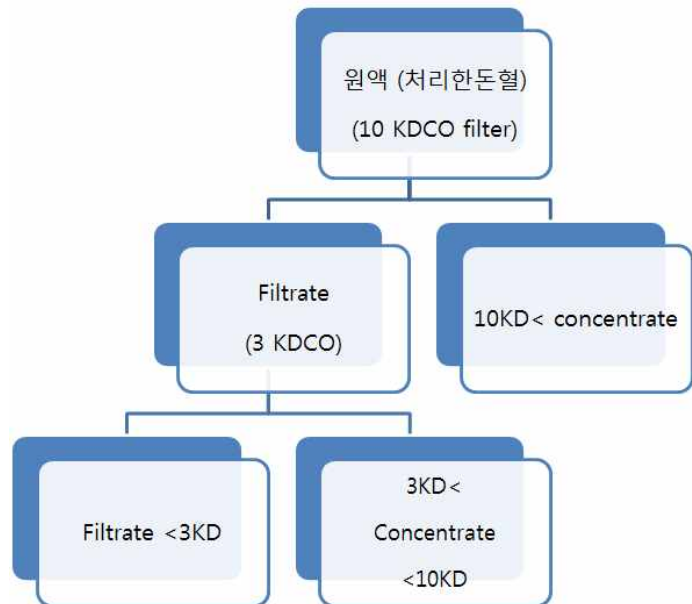
<그림 1> 강염기 분해한 돈혈의 SDS-PAGE 분석.

#### 나. 돈혈 분해물의 분획

한외 여과에 의한 돈혈분의 분획 과정은 그림 2에 정리하였다. 또한 한외 여과의 개략적 조건은 표 2와 같다.

##### (1) 10 kD 한외여과

SDS-PAGE 결과에 근거하여 1차적으로 분자량 10,000 dalton (10 kD)이하의 분획을 얻기 위하여 일정 분자량을 기준으로 분리할 수 있는 여과법을 일차적으로 적용하였다. 분획물은 컬럼을 통과한 Flow through (FT)와 컬럼에 잔류한 농축물로 나누었다. 다시 실험 목적에 따라 FT는 추가로 3 kD 컬럼에 걸기 위한 시료로 사용하거나 분석에 직접 사용하였다.



<그림 2> 한외여과를 이용한 돈혈의 분획 방법.

(2) 3 kD 한외여과

1차적으로 분획한 10 kD FT를 다시 3 kD 컬럼에 걸어 거의 동일한 방법을 통해 재차 분획하였다.

10 kD 및 3 kD 분획 조건은 표 2에 나타내었다.

<표 2> 한외 여과 컬럼 및 조건

필터	Amicon <sup>®</sup> Ultra - 0.5 mL Ultracel <sup>®</sup> - 3K and 10K Membrane
Membrane	Millipore Ultracel <sup>®</sup> low binding regenerated cellulose
발색시약	ninhydrin solution (2% in acetone)
원심분리 조건	14,000 x g for concentration spin 1,000 x g for reverse spin

다. 돈혈 분해물의 박층 크로마토그래피 (Thin-Layer Chromatography; TLC) 분석

(1) TLC 실행조건

<표 3>

고정상	Silica gel
이동상	n-butanol : acetic acid : water = 4: 1 : 2
발색제	ninhydrin solution (2% in acetone)

(2) 실행 결과

1 - 3 kD 부근에 펩타이드성 분획물이 관찰되었다.

1: 원액

2: 100배 희석 원액의 3 KDCO의 여과 FT

3: 100배 희석 원액의 3 KDCO의 농축물

4: 아미노산 스탠다드 (Sigma);

아래; Glycine 75.07, 위; Cysteine 240.3



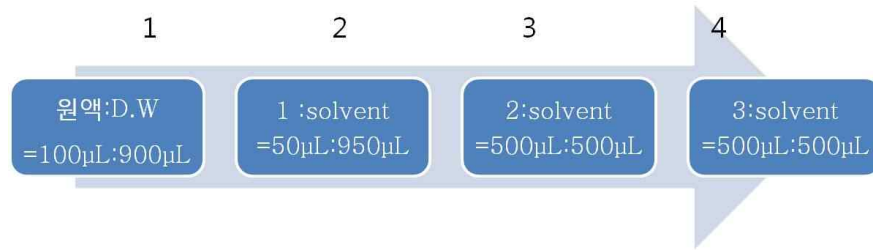
<그림 3> 한외여과를 이용한 분획시료의 TLC.

라. 돈혈 분해물의 HPLC (High Pressure Liquid Chromatography) 분석

(1) 돈혈 분해물의 희석

시료 원액은 직접적으로는 메탄올, acetonitrile (ACN) 에 녹지 않았으므로 증류수 (D.W.)에 먼저 녹인 후, D.W. : ACN = 1:1 비율의 용매에 녹여서 그림 4와 같이

HPLC의 시료로 조제하였다. 1차로 1:9 (1/10)희석하고 2차로 다시 1/20, 3차로 1/2, 추가로 4차 1/2희석을 실시하여, 각각 최종적으로 1차 1/10 희석, 2차 1/200 희석, 3차 1/400 희석, 4차 1/800 희석액을 시료로 사용하였다. (그림 4)



<그림 4> HPLC 를 위한 시료의 희석 방식.

(2) HPLC 실행 조건

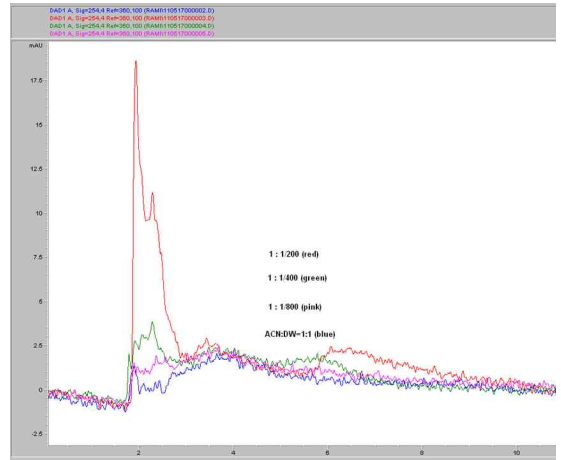
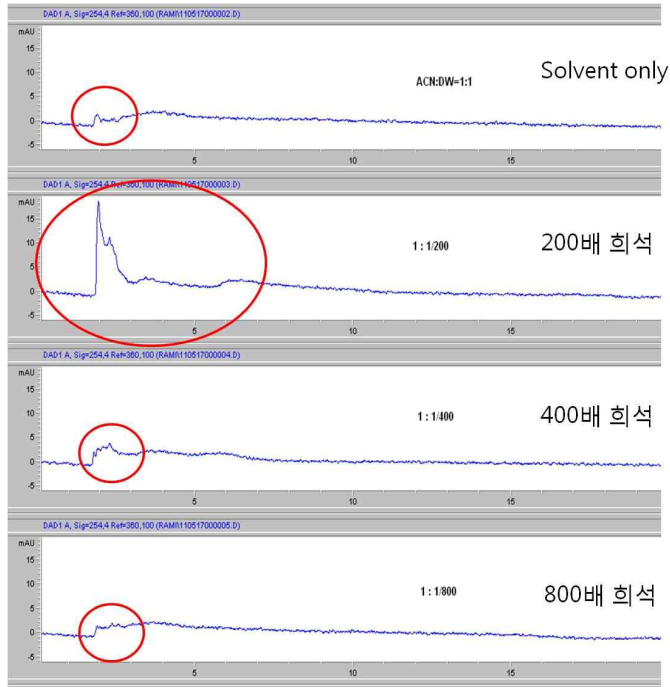
<표 4> HPLC 실행 조건

검출기	Diode array detector
컬럼	Shiseido Capcell Pak-C <sub>18</sub> (4.6 mm D×250 mm)
컬럼 온도	37℃
이동상	Acetonitrile: water = 50:50 ~0:100, gradient
유속	1.0 mL/min
주입량	10 µL
파장	254 nm
시간	60 min

(3) HPLC 분획 결과

- 3 kD 이하의 한외여과 FT의 분획

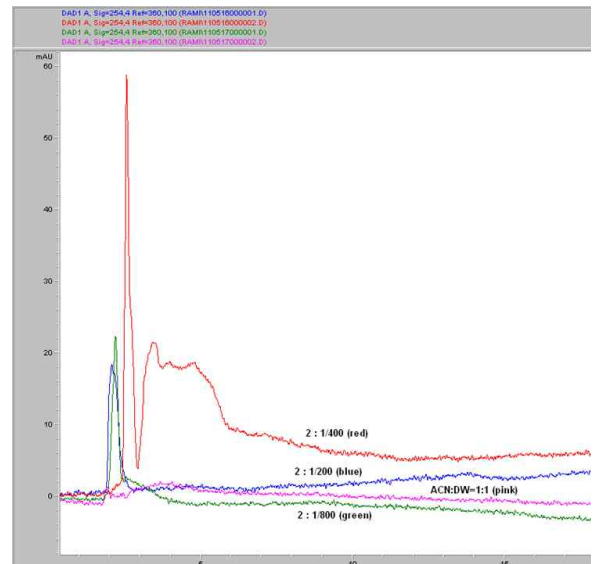
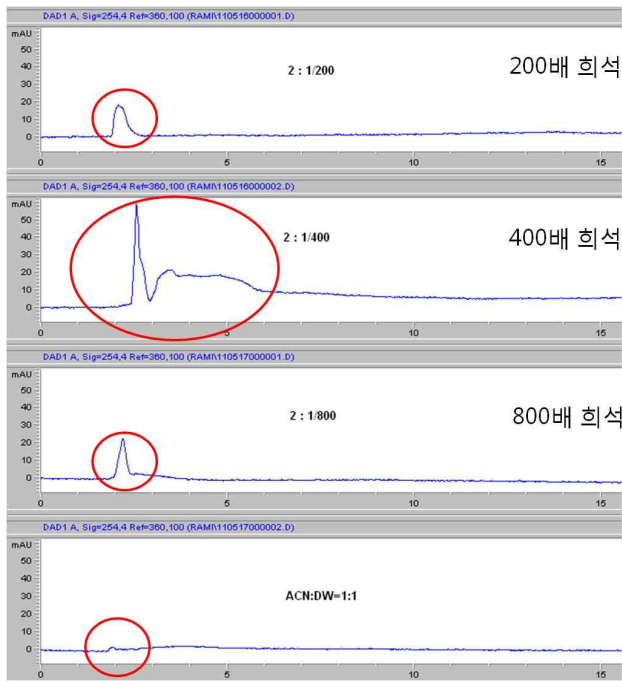
그림 5와 같이 분자량이 큰 분획이 거의 단일 peak로 보이고 그보다 작은 분획에서 조 며 다 양한 분획물이 모여 있었다. 왼 쪽은 각각의 희석 배수에 따른 peak의 결과와 함께 비교적 확실한 peak가 보이는 희석 배수의 peak를 우측에 표시하였다. 3 kD 분획물은 현재의 조건에 서는 200배 희석에서 비교적 양호한 결과가 도출되었다.



<그림 5> HPLC를 이용하여 3 kD 이하의 한외여과 filtrate를 희석 배수별로 분석한 결과.그림우; 좌측의 200배 희석을 확대한 분석 데이터.

- 3 ~ 10 kD 이하의 한외여과물의 분획

분자량이 큰 분획이 거의 단일 peak가 검출되었으나 그보다 작은 분획에서는 3 kD 분획물의 결과보다도 더 다양한 분획물이 폭 넓게 모여 있었다(그림 6). 왼 쪽은 각각의 희석 배수에 따른 peak의 결과와 함께 비교적 확실한 peak가 보이는 희석 배수의 peak를 우측에 표시하였다. 3~ 10 kD 분획물은 현재의 조건에서는 400배 희석에서 비교적 양호한 결과가 도출되었다.



그림우; 좌측의 200배 희석을 확대한 분석 데이터

<그림 6> HPLC를 이용하여 3KD 과 10KD 사이의 한외여과 filtrate를 희석 배수별로 분석한 결과.

### 3. 1차 성분 분석의 고찰

#### 1) TLC 분석

분자량 마커로 사용한 아미소산 조성물은 가장 분자량이 작은 glycine (75.07)부터 가장 큰 cysteine (240.03)까지 고르게 분포되어 있는 것으로 보아 전개 양상은 양호했던 것으로 판단하였다. 특히 cysteine보다 분자량이 크다고 판단되는 전개 시발점에 비교적 가까운 영역에서 돈혈 분해물의 일부가 검출된 것은 HPLC 분석을 통한 검출 가능성을 모색할 수 있게 된 예비적 결과라 판단되었다.

#### 2) HPLC 분석

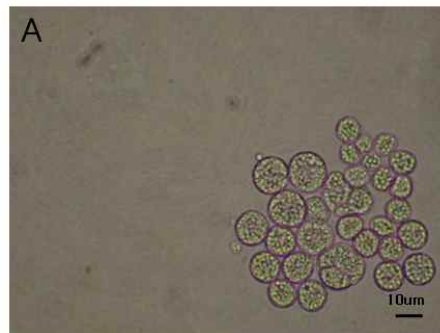
3 kD FT 분획과 3 kD~10 kD 사이의 분획물에 있어서 HPLC의 peak 양상이 상이한 것은 분자량의 범위가 한외 여과를 통하여 다양하게 분리된 결과라 할 수 있겠다. 3 kD~10 kD의 결과보다는 특히 3 kD분획물의 분석 결과가 향후 유리할 것으로 판단되었다.

## 제 5 절 고도불포화지방산과 콜레스테롤 저하 기능성 성장 첨가제 개발

### 1. 성장촉진, 불포화지방산 강화 및 콜레스테롤 저하 기능이 부여되는 천연 미생물균주 확보 및 성장/ 기능성효능 최적화를 위한 배양조건 확립 (1차년도)

#### 가. 기능성 콜레스테롤저하 (LC) 및 불포화지방산 (N3) 미생물 균주

- 숙주와 공생하고 있는 다양한 미생물 집합체인 microbiota가 유전자와 환경 못지않게 숙주의 다양한 형질을 결정한다는 사실이 최근 새롭게 규명되어지고 있어, 축산물에 성장촉진, 불포화지방산 강화 및 콜레스테롤 저하 기능을 부여할 수 있는 장 마이크로비오타를 탐색하였음
- 본 연구팀이 기 확보한 기반기술인 Target-Oriented Selective Screening 시스템을 통해 콜레스테롤 저하 물질 생성 후보균주들을 확보하고 이들을 바탕으로 효율적 배양에 맞는 배양배지조성과 배양조건을 확립하였음
- 또한 불포화지방산 과량 생성 균주인 JBF-06의 배양 조건 중 탄소원, 질소원, C/N ratio, 배양시간 등의 조정으로 biomass 최적조건을 확립하였음
- JBF-06의 배양 조건 중 탄소원, 질소원, C/N ratio, 배양시간 등의 조정으로 불포화지방산의 생성이 최대화되는 최적조건을 확립하였음





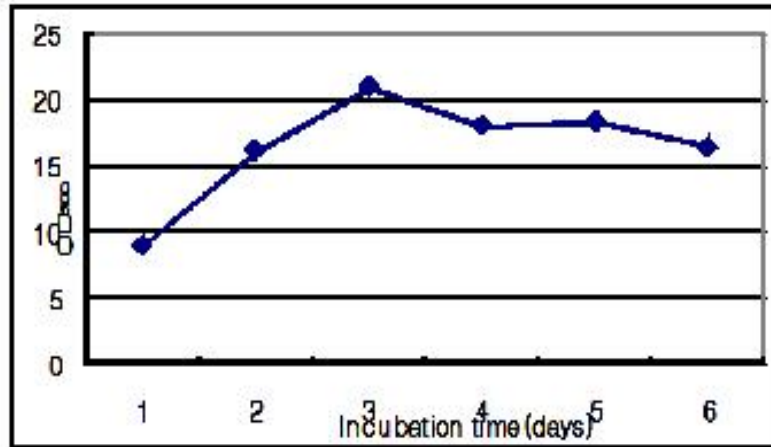


그림 1. N3 강화 균주 JBF-06와 그의 growth curve

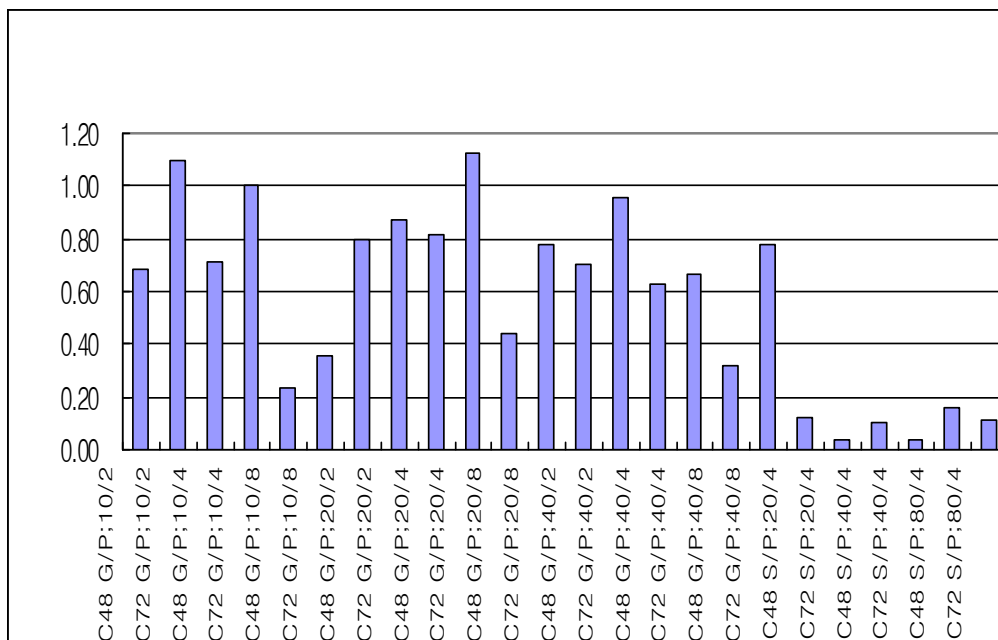


그림 2. N3 강화 균주 JBF-06의 DHA 생산 최적화를 위한 C/N 조건

- 그림 2는 배지의 탄소원과 질소원의 relative ratio가 JBF-06 균주의 metabolite(DHA) 생산에 미치는 영향을 실험한 결과임
- 탄소원과 질소원을 각각 10:2, 10:4, 10:8, 20:2, 20:4, 20:8, 40:2, 40:4, 40:8, 80:4로 맞춘 후 상호 비교하기 위해서 각각 배지에 첨가하고 배양한 결과 10:2, 20:4에서 상대적으로 높은 수준의 생산을 보이는 조성을 확보함

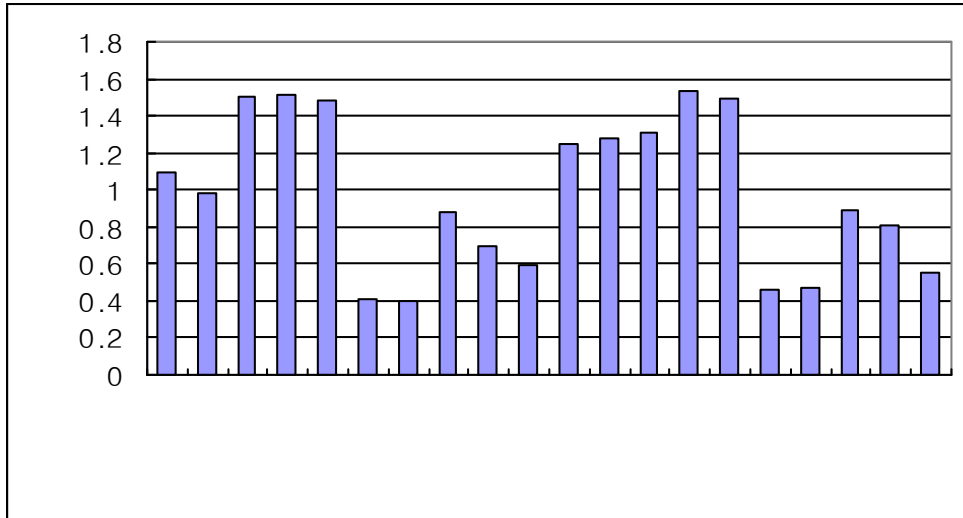


그림 3. N3 강화 균주 JBF-06의 DHA 생산 최적화를 위한 salt 조건

- 그림 3은 배지의 salt가 JBF-06 균주의 metabolite(DHA) 생산에 미치는 영향을 실험한 결과 여러 source의 mineral solution을 첨가한 천일염을 ASW와 비교하기 위해서 각각 배지에 첨가하고 배양한 결과 천일염을 사용하여도 ASW보다 높은 수준의 생산을 보이는 조성을 확보함

배양조건	균체량(g/L)*	생육도	DHA 함량(% in PUFA)	비고
S-1	14.8	+++	27.21	48hr
S-2	10.0	+	18.01	48hr
S-3	12.2	++	36.22	48hr
N-1	14.8	+++	31.41	48hr
N-2	9.2	+	18.67	48hr
N-3	12.8	++	43.81	48hr
S-11	16.8	+++	39.43	72hr
S-12	13.2	+	31.25	72hr
S-13	15.0	++	47.19	72hr
N-11	16.8	+++	47.67	72hr
N-12	13.2	+	40.92	72hr
N-13	15.6	++	<b>52.41</b>	72hr

표 1. 불포화지방산 (DHA) 생산 최적화를 위한 성장최적조건



그림 4. 불포화지방산 (DHA) Bioreactor experiment

#### 나. 성장촉진 및 LC/N3 강화 첨가제용 LC 미생물 최적화 연구

- 확보된 콜레스테롤 저하 미생물 JB101 균주의 최적 배양 조건을 확립하여 산업화하기 위해서 탄소원, 질소원, C/N ratio 등의 조정으로 biomass 최적조건 및 metabolite 생성 최적조건을 확립하였음

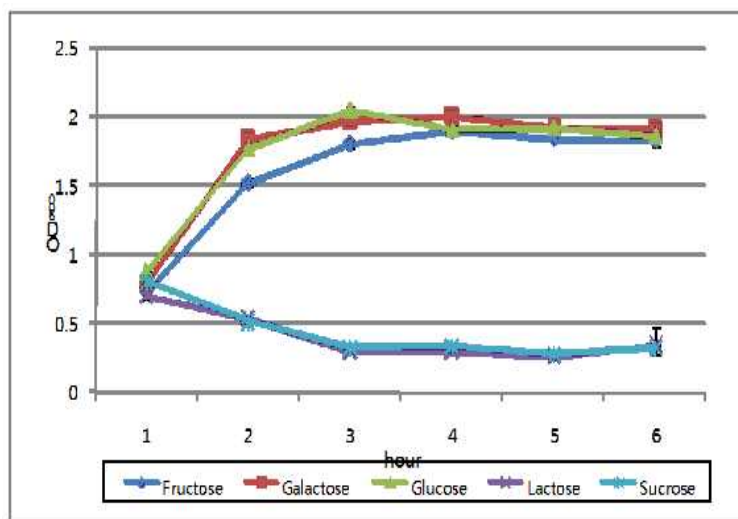


그림 5. LC 균주 생산 최적화를 위한 carbon source optimization

- 그림 5는 배지의 탄소원이 LC 균주의 생물체량(biomass)에 미치는 영향을 실험한 결과로 탄소원으로, fructose (◆), galactose (■), glucose (▲), lactose (×), sucrose (○)

를 각각 30 g/L로 배지에 첨가하고 배양한 결과 갈락토오스와 글루코오스가 다른 탄소원보다 높은 균주의 성장을 보였음

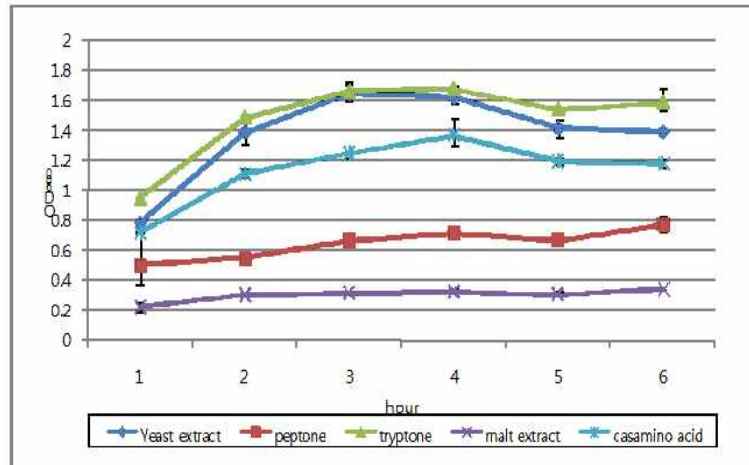


그림 6. LC 균주 생산 최적화를 위한 nitrogen source optimization

- 그림 6은 배지의 질소원이 균주의 생물체량(biomass)에 미치는 영향을 실험한 결과로 LC 균주의 배양시 영양원으로 10 g/L의 유기질소원으로 yeast extract (◆), peptone (□), tryptone (▲), malt extract (×), casamino acid (●)를 각각 배지에 첨가하고 배양한 후 균주의 생물체량을 측정하여 결과를 정리한 결과로 tryptone, yeast extract 및 casamino acid 등이 우수한 것으로 나타남

	Glucose	Arabinose	Cellobiose	Lactose	Rhamnose	Xylose	Sorbose	Sucrose	Starch
Yeast extract	++	+	++	++	+	-	+	+	+++
peptone	++	+	++	++	+	-	+	++	+++
Malt extract	++	+	++	+	+	+	+	++	+++
Tryptone	++	+	++	++	++	-	+	++	+++
대두박	++	++	++	+++	++	-	-	++	+++
Corn steep liquor	+	+	+	+	+	+	+	+	++
Casamino acid	+	+	++	++	+	-	+	+	+++
Proflo	+++	++	+++	++	+++	+	+	+++	++++
Beef extract	+	+	++	++	+	-	-	++	+++

표 2. Bioreactor에서 LC 균주 생산 최적화를 위한 nutrient optimization

C/N ratio	Culture time	DCW (g/L)
1:1	3 day	15
1:1	4 day	19.8
1:1	5 day	20.4
1:1	6 day	23.6
1:4	3 day	14.4
1:4	4 day	16.4
1:4	5 day	20.8
1:4	6 day	21.1

표 3. Bioreactor에서 LC 균주 생산 최적화를 위한 C/N ratio optimization

subfeeding	Culture	DCW(g/L)	subfeeding	Culture	DCW(g/L)
none	3day	7.0	3일 후	3day	8.0
	4day	7.0		4day	7.5
	5day	6.5		5day	9.0
	6day	5.5		6day	8.2
	7day	4.5		7day	8.0
	8day	4.5		8day	7.0
	9day	4.5		9day	5.5
	10day	5.5		10day	5.5

표 4. Bioreactor에서 LC 균주 생산 최적화를 위한 subfeeding optimization

## 다. 성장촉진 및 LC/N3 강화 첨가제용 N3 미생물 산업재산권 확보

### 【명세서】

#### 【발명의 명칭】

DHA 생산성을 향상시킨 스킨조키트리움 속 JBF-06 균주와 이를 이용한 DHA 생산방법 {Schizochytrium sp. JBF-06, strain for improvement of DHA production and the method of producing DHA using it}

#### 【기술분야】

【0001】 본 발명은 미생물을 이용한 DHA의 생산에 관한 것으로, 특히 DHA 생산성을 향상시킨 해양 미생물 및 이를 이용한 DHA의 생산에 관한 것이다.

#### 【배경기술】

##### 【0002】 불포화지방산

【0003】  $\omega$ -3 계열의 불포화지방산은 알킬사슬의 메틸기로부터 세 번째 원자에 최초의 이중 결합이 시작하는 지방산으로, EPA(Eicosapentaenoic acid, 20:5n-3)와 DHA(Docosahexaenoic acid, 22:6n-3)가 대표적인  $\omega$ -3 고도불포화지방산이다 (L. Sijtsma et al. 2004, Anita Nordeng Jakobsen 2008). 이들의 구조식은 아래 화학식 1과 같다. DHA는 22개의 탄소원자와 여섯 개의 이중결합으로 구성된 고도불포화지방산이며, EPA는 20개의 탄소원자와 다섯 개의 이중결합으로 구성된 고도불포화지방산이다. 이들은 인체 내에서 생합성이 용이하지 못하여 천연물에서 섭취해야 하는 필수지방산(essential fatty acid)이다. 동물의 경우  $\omega$ -3계 지방산인  $\alpha$ -리놀레산( $\alpha$ -linoleic acid,  $\alpha$ -LAN)으로부터 합성되며, 미생물에서 PUFAs의 합성

## 라. 성장 촉진용 장 마이크로비오타 미생물 균주 탐색

- 기존에 학계에서는 동물의 특성을 결정하는 형질은 유전, 환경, 혹은 유전과 환경의 조합에 의해 결정되어진다고 여겨져 왔었음
- 하지만 최근 숙주와 공생하고 있는 다양한 미생물 집합체인 microbiota가 유전자와 환경 못지않게 숙주의 다양한 형질을 결정한다는 사실이 규명되었음
- 동물의 경우 전체 지방과 당의 50-70 % 정도를 장내 microbiota의 도움을 통해 흡수하고 있어 (Nature 444, 1027-1031), 장내 microbiota를 구성하는 미생물은 다음과 같은 측면에서 소, 닭, 돼지등과 같은 주요 산업동물의 주요 형질에 커다란 영향을 줌
- 지방과 당은 동물의 가장 중요한 핵심영양소이어서, 가장 이상적인 microbiota가 동물의 장내에 형성되어지면 동물의 성장이 획기적으로 촉진될 가능성이 있음
- 특히 동물의 경우 먹이를 통해 섭취된 지방이 장 microbiota에 의해 불포화지방산으로 전환되는 경우처럼, 장 microbiota는 지방과 콜레스테롤 대사에 큰 영향을 미쳐, 최적의 장 microbiota가 형성되면 불포화지방산이 강화되고 콜레스테롤 함량이 낮아져 가장 이상적인 기능성 축산물을 생산할 수 있음
- 이러한 이유 때문에 당사에서는 닭과 돼지에서 microbiota를 구성하는 미생물들로부터 실험동물에 급이시 성장촉진, 불포화지방산 강화 및 콜레스테롤 저하 기능을 부여하는 첨가제 생산을 위한 후보 미생물 균주를 정하였음
- 주요 산업동물인 닭과 돼지의 배설물 용액을 Brain heart infusion Blood, Brucella Blood, Rogosa, MRS, LB, Mannitol salt, KF Streptococcus agar에서 배양하였음
- 각 agar 배지에서 형성된 미생물 colonies들을 순수 배양하여 morphological observation이나 biochemical typing에 의해 동정하였음
- 장 microbiota 미생물들은 37 oC/anaerobic 상태에서 배양 후 순수 배양된 수백 종류의 장내 미생물들을 stock으로 만든 후, data base화하였음

표 5. 장 마이크로비오타 미생물 database

S.No.	Media Type	Identified	Unidentified
1	Brain Heart Infusion blood agar Non-selective	7 Actinomyces meyeri 6 Clostridium clostridioforme 4 Clostridium paraputrificum 3 Clostridium sartagoformum 2 Clostridium ramosum 2 Lactobacilli gasseri	25 Unidentified (10 +ve bacilli, 8 -ve bacilli , 7 unknown)
2	Brucella blood agar Non-selective	5 Bacteroides vulgatus 3 Bacteroides acidofaciens	20 unidentified (8 -ve bacilli, 5 +ve bacilli, 1 -ve cocci, 6 unknown)
3	Rogosa SL agar Selective for Bifidobacterium & Lactobacillus	6 Lactobacillus reuteri 2 Lactobacillus sp. Clone M-16 2 Lactobacillus Murins M-6 1 Lactobacillus reuteri strain IMAU10038 1 Lactobacillus reuteri strain BCS134 1 Lactobacillus reuteri strain KLDS1.0737 3 Clostridium sp.	13 unidentified (5 +ve bacilli, 5 -ve bacilli, 3 unknown)
4	KF Streptococcus agar	8 Enterococcus faecalis 6 Enterococcus faecium 2 Vagococcus fluvialis 1 Alloiococcus otitis	15 unidentified (7 +ve cocci, 5 -ve cocci, 3 unknown)
5	Mannitol salt agar	5 Micrococcus luteus 5 Staphylococcus xylosus 3 Staphylococcus intermedius 2 Staphylococcus cohnii ssp. Urealyticus 2 Enterococcus faecalis	14 unidentified (9 +ve cocci, 5 unknown)
6	MRS agar Selective for Lactobacillus & Bifidobacterium	3 Lactobacillus Johnsonii 1 Lactobacilli gasseri	6 unidentified (5 + bacilli, 1 unknown)

Blood agar with 0.01% neomycin: selective for Clostridium, bacteroides, bifidobacterium  
MacConkey agar ; selective for enterobacteriaceae, staphylococcus spp, Enterococcus spp



표 6. 성장촉진, 불포화지방산 강화 및 콜레스테롤 저하 기능을 부여하는 미생물

특성	Strain
분리 균주 중 대표적 genus	<i>Actinomyces meyeri</i> spp. <i>Clostridium clostridioforme</i> , <i>Clostridium paraputrificum</i> , <i>Clostridium ramosum</i> , <i>Clostridium sartagoforumum</i> , <i>Clostridium sporogenes</i> , <i>Eubacterium</i> spp., <i>Enterococcus faecalis</i> , <i>Enterococcus faecium</i> , <i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Lactococcus</i> spp., <i>Lactobacillus johnsonii</i> , <i>Lactobacillus murinus</i> , <i>Lactobacillus reuteri</i> , <i>Lactobacillus</i> spp., <i>Lactobacillus reuteri</i> , <i>Lactobacillus gasseri</i> , <i>Lactobacillus johnsonii</i> , <i>Micrococcus luteus</i> , <i>Ruminococcus</i> sp., <i>Staphylococcus gallinarum</i> , <i>Staphylococcus intermedius</i> , <i>Staphylococcus cohnii</i> , <i>Streptococcus</i> spp
성장촉진 첨가제 후보 균주 JBF-group 1	<i>Lactococcus</i> spp. JBF-407 <i>Lactococcus</i> spp. JBF-408 <i>Lactococcus</i> spp. JBF-409 <i>Lactobacillus</i> spp. JBF-401 <i>Lactobacillus</i> spp. JBF-402 <i>Lactobacillus</i> spp. JBF-403 <i>Lactobacillus</i> spp. JBF-404 <i>Enterococcus</i> spp. JBF-405
콜레스테롤 저하 기능성 첨가제 후보 균주	<i>Lactobacillus</i> spp. JBF-301 <i>Lactobacillus</i> spp. JBF-302 <i>Lactobacillus</i> spp. JBF-303
불포화지방산 강화 첨가제 후보 균주	<i>Schizochitrium</i> spp. JBF-01 <i>Schizochitrium</i> spp. JBF-04 <i>Schizochitrium</i> spp. JBF-05 <i>Schizochitrium</i> spp. JBF-06

#### 마. 장 마이크로비오타 균주의 성장촉진 실험

- 장 마이크로비오타를 구성하는 주요 미생물 종류를 Brain heart infusion Blood, Brucella Blood, Rogosa, MRS, LB, Mannitol salt, KF Streptococcus 등과 같은 liquid 배지에 배양하였음
- 각 Brain heart infusion Blood, Brucella Blood, Rogosa, MRS, LB, Mannitol salt, KF Streptococcus 등과 같은 liquid 배지에 배양된 미생물 분리 후, 각 미생물 배양균체를 freeze dry하였음
- Freeze dry된 sample에서 cfu를 확인한 후, 동일한 cfu의 미생물들을 실험동물에 먹인 후, 성장촉진 기능이 있는 장 마이크로비오타 미생물 확보하였음
- 당사 연구팀에 의해 분리된 성장촉진 미생물들을 실험동물에 급이시 아래 그림에서와 같이 대조군 대비 40% 정도의 높은 성장촉진효과를 확인하였음
- 따라서 당사의 성장촉진 microbiota 미생물을 축산물 생산에 적용시 획기적인 성장촉진 효과가 기대되어 축산물 생산단가 인하가 예측됨

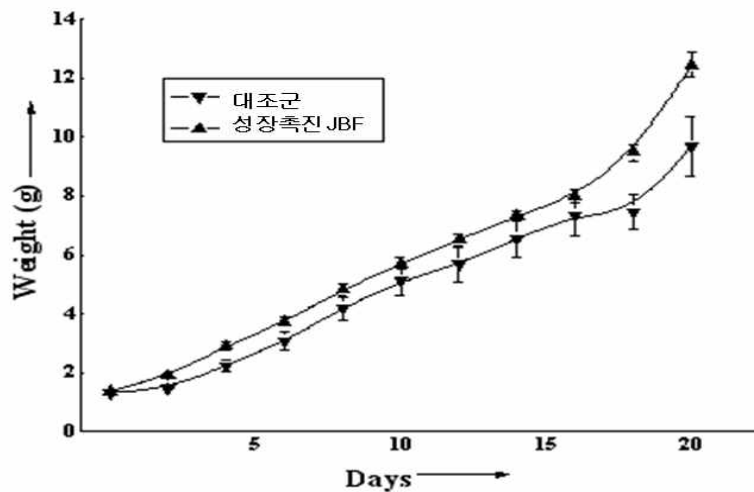
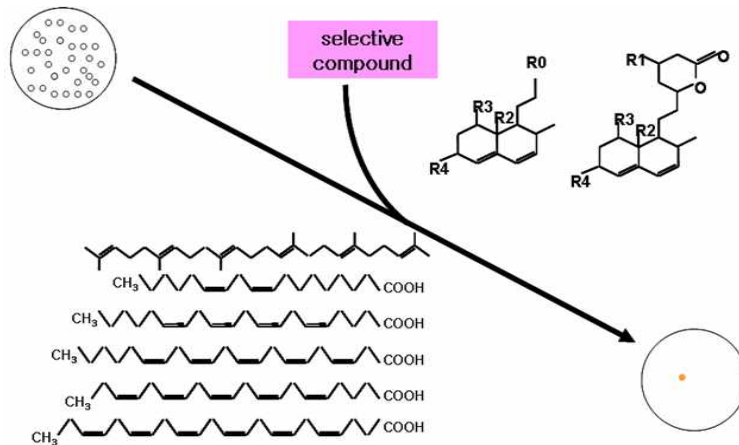


그림 7. 성장촉진 microbiota인 JBF의 성장 촉진 실험

## 2. 성장촉진, 불포화지방산 강화 및 콜레스테롤 저하 기능이 부여되는 천연 미생물균주 개량 및 성장촉진 및 LC/N3 강화 첨가제 생산공정개발/효능평가 (2차년도)

### 가. 성장촉진 및 LC/N3 강화 미생물 균주

- 제주도, 전남 통영, 완도, 청산도, 거문도등 국내 연안과 태평양 등의 바닷물에서 시료를 채취하여 후보 균주를 추가 분리함



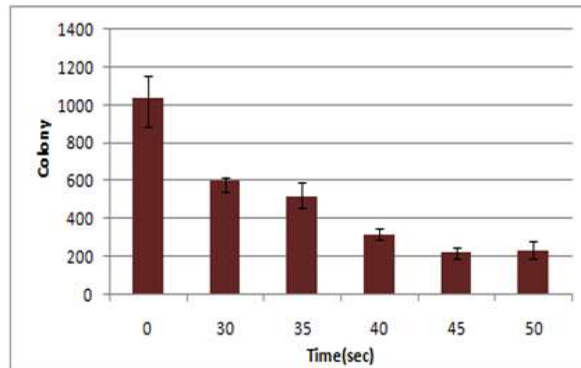
<그림 1> 다가불포화지방산 생성 미생물을 발굴하기 위한 TOSS screening

- TOSS system을 통한 1차 선별을 거쳐 PUFA-selective compound를 함유한 배지 상에서의 growth selection을 통해 omega 3 생성미생물의 positive TOSS (target-oriented selective selection)을 수행하여 최종적으로 omega 3 생성 후보균주를 결정하였음

### 나. 성장촉진 및 LC/N3 강화 미생물 균주 개량

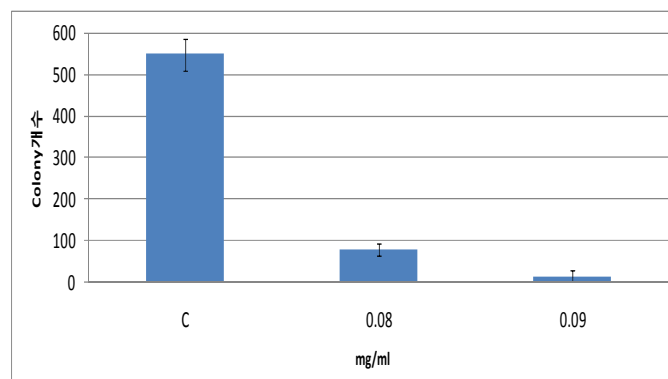
- omega 3 생산성 증가 균주를 확보하기 위해 UV-light를 다음 방법으로 처리하였음
- Parental strain을 기본배지에 25℃의 온도에서 250 rpm으로 18시간 동안 배양한 후  $1 \times 10^5$  cells/ml의 배양액 1 ml을 빈 petridish에 넣고 고루 퍼지게 흔들어 준 후 254 nm의 UVP Model R-52를 사용하였고 lamp와 시료사이의 간격은 15 cm로 하여 UV-light에 노출시킴
- UV에 의한 돌연변이 유발 실험을 위한 생존율 측정을 위하여 노출시간을 0, 30, 40, 50초 다르게 한 후 UV-light에 노출된 배양액을 agar가 첨가된 기본배지에 100 ul 접종한 후 25℃온도에서 48시간 배양함
- 배양 후 형성된 colony의 개수를 측정한 후 UV-light에 노출되지 않은 것과 비교하여

survival rate을 측정 한 결과 21% 생존율을 45~50초 노출되었을 때 screening하는데 있어서 가장 적정하다 판단되어 앞으로의 실험수행 시 UV-light에 50초 노출시킴



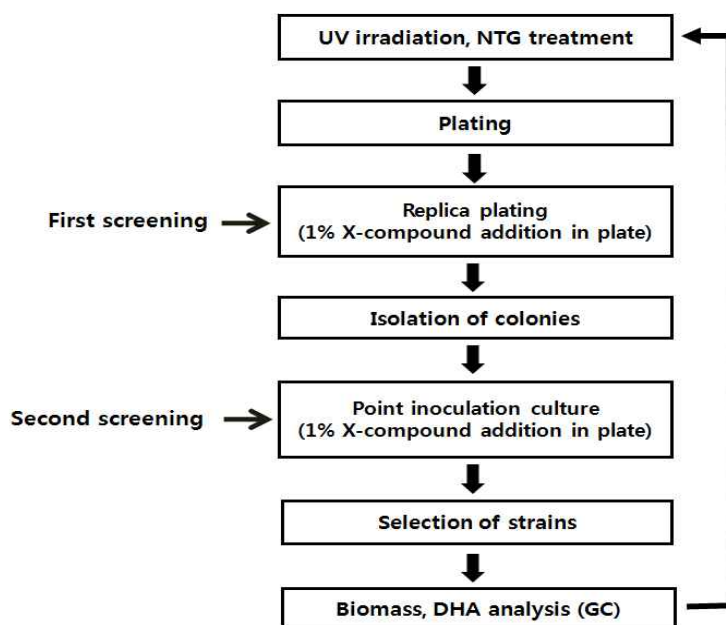
<그림 2> 균주개량을 위한 mutagenesis의 physical mutagen 강도 결정 실험

- 2nd round mutagenesis로는 NTG(N-methyl-N'-nitro-N- nitrosoguanidine)를 사용하였고 방법은 다음과 같음
- Parental strain을 기본배지에서 25℃의 온도에서 250 rpm으로 18시간동안 배양한 후 1X10<sup>6</sup> cells/ml로 희석된 배양액 10ml에 NTG를 농도를 달리 하여 처리한 후 30분 동안 반응시켰음
- 이때 처리된 NTG 농도는 0, 0.04, 0.08, 0.09 mg/ml이며 원심분리를 통하여 상층액을 제거한 후 한 번의 washing과정을 거친 후 100ul 취해 agar가 첨가된 기본배지에 접종한 후 25℃에서 48시간 배양한 후 형성된 colony의 개수를 측정하였음
- 사용된 NTG는 TCI (Tokyo Chemical Industry, 순도 95.0%이상) 제품을 사용하여 다양한 농도의 NTG 처리 후 배양하여 생존율을 측정 한 결과 11%의 생존율을 보인 0.08 mg/ml 농도의 NTG를 처리하였을 시 가장 적정하다 판단되어 앞으로의 실험을 수행할 시 0.08 mg/ml의 NTG를 처리하였음(그림3)



<그림 3> 균주개량을 위한 mutagenesis의 chemical mutagen 강도 결정 실험

- 예비 실험을 통하여 균주를 screening하는데 가장 적절한 X-compound의 농도를 찾은 결과 1%의 농도가 첨가된 고체배양배지에서 약  $4 \times 10^6$  cells/ml을 도달한 후 120시간 배양하였을 때 균이 성장하지 못하는 것을 알 수 있었음
- 1% 농도의 X-compound와 agar가 첨가된 기본배지에서 약  $3 \times 10^4$  cells/ml을 point inoculation을 통해 접종 시 균이 자라지 못하는 것을 알 수 있었음
- X-compound는 omega 3의 생산능력이 낮은 균주에 대해 성장을 억제하는 특징을 가지고, X-compound가 첨가된 배지에서 omega 3 생산 능력이 낮은 균주를 배양하였을 시 자라지 못하는 것을 관찰할 수 있었음
- 일정농도의 X-compound 내에서 single cell로 존재할 경우 자라지 못하지만 cell이 cluster로 존재해 cell간 밀집되어 있을 경우 자라는 것을 고체배지에서 배양한 결과 확인할 수 있었음
- 균주의 돌연변이 유발 후 agar가 첨가된 기본고체배지에서 colony가 형성되면 1% X-compound가 첨가된 기본고체배지에 replica plating을 통해 균주를 옮겨 심고, 25°C에서 120시간 배양 후 생존 균주를 isolation함
- screening된 균주들은 기본배지에서 배양한 후  $1 \times 10^5$  cells/ml로 희석하여 1% X-compound이 첨가된 고체기본배지에 3 ul 접종하여 72시간 배양한 후 colony의 형성 유무를 확인하여 screening함

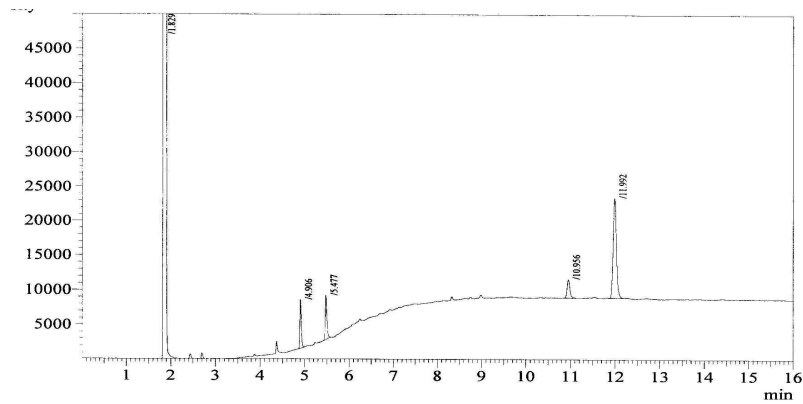


<그림 5> 돌연변이 유도된 균주들의 2단계 screening flow chart

#### 다. 성장촉진 및 LC/N3 강화 첨가제용 후보균주의 omega 3 생성량 분석

- 성장촉진 및 LC/N3 강화 첨가제용 후보균주의 omega 3 생성량은 가스크로마토그래피 (GC 수소염이온화 검출기 (FID))를 이용해 측정하였으며, 조건은 아래와 같음
- 14% 트리플루오로보란메탄올 (125g BF<sub>3</sub>/1 MeOH), 메탄올성 수산화나트륨 용액 (0.5N), 헥산 : 가스크로마토그래피용 및 내부표준용액을 준비하였음
- internal standard는 C11:0 triundecanoin 0.01g을 헥산(10ml)에 녹여 1,000 $\mu$ g/ml가 되게 한 후 내부표준물질 triundecanoic acid methyl ester 0.01g을 헥산에 녹여 1,000 $\mu$ g/ml가 되게 한 후 이를 각각 혼합하여 (1:1) 각각이 500 $\mu$ g/ml가 되게 하여 표준용액으로 사용하였음
- 검체 약 25mg을 유리 튜브에 정밀히 취하고 내부표준용액 1ml를 첨가하고, 0.5N 메탄올성 수산화나트륨용액 1.5ml를 가하고 질소를 불어넣은 후 즉시 뚜껑을 덮고 혼합한 후 100 $^{\circ}$ C heating block에서 약 5분간 가열하였음
- 냉각한 후 14% 트리플루오르보란메탄올용액 2ml를 가하고 다시 질소를 불어 넣은 후 즉시 밀폐시켜 혼합하고 100 $^{\circ}$ C에서 30분간 가열한 후 30~40 $^{\circ}$ C로 냉각하여 헥산용액 1ml를 가하여 질소를 불어넣은 후 밀폐시키고 30초간 격렬히 진탕한 후 다시 포화 염화나트륨용액 5ml를 가하고 질소를 불어넣은 후 밀폐시키고 진탕하였음
- 상온으로 냉각한 후 수층으로부터 분리된 헥산층을 새 유리 튜브에 넣고 질소를 불어 넣은 후 즉시 밀폐하였고, 수층에 헥산 1ml를 추가로 넣고 위와 같은 방법으로 추출한 후 헥산층을 전의 헥산액과 합산하여 이 액을 무수황산나트륨으로 탈수하고 질소를 불어넣은 후 분석 전까지 밀봉하였음
- 가스크로마토그래피 set-up & condition은 칼럼 SP-Omegawax 320 (Capillary column ; PEG 100% ; 30m  $\times$  0.32 mm  $\times$  0.52  $\mu$ m), 주입부온도 250 $^{\circ}$ C, 칼럼온도 200 $^{\circ}$ C, 검출기온도 260 $^{\circ}$ C, 유량 1.0ml/분, split ratio 10 : 1임
- 정성시험은 시험용액 및 지방산표준용액을 각각 1~2 $\mu$ l를 주입하여 RRT(Relative Retention Time ; 내부표준물질에 대한 각 지방산들의 머무름 시간의 비)를 사용하여 각각의 지방산을 확인하였고 정량시험은 정성시험법에 의해 얻은 각 지방산의 피크면적, 내부표준물질의 피크면적으로 정량하였음
- 돌연변이 유도를 통해 screening된 omega 3 생산균주의 omega 3 생산량을 GC를 통해 실제 균주의 omega 3 함량을 측정해 보고자 하였는데 일반적으로 전체 PUFA 중 omega 3의 경우 GC의 컬럼 내부에서 retention time이 약 12min으로 나옴
- omega 3의 정량적인 함량은 물질의 각 머무름 시간에 따른 피크의 area의 면적을 표

준물질과 비교하여 측정하였음



<그림 6> 미생물 유래 지방산 omega 3 - Spectrophotometer data

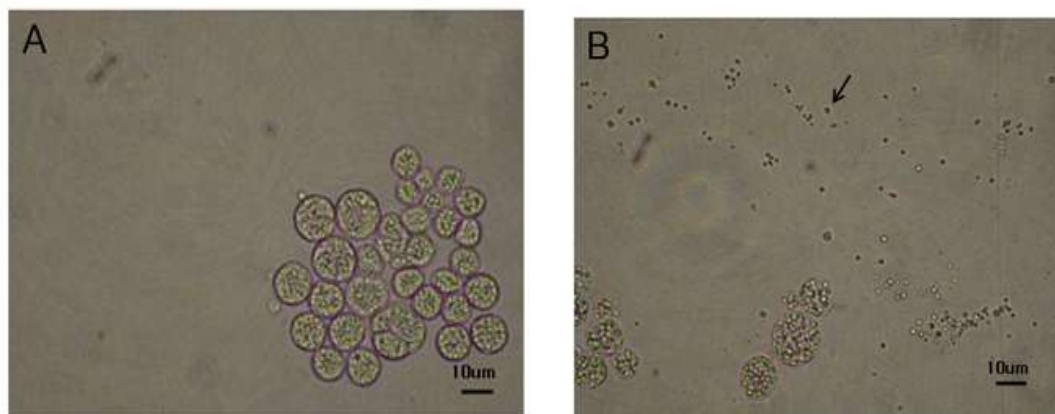
- 균주의 biomass는 세포건조중량을 통하여 측정하였는데 이를 위해 배양된 균주는 conical tube에 배양액을 10 ml 넣고 3200 rpm으로 10분간 원심 분리한 후 상층액을 제거하고 중량을 측정하였음

<표 1> 성장촉진 및 LC/N3 강화 첨가제용 후보균주

후보균주	Cell mass (ww; g/50ml)	Omega 3 (mg/g)
parental JBF-06	0.79	0.4862
JBF-06-m1	0.72	0.9508
JBF-06-m2	0.69	1.3053*
JBF-06-m3	1.04	1.5249
JBF-06-m4	0.96	1.5499
JBF-06-m5	1.71*	0.3391
JBF-06-m6	1.51*	0.4061
JBF-06-m7	0.76	1.3984
JBF-06-m8	1.73*	1.7163*
JBF-06-m9	1.09	2.0954*
JBF-06-m10	1.33	1.3065
JBF-06-m11	0.55	0.5964
JBF-06-m12	2.02*	0.5516
JBF-06-m13	0.77	2.1689*
JBF-06-m14	1.05	1.2128
JBF-06-m15	1.13	1.1895
JBF-06-m16	1.43	1.0001
JBF-06-m17	0.98	0.3985
JBF-06-m18	2.07*	0.6801
JBF-06-m19	1.02	0.0659
JBF-06-m20	1.06	0.0769

#### 라. 성장촉진 및 LC/N3 강화 미생물 첨가제 Bioreactor optimization

- 성장촉진 및 LC/N3 강화 첨가제용 균주인 JBF-06 mutant들 중 biomass 및 omega3 함량이 모두 우수한 JBF-06-mutant 8를 후보균주로 정하여 배양조건 실험을 Bioreactor에서 수행하였음



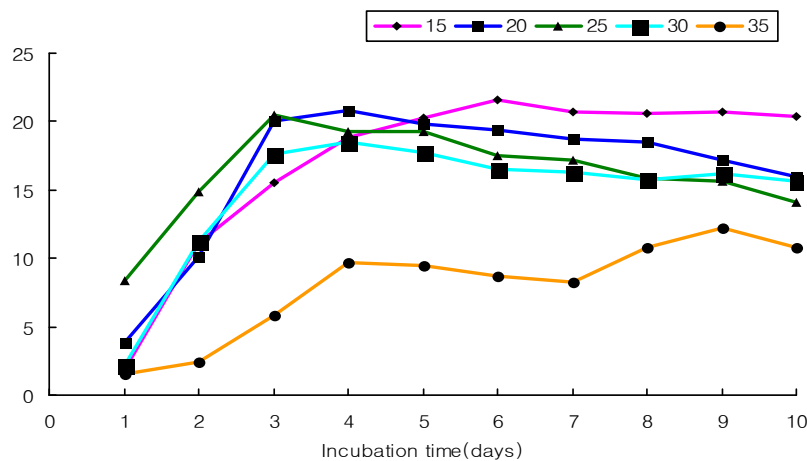
<그림 7> LC/N3 강화 미생물용 Omega 3 생성 균주 JBF06 mutant 8

- 균주의 성장을 측정하기 위한 방법으로 spectrophotometer (Eppendorf, Biophotometer)를 이용하여 OD600값을 측정하였음
- 이를 위해 기본배지에 효모추출물과 해수염은 고정시키고, 탄소원은 5종류를 각각 30 g/L씩 첨가하여 50 ml을 만든 후 멸균하여 사용하였음
- 사용된 탄소원의 종류는 과당(fructose, C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub>), 갈락토오스(galactose, C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub>), 글루코오스(C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub>), 유당(lactose, C<sub>12</sub>H<sub>22</sub>O<sub>11</sub> + H<sub>2</sub>O), 수크로오스(sucrose, C<sub>12</sub>H<sub>22</sub>O<sub>11</sub> + H<sub>2</sub>O) 등임
- 우선적으로 JBF-06-mutant 8 균주는 기본배지 50 ml에서 48시간 배양시킨 후 50 ml의 5종류의 다른 탄소원이 들어있는 각각의 기본배지에 5% (v/v)를 접종하여 144시간 동안 배양하면서 배양에 따른 균주의 성장을 측정하였고 이때 OD600값을 측정하기 위해 배양액을 10배 희석하여 측정한 값을 사용하였음
- 사용된 탄소원 중 fructose, glucose, galactose에서 우수한 성장을 보였으며 sucrose와 lactose에서는 양호한 수준의 성장을 보여 parental strain과 유사하였음
- 다음으로 JBF-06-mutant 8를 Bioreactor 배양시 5종류의 질소원에 대하여 균주의 성장을 비교하였음
- 균주의 성장을 측정하기 위한 방법으로 spectrophotometer (Eppendorf, Biophotometer)를 이용하여 OD600값을 측정하였음
- 이를 위해 기본배지에 글루코오스와 해수염은 일정한 농도로 첨가하고, 질소원은 5종



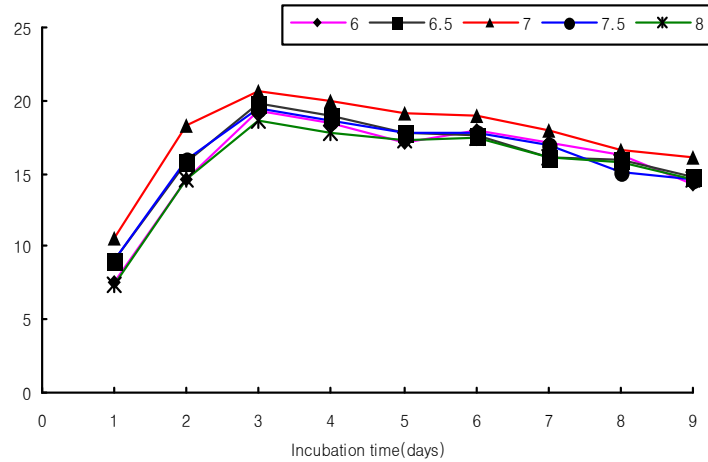
류를 각각 다르게 첨가하여 50 ml을 만든 후 멸균하여 사용하였음

- 사용된 질소원의 종류는 유기질소원으로 효모추출물, 펩톤, 트립톤, 맥아추출물(malt extract), casamino acid를 사용하였음
- 우선적으로 균주는 기본배지 50 ml에서 48시간 배양시킨 후 50 ml의 5종류의 다른 질소원이 들어있는 각각의 기본배지에 5% (v/v)를 접종하여 144시간 동안 배양하면서 배양에 따른 균주의 성장을 측정하였고 이때 OD600값을 측정하기 위해 배양액을 10배 희석하여 측정한 값을 사용하였음
- 유기질소원으로 효모추출물, 펩톤, 트립톤, 맥아추출물(malt extract), casamino acid를 사용하여 실험한 결과 yeast extract와 tryptone이 가장 우수했으며 다음으로 casamino acid, peptone, malt extract이서 우수한 성장을 보여 parental strain과 유사하였음
- 다음으로 균주를 Bioreactor 배양시 배양조건에 있어서 다양한 배양온도에 따른 균주의 성장을 조사하기 위해 균주를 기본배지 50 ml에서 48시간 배양시킨 후 50 ml의 기본배지에 5% (v/v)을 접종하여 144시간 동안 15°C, 20°C, 25°C, 30°C, 35°C에서 배양하면서 측정하였음



<그림 8> 온도의 차이에 의한 성장 곡선 비교실험

- 배양조건에 있어서 배양배지의 pH를 다양화하여 성장을 조사하기 위해 배양배지의 pH의 범위는 4, 5, 6, 7, 8에서 배양되었고 균주의 배양에 따라서 pH의 측정은 24시간마다 이루어졌고, 초기 배지의 pH를 각각 4, 5, 6, 7, 8로 맞추고 배양에 따라 pH를 유지하기 위해 24시간마다 보정도 함께 이루어졌음
- 균주는 기본배지 50 ml에서 48시간 배양시킨 후 50 ml의 기본배지에 5% (v/v)을 접종하여 144시간 동안 배양하면서 균주의 성장은 OD600값의 측정을 통해 알아보았음



<그림 9> pH의 차이에 의한 성장 곡선 비교실험

#### 마. 성장촉진 및 LC/N3 강화 미생물 첨가제 production

- 발효조 배양 시 사용된 영양원은 탄소원, 질소원이 사용되고 해수에서 분리된 균주의 특성을 고려하여 천일염을 첨가하여 배양하였는데 탄소원으로 산업용 포도당을 사용하였고, 질소원으로 산업용 이스트 엑스트랙트 분말을 사용하였으며 천일염은 시중에서 구할 수 있는 천일염을 사용하였음
- 발효조에서 균주를 배양 시 발효조 내부에서 거품이 발생하게 되는데 이는 배양 시 균주의 성장을 저해하게 되므로 소포제를 첨가하여 거품의 발생을 최소화시킴. 사용된 소포제는 (주)한국 다우코닝에서 판매하는 혼합제제 식품첨가물로 사용하는 LS-300 실리콘 소포제를 사용하였음
- 먼저 액체배양배지 3.5 L에 돌연변이 유도를 통해 생산성이 증가된 균주 1종을 접종 후 20℃에서 200 rpm의 교반속도로 4일 배양시킴
- 3.5 L배양된 균주를 500 L대형 발효조에 접종하여 배양한 결과 23℃에서 교반속도 100~150 rpm으로 air공급량은 0.5 v/v으로 맞추면서 배양할 시 이때 pH는 5.5~6으로 조정하여 2일간 배양 후 균주를 현미경으로 관찰한 결과 성장이 빠르게 진행된 것을 확인할 수 있었음
- 2.5 t 대형 발효조에서 균주의 배양을 위한 조건으로 배양온도는 23 ℃, 교반속도는 약 100 rpm으로 조정하고, pH는 약 6~7로 맞춘 후 약 4일간 배양 시 성장이 빠르게 진행된 것을 확인할 수 있었음
- 발효조에서 균주를 배양 시 pH의 변화를 관찰한 결과 pH가 초기에 7이상으로 올라갔다 배양이 진행되면서 점차 떨어지는 것으로 확인되었음. 따라서 pH를 일정하게 조정하기 위해 수산화암모늄과 아세트산을 첨가하여 pH를 조절하였음

- 배양된 배양액은 진동 막분리 장치(Pollsep VMF 400))를 이용하여 균체를 회수(약 200 L)하게 되는데 2.5 t (1,500 L) 발효조에서 배양 시 약 20 kg의 균체를 생산할 수 있음을 확인하였음
- 대형 발효조에서 균주를 배양 하였을 시 실험실에서 배양하였을 때 보다 균주의 성장이 더 빠르게 일어나는 것을 확인할 수 있었는데 산소공급량, pH, 배지의 차이 등 여러 가지 원인을 생각해 볼 수 있어 배지의 차이와 pH에 따른 영향을 확인해 보고자 실험을 수행함
- 실험배지와 생산배지 간에 성장의 차이를 보고자 하였는데 실험배지는 실험실에서 사용되는 배지로 생산배지와는 제조되는 회사와 grade의 차이를 가지는데 생산배지는 대형발효조에서 균주를 배양하기 위해 실험실에서 사용되는 배지에 비해 가격이 저렴하나 grade가 약간 낮음

## 바. 성장촉진 및 LC/N3 강화 미생물 첨가제 Production Manual

### ① LC/N3 강화 Omega 3 생성 미생물의 증식배지 및 증식공정 draft

- 본 공정의 목적은 성장촉진 및 LC/N3 강화 첨가제용 미생물의 배양배지 성분 중에 고가의 기존 성분들을 대체할 수 있도록 가격은 기존 성분보다 저렴하면서 미생물의 증식을 저해하지 않거나 오히려 촉진하면서 경제적으로 키워내는 것임
- 이를 위해 본 공정의 미생물의 밀도를 높여주는 증식배지는, 미생물의 배양에 통상적으로 사용된 성분 중 상대적으로 가격이 비싼 성분인 yeast extract를 대체할 수 있는 질소원, glucose을 대체할 수 있는 탄소원, 인조해수(Artificial Sea Water)를 대체할 수 있는 염 및 기타 통상적으로 사용되는 미량성분 등이 omega 3 생성 미생물의 증식을 촉진하는 함량으로 이루어져 있음
- 본 공정의 omega 3 생성 미생물의 밀도를 높여주는 증식배지는 1) 질소원으로 목화씨 추출물 (cotton seed extract), 옥수수침수액 (corn steep liquor); 2) 탄소원으로 potato starch, wheat starch, corn starch, corn gluten meal, ethanol, acetic acid 중 하나; 3) 천일염; 4) 미량 이온 용액으로 이루어짐
- 본 공정의 증식배지는 1) 0.5~2.5% (w/w)의 cotton seed extract, corn steep liquor; 2) 0.5~5% (w/w)의 potato starch, wheat starch, corn starch, corn gluten meal, ethanol, acetic acid 중 하나; 3) 2.5~5% (w/w)의 천일염; 4) 증식배지용 미량 이온 용액으로 이루어져 있음
- 본 공정의 omega 3 생성 미생물의 밀도를 높여주는 증식 공정은 기술된 증식배지를 이용하여, omega 3 생성 미생물을 접종한 후, 유산소 조건에서 20℃의 조건으로 2

일~10일 동안 키우는 방법으로 이루어져 있음

<표 2> 각 증식배지 조성

증식배지	구성 성분 (리터당)
CPS	10g cotton seed extract, 10ml corn steep liquor, 22g potato starch, 30g 천일염, 3g CaCO <sub>3</sub> , 40mg ZnCl <sub>2</sub> , 200mg FeCl <sub>3</sub> · 6H <sub>2</sub> O, 10mg CuCl <sub>2</sub> · 2H <sub>2</sub> O, 10mg MnCl <sub>2</sub> · 4H <sub>2</sub> O, 10mg Na <sub>2</sub> B <sub>4</sub> O <sub>7</sub> · 10H <sub>2</sub> O, 10mg (NH <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> Mo <sub>7</sub> O <sub>24</sub> · 4H <sub>2</sub> O
CWS	10g cotton seed extract, 10ml corn steep liquor, 22g wheat starch, 30g 천일염, 3g CaCO <sub>3</sub> , 40mg ZnCl <sub>2</sub> , 200mg FeCl <sub>3</sub> · 6H <sub>2</sub> O, 10mg CuCl <sub>2</sub> · 2H <sub>2</sub> O, 10mg MnCl <sub>2</sub> · 4H <sub>2</sub> O, 10mg Na <sub>2</sub> B <sub>4</sub> O <sub>7</sub> · 10H <sub>2</sub> O, 10mg (NH <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> Mo <sub>7</sub> O <sub>24</sub> · 4H <sub>2</sub> O
CCS	10g cotton seed extract, 10ml corn steep liquor, 22g corn starch, 30g 천일염, 3g CaCO <sub>3</sub> , 40mg ZnCl <sub>2</sub> , 200mg FeCl <sub>3</sub> · 6H <sub>2</sub> O, 10mg CuCl <sub>2</sub> · 2H <sub>2</sub> O, 10mg MnCl <sub>2</sub> · 4H <sub>2</sub> O, 10mg Na <sub>2</sub> B <sub>4</sub> O <sub>7</sub> · 10H <sub>2</sub> O, 10mg (NH <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> Mo <sub>7</sub> O <sub>24</sub> · 4H <sub>2</sub> O
CCG	10g cotton seed extract, 10ml corn steep liquor, 22g corn gluten meal, 30g 천일염, 3g CaCO <sub>3</sub> , 40mg ZnCl <sub>2</sub> , 200mg FeCl <sub>3</sub> · 6H <sub>2</sub> O, 10mg CuCl <sub>2</sub> · 2H <sub>2</sub> O, 10mg MnCl <sub>2</sub> · 4H <sub>2</sub> O, 10mg Na <sub>2</sub> B <sub>4</sub> O <sub>7</sub> · 10H <sub>2</sub> O, 10mg (NH <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> Mo <sub>7</sub> O <sub>24</sub> · 4H <sub>2</sub> O
CE	10g cotton seed extract, 10ml corn steep liquor, 22ml ethanol, 30g 천일염, 3g CaCO <sub>3</sub> , 40mg ZnCl <sub>2</sub> , 200mg FeCl <sub>3</sub> · 6H <sub>2</sub> O, 10mg CuCl <sub>2</sub> · 2H <sub>2</sub> O, 10mg MnCl <sub>2</sub> · 4H <sub>2</sub> O, 10mg Na <sub>2</sub> B <sub>4</sub> O <sub>7</sub> · 10H <sub>2</sub> O, 10mg (NH <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> Mo <sub>7</sub> O <sub>24</sub> · 4H <sub>2</sub> O
CA	10g cotton seed extract, 10ml corn steep liquor, 22ml acetic acid, 30g 천일염, 3g CaCO <sub>3</sub> , 40mg ZnCl <sub>2</sub> , 200mg FeCl <sub>3</sub> · 6H <sub>2</sub> O, 10mg CuCl <sub>2</sub> · 2H <sub>2</sub> O, 10mg MnCl <sub>2</sub> · 4H <sub>2</sub> O, 10mg Na <sub>2</sub> B <sub>4</sub> O <sub>7</sub> · 10H <sub>2</sub> O, 10mg (NH <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> Mo <sub>7</sub> O <sub>24</sub> · 4H <sub>2</sub> O

- omega 3 생성 미생물들을 250ml의 증식배지를 담은 500ml 플라스크에 0.1-10% (v/v)로 접종하여 20℃에서 2~4일간 100 rpm으로 키운다. 다음으로 500ml의 증식배지를 담은 2ℓ 플라스크에 일차 배양액을 5-10% (v/v)로 접종하여 20℃에서 2~4일간 100 rpm으로 키운다. 다음으로 3ℓ의 증식배지를 담은 5ℓ jar fermenter에 이차 배양액을 5-10% (v/v)로 접종하여 20℃에서 2~4일간 100 rpm으로 키운다. 다음으로 얻어진 배양액은 omega 3 생산공정에 사용함

② LC/N3 강화 Omega 3 미생물의 생산배지 및 생산공정 draft

- omega 3의 합성이 촉진되기 위해서는 지방산의 합성이 용이하여야 하며, 지방산의 합성에 있어 중요한 점은 지방산을 구성하고 있는 필수성분인 탄소원이 배지성분으로 풍부하게 공급되어야 한다는 점임
- 본 공정의 목적은 omega 3 생성 미생물의 배양배지 성분 중에 고가의 기존 성분들을 대체할 수 있도록 가격은 기존 성분보다 저렴하면서 omega 3의 생산을 저해하지 않거나 오히려 촉진하여 omega 3을 경제적으로 생산하는 것임
- 이를 위해 본 공정의 omega 3의 생산 수율을 높여주는 생산배지는 yeast extract를 대체할 수 있는 질소원, glucose을 대체할 수 있는 탄소원, 인조해수(Artificial Sea Water)를 대체할 수 있는 염 및 기타 성분 등이 omega 3의 합성을 촉진하는 함량으

로 이루어져 있음

<표 3> ASW formula

salt & mineral	Formula	molar concentration
sodium chloride	NaCl	0.05-0.5
potassium chloride	KCl	0.005-0.05
calcium chloride	CaCl <sub>2</sub> *2H <sub>2</sub> O	0.005-0.05
magnesium sulfate	MgSO <sub>4</sub> *7H <sub>2</sub> O	0.01-0.05
magnesium chloride	MnCl*6H <sub>2</sub> O	0.005-0.05
minor mineral mix	formula	0.005-0.05

- 본 공정의 생산배지는 기술한 증식배지와 구성성분은 같으나 omega 3 생산 수율을 높여주기 위해 지방산 생성의 초기대사에 다량 필요한 탄소원의 함량을 증가시키는 함량 비로 이루어짐
- 본 공정의 생산배지는 1) 0.5~5% (w/w)의 cotton seed extract와 corn steep liquor; 2) 1~20% (w/w)의 potato starch, wheat starch, corn starch, corn gluten meal, ethanol, acetic acid 중 하나; 3) 2.5~5% (w/w)의 천일염; 4) 생산배지용 미량 이온 용액으로 이루어져 있음

<표 4> 각 생산배지 조성

생산배지	구성 성분 (리터당)
CPS-P	10g cotton seed extract, 10ml corn steep liquor, 66g potato starch, 30g 천일염, 3g CaCO <sub>3</sub> , 40mg ZnCl <sub>2</sub> , 200mg FeCl <sub>3</sub> · 6H <sub>2</sub> O, 10mg CuCl <sub>2</sub> · 2H <sub>2</sub> O, 10mg MnCl <sub>2</sub> · 4H <sub>2</sub> O, 10mg Na <sub>2</sub> B <sub>4</sub> O <sub>7</sub> · 10H <sub>2</sub> O, 10mg (NH <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> Mo <sub>7</sub> O <sub>24</sub> · 4H <sub>2</sub> O, ASW supplement
CWS-P	10g cotton seed extract, 10ml corn steep liquor, 66g wheat starch, 30g 천일염, 3g CaCO <sub>3</sub> , 40mg ZnCl <sub>2</sub> , 200mg FeCl <sub>3</sub> · 6H <sub>2</sub> O, 10mg CuCl <sub>2</sub> · 2H <sub>2</sub> O, 10mg MnCl <sub>2</sub> · 4H <sub>2</sub> O, 10mg Na <sub>2</sub> B <sub>4</sub> O <sub>7</sub> · 10H <sub>2</sub> O, 10mg (NH <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> Mo <sub>7</sub> O <sub>24</sub> · 4H <sub>2</sub> O, ASW supplement
CCS-P	10g cotton seed extract, 10ml corn steep liquor, 66g corn starch, 30g 천일염, 3g CaCO <sub>3</sub> , 40mg ZnCl <sub>2</sub> , 200mg FeCl <sub>3</sub> · 6H <sub>2</sub> O, 10mg CuCl <sub>2</sub> · 2H <sub>2</sub> O, 10mg MnCl <sub>2</sub> · 4H <sub>2</sub> O, 10mg Na <sub>2</sub> B <sub>4</sub> O <sub>7</sub> · 10H <sub>2</sub> O, 10mg (NH <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> Mo <sub>7</sub> O <sub>24</sub> · 4H <sub>2</sub> O, ASW supplement
CCG-P	10g cotton seed extract, 10ml corn steep liquor, 66g corn gluten meal, 30g 천일염, 3g CaCO <sub>3</sub> , 40mg ZnCl <sub>2</sub> , 200mg FeCl <sub>3</sub> · 6H <sub>2</sub> O, 10mg CuCl <sub>2</sub> · 2H <sub>2</sub> O, 10mg MnCl <sub>2</sub> · 4H <sub>2</sub> O, 10mg Na <sub>2</sub> B <sub>4</sub> O <sub>7</sub> · 10H <sub>2</sub> O, 10mg (NH <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> Mo <sub>7</sub> O <sub>24</sub> · 4H <sub>2</sub> O, ASW supplement
CE-P	10g cotton seed extract, 10ml corn steep liquor, 66ml ethanol, 30g 천일염, 3g CaCO <sub>3</sub> , 40mg ZnCl <sub>2</sub> , 200mg FeCl <sub>3</sub> · 6H <sub>2</sub> O, 10mg CuCl <sub>2</sub> · 2H <sub>2</sub> O, 10mg MnCl <sub>2</sub> · 4H <sub>2</sub> O, 10mg Na <sub>2</sub> B <sub>4</sub> O <sub>7</sub> · 10H <sub>2</sub> O, 10mg (NH <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> Mo <sub>7</sub> O <sub>24</sub> · 4H <sub>2</sub> O, ASW supplement
CA-P	10g cotton seed extract, 10ml corn steep liquor, 66ml acetic acid, 30g 천일염, 3g CaCO <sub>3</sub> , 40mg ZnCl <sub>2</sub> , 200mg FeCl <sub>3</sub> · 6H <sub>2</sub> O, 10mg CuCl <sub>2</sub> · 2H <sub>2</sub> O, 10mg MnCl <sub>2</sub> · 4H <sub>2</sub> O, 10mg Na <sub>2</sub> B <sub>4</sub> O <sub>7</sub> · 10H <sub>2</sub> O, 10mg (NH <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> Mo <sub>7</sub> O <sub>24</sub> · 4H <sub>2</sub> O, ASW supplement

- 본 공정의 omega 3 생산 공정은 기술된 생산배지를 이용하여, omega 3 생성 미생물을 접종한 후, 유산소 조건에서 20℃의 조건으로 2일~10일 동안 키우는 방법으로 이루어짐
- 바람직하게는 omega 3 생성 미생물의 증식배양액을 150 l 생물반응기에 5-10%(v/v)로 접종하여 150 rpm, pH 6.5~7.2, 20℃~24℃의 범위 내에서 2~10일 동안 배양하였음

### ③ LC/N3 강화 omega 3 생성 미생물의 증식 및 omega 3 생성 실험

- omega 3 생성 미생물을 250ml의 증식배지를 담은 50 ml 플라스크에 0.1-10% (v/v)로 접종하여 20℃에서 3일간 배양하였다. 다음으로 500 ml의 증식배지를 담은 2 l 플라스크에 일차 배양액을 5-10% (v/v)로 접종하여 20℃에서 3일간 배양하였음
- 다음으로 3 l의 증식배지를 담은 5 l jar fermenter에 이차 배양액을 5-10% (v/v)로 접종하여 20℃에서 3일간 100 rpm으로 키운 후 얻어진 배양액의 50 ml을 전체량 측정에 사용하였고 나머지는 다가불포화지방산 생산공정에 사용하였음
- omega 3 생성 미생물의 증식배양 후 미생물의 증식정도를 비교하기 위해 증식배지 배양액 50 ml을 0.8 μm 나일론 필터로 여과한 후 60℃에서 진공상태로 세포들을 건조시킨 다음 무게를 측정하였음 (표5).

**<표 5> LC/N3 omega 3 생성 미생물의 성장성 비교**

생산배지	Dry Cell Weight (g/L)
CPS	19.2
CWS	18.5
CCS	11.3
CCG	39.5
CE	13.2
CA	30.8
미국특허 5374657 배지	10-20
미국특허 5340594 배지	4-10

- omega 3 생성 미생물을 각각의 증식배지에서 미생물 밀도가 극대화 되도록 배양한 후, 이를 150 l 생물반응기에 5-10% (v/v)로 접종하여 150 rpm, pH 6.5~7.2, 24℃~27℃의 범위 내에서 8일 동안 배양하였음
- 배양액으로부터 omega 3을 정량하여 omega 3의 생산성을 비교하였음
- 먼저, 배양액 50 ml을 3,200 rpm에서 15분동안 원심분리하여 상층액은 제거하고 침전물을 회수하여 무게를 측정한 후 침전물에 3 ml 4% H2SO4 methanol solution을 넣고

100℃ 1시간동안 heating 처리하였음

- 열처리 다음에는 실온으로 식힌 후 2ml 증류수와 2ml hexane를 넣고 30초간 vortexing 한 후 gas-chromatography (GC-2010, SHIMADZU)에서 분석하였음
- GC 분석으로 omega 3 정량시 internal standard는 Heptadecanoic acid (17:0) hexane ml당 0.1mg으로 하여 사용하였음
- omega 3 분석을 위해 RTX wax column (Film thickness 0.25µm)을 사용하였고, GC의 조건은 injector temp. 240℃, column temp. 150℃에서 시작하여 분당 15℃씩 증가시켜 최종온도는 240℃로 하였고, detector temp. 250℃로 하였으며, carrier gas N2/Air를 사용하였음 Column flow은 분당 0.94ml로 하였고, split ratio는 100으로 하여 사용하였음

<표 6> LC/N3 omega 3 생성 미생물의 omega 3의 생산성 비교

증식배지	omega 3 생산량 (g/L)
CPS-P	0.85
CWS-P	0.77
CCS-P	0.93
CCG-P	6.7
CE-P	1.3
CA-P	3.7
미국특허 5374657 배지	0.5-5
미국특허 5340594 배지	0.3-5

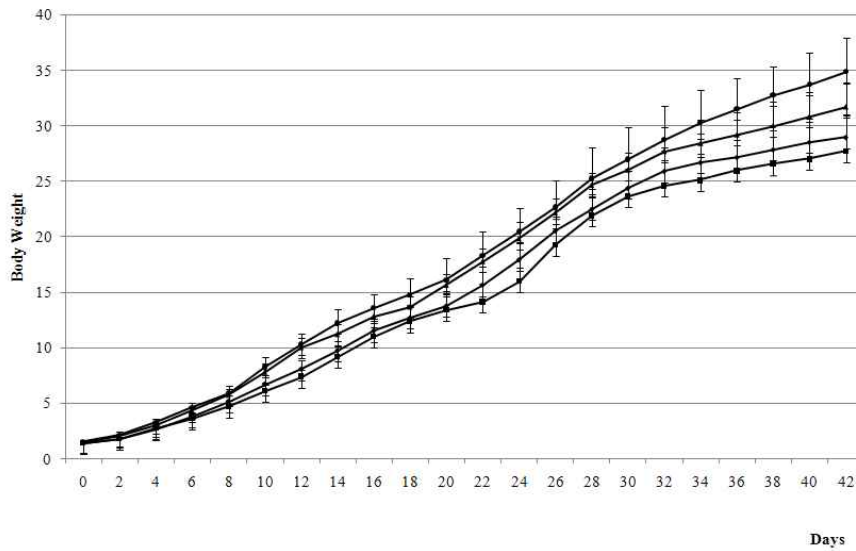
- 위의 결과에서 알 수 있듯이 본 공정에서 개발한 배지들의 경우 현재 활용되어지고 있는 기타 고가의 배지들에 비해 비슷하거나 더 많은 양의 omega 3을 생산하는 것으로 나타났다.

#### 사. 성장촉진 및 LC/N3 강화 미생물 첨가제 효능 평가

- 장 마이크로비오타를 구성하는 주요 미생물 종류를 Brain heart infusion Blood, Brucella Blood, Rogosa, MRS, LB, Mannitol salt, KF Streptococcus 등과 같은 liquid 배지에 배양하였음
- 각 Brain heart infusion Blood, Brucella Blood, Rogosa, MRS, LB, Mannitol salt, KF Streptococcus 등과 같은 liquid 배지에 배양된 미생물 분리 후, 각 미생물 배양균체를 freeze dry하였음
- Freeze dry된 sample에서 cfu를 확인한 후, 동일한 cfu의 미생물들을 실험동물에 먹인

후, 성장촉진 기능이 있는 장 마이크로비오타 미생물 group JBF-group 1을 확보하여 Lactobacillus spp. JBF-401, 402, 403, 404, 405 및 Lactococcus spp. JBF-407, 408, 409을 동정하였고 이들의 성장이 우수한 순으로 screening한 결과 Lactobacillus spp. JBF-401을 선정하였음

- Lactobacillus spp. JBF-401을 실험동물에 급이시 아래 그림에서와 같이 대조군 대비 최대 40% 정도의 높은 성장촉진효과를 확인하였음



<그림 10> 성장촉진 microbiota의 dose별 성장 촉진 실험



### 3. 성장촉진 및 LC/N3 강화 첨가제 생산기술 개발 완료 및 사업화 (3차년도)

#### 가. 성장촉진 microbiota 미생물 균주 분리

- 본 연구에서는 장내 영양섭취 및 에너지 추출을 증가시킬 수 있는 장내 콜로나이제이션(집락, colonization)이 포유동물의 성장을 촉진할 수 있다고 가정하고, 이러한 가설을 바탕으로 장내 세균들을 분리하여 동물의 성장에 미치는 영향을 조사하였음
- 장내세균을 분리하기 위해서 8주령의 건강한 일반 실험쥐 10여 마리로부터 얻어진 배설물로부터 각각 0.2-0.5g의 시료를 1 ml 생리적 식염수에 현탁한 후 호모게나이저와 vortex로 5분간 균질 혼합하여, serial dilution으로 10<sup>-4</sup>~10<sup>-5</sup> 희석액을 준비한 후 0.1 ml씩 Brucella blood agar, Rogosa agar, MRS 아가, Mannitol salt agar, KF 스트렙토코커스 아가(Becton Dickinson)에 깔고 Anaero-Packs (Mitsubishi Gas Chemical)을 이용하여 37°C에서 48-72시간 혐기배양하였거나 만니톨 염과 KF 스트렙토코커스 아가에 깔고 37°C에서 48시간 호기배양하였음
- 배양 완료 후 콜로니가 형성된 세균들을 브로스 배지(broth media)에서 액상배양한 후 1차 그람염색을 하였고, 다음으로 VITEK 2 ANC와 API 20 system으로 동정하거나 좀 더 정확한 장내 세균 동정을 위해서 16S-rRNA 유전자 서열분석을 수행하였음
- 이를 위해 각 균주로부터 지놈 DNA를 얻어낸 후 범용 프라이머 세트, 27F-AGA GTT TGA TCC TGG CTC AG and 149R-GGT TAC CTT GTT ACG ACTT를 이용하여 PCR로 증폭하여 16S rRNA의 염기서열을 얻어내어 NCBI-데이터베이스의 BLAST 서치 결과를 이용하여 동정하여 그룹화하였음

그룹	Strain
Firmicutes	Actinomyces meyeri, Alloiococcus otitis, Clostridium celatum, Clostridium clostridioforme, Clostridium nexile, Clostridium orbiscindens Clostridium paraputrificum, Clostridium ramosum, Clostridium sartagoformum, Clostridium sporogenes, Eubacterium combesii, Eubacterium limosum, Eubacterium sulci, Enterococcus faecalis, Enterococcus faecium, Lactobacilli gasseri, Lactobacillus johnsonii, Lactobacillus murinus, Lactobacillus reuteri, Lactobacillus spp., Lactobacillus sp. IMAU10038, Lactobacillus sp. BCS134, Lactobacillus sp. KLDS1.0737, Micrococcus luteus, Ruminococcus sp.nov.Staphylococcus gallinarum, Staphylococcus intermedius Staphylococcus xylosus, Staphylococcus cohnii, Streptococcus intermedius, Streptococcus mitis, Streptococcus mutans, Streptococcus sobrinus Vagococcus fluviali, Bifidobacterium spp., Enterococcus faecium, Lactobacillus reuteri, Lactobacillus gasseri, Lactobacillus johnsoni
Bacteroidetes	Bacteroides vulgatus, Bacteroides acidofaciens, Bacteroides spp

## 나. 장내세균 콜로나이제이션의 성장촉진효과

- 일반적인 방법으로 사육된 쥐에 장내 세균들을 콜로나이제이션 시킨 후 이로 인한 성장 촉진 효과를 조사하기 위해 무균 상태의 신생 마우스들(neonatal mice)가 태어나자마자 박테로이데테스 그룹, 페르미쿠테스 그룹, 박테로이데테스와 페르미쿠테스의 혼합 그룹, 또는 프로바이오틱스 그룹을 바로 섭취시켜 콜로나이제이션을 유도한 후 성장 정도를 체중변화로 측정하였음
- 무균 상태로 유지된 무균(germ-free) 실험쥐 SWGF는 구입 후 22도의 항온 무균 상태의 무균 아이솔레이터(gnotobiotic isolator)에서 따로 사육하였다.



그림 11. 동물 실험실

- 무균 상태에서 7주령의 SWGF 마우스 (Taconic, Germantown, USA) 암수를 교배하여 임신한 쥐는 멸균수와 멸균사료(18% crude protein, 4% crude fat, 5% crude fiber and 8% Ash)를 자유급이하면서 관리되었다. 임신기간이 끝난 후 출산으로 얻어진 신생 실험쥐들(neonate mice)은 즉시 장내 세균 현탁액을 경구투여하여 콜로나이제이션을 유도한 후 성장 정도를 체중변화로 측정하였음
- 신생 실험쥐에 투여할 세균 현탁액을 준비하기 위하여, 먼저 각 균주들을 각각의 고상 배지에서 48시간 충분히 배양하여 얻어진 각 장내세균의 콜로니를 준비하였으며, 이로부터 inoculum을 따서 1ml의 생리적 식염수에 현탁한 후 각 그룹별로 속하는 장내세균의 콜로니를 모두 섞어 그룹별 균주 혼합 현탁액으로 준비한 후 5분간 vortex 한 후 10  $\mu$ l을 신생 실험쥐에 경구투여하였음
- 장내 세균 현탁액을 경구투여한 후에는 무균 아이솔레이터(gnotobiotic isolator)에 있는 엄마 쥐와 사육하면서 3주간 모유 수유되도록 하였고, 이유기인 3주 이후부터는 멸균 사료와 멸균수를 자유급이하면서, 실험기간동안 배설물에 있는 미생물의 16S rRNA 유전자 서열분석을 격주로 수행하여 장내 세균 집락의 유지를 확인하였음
- 실험기간동안 체중의 증가로 성장촉진 효과를 가지는 경우 체지방 증가가 동반되는지

확인하기 위하여 3주와 6주에 각각 체지방을 측정하였음

- 체지방을 측정하기 위하여 실험쥐들을 Zoletil 50 (10 mg/kg body weight)과 Romphun (10 mg/kg)을 복강주사하여 마취시키고 5분 후 dual-energy X-ray Absorptiometry (Sky Scan 1076 Micro-CT system)로 측정하여 이때 척추의 L1 에서 L5 부위를 스캔하여 체지방 분석을 수행하였음

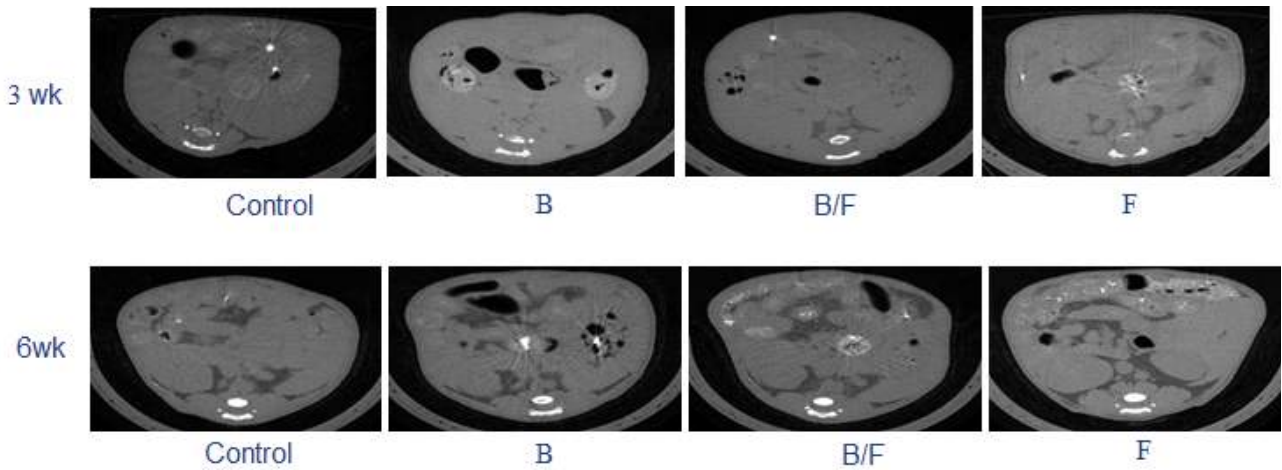


그림 12. 성장촉진 LN/N3 첨가제 (B, BF, F)의 급이 후 체지방 분석 image

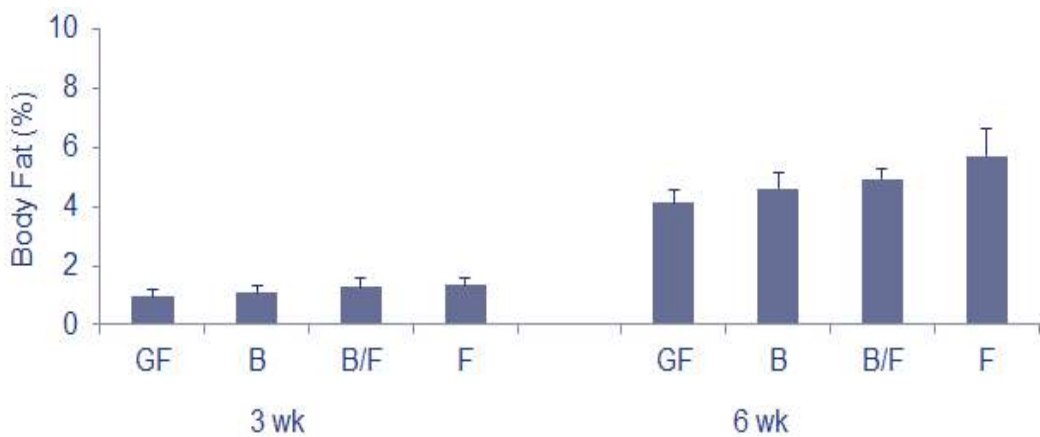


그림 13. 성장촉진 LN/N3 첨가제 (B, BF, F)의 급이 후 체지방 분석 시험 결과

- 이에 의하면 무균 대조군 GF와 비교 시 통계적으로 유의한 차이가 없었으며, 가장 높 이 얻어진 체지방 수치가 어린 포유류의 일반적 체지방 수치인 7%보다 낮고 (가장 높 은 페르미쿠테스 군의 경우도  $5.7 \pm 0.52\%$ ), 또한 과체중/비만 기준치인 30% 보다는 현 저히 낮은 수치였음

#### 다. 장내 세균군 집락 쥐의 배설물 분석

- 박테로이데테스 군, 페르미쿠테스 군, 박테로이데테스와 페르미쿠테스의 혼합군, 또는 프로바이오틱스 군의 콜로나이제이션 후 성장촉진효과와 관련하여 실험용 쥐의 배설물을 분석함으로써 영양분 발효 및 식이 에너지 흡수 증가 효과를 관찰하였음
- 이를 위하여 장내 세균군 집락 후 3주가 지나고 콜로나이제이션이 확인된 실험쥐로부터 얻어진 고형 배설물 시료 10 g에 헥산(hexane)을 첨가한 후 10 분 동안 혼합하였음
- 혼합액을 12시간 이상 세워서 방치한 후 15,000 rpm에서 10분 원심분리하여 헥산층을 추출하였음
- 공기중으로 헥산을 휘발시켜 날린 후 500 $\mu$ l 헥산에 녹여서 GC/MS 분석을 Agilent 6890 GC/5973MSD (Agilent, USA) 장비에서 DB-5MS capillary column (30m, 0.25-mm i.d., 25 $\mu$ m film thickness; J&W Scientific Inc., Folsom, CA)을 이용하였고, 담체 가스(carrier gas)로는 헬륨을 사용하여 수행하였음



그림 14. 성장촉진 LN/N3 첨가제 (B, BF, F)의 급이 후 배설물 분석 기기

- 소변의  $^1\text{H}$  NMR 분석을 위해 쥐로부터 채취된 소변  $400\mu\text{L}$ 를  $200\mu\text{L}$ 의 완충액[ $0.2\text{M Na}_2\text{HPO}_4+0.2\text{M NaH}_2\text{PO}_4(\text{pH}7.4)$ ]과 섞은 후 10분 동안 세워서 방치한 후  $13,000\text{rpm}$ 으로 10분간 원심분리하여 침전물을 분리하였음
- 얻어진 상층액  $500\mu\text{L}$ 를  $5\text{mm}$  NMR tube에 옮긴 후 sodium 3-(trimethylsilyl)[2,2,3,3- $^2\text{H}_4$ ]-1-propionate(TSP) solution in  $\text{D}_2\text{O}$ 를  $50\mu\text{L}$  첨가하였음
- $^1\text{H}$ NMR spectra는 Jeol ECA600 spectrometer를 이용하여  $600.17\text{MHz}$ 에서 측정 되었으며, 사용된 standard pulse sequence는  $\text{PW}-45^\circ-\text{AT}-1.45(\text{s})-\text{RD}-5(\text{s})-\text{tm}-20.2^\circ$ 이었음
- 앞의 실험에서 장내 세균 그룹을 신생 실험쥐들(neonate mice)에 콜로나이제이션 시키면 무균 대조군과 비교시 체중 증가와 같은 성장촉진효과가 있었으며 일반적으로 장내 세균총은 숙주에 의한 소화가 어려운 식이 다당류를 분해하여 흡수 가능한 형태로 만들어주는 역할을 하는 것으로 알려져 있으므로 장내세균 그룹 콜로나이제이션에 의한 성장촉진 효과가 칼로리섭취 증가로 인한 것인지 확인하는 것이 중요함
- 실험쥐의 배설물을 모두 수거하여 생화학적 분석을 수행한 결과, 예상과 같이 배설물에 남아 있는 칼로리는 실험쥐의 체중증가와 반비례하였음

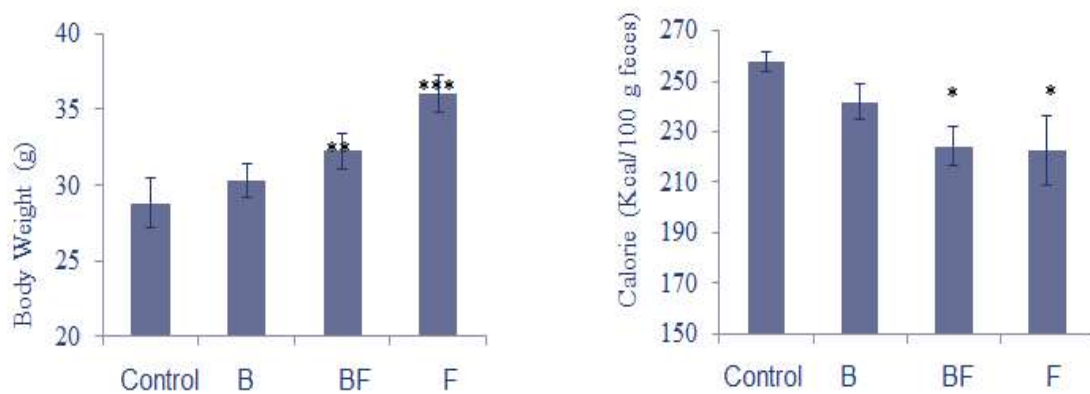


그림 15. 성장촉진 LN/N3 첨가제 (B, BF, F)의 급이 후 체중 및 배설물 잔여 칼로리

- 또한, 배설물의 탄수화물은 콜로나이제이션 실험쥐에서 모두 감소하였는데, 이는 콜로나이제이션 균의 발효증가를 의미하며, 이는 곧 숙주의 영양성분 흡수증가를 의미함
- 지질의 경우 콜로나이제이션 실험쥐 배설물에서 모두 증가하였는데 (도 8), 이는 주로 탄수화물의 발효 부산물인 단쇄지방산(short chain fatty acids, SCFAs)의 증가로 인한 것임

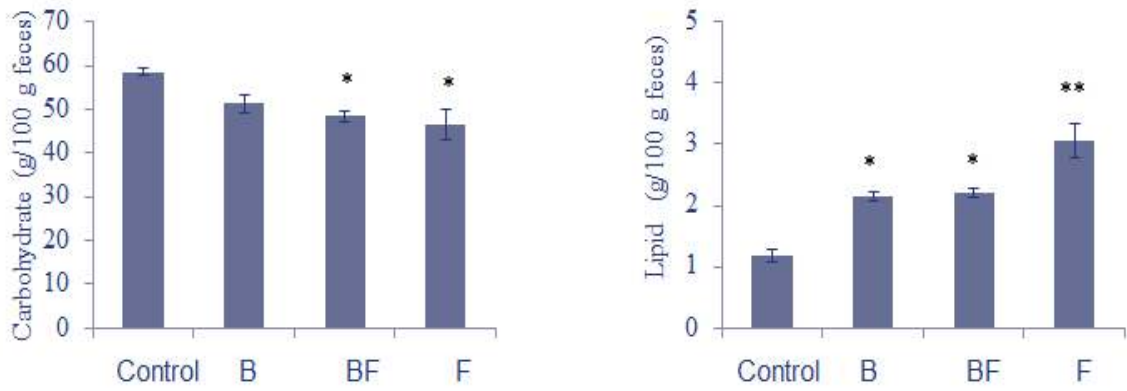


그림 16. 성장축진 LN/N3 첨가제 (B, BF, F)의 급이 후 배설물의 탄수화물 및 지방량 분석

- 소변의 NMR 비교분석 결과 GF 대조군에서는 검출되지 않은 SCFAs이 콜로나이제이션 실험쥐의 소변에서는 다량 검출되었는데 이는 장내 세균이 식이 다당류를 미생물 발효과정을 통해 흡수가 용이한 단당류와 SCFAs으로 분해시킨 결과임

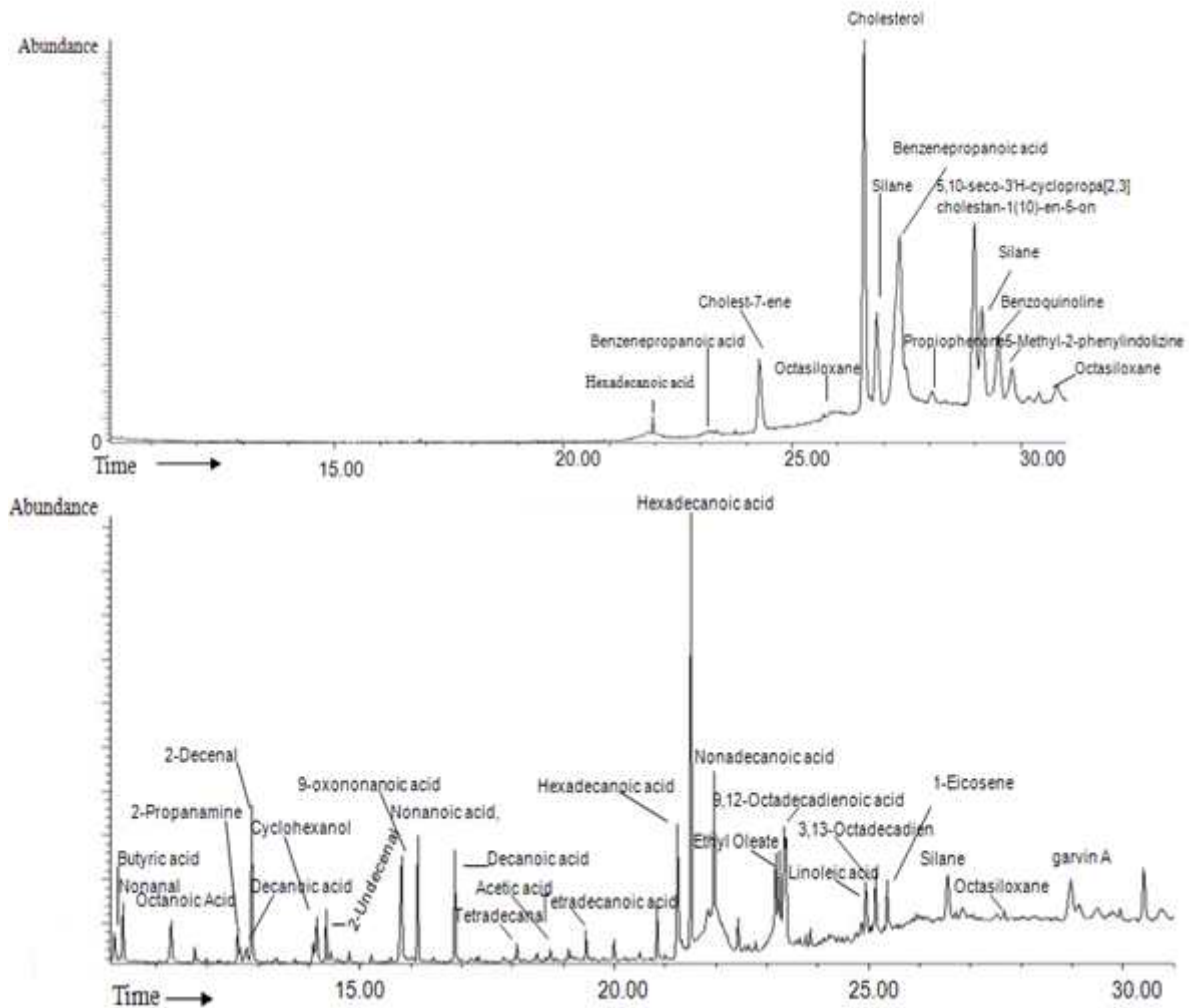


그림 17. 성장축진 LN/N3 첨가제의 급이 전(위)과 후(아래)의 배설물 지방산 분석

	RT (min)	Compound detected	RT (min)	Compound detected
L C N 3	10.17	Butyric acid	22.01	beta.-Sitosterol
	10.33	Nonanal	22.43	Hexadecanoic acid
	11.29	Octanoic Acid	22.77	Heptadecanoic acid
	11.76	Octanoic acid	23.17	Ethyl Oleate
	12.60	2-Propanamine	23.25	Ethyl Oleate
	12.64	7-Oxabicyclo[4.1.0] heptane	23.35	9,12-Octadecadienoic acid
	12.77	Decanoic acid	23.37	Octadecanoic acid
	12.87	2-Decenal	23.77	Octadecanoic acid
	14.08	Acetic acid	23.85	Iso Amyl Deconate
	14.15	Cyclohexanol	24.23	Octasiloxane
	14.33	2-Undecenal	24.75	Octasiloxane
	14.43	3-Octadecene	24.86	2H-Pyran-2-one
	14.79	Heptanoic acid	24.95	Linoleic acid
	15.22	Nonanoic acid	25.04	Octasiloxane
	15.81	9-oxononanoic acid	25.13	Z,E-3,13-Octadecadien-1-ol
	16.13	Nonanoic acid	25.29	Octasiloxane
	16.87	Decanoic acid	25.37	1-Eicosene
	18.09	1,19-Eicosadiene	25.42	Octasiloxane
	18.48	Nonanoic acid	25.95	Octasiloxane
	18.74	Acetic acid	26.55	Silane
	19.10	Tetradecanoic acid	26.72	Octasiloxane
	19.45	Tetradecanoic acid	26.83	Octasiloxane
	19.99	Tetradecanoic acid	27.67	Octasiloxane
	20.50	Pentadecanoic acid	28.97	garvin A
	20.84	Hexadecanoic acid	29.13	Octasiloxane
	21.25	Hexadecanoic acid	29.15	Octasiloxane
	21.32	9-Hexadecenoic acid	29.51	Octasiloxane
	21.51	Hexadecanoic acid	29.95	Octasiloxane
	21.59	beta.-Sitosterol	30.41	Cholesta-5,7-dien-3-ol
	21.84	beta.-Sitosterol	30.76	Octasiloxane
21.96	Hexadecanoic acid	30.77	Octasiloxane	

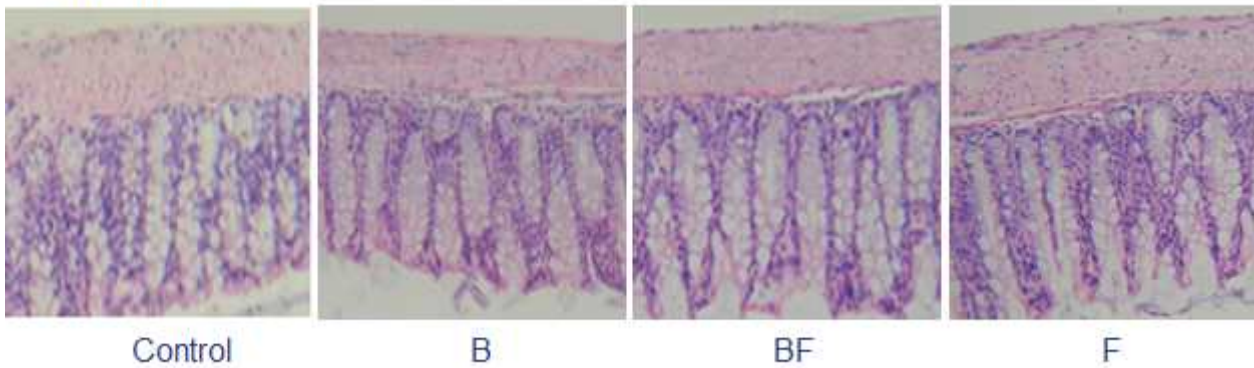
#### 라. 장내 세균군 집락 쥐의 장 발달 분석

- 장내 세균군 집락 이후 소장과 대장의 발달 정도를 보기 위하여 4~6주령 실험쥐를 이용하여 조직학적 분석을 수행하였음
- 이를 위해 장 조직을 채취할 실험쥐를 마취 후 복부 절개하여 소장과 대장 조직 0.5 cm를 절개하고 장 내부는 생리식염수로 세척하여 장내 소화물들을 모두 제거한 후, 4% 파라포름알데히드 용액으로 고정되었음
- 시료는 탈수 후 파라핀에 함몰시키고 나서 5 μm 두께로 절편을 만든 후 헤마토실린(Hematoxylin)과 에오신(Eosin)으로 염색하여 형태를 관찰하였음
- SCFAs은 colonocytes의 주요 에너지원이며 세포 turnover를 조절함으로써 장건강에

중요한 역할을 하므로, 장내세균에 의한 SCFAs 생성이 증가하게 되면 이들 SCFAs는 장 발달에 도움을 주며 이는 더욱 많은 영양섭취를 가져오게 됨

- 장내 세균군 집락 이후 소장과 대장의 발달을 확인하기 위해 조직염색 관찰을 한 결과, 모든 실험쥐의 소장과 대장에서 창자샘(crypts)이 점막 근육판(muscularismucosae) 쪽으로 잘 발달되어 있었음
- 대조군과 실험군에서 큰 차이를 보이지 않은 대장과는 달리 소장의 경우 콜로나이제이션 실험쥐에서 더 잘 발달되어 있었으며, 대조군과는 달리 페르미쿠테스 군과 같은 콜로나이제이션 실험쥐에서는 소장의 상피 세포층 및 평활근육층(Smoothmusclelayers)들이 잘 발달되어 있었는데 이는 소화된 영양분의 흡수를 증가시키게 됨

### Large intestine



### Small Intestine

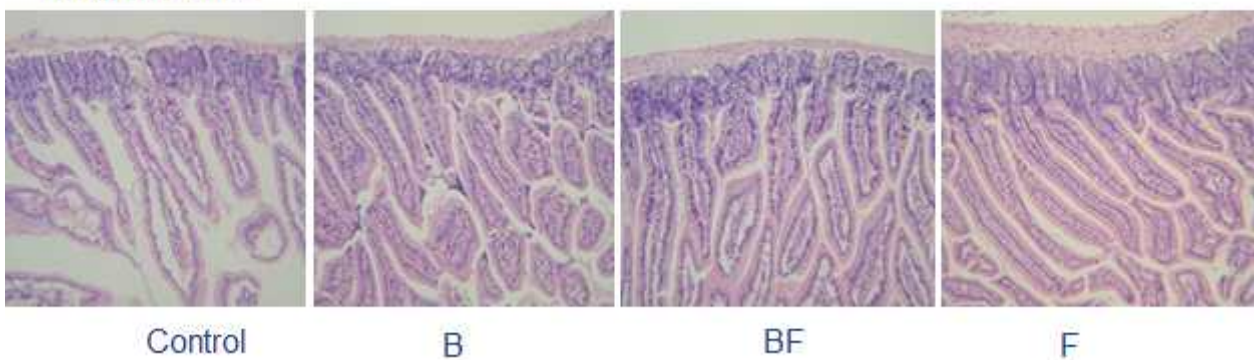


그림 18. 성장촉진 LN/N3 첨가제의 급이 후 대장(위)과 소장(아래)의 발달



마. 성장촉진 LC/N3 첨가제 생산

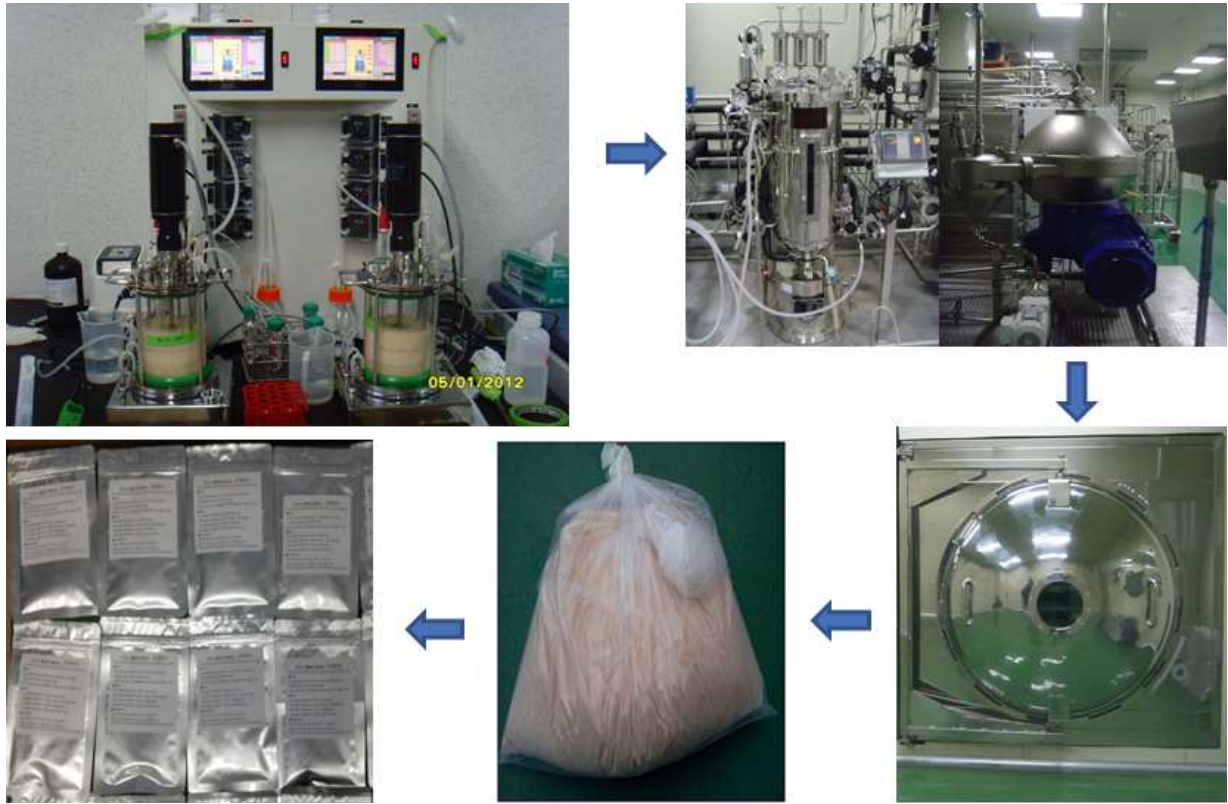


그림 19. 성장촉진 LN/N3 첨가제의 생산 공정

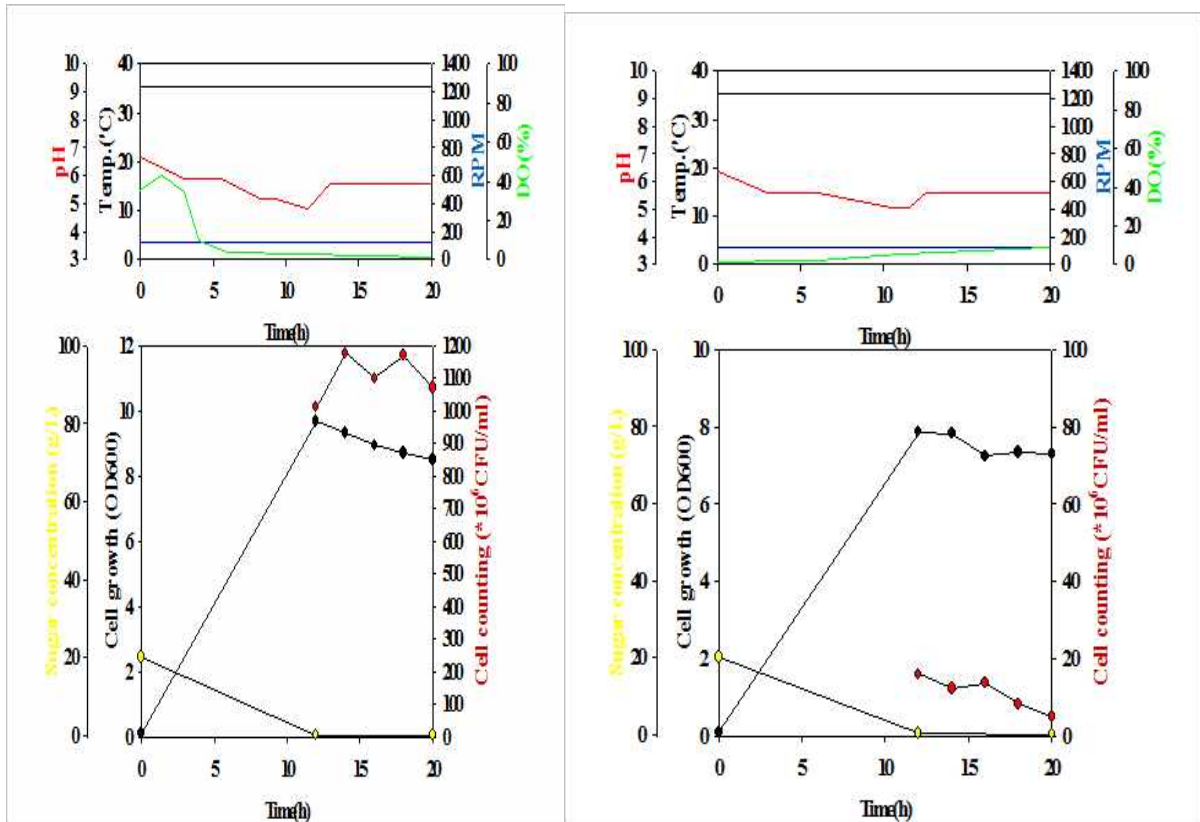


그림 20. 성장촉진 LN/N3 첨가제의 생산 공정 중 CFU 확인

바. 성장촉진 LC/N3 첨가제 QC

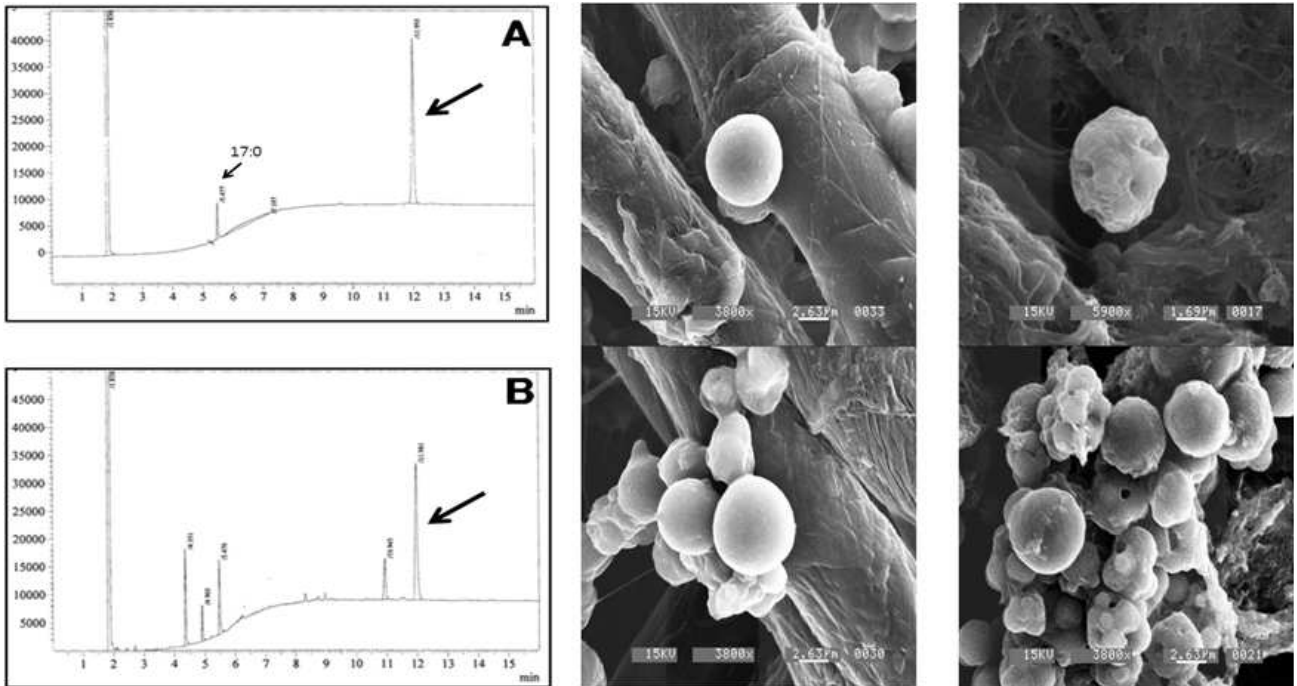


그림 21. 성장촉진 LN/N3 첨가제의 N3 균주

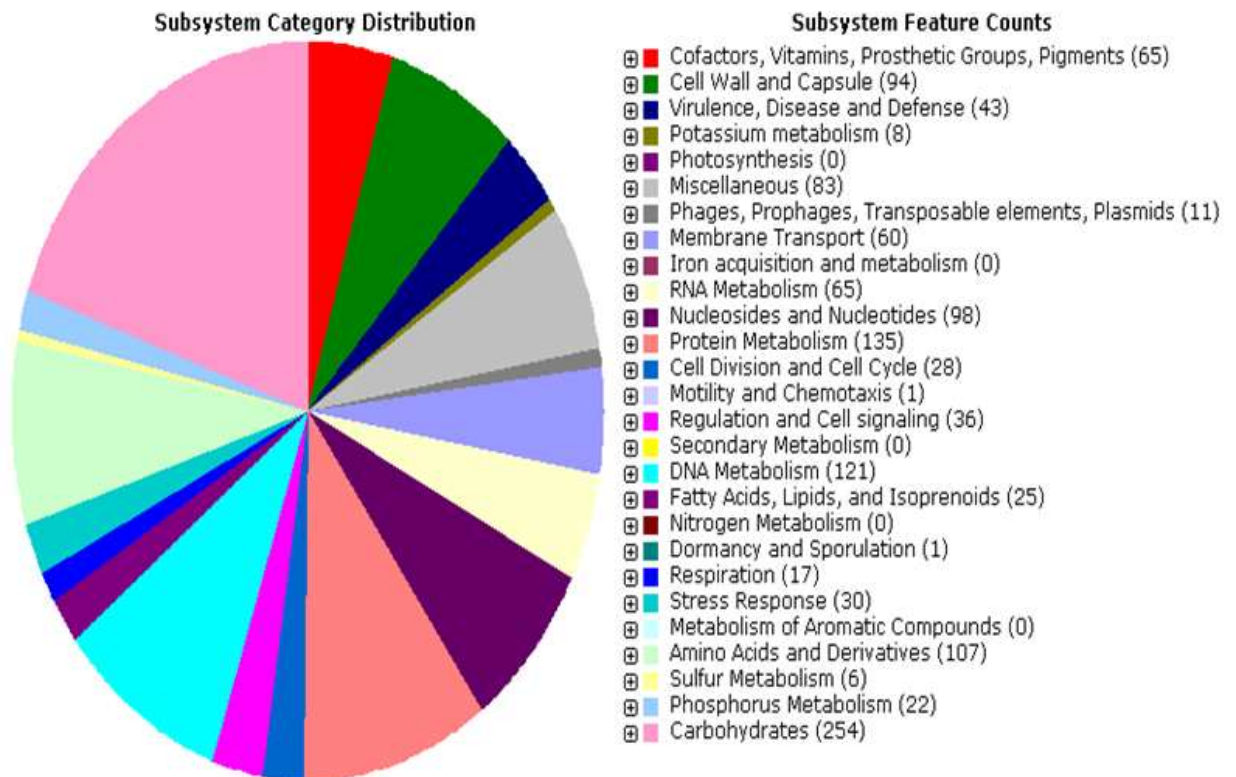


그림 22. 성장촉진 LN/N3 첨가제의 LC 균주 Profile

사. 성장촉진 LC/N3 첨가제의 사업화를 위한 시장 조사

CHECK LIST FOR ENZYMATIC ADDITIVE REGISTRATION

1. NAME AND ADDRESS OF THE APPLICANT COMPANY

JINIS Inc.  
948-9 Dunsan, Bongdong, Wajun, Jeonbuk 565-902, Korea

2. PRODUCT (Brand name)

LCN3 (Lowered cholesterol Supplements with Omega3)

3. PRODUCT IDENTIFICATION:

3.1) Additive classification according to its main effect

(eg. antimicrobial, flavoring, preservative, nutritional, zootechnical, anticoccidium etc), including a proposed classification of the additive, considering its functional group, category and specific data - in this case = enzymatic

Microbial culture

3.2) Qualitative and quantitative composition (active ingredient,

other components, vehicle, and impurities), if in association with another additives, please justify the importance or interest on the association.

LC CLS strain, Omega 3 strain

3.3) Guarantee levels of the additives:

Laboratory report signed by the Technical Responsible for the analysis, confirming all the guarantee levels (the used methodology must be the same as described in the item 5. CONTROL METHODS)

LCN3 strain  $>1 \times 10^8$  cfu/g, Omega 3 strain  $>1 \times 10^8$  cfu/g

r (including vehicles), supply its

it (in the case of enzymes, supply  
r (srs) according to NC-IUBMB  
2).

ion etc., feed grade)

ymatic activities (in the case of  
deposit number of the producer  
ication - if exists - and properties  
properties).  
r active(s) and impurities) IN the  
the grade of microbiological  
dioxins.  
oduct (considering the proposed

rs.

ling.

me from or has GMO, please let  
me know your processing process, otherwise will change a bit).

3.5 Additive's MSDS

Besides the individual MSDS of each component, the additive's MSDS (of the final product) has to be also supplied.

No chemicals are added, except grains for feed or food.

nd/or manufacturing method.

d to room temperature.  
incubated in humidified clean room.

qualitative and quantitative analysis for

ished product

plating and counting of cell colony

TECHNOLOGICAL PROPERTIES

, including methodologies and results.  
chnical Responsible for the analysis.  
ingredients of the additive in the  
ne proposed when stored under

onths, it is stable in the packing. After  
> use as soon as possible although it  
mon atmosphere (This period can be  
ion).

edients of the additive in the premises

tes or rations. According to moisture  
re reduced.

ingredients in the case of industrial

The microorganism is unstable to heat but its metabolites are stable to processing.

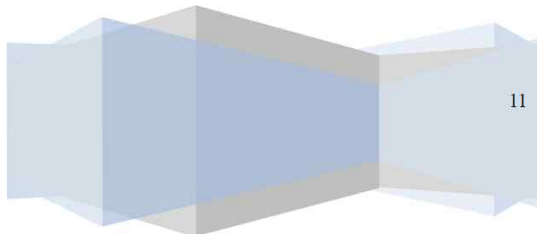
아. 성장촉진 LC/N3 첨가제의 사업화를 위한 Partnering



JINIS BIOPHARMACEUTICALS

**Consulting Report for  
Potential of CLSN**

By NCES



Jinis Biopharmaceuticals Co. Ltd. 1

Property of JINIS-2011

Strictly Private & Confidential

- I. EXECUTIVE SUMMARY ..... 3
  - 1. COMPANY OVERVIEW
- II. TECHNOLOGY CONSIDERATIONS ..... 4
- III. PRODUCTS ..... 6
  - 1. PRODUCT DESCRIPTION
  - 2. CORE TECHNOLOGY
- IV. MARKET AND STRATEGY ..... 18
  - 1. INDUSTRY OVERVIEW
  - 2. MARKETING STRATEGY
- V. RESEARCH AND DEVELOPMENT ..... 26
  - 1. DESCRIPTION OF R&D ACTIVITIES
  - 2. INTELLECTUAL PROPERTY
  - 3. PRODUCTION AND CAPACITY
  - 4. MANAGEMENT

Jinis Biopharmaceuticals Co. Ltd. 2

자. 성장촉진 LC/N3 첨가제 필드 테스트



## 제 6 절 진세노사이드 Rg<sub>3</sub> 및 유용 인삼 성분 강화 유제품의 개발 및 산업화

### 1. 진세노사이드 정성 및 정량분석 방법 확립 및 식품 첨가용 인삼 사포닌 추출

가. 인삼 추출물의 생산지, 가공방법에 따른 TLC, HPLC를 이용한 진세노사이드 정성 및 정량 분석 방법 확립

진세노사이드의 정성 및 정량분석은 TLC와 HPLC를 이용하여 수행하였으며 조건은 다음 표 1, 2와 같다.

<표 1> TLC 법의 조건

고정상	Silica gel
이동상	Chloroform : Methanol : Water = 65 : 35 : 10
발색제	Methanol 90 mL + H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 10 mL + p-Anisaldehyde 0.2 mL

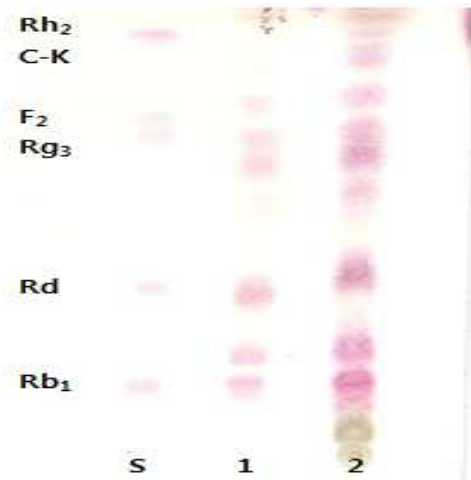
<표 2 > HPLC 법의 조건

검출기	UV detector
컬럼	Agilent Eclipse xDB-C <sub>18</sub>
이동상	Solution A : 100% Acetonitrile / Solution B : 14% Acetonitrile
유속	1.2 mL/min
주입량	20 µL
파장	203 nm
시간	30 min

나. Diaion HP-20을 이용한 식품 첨가용 인삼 사포닌 추출

진세노사이드의 효능에 대한 관심이 증가함에 따라 진세노사이드의 분리에 대하여 다양한 분리 방법의 개발이 요구되고 있다. 하지만 지금까지 진세노사이드의 추출은 부탄올 용매 분배를 이용하였으므로 대량의 인삼 시료를 추출하기가 불가능하고, 식용 또는 약용을 사용할 수 없다는 큰 문제점이 있다. 이러한 이유로 본 연구에서 Diaion HP-20 수지와 에탄올을 사용하여 식품 및 약용으로 사용 가능한 진세노사이드 추출법을 수행하고 기존의 부탄올 추출법과 비교 분석하였다.

Diaion HP-20 수지를 사용하여 추출한 진세노사이드 패턴은 수포화 부탄올을 사용하여 추출한 진세노사이드의 패턴에 비해 패턴의 색이 짙고, 두꺼우며 패턴의 종류도 다양하였다. 이를 통해 Diaion HP-20 추출법이 수포화 부탄올 추출법보다 진세노사이드 추출 능력이 우수하다고 판단된다(그림 1).



<그림 1> 수포화 부탄을 추출법 (1)과 Diaion HP-20 추출법(2)을 이용한 진세노사이드 추출 TLC.

## 2. Major 진세노사이드로부터 Rg<sub>3</sub> 전환 연구방법

가. 전통발효식품에서  $\beta$ -glucosidase를 생산하는 균주의 분리 및 major 진세노사이드로부터 Rg<sub>3</sub> 전환능을 가진 균주의 확보

### (1) $\beta$ -Glucosidase를 생산하는 균주의 분리

미생물이 생산하는  $\beta$ -glucosidase에 의해 esculin이 esculletin과 glucose로 가수분해되고 분해된 esculletin과 철이온이 반응하여 흑갈색 환을 형성하는 것을 이용하여 균주를 분리하였다 (그림 2). 효모 및 유산균, *Bacillus* sp., 곰팡이를 분리하기 위해 한 시료 당 MRS, TSA, PDA 배지에 각각 도말하여 30°C에서 배양하였다.

그 결과, 김치와 된장, 젓갈류에서  $\beta$ -glucosidase 생산하는 균주 64종을 분리하였으며 이 중 효모 및 유산균이 9종, *Bacillus* sp.가 45종, 곰팡이가 10종이다(표 3).



<그림 2> Esculin을 사용하여 분리한 균주.

### (2) Major 진세노사이드로부터 Rg<sub>3</sub> 전환능을 가진 균주의 확보

식품에서 분리한 균주와 GRAS 보유 균주, 인변에서 분리한 유산균에 대하여 major 진세노

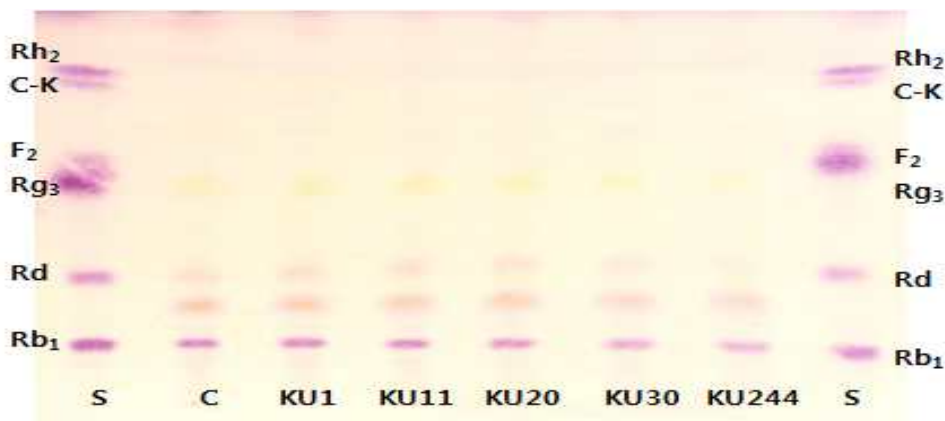
사이드 Rb<sub>1</sub>으로부터 Rg<sub>3</sub> 및 유용 인삼 성분 전환능을 확인하였다.

<표 3> Major 진세노사이드 Rb<sub>1</sub>으로부터 Rg<sub>3</sub> 전환능 탐색에 사용된 균주

Origin	Strain	Number
식품	효모 및 유산균	9
	<i>Bacillus</i> sp.	45
	곰팡이	10
인변	유산균	10
GRAS 균주	곰팡이	13

(가) 유산균 및 효모

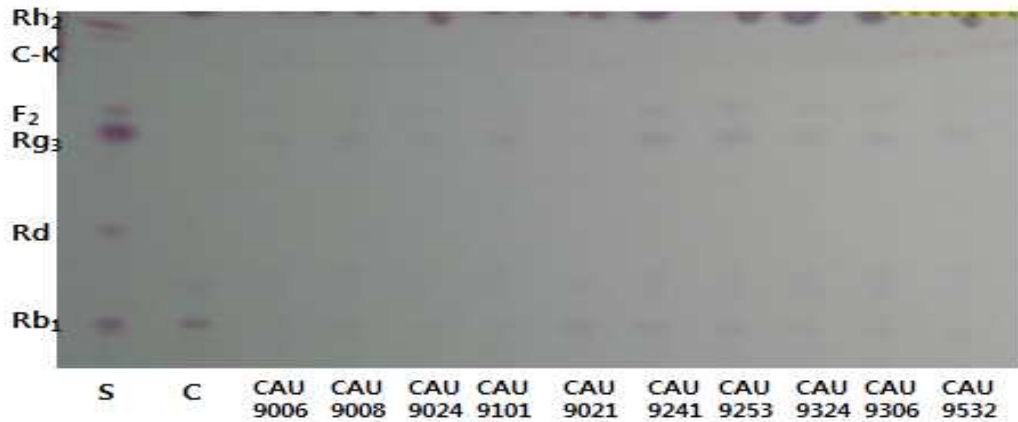
유산균 및 효모를 MRS broth에서 35°C, 24시간 배양한 후 원심분리하여 얻은 상등액을 조효소액으로 사용하였으며 전환능 확인 실험은 진세노사이드 Rb<sub>1</sub>과 조효소액을 동량으로 혼합하여 50°C에서 72시간 반응시키고 동결건조한 후, 메탄올에 용해하여 분석에 사용하였고 control로 배지를 사용하였다. 식품에서 분리한 효모 및 유산균 KU 1, KU 11, KU 20, KU 30, KU 244 모두 진세노사이드 Rb<sub>1</sub> 전환능을 나타내지 않았다. Rd와 동일한 Rf값을 가지는 패턴이 모든 시료에서 관찰되었으나 control에서도 나타난 것으로 보아, 진세노사이드 Rb<sub>1</sub>으로부터 Rd로의 전환은 배양상등액에 의한 것이 아니고 배지 유래 성분에 의한 전환, 열에 의한 전환, 또는 실험에 사용된 진세노사이드 Rb<sub>1</sub>의 순도 문제인 것으로 판단된다. (그림 3).



<그림 3> 식품에서 분리한 효모 및 유산균 배양상등액의 진세노사이드 Rb<sub>1</sub> 전환 결과.

인변에서 분리한 유산균 배양상등액의 진세노사이드 Rb<sub>1</sub> 전환능 확인 결과 CAU 9021을 제외한 모든 균의 배양상등액에서 전환이 확인되었다. 전환능을 나타내는 9종의 시료는 진세노사이드 Rb<sub>1</sub>을 Rg<sub>3</sub>와 F<sub>2</sub>로 전환시켰다. 특히 CAU 9241과 CAU 9253의 전환능이 뛰어났으며 그 다음으로는 CAU 9324, CAU 9306, CAU 9532의 전환능이 뛰어났다(그림 4).



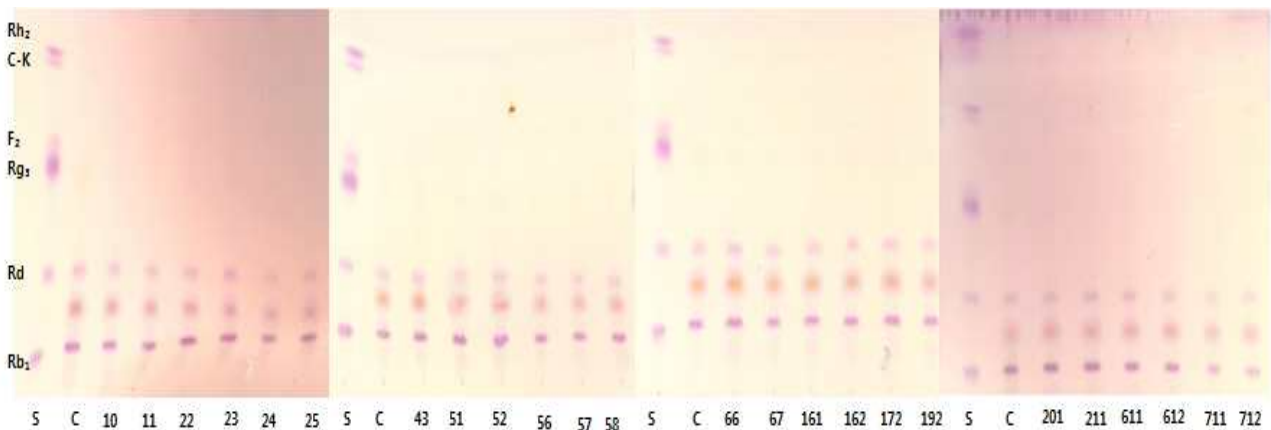


<그림 4> 인변에서 분리한 유산균 배양상등액의 진세노사이드 Rb<sub>1</sub> 전환 결과.

(나) *Bacillus* sp.

식품에서 분리한 *Bacillus* sp.를 TSB에서 35℃, 150 rpm, 24시간 배양한 후 원심분리하여 얻은 상등액을 조효소액으로 사용하였다. Rb<sub>1</sub>과 조효소액을 동량으로 혼합하여 50℃, 72시간 반응시킨 후 TLC를 통해 전환능을 확인하였다.

시료 모두 진세노사이드 Rb<sub>1</sub> 전환능을 나타내지 않았으며 Rf값을 가지는 패턴이 시료와 control인 배지에서도 나타나 진세노사이드 Rb<sub>1</sub>으로부터 Rd로의 전환은 배지 유래 성분에 의한 전환, 열에 의한 전환, 또는 실험에 사용된 진세노사이드 Rb<sub>1</sub>의 순도 문제인 것으로 판단된다. 문헌에서 *Bacillus* sp.은 세포내 효소를 생산한다는 보고를 통해 본 연구에서는 세포의 효소를 목적으로 실험을 수행했기 때문에 전환능이 나타나지 않았다고 판단된다(그림 5).



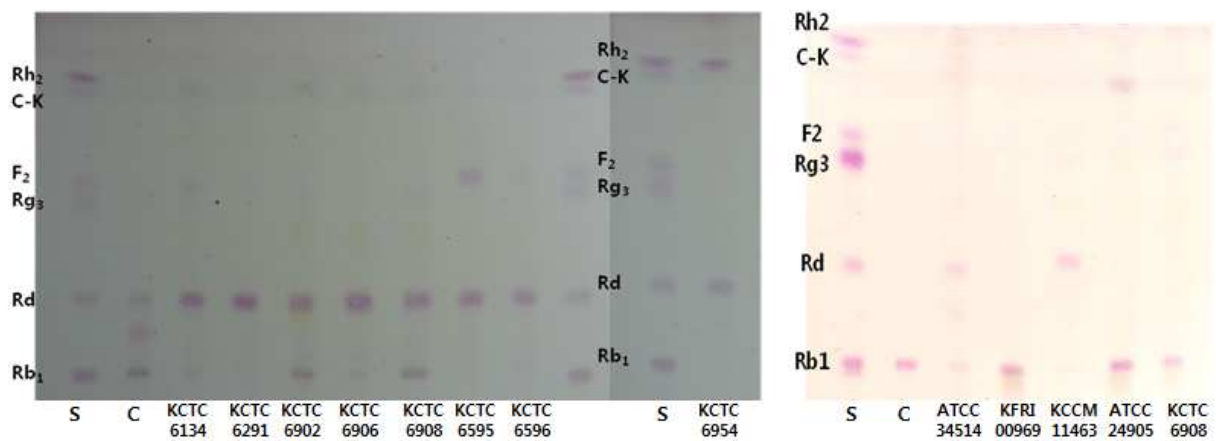
<그림 5> 식품에서 분리한 *Bacillus* sp. 배양상등액의 진세노사이드 Rb<sub>1</sub> 전환 결과.

(다) GRAS 곰팡이

곰팡이를 유리구슬이 든 PDB에서 30℃, 200 rpm, 15일 배양한 후 원심분리하여 얻은 상등액을 조효소로 사용하여 전환능 확인 실험을 하였다. Control은 PDB를 사용하였다.

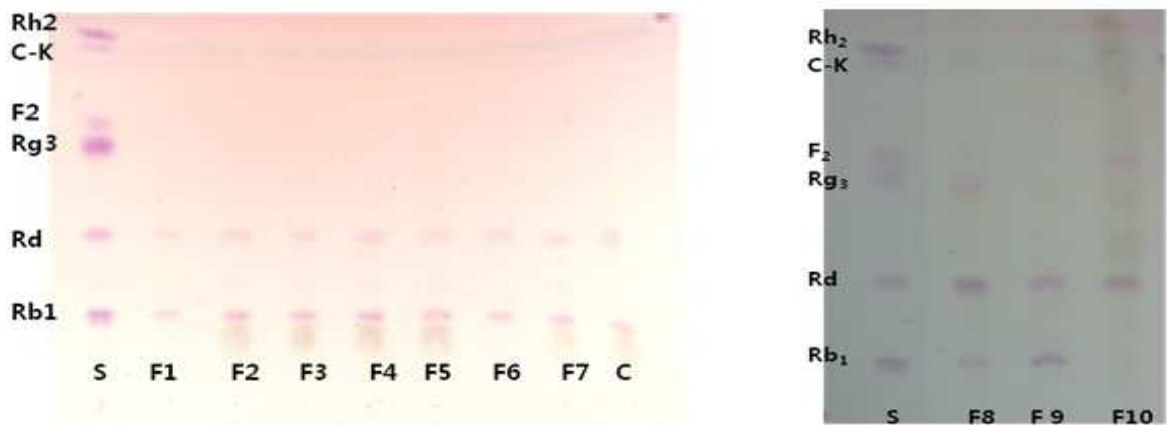
KCTC 6134, KCTC 6291, KCTC 6906, KCTC 6959, KCTC 6596, KCTC 6954, ATCC

34514, KCCM 11463(표 5)은 전환 정도의 차이는 있었지만, 모두 진세노사이드 Rb<sub>1</sub> 전환능을 나타내었다. Control에서도 Rd 패턴을 관찰할 수 있었으나, KCTC 6134, KCTC 6291, KCTC 6906, KCTC 6595, KCTC 6596, KCTC 6954에서 Rb<sub>1</sub> 패턴이 나타나지 않은 것을 통하여 배양상등액에 의해 진세노사이드 Rb<sub>1</sub>이 minor 진세노사이드로 전환된 것으로 판단된다. Rb<sub>1</sub> 패턴이 나타나지 않은 8균주의 배양상등액은(KCTC 6134, KCTC 6291, KCTC 6906, KCTC 6595, KCTC 6596, KCTC 6954, ATCC 34514, KCCM 11463) 진세노사이드 Rb<sub>1</sub>을 Rd로 다량 전환하였으며, 이 중 KCTC 6134, KCTC 6595는 F<sub>2</sub>로의 전환, KCTC 6954는 Rh<sub>2</sub>로의 전환능을 보였다. ATCC 24905는 F<sub>2</sub>와 Compound K 사이에 진한 패턴을 나타내었는데, 진세노사이드 Rb<sub>1</sub> 패턴이 control과 비슷한 농도로 나타난 것으로 보아 이물질의 혼입이 있는 것으로 판단하였다(그림 6).



<그림 6> GRAS 균주 곰팡이 배양상등액의 진세노사이드 Rb<sub>1</sub> 전환 결과.

분리한 곰팡이 중 F8과 F10 두 종에서 진세노사이드 전환능을 보였는데 F8은 진세노사이드 Rb<sub>1</sub>을 Rd, Rg<sub>3</sub>, F<sub>2</sub>로 전환시켰으나, 진세노사이드 Rb<sub>1</sub>의 패턴이 전부 사라지지 않은 것으로 미루어 볼 때 전환능이 좋지 않다고 판단하였다. F10은 진세노사이드 Rb<sub>1</sub>을 Rd, F<sub>2</sub>를 거쳐 Rh<sub>2</sub>로 전환시켰으며, 진세노사이드 Rb<sub>1</sub>의 패턴이 나타나지 않은 것으로 보아 전환능이 좋다고 판단된다(그림 7)



<그림 7> 식품에서 분리한 곰팡이 배양상등액의 진세노사이드 Rb<sub>1</sub> 전환 결과.

<표 4> Major 진세노사이드 Rb<sub>1</sub>으로부터 Rg<sub>3</sub> 전환능을 나타내는 균주

Origin	Strain	Number
식품	효모 및 유산균	-
	<i>Bacillus</i> sp.	-
	곰팡이	2
인변	유산균	9
GRAS균주	곰팡이	8

나. 확보된 Rg<sub>3</sub> 전환 균주의 특성 연구

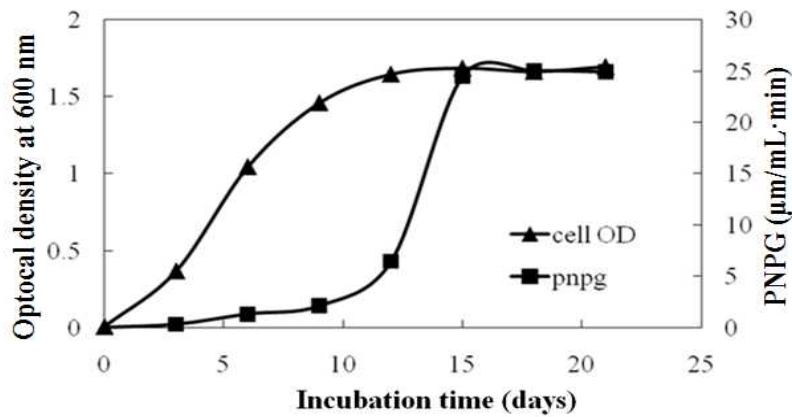
진세노사이드 Rb<sub>1</sub> 전환능을 나타내는 균주명은 표 5와 같으며 인변에서 분리한 균주는 18S rRNA 및 16S rRNA를 통하여 동정하였다. 진세노사이드 Rb<sub>1</sub> 전환능이 뛰어났던 분리곰팡이 F10은 동정결과, 독소생성 균주인 *Aspergillus citurum*과 99% 동일성을 나타냈다. 진세노사이드 Rb<sub>1</sub>으로부터 Rg<sub>3</sub>로의 전환능을 나타내는 곰팡이 10종 중 전환 효과가 뛰어난 KCTC 6595, KCTC 6954의 생육곡선 및 곰팡이 배양시간에 따른 배양상등액의 진세노사이드 Rb<sub>1</sub> 전환능 확인 실험을 진행하였다.

<표 5> 진세노사이드 Rb<sub>1</sub> 전환능을 나타내는 균주 목록

Strain #	Identification
KCTC 6134	<i>Aspergillus ficuum</i>
KCTC 6291	<i>Aspergillus oryzae</i>
KCTC 6906	<i>Aspergillus niger</i>
KCTC 6595	<i>Aspergillus oryzae</i>
KCTC 6596	<i>Aspergillus oryzae</i>
KCTC 6954	<i>Aspergillus usami</i>
ATCC 34514	<i>Penicillium notarum</i>
KCCM 11463	<i>Aspergillus nidulans</i>
F8	Unidentification
F10	<i>Aspergillus citrunum</i>
CAU 9241	<i>Lactobacillus paracasei</i>
CAU 9253	<i>Lactobacillus paracasei</i>
CAU 9324	<i>Lactobacillus paracasei</i>
CAU 9008	<i>Lactobacillus paracasei</i>
CAU 9101	<i>Lactobacillus plantarum</i>
CAU 9306	<i>Lactobacillus plantarum</i>
CAU 9006	<i>Lactobacillus plantarum</i>
CAU 9024	<i>Lactobacillus salivarius</i>
CAU 9532	<i>Lactobacillus salivarius</i>

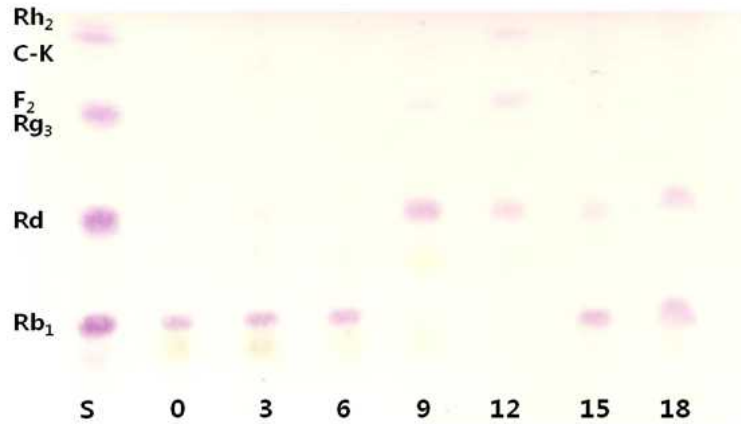
이들 균주 중, 진세노사이드 Rb<sub>1</sub> 전환능이 가장 큰 *Aspergillus usamii* KCTC 6954를 선정하여 미생물 성장곡선과 미생물 성장시간에 따른 β-glucosidase 활성을 측정하였다. 균주는 유리구슬이 든 PDB배지에서 30℃, 200 rpm 조건으로 배양하였으며 3일 간격으로 배양액을 취하여 균체량, 효소활성 및 진세노사이드 Rb<sub>1</sub> 전환능을 측정하였다. 효소활성 측정과 진세노사이드 Rb<sub>1</sub> 전환능은 샘플링한 배양상등액을 원심분리하여 상등액을 얻고, 이를 조효소액으로 하여 실험에 사용하여 전환능 확인 실험을 하였다.

*A. usamii* KCTC 6954는 배양 12일 후 정지기를 나타내었으며, 효소활성은 배양 12일부터 증가하기 시작하여 배양 15일에 24,524 μm/mL·min로 최댓값을 나타내었다(그림 8).



<그림 8> *Aspergillus usamii* KCTC 6954의 성장곡선과 성장시간에 따른 β-glucosidase 활성 측정.

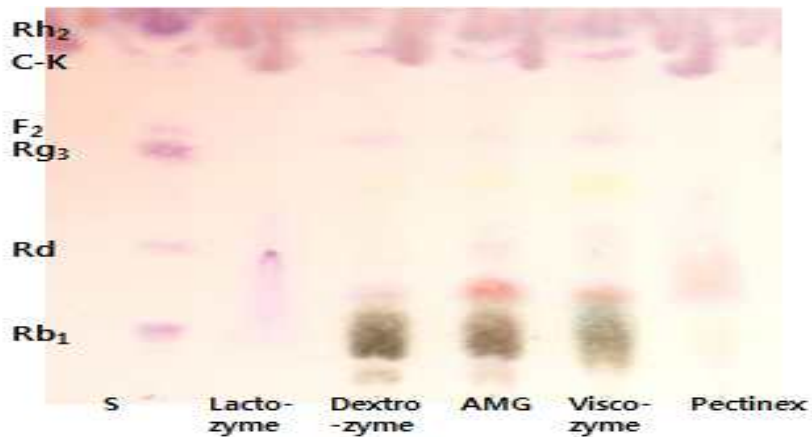
*A. usamii* KCTC 6954 전환능 확인 결과, 배양 6일 이전의 조효소는 진세노사이드 전환능을 나타내지 않았지만, 배양 9일의 조효소는 진세노사이드 Rb<sub>1</sub>이 모두 Rd로 전환되었으며, 반응 12일의 조효소는 진세노사이드 Rb<sub>1</sub>이 Rd를 비롯하여 F<sub>2</sub>, Rh<sub>2</sub>와 같은 minor 진세노사이드로 전환되는 것을 확인하였다. 하지만, β-glucosidase 활성이 가장 높았던 15일의 조효소는 진세노사이드 Rb<sub>1</sub> 미량만이 Rd로 전환되었다. 이는 15일의 조효소가 12일의 조효소보다 많은 양의 β-glucosidase를 생산하였지만, 진세노사이드를 전환시킬 수 있는 특정 β-glucosidase(β-1,6-glucosidase, β-1,2-glucosidase)의 양은 12일의 조효소에 많이 함유되어 나타난 결과라고 판단된다.



<그림 9> *Aspergillus usmii* KCTC 6954의 성장시간에 따른 진세노사이드 Rb<sub>1</sub> 전환 결과.

다. 효소 또는 미생물에 의한 major 진세노사이드로부터 Rg<sub>3</sub> 전환능 확인

식품 첨가용 당화효소 pectinex, viscozyme, dextrozyme, AMG를 사용하여 진세노사이드 Rb<sub>1</sub>으로부터 Rg<sub>3</sub>로의 전환능을 확인하였다. 시료의 끌림 현상 때문에 dextrozyme, AMG, viscozyme의 진세노사이드 Rb<sub>1</sub> 패턴 유무를 확인할 수 없었으나, dextrozyme, viscozyme에서 Rg<sub>3</sub> 패턴이 AMG에서는 Rd 패턴이 각각 나타났으며, 용매의 끌림현상으로 확인하기 어렵지만 세 가지 효소 모두 Rh<sub>2</sub> 또는 Compound K로 짐작되는 패턴이 나타난 것을 통해 효소에 의해 진세노사이드 Rb<sub>1</sub>으로부터 Rg<sub>3</sub> 및 유용 인삼성분으로의 전환이 일어났다고 판단된다.



<그림 10> 식품 첨가용 효소의 진세노사이드 Rb<sub>1</sub> 전환 결과.

라. 총 사포닌 5% 이상 Rg<sub>3</sub> 함유

진세노사이드 Rb<sub>1</sub>은 대표적인 minor 진세노사이드로서, 총 사포닌의 20% 가량을 차지하고 있다. 본 연구에서는 진세노사이드 Rb<sub>1</sub>으로부터 Rg<sub>3</sub> 및 유용 인삼 성분으로의 전환능을 보이는 균주 19종을 확보하였고 TLC 패턴 분석을 수행하였다. 그 결과 진세노사이드 Rb<sub>1</sub> 패턴이 나타나지 않은 곰팡이 9종은 진세노사이드 Rb<sub>1</sub>을 모두 minor 진세노사이드로 전환시킨 것을

확인할 수 있었으며(그림 6, 그림 7), 인변에서 분리한 유산균(그림 4) 및 식품첨가용 효소(그림 10) 또한 높은 Rb<sub>1</sub> 전환능을 나타내는 것으로 확인할 수 있었다. 이와 같은 결과를 통해, 진세노사이드 Rb<sub>1</sub> 전환조건의 조절을 통해 총 사포닌의 5% 이상의 Rg<sub>3</sub> 함량 달성이 가능하다고 판단되어 진다.

### 3. 기능성 유산균주 연구

#### 가. 우유 배지에서 성장 능력이 높은 균주 선발

사람의 분변을 수거하여 혐기희석액으로 희석한 시료를 MRS agar에 접종한 후 37℃, 48시간 배양하였다. 형성된 균의 집락을 10% skim milk에서 24시간 배양한 후 커드 형성능력이 있는 균주를 1차적으로 20개 선발하고, 커드형성 능력과 산 생성 능력이 뛰어난 균주 10개를 최종적으로 선발하였다.

<표 6> The list of selected lactic acid bacteria(LAB)

Strain #	Identification	Origin
CAU 9241	<i>Lactobacillus paracasei</i>	Human feces
CAU 9253	<i>Lactobacillus paracasei</i>	Human feces
CAU 9324	<i>Lactobacillus paracasei</i>	Human feces
CAU 9008	<i>Lactobacillus paracasei</i>	Human feces
CAU 9101	<i>Lactobacillus plantarum</i>	Human feces
CAU 9306	<i>Lactobacillus plantarum</i>	Human feces
CAU 9006	<i>Lactobacillus plantarum</i>	Human feces
CAU 9024	<i>Lactobacillus salivarius</i>	Human feces
CAU 9532	<i>Lactobacillus salivarius</i>	Human feces
CAU 9021	<i>Streptococcus thermophilus</i>	Human feces

#### 나. 선발된 균주의 동정

##### (1) API kit를 이용한 생화학적 동정

선발된 균주의 특성을 알아보기 위하여 API 50 CHL carbohydrate test kit를 이용하였다. 계대배양한 후 원심분리를 하여 얻은 균체를 50 mM sodium phosphate buffer로 세척한 후 동일한 buffer를 이용하여 Mcfarland Standar 4 이상의 탁도를 맞추어 접종용 균주로 사용하였다. API 50 CHL medium에 균주를 넣은 후 각 strip에 분주하고 strip에 mineral oil로 중증이 되도록 첨가하였다. 37℃에서 24시간 및 48시간 동안 배양한 후 각각의 당 이용성을 비교하였다. 49가지 탄소원에 대하여 미생물 증식에 의한 색의 변화 여부를 관찰하여 각 탄소원의 이용 여부를 관찰하였고 최종 동정 결과는 동정용 프로그램 API web을 이용하여 분석하였다.

<표 7> Carbohydrate fermentation of the 8 strains of *Lactobacillus* on API50 CHL kit

Carbohydrates	Strain #								Carbohydrates	Strain #							
	924	925	932	900	910	930	900	953		924	925	932	900	910	930	900	953
	1	3	4	8	1	6	6	2		1	3	4	8	1	6	6	2
Control	-	-	-	-	-	-	-	-	Esculin	+	+	+	+	+	+	+	-
Glycerol	-	-	-	-	-	-	-	-	Ferric citrate	+	+	-	+	+	+	+	-
Erythritol	-	-	-	-	-	-	-	-	Salicin	+	+	-	+	+	+	+	-
D-Arabinose	-	-	-	-	-	-	-	-	D-Cellobiose	+	+	-	+	+	+	+	+
L-Arabinose	-	-	-	-	+	+	+	-	D-Maltose	+	+	+	+	+	+	+	+
D-Ribose	+	+	+	+	+	+	+	-	D-Lactose	+	+	+	+	+	+	+	+
D-Xylose	-	-	-	-	-	-	-	-	D-Melibiose	-	-	-	-	+	+	+	+
L-Xylose	-	-	-	-	-	-	-	-	D-Saccharose	+	+	+	+	+	+	+	+
D-Adonitol	+	+	-	-	-	-	-	-	D-Trehalose	+	+	+	+	-	-	+	-
Methyl-β-D-xylopyranoside	-	-	-	-	-	-	-	-	Inulin	+	-	-	+	+	+	+	-
D-Galactose	+	+	+	+	+	+	+	+	D-Melezitose	+	-	+	+	+	+	+	+
D-Glucose	+	+	+	+	+	+	+	+	D-Raffinose	-	-	-	-	-	-	-	-
D-Fructose	+	+	+	+	+	+	+	+	Amidon	-	-	-	-	-	-	-	-
D-Mannose	+	+	+	+	+	+	+	+	Glycogen	-	-	-	-	-	-	-	-
L-Sorbose	+	+	+	+	-	-	-	-	Xylitol	-	-	-	-	+	+	+	-
L-Rhamnose	-	-	-	-	+	+	+	-	Gentiobiose	-	+	-	-	-	+	+	-
Dulcitol	-	-	-	-	-	-	-	-	D-Turanose	+	+	+	+	-	-	-	-
Inositol	-	-	-	-	-	-	-	-	D-Lyxose	-	-	-	-	-	-	-	-
D-Mannitol	+	+	+	+	+	+	+	+	D-Tagatose	+	+	+	+	-	-	-	-
D-Sorbitol	+	+	+	+	+	+	+	+	D-Fucose	-	-	-	-	-	-	-	-
Methyl-α-D-mannopyranoside	-	-	-	-	+	+	-	-	L-Fucose	-	-	-	-	-	-	-	-
Methyl-α-D-glucopyranoside	-	+	-	-	-	-	-	-	D-Arabitol	-	-	-	-	-	-	-	-
N-Acetylglucosamine	+	+	+	+	+	+	+	+	L-Arabitol	-	-	-	+	+	+	+	-
Amygdalin	+	+	-	+	+	+	+	-	Gluconate	+	+	+	+	-	-	-	-
Arbutin	+	+	-	+	+	+	+	-	2-Ketogluconate	-	-	-	-	-	-	-	-
									5-Ketogluconate	-	-	-	-	+	+	+	-

#9241: *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei* 1 99.8%, #9253: *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei* 1 99.9%, #9324: *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei* 1 99.8%, #9008: *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei* 1 99.9%, #9101: *Lactobacillus plantarum* 99.9%, #9306: *Lactobacillus plantarum* 99.9%, #9006: *Lactobacillus plantarum* 99.6%, #9532: *Lactobacillus salivarius*.

(2) 16S rDNA sequencing을 통한 분자 생물학적 동정

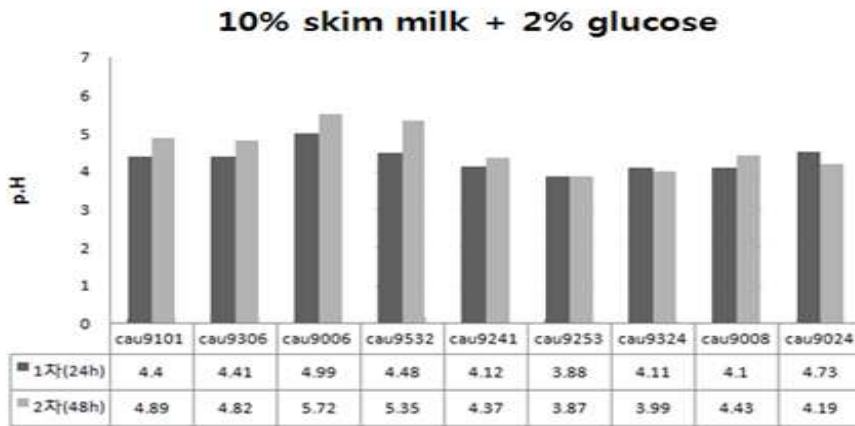
MRS agar 배지에서 자란 colony를 채취하여 PCR tube에 Lyse-N-Go PCR reagent를 넣고 genomic DNA를 추출한 후 HotStarTaq Master mix와 primer, distilled water를 첨가한 후 PCR program을 실시하였다. MRS agar에서 48시간 배양한 균주를 template로 이용하였고, primer는 universal primer 27F와 1492R을 사용하였다. PCR product는 PCR purification kit을 이용하여 정제하였다. 정제과정을 통해 얻어진 DNA를 nano drop을 이용하여 농도를 측정 한 후에 25~50 μL로 최종적 농도를 맞춘 후 double strand DNA sequencing을 실시하였다.

얻어진 sequence는 BLAST로 검색하여 균주를 동정하였다.

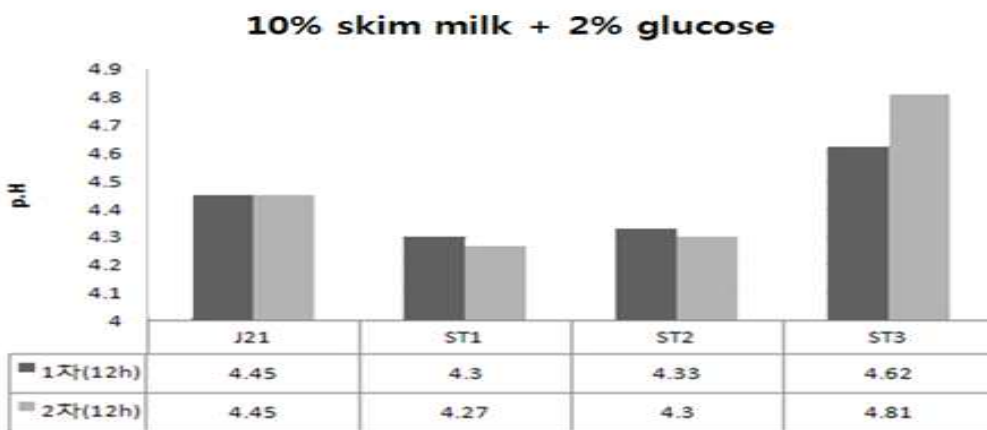
#### 다. 환원 탈지유에서 젖산균의 성장 특성

선발된 10개의 유산균주를 우유배지에서 pH 측정을 통해 환원 탈지유에서의 성장 능력을 측정하였다. *Lactobacillus* 9균주는 2차 계대 배양한 뒤 10% skim milk에 2% glucose를 첨가한 용액에 젖산균 1%를 접종한 후 37°C에서 배양하였다. pH 측정은 1차 계대를 하고 24시간 후, 48시간 후에 pH를 측정하였다.

그 결과 대체적으로 *L. paracasei* strains(CAU 9241, CAU 9253, CAU 9324, CAU 9008)이 낮은 pH수치를 보였고, *L. plantarum*과 *L. salivarius*는 종마다 차이가 있었다(그림 11). 그림 12에서와 같이 *Streptococcus thermophilus* CAU 9021은 ST1과 ST2보다는 약간 높은 pH를 나타내었고, ST3보다는 낮은 pH수치를 나타내었다.



<그림 11> Growth activity of nine *Lactobacillus* strains in 10% skim milk + 2% glucose.



<그림 12> Growth activity of *Streptococcus thermophilus* CAU 9021 strain in 10% skim milk + 2% glucose.

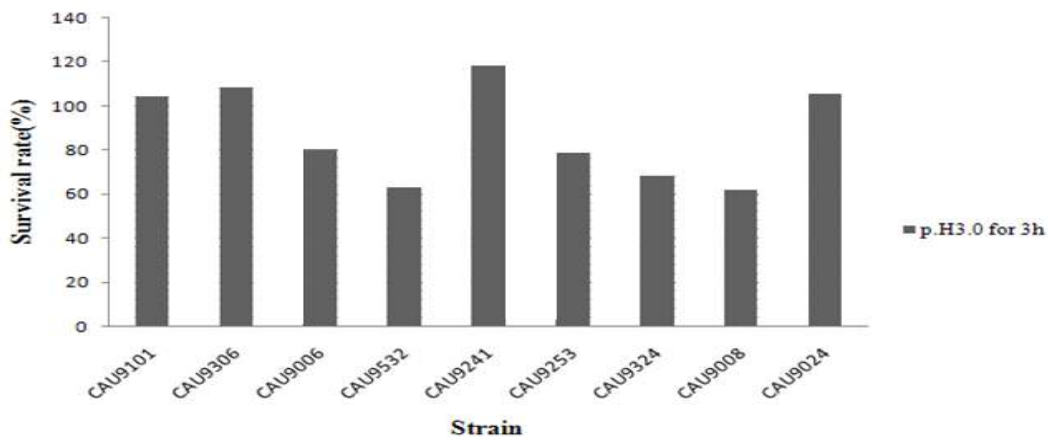


## 라. 내산성과 내담즙성 실험

### (1) 내산성

0.05% L-cystein·HCl이 함유된 MRS 액체배지에 3 M hydrochloric acid로 pH 3.0을 맞추어 제조한 후, overnight 배양시킨 균주를 1% 접종하였다. 대조군인 초기 균수를 측정하기 위하여 혐기희석액으로 희석한 후 pouring하여 37°C에서 48시간 배양하고, 균주를 접종한 용액을 37°C water bath에서 3시간 동안 정치배양한 후 위와 동일한 방법으로 희석하여 배양하였다. 그리고 배양 후에 나타난 집락수를 계수함으로써 산성 pH에 대한 내성을 측정하였다.

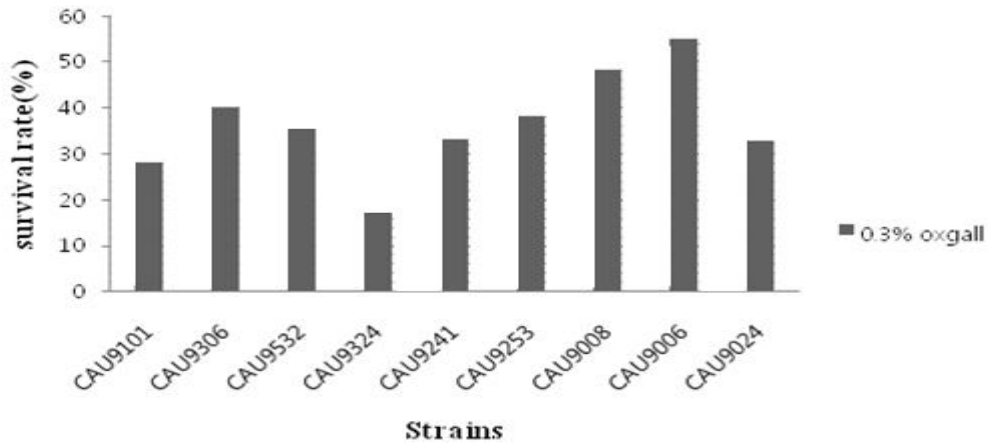
산에 대한 *Lactobacillus* strains의 내성은 그림 13에서 보는 바와 같이 균주 간의 상당한 차이가 있음이 확인되었다. 일부 균주들(CAU 9101, CAU 9306, CAU 9241, CAU 9024)은 낮은 pH에서도 성장하는 것을 확인할 수 있었다.



<그림 13> Survival rate(%) of nine *Lactobacillus* strains in MRS adjusted to pH 3.0 for 3 h.

### 나. 내담즙성

0.05% L-cystein·HCl이 함유된 MRS 액체배지에 0.3% oxgall을 첨가하여 2차 배양이 끝난 균주들을 0.5% 접종하였고, 대조군으로는 0.3% oxgall을 첨가하지 않은 MRS 액체배지에 동량을 접종하여 3회 반복 실험을 수행하였다. 흡광도를 측정하기 위하여 배양액과 시료를 4:1로 희석하여 측정하였으며, 호기적 조건으로 37°C water bath에서 배양하여 12시간 후에 OD620값을 측정하였다.

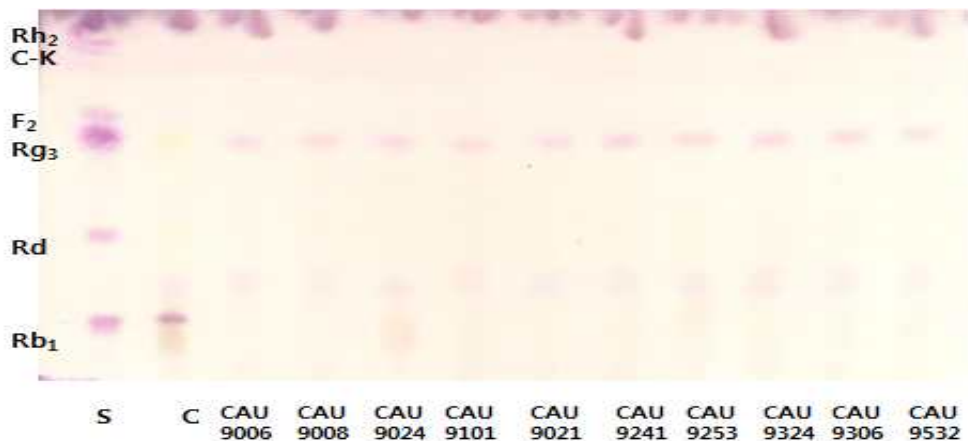


<그림 14> Survival rate(%) of nine *Lactobacillus* strains in MRS medium added 0.3% oxgall.

담즙에 대한 *Lactobacillus* 9 균주의 내성 결과는 그림 14에서와 같이 모두 담즙 내성을 보였으나 균주 간에 차이가 있었다. 0.3% oxgall을 첨가한 액체배지에서 12시간 후 OD<sub>620</sub>값을 각각의 초기 균수와 비교하였을 때 *L. casei* CAU 9006이 55.1%로 가장 높은 담즙 내성을 나타내었으며 CAU 9324가 가장 낮은 담즙 내성을 나타내었다.

#### 마. 진세노사이드 Rg<sub>3</sub> 전환능 확인

모든 균의 배양상등액에서 진세노사이드 Rg<sub>3</sub> 전환능이 확인되지 않았다. 이를 통해 진세노사이드 Rg<sub>3</sub>를 첨가한 유제품의 starter로 인변에서 분리한 균을 사용하여도, Rg<sub>3</sub> 함량에 영향을 주지 않는다는 것을 확인하였다.



<그림 15> 인변에서 분리한 유산균 배양상등액의 진세노사이드 Rg<sub>3</sub> 전환 TLC 결과.

#### 4. 시유에 대한 Rg<sub>3</sub> 및 유용 인삼 성분 적용

##### 가. Skim milk에 유용 인삼 성분 적용

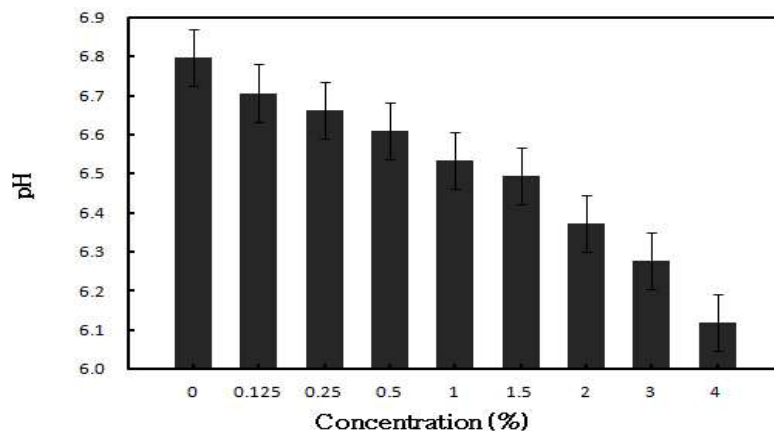
0.125%~4%의 홍삼농축액을 적용한 skim milk를 95℃, 15분 간 살균한 후 pH와 산도, 일반 세균수, 색도를 측정하였고, 25℃, 24시간 동안 정지 보관한 후 단백질 응고와 침전물 생성을 확인하였다.

<표 8> Changes of phycochemical and microbial properties of milk added with red ginseng extract

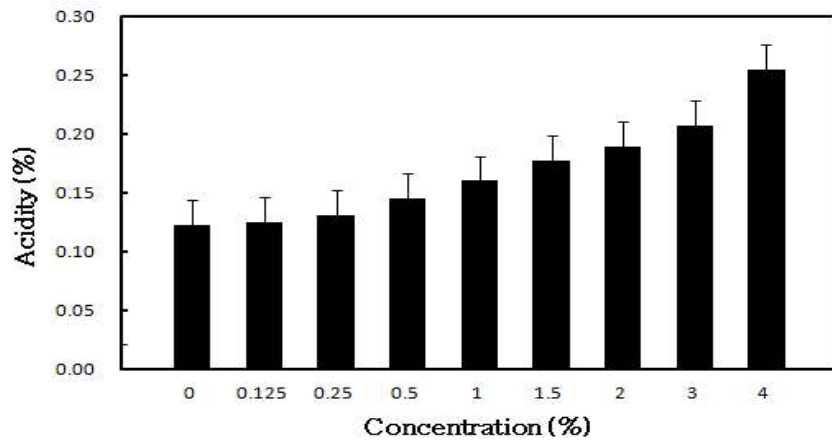
Concentration (%)	Coagulation	Precipitation	Chromatility			Total viable cells (cfu/mL)
			L	a	b	
0	- <sup>1)</sup>	-	86.56	-4.35	0.87	5.0×10 <sup>0</sup>
0.125	-	-	86.07	-4.59	4.24	8.3×10 <sup>0</sup>
0.25	+/-	-	85.34	-4.21	6.35	1.2×10 <sup>1</sup>
0.5	-	-	84.11	-3.60	9.68	1.2×10 <sup>1</sup>
1	-	-	81.68	-2.73	13.30	1.7×10 <sup>0</sup>
1.5	-	-	80.26	-1.54	16.20	5.0×10 <sup>0</sup>
2	-	-	78.27	-1.14	17.76	1.0×10 <sup>1</sup>
3	+/-	-	75.79	0.45	20.88	1.0×10 <sup>1</sup>
4	-	-	72.69	0.96	22.63	1.5×10 <sup>1</sup>

1)+, positive; -, negative; +/-, not clear; 2) L, light ~ dark (100 ~ 0); 3) a, red ~ green (60 ~ -60); 4) b, yellow ~ blue (60 ~ -60).

<표 8>을 통해 홍삼농축액 농도가 증가할수록 색(L)은 짙어지고 황색(b)과 적색(a)의 수치가 증가하였다. 살균시 안정한 홍삼농축액의 첨가 농도를 결정하기 위해 25℃에서 24시간 보관한 후 단백질의 응고 발생 및 침전 여부를 측정한 결과, 0.25%와 3%에서 응고현상이 나타났다.



<그림 16> Changes of pH of milk added with red ginseng extract.



<그림 17> Changes of titratable acidity(%) of milk added with red ginseng extract.

홍삼농축액 농도가 증가할수록 pH의 수치는 감소하고 산도의 수치는 증가하였다. pH와 산도는 시료 온도가 23℃일 때 측정하였다. 홍삼농축액을 시유에 첨가한 후 4℃ 냉장고에서 30분간 보관한 후 관능검사를 하였다. 관능검사 결과, 홍삼농축액 0.125%와 0.25%를 첨가한 우유에서는 홍삼의 맛과 향을 느낄 수 없었으며, 0.5%~2%를 첨가한 우유에서는 농도가 증가할수록 홍삼의 맛과 향이 강해졌고 기호도가 높은 편이었다. 하지만 3%와 4% 우유는 홍삼의 맛과 향이 강하여 음용하기 힘들었다.

#### 나. 시유에 홍삼농축액 적용

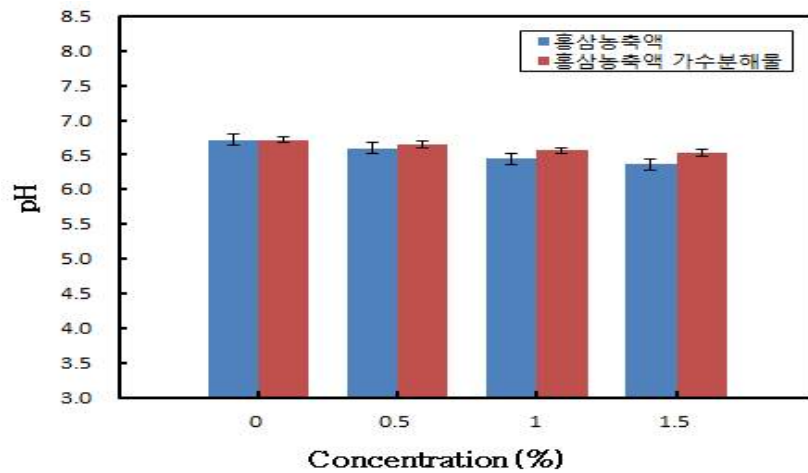
Skim milk에 홍삼농축액을 적용한 우유에서 발생한 단백질 응고현상을 예방하기 위하여 시유를 사용하였다. Cellulase 12T와 홍삼농축액(4:3)을 50℃, 150 rpm, 72시간 동안 반응시킨 후 분말화시킨 시료와 홍삼농축액을 0.5%~1.5%를 시유(맛있는 우유 GT)에 첨가시킨 후 교반하였다. 시료를 적용한 우유의 이화학적 및 미생물학적 변화를 측정하였다.

<표 9> Changes of physicochemical and microbial properties of milk added with red ginseng extract and enzyme-treated red ginseng extract

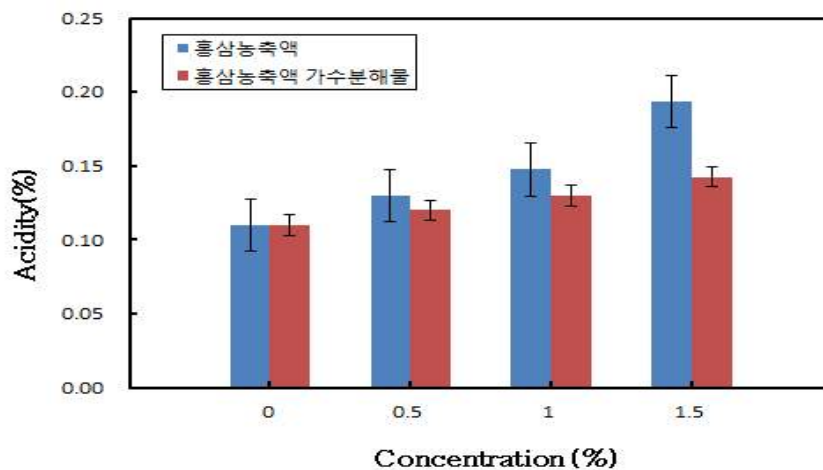
Concentration (%)	Red ginseng extract				Red ginseng extract hydrolysate			
	Chromatality			Total viable cells (cfu/mL)	Color			Total viable cells (cfu/mL)
	L	a	b		L <sup>2)</sup>	a <sup>3)</sup>	b <sup>4)</sup>	
0	93.88	-3.20	4.46	ND <sup>1)</sup>	93.88	-3.20	4.46	ND
0.5	90.43	-2.13	11.31	ND	91.74	-2.54	7.94	ND
1	88.06	-1.20	14.52	ND	90.10	-2.02	8.53	ND
1.5	85.83	-0.46	17.02	ND	88.69	-1.54	11.87	ND

<sup>1)</sup>ND, Not detected; <sup>2)</sup>L, light ~ dark(100 ~ 0); <sup>3)</sup>a, red ~ green(60 ~ -60); <sup>4)</sup>b, yellow ~ blue(60 ~ -60).

홍삼농축액과 홍삼농축액 가수분해물 농도가 증가할수록 색(L)은 짙어지고 황색(b)과 적색(a)의 수치는 증가하였다(표 9). 같은 농도이지만, 홍삼농축액을 적용한 우유의 경우, 홍삼농축액 가수분해물을 적용한 우유보다 L값이 더 낮았으며 a와 b의 수치는 높았다. PCA plate를 통해 일반균수를 측정하였는데 모든 농도에서 측정되지 않았다. 홍삼농축액과 홍삼농축액 가수분해물을 시유에 첨가하기 전 일반균수를 측정하였지만 PCA plate에서 colony는 발견되지 않았다.



<그림 18> Changes of pH of milk added with red ginseng extract and enzyme-treated red ginseng extract.

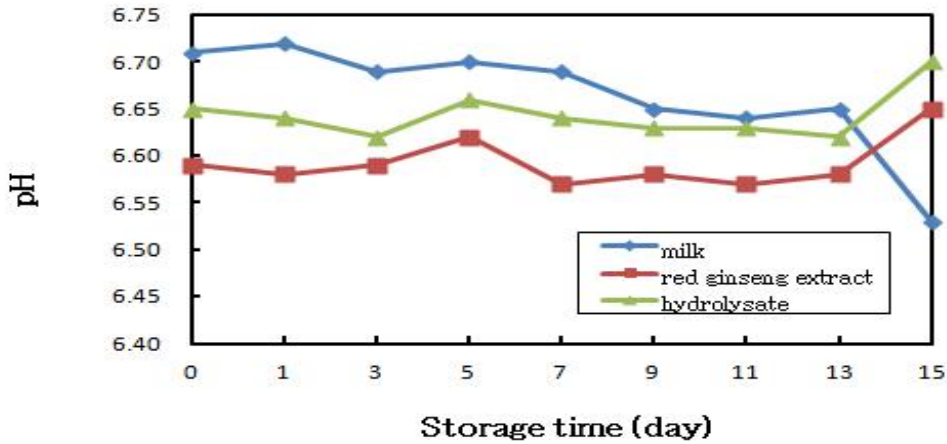


<그림 19> Changes of titratable acidity(%) of milk added with red ginseng extract and enzyme-treated red ginseng extract.

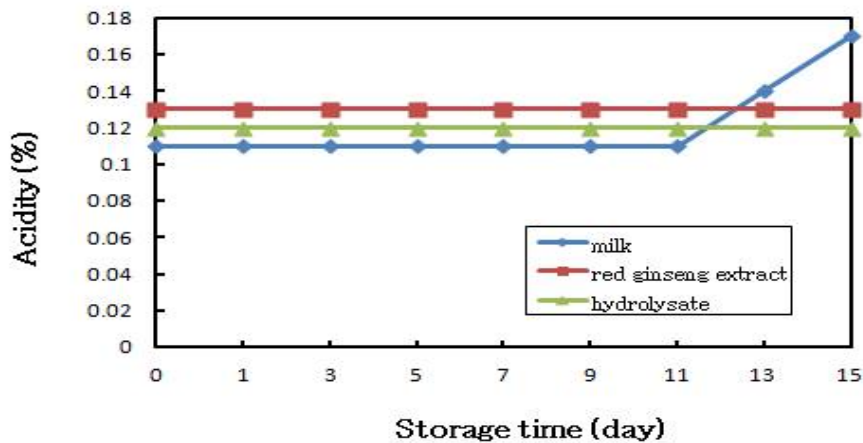
홍삼농축액과 홍삼농축액 가수분해물의 농도가 증가할수록 pH는 감소되고, 산도는 증가하였다. 홍삼농축액과 홍삼농축액 가수분해물의 pH 차이는 거의 없는 것에 반해 산도에서 홍삼농축액과 홍삼농축액 가수분해물 첨가 우유 사이에서는 차이를 보였다.

다. 0.5% 홍삼농축액 적용 우유의 저장 기간에 따른 이화학적 특성

시유(맛있는 우유 GT)와 홍삼농축액 0.5% 적용 우유, 홍삼농축액 가수분해물 0.5% 적용 우유를 4℃로 세팅된 incubator에 보관하면서 15일 동안 이화학적 및 미생물학적 변화를 측정하였다. 0일과 1일, 3일, 5일, 7일, 9일, 11일, 13일 15일로 2일 간격으로 변화를 측정하였다.



<그림 20> Changes of pH of milk added with red ginseng extract and enzyme-treated red ginseng extract during storage at 4℃.



<그림 21> Changes of titratable acidity(%) of milk added with red ginseng extract and enzyme-treated red ginseng extract during storage at 4℃.

pH 경우, 대조군인 우유는 저장 요일이 지날수록 조금씩 pH가 감소하였다. 하지만, 홍삼농축액과 홍삼농축액 가수분해물 적용한 우유에 경우 홍삼농축액 우유는 pH 6.58, 홍삼농축액 가수분해물 우유는 pH 6.62 상태를 유지하였다(그림 20). 시유의 산도 측정 결과, 정해진 유통기한 동안은 0.11%로 유지되다가 어느 순간 산도가 증가하기 시작하였다. 하지만 홍삼농축액 적용 우유와 홍삼농축액 가수분해물 적용 우유의 경우 유통기한이 지나도 각각 0.12%와 0.13%를 유지하였다(그림 21).

**<표 10> Changes of color and microbial property of milk added with red ginseng extract and enzyme-treated red ginseng extract**

Storage time (day)	Sample	Color			Total viable cells (cfu/mL)
		L <sup>4)</sup>	a <sup>5)</sup>	b <sup>6)</sup>	
0	Control <sup>1)</sup>	94.01	-3.13	4.32	ND <sup>7)</sup>
	RGE <sup>2)</sup>	90.78	-2.17	10.84	ND
	RGEH <sup>3)</sup>	92.46	-2.78	7.85	ND
1	Control	93.97	-3.03	4.17	ND
	RGE	90.68	-2.18	10.85	ND
	RGEH	92.26	-2.80	7.69	ND
3	Control	93.69	-3.03	4.07	ND
	RGE	90.50	-2.18	10.87	ND
	RGEH	92.20	-2.85	7.90	ND
5	Control	93.64	-3.15	4.32	ND
	RGE	90.41	-2.22	10.58	ND
	RGEH	92.20	-2.86	7.88	ND
7	Control	93.62	-3.01	3.98	ND
	RGE	90.40	-2.26	10.57	ND
	RGEH	92.20	-2.87	7.87	ND
9	Control	93.59	-3.03	4.10	ND
	RGE	90.39	-2.33	10.50	ND
	RGEH	92.20	-2.85	7.87	ND
11	Control	93.55	-3.00	4.09	ND
	RGE	90.24	-2.33	10.65	ND
	RGEH	92.11	-2.78	8.07	ND
13	Control	93.35	-2.98	4.45	ND
	RGE	90.11	-2.31	10.40	ND
	RGEH	92.11	-2.82	8.09	ND
15	Control	93.21	-3.06	4.99	ND
	RGE	90.05	-2.42	10.43	ND
	RGEH	92.07	-2.86	8.13	ND

<sup>1)</sup>Control, milk; <sup>2)</sup>RGE, red ginseng extract; <sup>3)</sup>RGEH, red ginseng extract hydrolysate; <sup>4)</sup>L, light ~ dark(100 ~ 0); <sup>5)</sup>a, red ~ green(60 ~ -60); <sup>6)</sup>b, yellow ~ blue(60 ~ -60); <sup>7)</sup>ND, not detected.

저장 기간이 길수록 세 그룹 모두 색(L)이 짙어졌지만, 적색(a)과 황색(b)은 저장 기간이 지나도 비슷한 수치를 유지하였다. 우유에 첨가된 시료의 양은 일정하기 때문에 a와 b의 수치는 일정하지만 우유를 장시간 보관에 의해 일어난 갈변 현상으로 인해 L 수치가 증가되는 것으로 판단된다. 시유와 홍삼농축액 적용 우유, 홍삼농축액 가수분해물 적용 우유 세 그룹 모두 PCA plate에서 균수가 측정되지 않았는데 시유가 살균과정을 거친 상태이기 때문에 균이 발견되지 않는 것으로 사료된다(표 10).

## 라. 제품에 따른 기호도 조사

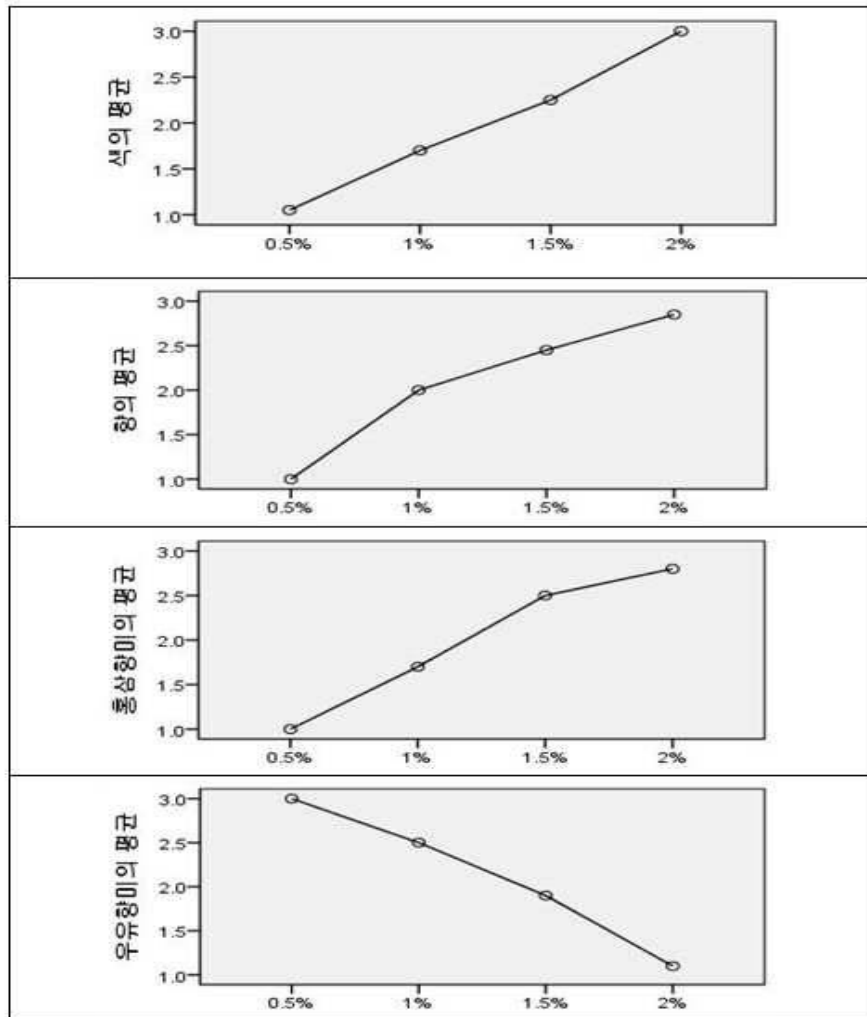
상기 방법에 따라 0.5%~2% 홍삼농축액을 첨가한 우유를 제조한 후 냉장고 4℃에서 30분 이상 보관한 후 관능검사를 실시하였다. 10명의 패널 요원을 선정하여 홍삼 우유를 시음한 후 검사표에 시료의 순위를 정하였으며, 관능검사 방법은 특성차이검사 중 단순 순위검사를 실시하였다.

그림 22에서 보는 바와 같으며 수치가 높아질수록 색은 짙어지고 향은 강해짐을 의미한다. 홍삼 우유의 색은 홍삼농축액의 농도가 증가할수록 갈색이 진해졌으며 냄새 또한 농도가 증가할수록 홍삼의 향이 강해졌다. 홍삼 우유를 시음한 결과 홍삼농축액 0.5%~1%를 첨가한 홍삼 우유는 홍삼의 향미는 약했으나, 우유의 향미는 약간 강했다. 홍삼농축액 1.5%~2%를 첨가한 홍삼 우유는 홍삼의 향미가 강하지는 않았지만, 1%에 비해 강했으며 우유의 향미는 약했다. 또, 싸이클로덱스트린과 올리고당을 첨가하여 관능검사를 실시한 결과는 그림 23에서 보는 바와 같으며 점수가 낮을수록 홍삼의 향미 및 맛의 강도가 낮음을 의미하고 순위는 점수가 낮을수록 선호하는 제품임을 의미한다. 싸이클로덱스트린과 올리고당을 첨가한 홍삼 우유에서는 홍삼농축액만 첨가한 홍삼 우유보다 쓴 맛이 약해졌으며 단맛이 강해졌다. 싸이클로덱스트린과 올리고당을 첨가한 홍삼 우유의 살균 전과 살균 후에 홍삼 우유 맛을 평가한 결과, 살균한 홍삼 우유가 살균하지 않은 홍삼 우유보다 쓴 맛이 더 약해지고 단 맛은 더 강해졌고, 우유를 마신 후 입 안에서 머물던 홍삼의 향미가 감소하였다.

<표 11> 홍삼농축액 첨가 요구르트의 배합 비율

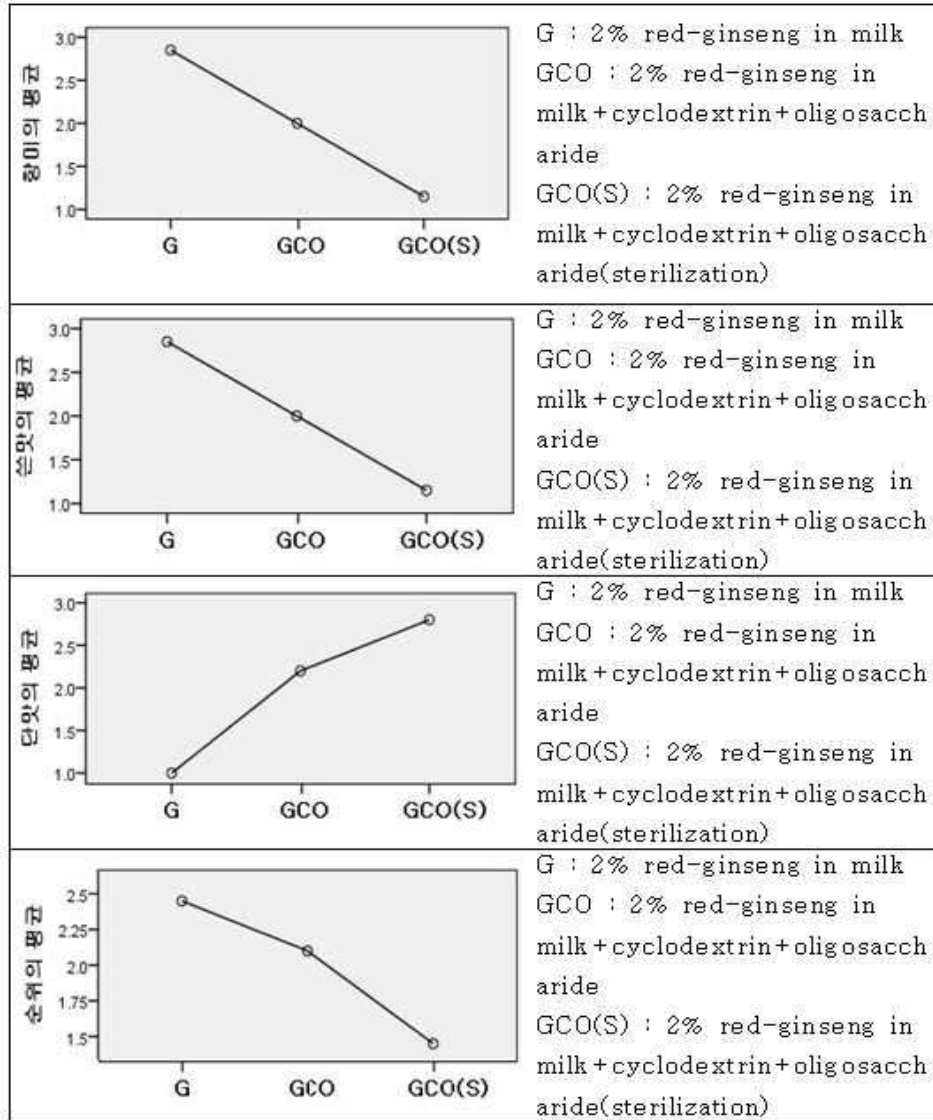
재료명	플라시보 (w/v, %)	홍삼 요구르트 (w/v, %)	비고
홍삼농축액	-	2	
올리고당	4.7	4.7	
싸이클로덱스트린	0.54	0.54	
카라멜색소	0.1	-	진성 카라멜색소
니코틴산아마이드	0.017	0.017	





0.5% ; 0.5% red-ginseng in milk. 1.0% ; 1.0% red ginseng in milk.  
 1.5% ; 1.5% red-ginseng in milk. 2.0% ; 2.0% red ginseng in milk.

<그림 22> Sensory test of milk added with red ginseng extract.



<그림 23> Sensory test of milk added with red ginseng extract.

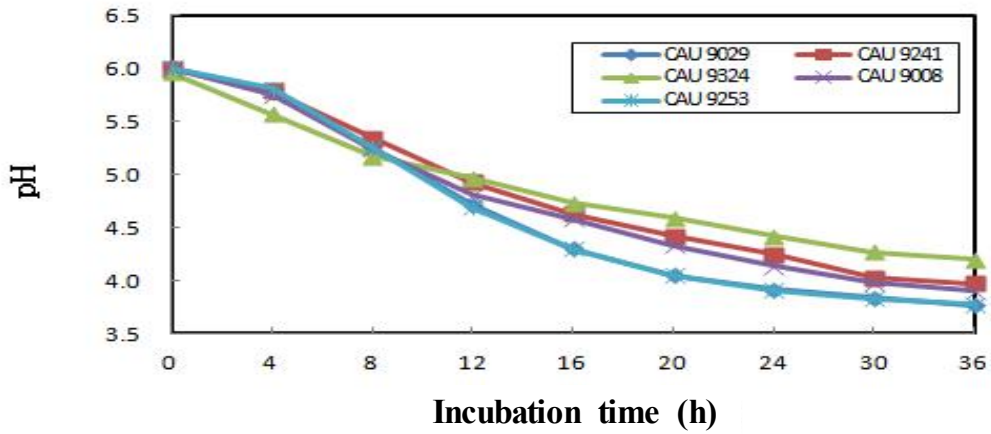
## 5. 우유배지 생장 특성이 우수한 균주

### 가. *Lactobacillus paracasei* 균주 선발

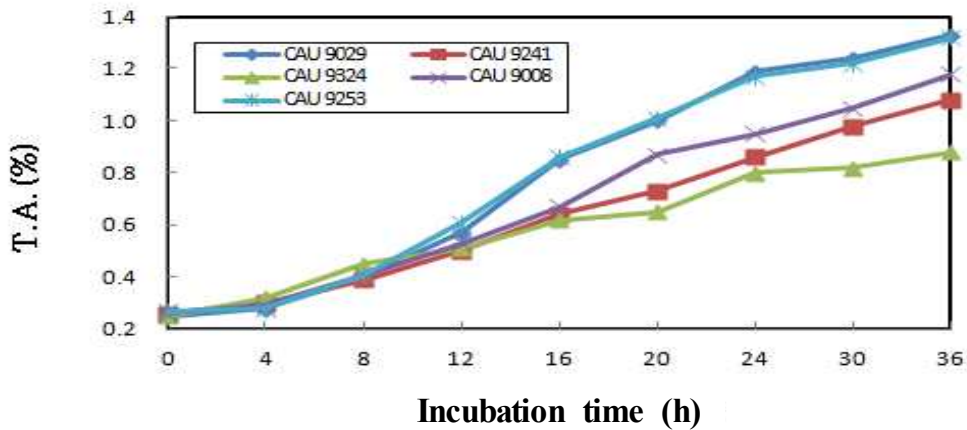
*Lactobacillus paracasei* 4균주(CAU 9241, CAU 9253, CAU 9324, CAU 9008) 중 우유배지에 서의 생장 능력이 가장 우수한 균주를 선발하기 위해 실험하였으며 control 균주로는 한국 야구르트 *L. casei* YIT 9029을 사용하였다. *Lactobacillus* 균주 5개는 MRS 액체배지에 2차 계대 배양한 뒤 10% skim milk에 2% glucose 첨가한 배지에 젖산균을 1%(v/v) 접종한 후 37°C에서 배양하였다. 총 36시간까지 배양하였고, 4시간 간격으로 sampling을 하여 pH, T.A. 측정과 균수를 측정하였다. 그 결과, 다른 균들에 비해 CAU 9253이 control 균주인 YIT 9029와 유사한 생장 패턴을 보이며 가장 낮은 pH, 가장 높은 T.A. 수치를 보였고 균수도 높게 유지되는 것으로 확인되어 CAU 9253을 우수 균주로 최종 선발하였다(그림 24~26).

<표 12> The list of selected lactic acid bacteria

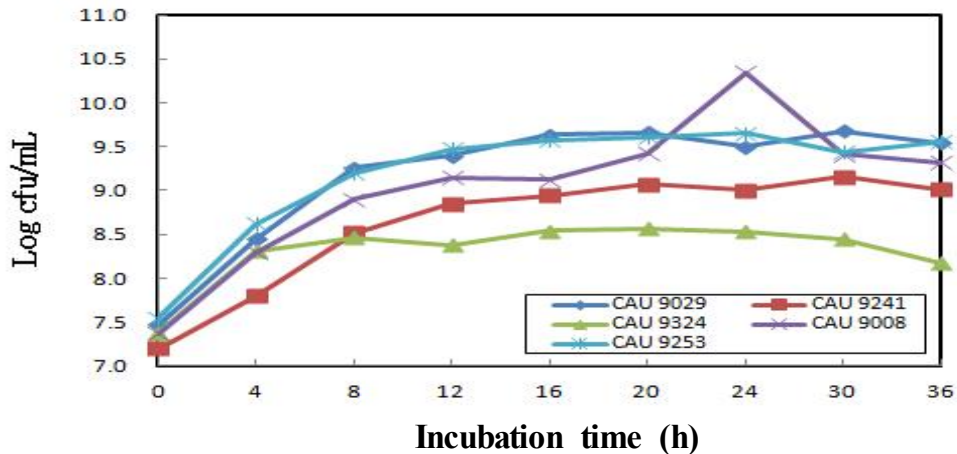
Strain #	Identification	Origin
CAU 9241	<i>Lactobacillus paracasei</i>	Human feces
CAU 9253	<i>Lactobacillus paracasei</i>	Human feces
CAU 9324	<i>Lactobacillus paracasei</i>	Human feces
CAU 9008	<i>Lactobacillus paracasei</i>	Human feces
CAU 9021	<i>Streptococcus thermophilus</i>	Human feces
CAU 9142	<i>Streptococcus thermophilus</i>	Human feces



<그림 24> The change of pH of 10% reconstituted skim milk supplemented with 2% glucose during bacterial growth at 37°C.



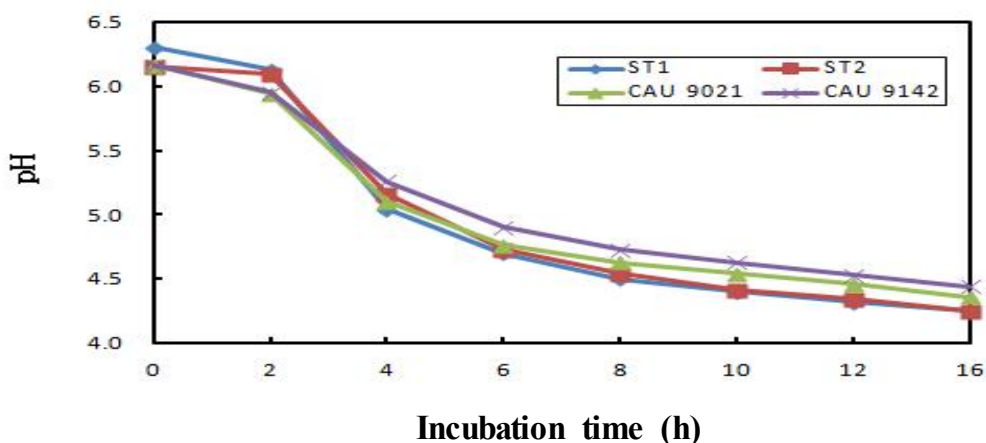
<그림 25> The change of titratable acidity(%) of 10% reconstituted skim milk supplemented with 2% glucose during bacterial growth at 37°C.



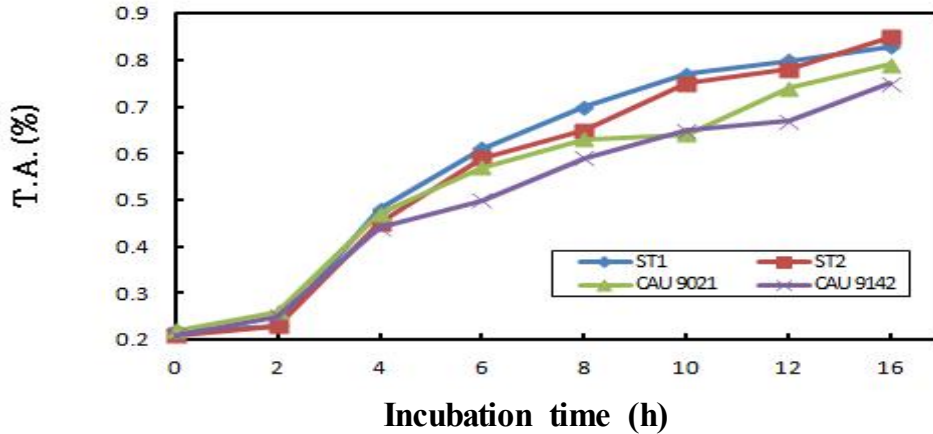
<그림 26> Bacterial growth in 10% reconstituted skim milk supplemented with 2% glucose at 37°C.

#### 나. *Streptococcus thermophilus* 균주 선발

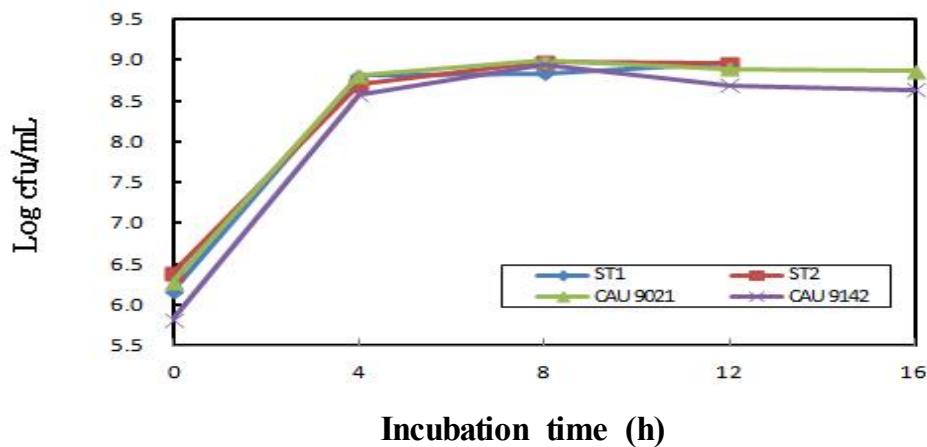
사람의 분변에서 분리된 균인 CAU 9021, CAU 9142(표 12)를 현재 starter로 사용하고 있는 상업용 균주와 비교하여 능력이 뛰어난 균을 선발하기로 하였다. *Streptococcus* 균주 4개는 M17 액체배지에서 2차 계대배양한 뒤 10% skim milk에 2% glucose를 첨가한 배지에 1%(v/v) 접종한 후 42°C에서 배양하였다. 총 16시간 배양 중 pH와 T.A. 값은 2시간 간격으로 sampling을 하여 측정하였고, 균수 측정은 4시간 간격으로 진행하였다. starter로서 control로 쓰이는 ST1과 ST2는 12시간까지만 균수를 측정하였다. 그림 27에서 보는 바와 같이, CAU 9021과 CAU 9142 중에서는 CAU 9021이 pH가 더 낮았지만, ST과 ST2보다는 약간 높은 pH를 나타내었다. T.A. 역시 ST1과 ST2보다 선발된 균주들이 낮은 값을 나타내었지만(그림 28), 균수에서는 균주들 간의 차이가 크지 않았다(그림 29).



<그림 27> The change of pH of 10% reconstituted skim milk supplemented with 2% glucose during bacterial growth at 42°C.



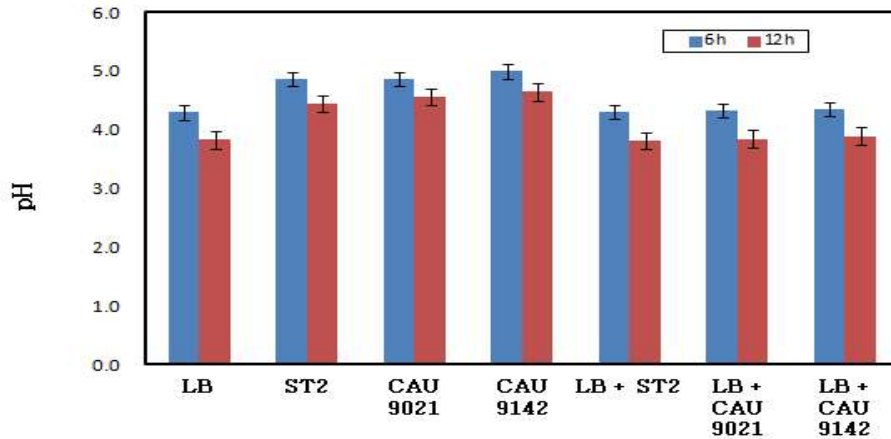
<그림 28> The change of titratable acidity(%) of 10% reconstituted skim milk supplemented with 2% glucose during bacterial growth at 42°C.



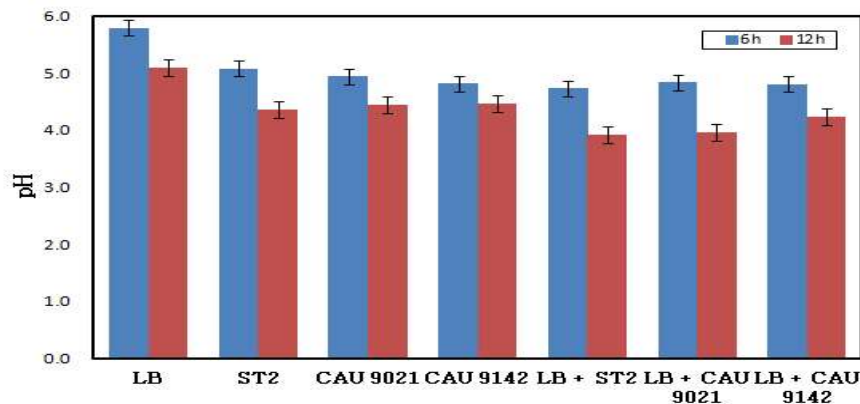
<그림 29> Bacterial growth in 10% reconstituted skim milk supplemented with 2% glucose at 42°C.

또한 현재 starter로 쓰이고 있는 *Lactobacillus bulgaricus*와 *S. thermophilus*간의 synergy 효과를 비교해 보았다. *L. bulgaricus*는 MRS 액체배지에, *S. thermophilus* 3개 균주(ST2, CAU 9021, CAU 9142)는 M17 배지에 2차 계대배양하여 준비하고 LB와 ST를 1 : 1(vol : vol)로 섞어 각각 10% skim milk에 2% glucose를 첨가한 배지와 yogurt base에 1% 접종하여, 42°C에서 12시간 배양하였다. Yogurt base는 서울우유 시유(고형분 함량, 8.6%)에 서울우유 탈지분유(고형분 함량, 95%)를 첨가해 고형분 함량을 11%으로 맞춰 용해시킨 후, 끓는 물에 증탕으로 우유의 심부 온도가 90°C 이상일 때부터 10분 간 살균한 뒤 식혀 준비하였다. pH 측정 은 배양한지 6시간과 12시간에 sampling을 하여 각각 확인을 하였다. 그 결과, 10% skim milk + 2% glucose배지에서는 *L. bulgaricus*의 pH가 가장 낮았고, *S. thermophilus*와의 혼합을 하였을 때 *S. thermophilus* 자체보다는 pH가 낮아졌지만 *L. bulgaricus*보다는 pH가 낮지 않아 그렇게 큰 synergy 효과는 확인하지 못하였다(그림 30). 그러나 yogurt base에서는 *S. thermophilus*가 *L. bulgaricus*보다 낮은 pH를 보였고, *L. bulgaricus*와 혼합한 sample의 경우 단독으로 배양했을 때보다 pH의 감소량이 좀 더 증가 된 것을 확인할 수 있었다. 또한 CAU

9021과 CAU 9142를 비교하였을 때 단독으로는 pH가 거의 비슷하였으나 *L. bulgaricus*와의 혼합에서는 CAU 9021이 더 낮은 pH를 나타내었다(그림 31). 결과적으로 단독으로 pH를 낮추는 능력이 조금 더 뛰어나고 *L. bulgaricus*와의 synergy 효과를 나타낸 CAU 9021을 선발하였다.



<그림 30> Growth activity of 10% reconstituted skim milk supplemented with 2% glucose during bacterial growth at 42°C.



<그림 31> Growth activity of yogurt base during bacterial growth at 42°C.

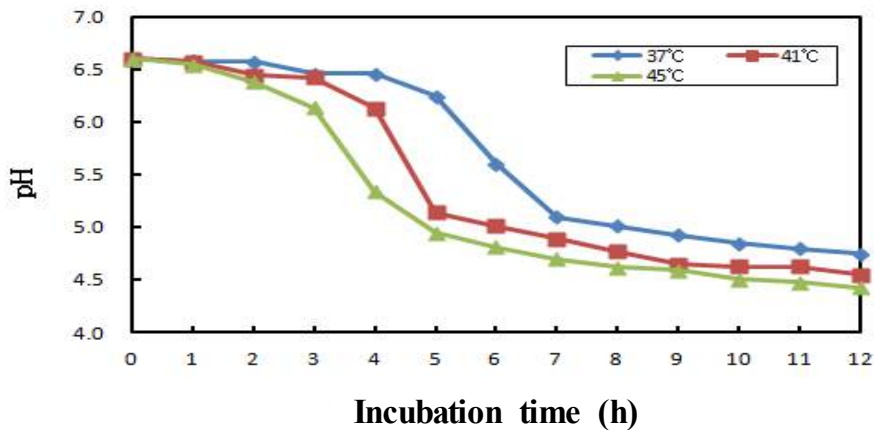
## 6. 혼합 균주를 이용한 yogurt 배양 실험

### 가. *Streptococcus thermophilus*와 *Lactobacillus bulgaricus* 균주의 혼합 배양

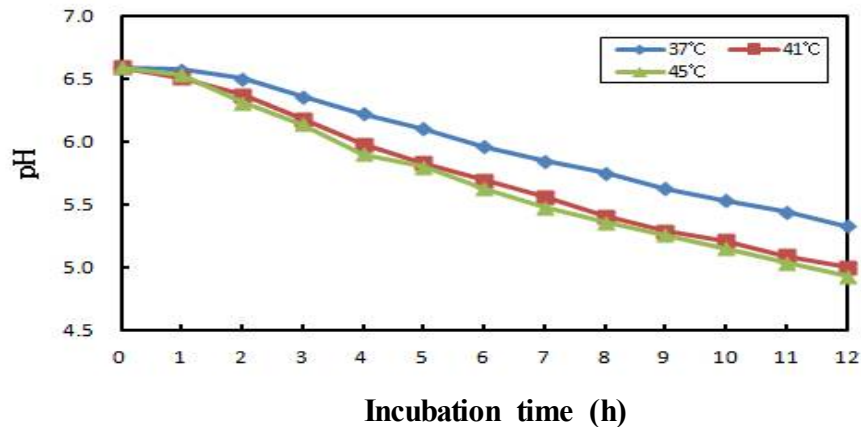
선발된 CAU 9021과 *L. bulgaricus*의 혼합 균주를 가지고 yogurt base에서의 온도에 따른 pH 측정을 통해 성장능을 측정하였다. CAU 9021은 M17 액체배지에서, *L. bulgaricus*는 MRS 액체배지에서 1차 계대를 하고 10% skim milk에 2차 계대배양하여 준비하였다. Yogurt base는 서울우유 시유(고형분 함량, 8.6%)에 서울우유 탈지분유(고형분 함량, 95%)를 첨가해 고형분 함량을 11%로 맞춰 용해시킨 후, 끓는 물에 증탕으로 우유의 심부 온도가 90°C 이상일 때 부터 10분 간 살균한 뒤 식혀 준비하였다. 준비한 yogurt base에 각 균을 단독으로 1% 접종과

CAU 9021 : LB = 1 : 1(균수 기준 -  $2.0 \times 10^8$ )로 하여 1% 접종을 한 뒤 37°C, 41°C, 45°C water bath에서 각각 배양하였다. 그 뒤 1시간 간격으로 pH를 측정하여 12시간까지 배양하였다.

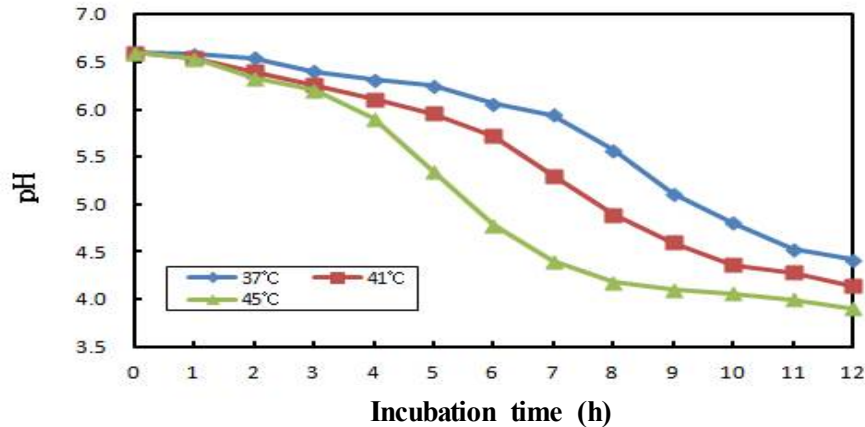
그 결과, CAU 9021 단독으로 배양하였을 경우 45°C에서의 pH가 가장 빨리 떨어지고 가장 낮은 pH에 도달하였다(그림 32). *L. bulgaricus*의 경우에도 45°C에서 pH가 가장 낮게 측정되었지만, 41°C와 크게 차이는 보이지 않았다(그림 33). 두 균주의 균수를 1 : 1 혼합한 경우에도 45°C에서 가장 먼저, 크게 pH가 감소하였으며 단독으로 균을 배양했을 때보다 최종 pH가 확실히 낮아져 synergy 효과를 확인할 수 있었다(그림 34).



<그림 32> The change of pH of yogurt base during the bacterial growth at 37, 41, 45°C.



<그림 33> The change of pH of yogurt base during the bacterial growth at 37, 41, 45°C.



<그림 34> The change of pH of yogurt base during the bacterial growth at 37, 41, 45°C.

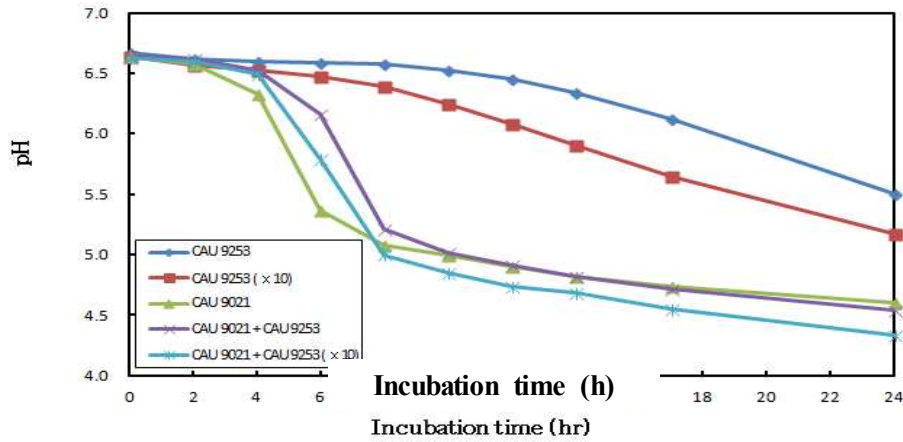
나. *Streptococcus thermophilus*와 *Lactobacillus paracasei* 혼합배양

선발된 CAU 9021과 CAU 9253의 혼합 균주를 가지고 yogurt base에서의 온도에 따른 pH 측정을 통해 성장 능력을 확인하였다. CAU 9021은 M17 액체배지에서, CAU 9253은 MRS 액체배지에서 1차 계대하고 10% skim milk에 2차 계대배양하여 준비하였다. 준비한 yogurt base에 CAU 9021, CAU 9253, CAU 9253(균수X10) 각 균을 단독으로, CAU 9021 : CAU 9253 = 1 : 1(균수 기준 -  $2.0 \times 10^8$ )로, CAU 9021 : CAU 9253 = 1 : 10으로 1% 접종을 한 뒤 37°C, 41°C water bath에서 각각 배양하였다. 그 뒤 2시간 간격으로 pH를 측정하고 24시간까지 배양하였다.

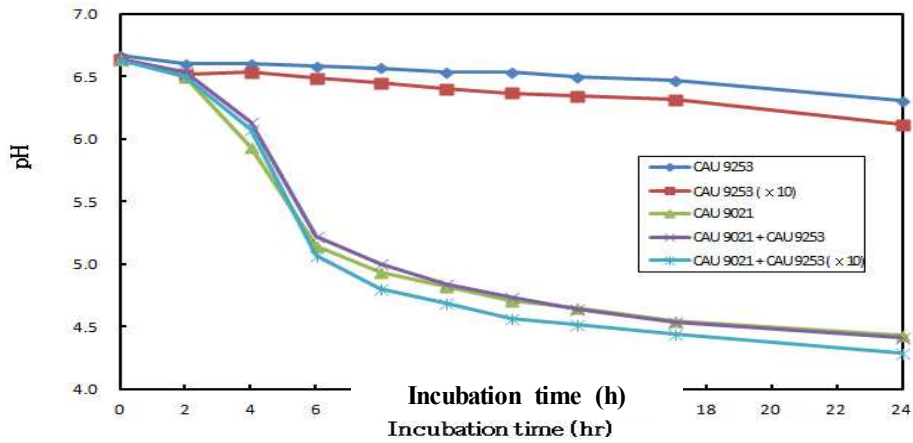
그 결과, 37°C에서 CAU 9253 단독으로 배양했을 때 균수가 10배 많은 경우에서 pH가 더 빨리 떨어지고 더 낮은 pH에 도달하였다(그림 35). 하지만 41°C에서는 균수가 많더라도 크게 차이를 보이지 않았는데, 이는 *L. paracasei*의 최적 온도에서 벗어나 균수가 크게 증가하지 않았기 때문이라고 판단된다(그림 36). CAU 9021과 CAU 9253 혼합 경우 온도 조건과는 상관없이 1 : 1로 혼합했을 때는 CAU 9021 단독으로 배양한 것과 큰 차이를 보이지 않았고, 1 : 10 비율로 혼합한 경우에는 pH가 약간의 감소를 보였다. 41°C에서 CAU 9021 단독이나 혼합 균주 모두 37°C에서 보다 pH가 낮아졌는데 이는 CAU 9253보다는 CAU 9021의 최적 성장 온도에 의한 영향으로 보인다. *L. paracasei*의 균수를 유지하기 위해 37°C의 온도 조건을 선택하였다. 선택한 37°C에서의 CAU 9021과 CAU 9253의 혼합 균주의 최적 균주 혼합 농도를 측정하기 위해 yogurt base에서의 혼합 농도 별로 pH 측정하였다. CAU 9021은 M17 액체배지에서, CAU 9253은 MRS 액체배지에서 1차 계대하고 10% skim milk에 2차 계대배양하여 준비하였다. 준비한 yogurt base에 CAU 9021, CAU 9253, CAU 9253(균수×5), CAU 9253(균수×10) 각 균을 단독으로, CAU 9021 : CAU 9253 = 1 : 1, 1 : 5, 1 : 10(균수 기준 -  $2.0 \times 10^8$ )으로 1% 접종을 한 뒤 37°C water bath에서 배양하였다. 그 뒤 pH를 2시간 간격으로 14시간 까지 측정하고 최종 24시간까지 배양하였다. CAU 9253은 농도를 높일수록 pH를 더 낮게 떨어트렸으며 CAU 9021과의 혼합의 경우에도 농도가 높아질수록 pH가 더 낮게 측정되었다. 그러나 CAU 9253의 농도를 10배로 높여도 CAU 9021 단독으로 배양한 것과 비슷한 결과를 보여 synergy



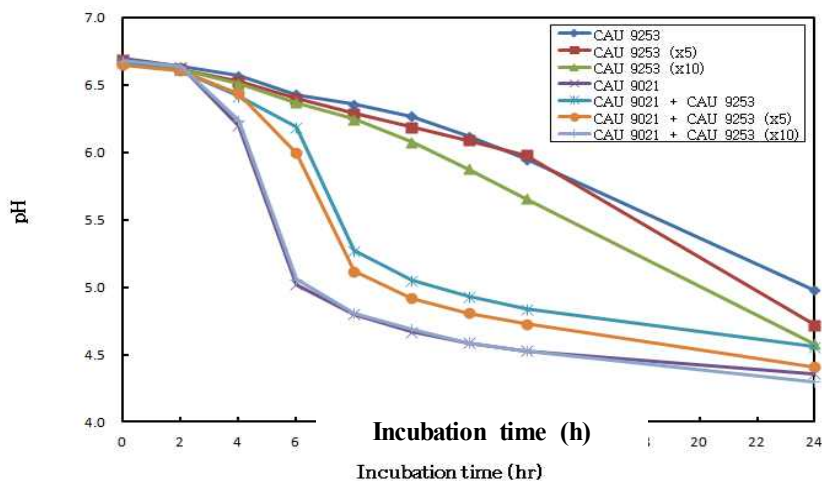
효과를 보긴 어렵다고 판단된다(그림 37).



<그림 35> The change of pH of yogurt base during bacterial growth at 37°C.



<그림 36> The change of pH of yogurt base during bacterial growth at 41°C.



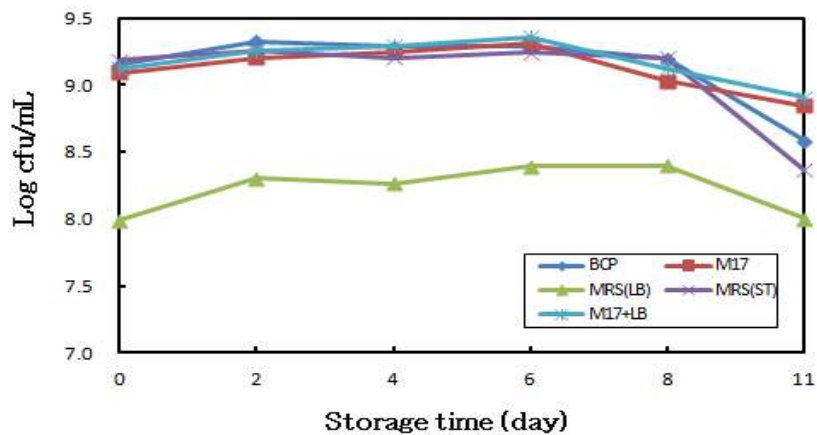
<그림 37> The change of pH of yogurt base during bacterial growth at 37°C.

## 다. 혼합 균주로 만든 yogurt의 저장성 실험

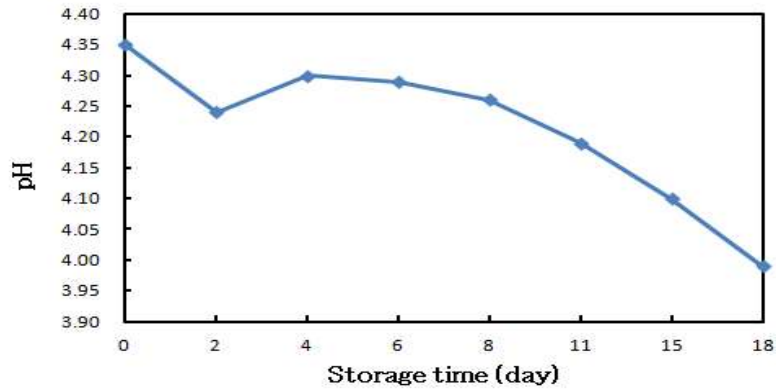
### (1) CAU 9021과 *L. bulgaricus* 혼합 yogurt의 저장 중 변화

CAU 9021과 *L. bulgaricus*의 혼합 균주로 만든 yogurt의 저장 중 균수와 pH의 변화를 관찰하였다. CAU 9021은 M17 액체배지에서, *L. bulgaricus*는 MRS 액체배지에서 1차 계대하고 10% skim milk에서 2차 계대배양하여 준비하였다. 준비한 yogurt base에 CAU 9021 : LB = 1 : 1 (균수 기준 -  $2.0 \times 10^8$ )로 하여 1% 점종을 한 뒤 41°C water bath에서 배양하여, 9시간 후 pH 4.39에서 배양을 중지시켰다. 그 뒤 균질기를 이용하여 커드를 균질화시키고 10 mL 씩 담아 4°C에서 냉장 보관하였다. 균수 측정은 2일 간격으로 11일까지 하였고, pH는 18일까지 확인하였다. 균수의 확인은 총 유산균 측정 배지인 BCP와 *Streptococcus* strain 선택 배지 M17, *Lactobacillus* 선택배지인 MRS를 사용하였다.

그 결과, *Streptococcus* strain의 균수는 9 log cfu/mL 이상이고 *Lactobacillus* strain는 8 log cfu/mL으로 10배의 차이가 나타났다. 또한 BCP로 측정된 총 균수는 *Streptococcus* strain의 값과 크게 다르지 않아, 총 균수에는 주로 *S. thermophilus*가 영향을 미쳤음을 알 수 있다. 6일까지는 균수가 일정하게 유지되다가 11일 때까지 조금씩 감소하는 것을 볼 수 있었다. 이 역시 *L. bulgaricus*보다는 *S. thermophilus*의 균수가 줄어들면서 총 균수가 줄어드는 것으로 판단된다(그림 48). pH 결과 배양을 중지시킨 이후로 시간이 지날수록 pH가 감소하였는데, 이는 *L. bulgaricus*의 post-acidification 영향으로 볼 수 있다(그림 39).



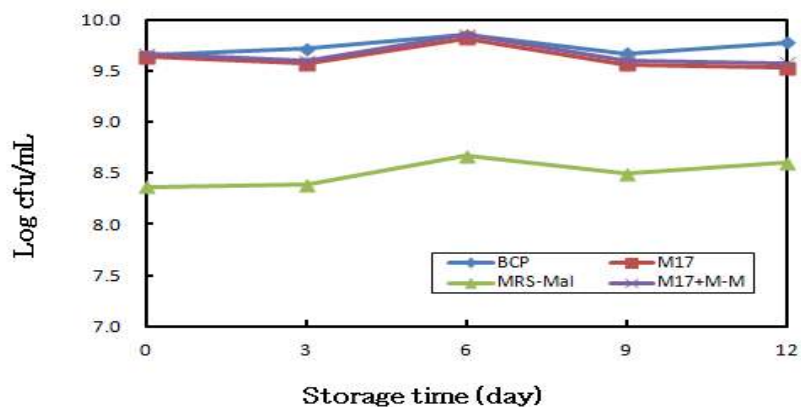
<그림 38> Changes of total viable count in yogurt by CAU 9021 and *L. bulgaricus* during the storage at 4°C.



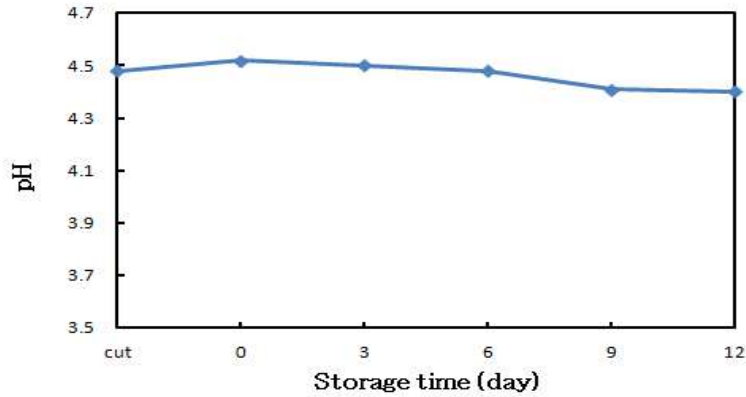
<그림 39> Changes of pH in yogurt by CAU 9021 and *L.bulgaricus* during the storage at 4°C.

(2) CAU 9021과 CAU 9253 혼합 yogurt의 저장 중의 변화

CAU 9021과 CAU 9253의 혼합 균주로 만든 yogurt의 저장 중 균수와 pH의 변화를 관찰하였다. CAU 9021은 M17 액체배지에서, CAU 9253은 MRS 액체배지에서 1차 계대하고 10% skim milk 에서 2차 계대배양하여 준비하였다. 준비한 yogurt base에 CAU 9021 : CAU 9253 = 1 : 10(균수 기준 -  $2.0 \times 10^8$ )로 하여 1% 접종을 한 뒤 37°C water bath에서 배양하여, 14시간 후 pH 4.52에서 배양을 중지시켰다. 그 뒤 균질기를 이용하여 커드를 균질화시키고 10 mL 씩 담아 4°C에서 냉장 보관하였다. 균수와 pH 측정은 3일 간격으로 12일 동안 진행하였다. 균수의 확인은 총 유산균 측정 배지인 BCP와 *Streptococcus* strain 선택 배지 M17, *L. paracasei* 선택배지인 MRS-Maltose를 사용하였다. *Streptococcus* strain의 균수는 9.5 log cfu/mL 이상이고 *Lactobacillus* strain는 8.5 log cfu/mL으로 10배의 차이가 나타났다. 또한 BCP로 측정된 총 균수는 *Streptococcus* strain의 값과 크게 다르지 않아, 총 균수에는 주로 *S. thermophilus*가 영향을 주었다(그림 40). 저장 12일 동안 균수는 큰 변화 없이 유지되었고, pH 결과 역시 배양을 중지시킨 이후 시간이 지나도 큰 변화는 나타나지 않고 유지되었다(그림 41).



<그림 40> Changes of total viable count in yogurt by CAU 9021 and CAU 9253 during the storage at 4°C.



<그림 41> Changes of pH in yogurt by CAU 9021 and CAU 9253 during the storage at 4°C.

## 7. *In vitro* 및 *in vivo* 상의 항암 효과 검증

### 가. *In vitro* 상의 항암 효과 검증

#### (1) 홍삼농축액 가수분해물의 HPLC 분석

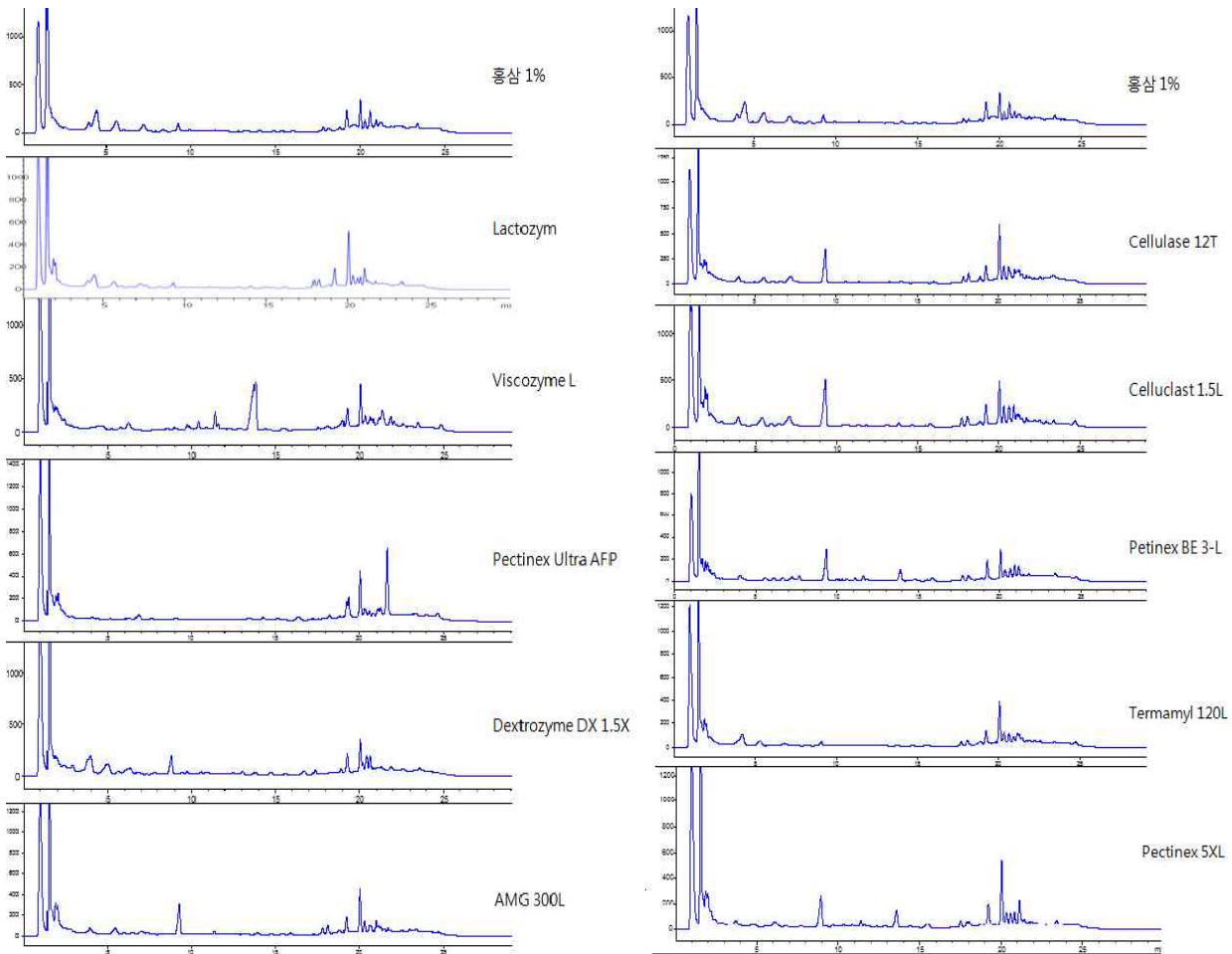
당화효소 10종류(Cellulase 12T와 Lactozym, Dextrozyme DX 1.5X, Pectinex Ultra AFP, AMG 300L, Pectinex 5XL, Celluclast 1.5L, Pectinex BE 3-L, Termamyl 120L type LS, Viscozyme L)를 이용하여 홍삼농축액의 major ginsenoside를 minor ginsenoside로 전환시켰다. 총 volume 100 mL에 당화효소 1%와 홍삼농축액 1%를 녹인 후 shaking incubator에서 50°C, 150 rpm로 48시간 동안 반응시켰다. 48시간 후 100°C의 water bath에서 10분 동안 가열시켜준 후 원심분리(12000 rpm, 4°C, 30분)하여 침전물은 제거하고 상등액을 수포화 부탄올로 진세노사이드를 추출하였다(Chang et al. 2009). 부탄올을 제거한 후 메탄올 50 µL로 용해시킨 후 HPLC을 통해 ginsenoside를 분석하였다. HPLC 분석 조건은 표 13와 같다.

<표 13> HPLC 분석 조건

검출기	UV detector
컬럼	Agilent Eclipse xDB-C <sub>18</sub>
이동상	Solution A : 100% acetonitrile / solution B : 14% acetonitrile
유속	1.2 mL/min
주입량	20 µL
파장	203 nm
시간	30 min

<그림 42>는 당화효소와의 반응 후 홍삼농축액의 진세노사이드 전환에 대한 HPLC 분석 결과이다. 당화효소가 진세노사이드의 dammarane에 결합된 당을 분해하여 major ginsenoside가 minor ginsenoside로 전환되었다. 효소의 종류에 따라 Rg<sub>3</sub>의 양에는 차이가 있었지만, 홍삼농축액 내에 존재하는 minor ginsenoside의 양보다는 모두 증가하였다. 10종류의 당화효소 중 cellulase 12T가 가장 많이 minor ginsenoside로 전환시켰고, 그 다음으로 celluclast 1.5L이 다

른 효소에 비해 ginsenoside 전환능이 우수하였다. HPLC 분석 결과를 가지고 *in vitro* 상의 항암 효과를 검증할 시료를 결정하였다.

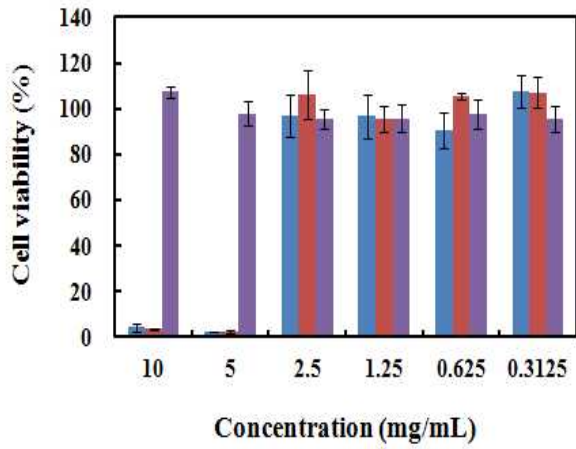


<그림 42> 당화효소로 인한 홍삼농축액 진세노사이드 전환에 대한 HPLC 분석.

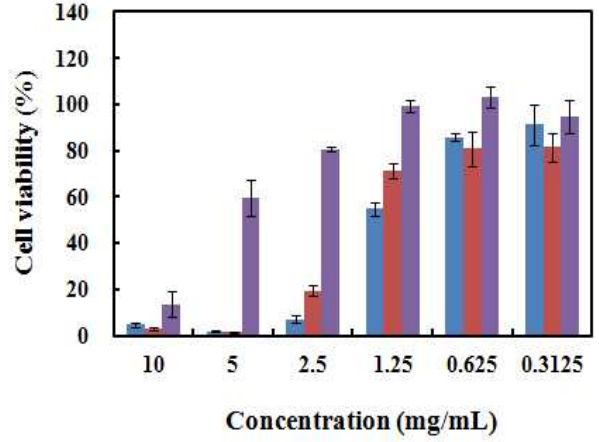
(2) Cell line을 이용한 *in vitro* 상의 항암효과 검증

<그림 43>은 홍삼농축액과 홍삼농축액 가수분해물의 MTT assay를 통해 얻은 결과이다. 정상 세포인 MRC-5의 경우 홍삼 1%(10 mg/mL)과 0.5%(5 mg/mL)에서 정상 세포에 대한 독성을 보이지 않기 때문에 대장암 세포인 HT-29와 LoVo cell에 대해 같은 범위 내에서는 홍삼농축액의 독성으로 인해 암세포가 사멸될 수도 있기에 항암 효과라고 보기는 어렵다. 그렇기 때문에 홍삼농축액은 0.25%(2.5 mg/mL)부터 항암 효과를 가진다고 판단되어진다. 홍삼농축액 가수분해물일 경우 MRC-5에는 독성이 나타나지 않으므로 암세포의 사멸을 통해 항암 효과를 가진다고 판단된다. 1%(10 mg/mL)에서 HT-29와 LoVo에 대해 항암 효과를 보이지만, 0.5%(5 mg/mL)일 경우 LoVo에서는 항암 효과를 보이지 않고, HT-29에서는 0.5%(5 mg/mL)와 0.25%(2.5 mg/mL)에서 항암 효과를 가졌다.

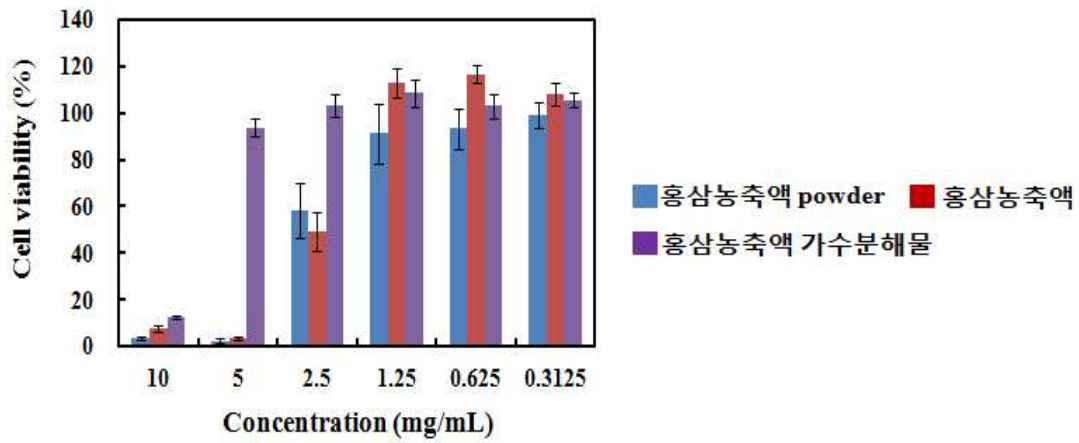
(A) MRC-5



(B) HT-29



(C) LoVo



<그림 43> Cytotoxic activity of red ginseng extract and enzyme-treated red ginseng extract.

나. *In vivo* 상의 홍삼농축액 첨가 우유 및 홍삼농축액 가수분해물 첨가 우유의 대장암 억제 효과 검증

(1) 실험동물 및 실험식이

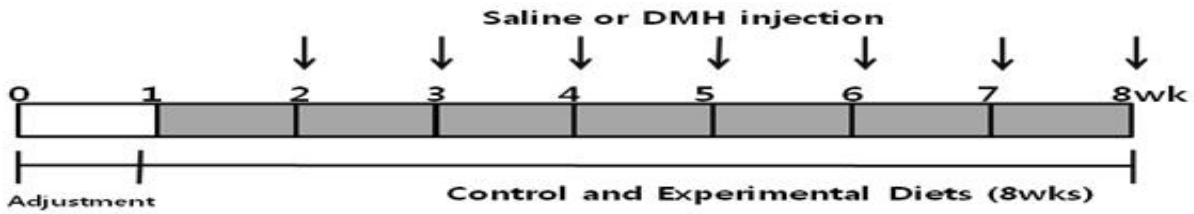
평균 체중이 150 g인 5주령의 Sprague-Dawley 중 수컷 흰쥐를 코아텍(Koatech)으로부터 받아 1주 간 pellet으로 적응시키고 난 후에 쥐의 무게를 달아 난괴법으로 5군으로 나누어 cage에 한 마리씩 분리 사육하였고, 5종류의 실험식이를 7주 간 투여하였다. 물은 자유 공급하였으며 실험식이는 pair feeding 하였다. 사육실의 실내온도는  $22 \pm 2^\circ\text{C}$ , 습도는  $50 \pm 5\%$ 를 유지하고, 전등을 조절하여 낮 12시간, 밤 12시간으로 조절하였다. 모든 군의 실험식이는 고지방 저섬유식이를 기본식으로 하여 5군으로 분류하였다. 대장암을 유발하지 않은 정상대조군(normal control group, NC)와 대장암 유발군(DMH투여, DMH), 대장암유발 + 10% 일반우유 보충군(DMH + milk), 대장암유발+10% 홍삼농축액 첨가 우유 보충군(DMH + RS milk), 대장암유발 + 10% 홍삼 가수분해물 첨가 우유(DMH + FRS milk) 등으로 나누어 각 군당 10마리씩 배정하였으며 실험 식이는 7주 간 급여하였다(표 14). 식이섭취량은 하루에 한 번씩, 체중은 일주일에 한 번 일정한 시간에 측정하였다. 실험 기간 동안의 체중 증가량을 같은 기간 동안의 총 식이섭취량으로 나누어 식이효율을 구하였다. 대장암을 유발하기 위해 1,2-dimethylhydrazine (DMH)을 30 mg/kg의 양으로 일주일에 한 번, 총 7회 투여하였다(총 210 mg/kg 투여).

\* 식이효율(FER)= 체중 증가량(g)/ 주간 식이섭취량(g) × 100

<표 14> Composition of the experimental diets(%)

Ingredients	NC <sup>1)</sup>	DMH	DMH + milk	DMH + RS milk	DMH+ FRS milk
Casein	20	20	17.5	17.5	17.5
Corn starch	40.949	40.949	40.949	40.949	40.949
Sucrose	10	10	5.83	5.83	5.83
Corn oil	10	10	6.67	6.67	6.67
Lard	12	12	12	12	12
Cellulose	2	2	2	2	2
Vitamin mixture <sup>2)</sup>	1	1	1	1	1
Mineral mixture <sup>3)</sup>	3.5	3.5	3.5	3.5	3.5
Choline bitartrate	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
DL-Methionine	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3
sample	-	-	10	10	10
Total	100	100	100	100	100

<sup>1)</sup>NC, Rats were treated with normal control diet; DMH, Rats were treated with dimethyl-hydrazine(DMH) 210 mg/kg + normal control diet; DMH + Milk, DMH + 10% Milk powder diet; DMH + RS Milk, DMH + 10% red ginseng milk powder diet; DMH + FRS Milk, DMH + 10% red ginseng hydrolysate milk powder diet; <sup>2)</sup>Vitamin mixture, AIN-76A; <sup>3)</sup>Mineral mixture, AIN-76.



Animals : Five-week-old male Sparague-Dawley rat(10/group)  
 Carcinogen : Demethylhydrazine(DMH), s.c. at a dose of 30 mg/kg body-weight for 7 times(total 210 mg/kg BW)  
 Control diet : High fat-low fiber diet  
 Experimental diet  
 NC, Rats were treated with normal control diet; DMH, Rats were treated with dimethyl-hydrazine(DMH) 210 mg/kg + normal control diet; DMH + Milk, DMH + 10% Milk powder diet; DMH+RS Milk, DMH + 10% red ginseng milk powder diet; DMH + FRS Milk, DMH + 10% red ginseng hydrolysate milk powder diet.

<그림 44> Experimental design.

(2) 혈액 및 각종 장기의 채취

실험동물을 희생시키기 전 12시간 동안 금식을 시킨 후, 이산화탄소로 마취하여 복부 대동맥으로부터 혈액을 채취하고 헤파린으로 응고를 방지하였다. 혈액 내 DNA 손상정도를 분석하기 위해 전혈 20 µL을 채취하여 slide 처리를 하였고, 남은 혈액을 3000 rpm에서 30분 간 원심분리하여 혈장과 적혈구를 분리 하여 분석 시까지 -70℃에 냉동 보관하였다. 실험동물의 장기는 적출하여 생리식염수에 세척한 후, 흡수지로 물기를 제거하고 무게를 측정하였다. 대장 조직 내 DNA 손상 정도를 분석하기 위해 대장 0.5 cm를 적출하여 slide 처리를 하였고, ACF 측정을 위해 7 cm를 10% buffered formalin으로 고정시켰다.

(3) 체중 증가량, 식이섭취량, 식이효율에 미치는 영향

실험 기간 중 그룹 간의 체중 증가량, 식이 섭취량과 식이효율은 정상대조군에 비해 대장암유발군에서 유의적인 차이를 보이지 않았으며, 대장암유발군과 우유 함유식이, 홍삼농축액 및 홍삼농축액 가수 분해물 첨가 우유 함유식이를 섭취한 군 간에서도 유의적인 차이를 보이지 않았다(표 15).



**<표 15> Effects of milk contained red ginseng extract or red ginseng extract hydrolysate on body weight gains, and FER in DMH-treated rats**

Ingredients	NC <sup>1)</sup>	DMH	DMH + milk	DMH + RS milk	DMH + FRS milk
Body weight gain(g)	194.0 ± 10.3 <sup>ns3)</sup>	173.6 ± 4.4	187.3 ± 8.4	190.3 ± 7.9	176.4 ± 8.0
Food intake(g/day)	16.9 ± 0.1 <sup>ns</sup>	16.5 ± 0.2	16.7 ± 0.1	16.7 ± 0.2	16.8 ± 0.1
FER <sup>2)</sup>	0.3 ± 0.0 <sup>ns</sup>	0.3 ± 0.0	0.3 ± 0.0	0.3 ± 0.0	0.3 ± 0.0

Values are mean ± SE for 10 animals in each group.

<sup>1)</sup>NC, Rats were treated with normal control diet; DMH, Rats were treated with dimethyl-hydrazine(DMH) 210 mg/kg + normal control diet; DMH + Milk, DMH + 10% Milk powder diet; DMH + RS Milk, DMH + 10% red ginseng milk powder diet; DMH + FRS Milk, DMH + 10% red ginseng hydrolysate milk powder diet; <sup>2)</sup>FER, food efficiency ratio=weight gain(g/day)/food intake(g/day); <sup>3)</sup>ns, no significant difference.

**<표 15> Effects of milk contained red ginseng extract or red ginseng extract hydrolysate on body weight gains, and FER in DMH-treated rats**

Ingredients	NC <sup>1)</sup>	DMH	DMH + milk	DMH + RS milk	DMH + FRS milk
Body weight gain(g)	194.0 ± 10.3 <sup>ns3)</sup>	173.6 ± 4.4	187.3 ± 8.4	190.3 ± 7.9	176.4 ± 8.0
Food intake(g/day)	16.9 ± 0.1 <sup>ns</sup>	16.5 ± 0.2	16.7 ± 0.1	16.7 ± 0.2	16.8 ± 0.1
FER <sup>2)</sup>	0.3 ± 0.0 <sup>ns</sup>	0.3 ± 0.0	0.3 ± 0.0	0.3 ± 0.0	0.3 ± 0.0

Values are mean ± SE for 10 animals in each group.

<sup>1)</sup>NC, Rats were treated with normal control diet; DMH, Rats were treated with dimethyl-hydrazine(DMH) 210 mg/kg + normal control diet; DMH + Milk, DMH + 10% Milk powder diet; DMH + RS Milk, DMH + 10% red ginseng milk powder diet; DMH + FRS Milk, DMH + 10% red ginseng hydrolysate milk powder diet; <sup>2)</sup>FER, food efficiency ratio=weight gain(g/day)/food intake(g/day); <sup>3)</sup>ns, no significant difference.

(5) 혈장 내 지질 지표 분석

Triglyceride 수준은 정상대조군에 비해 대장암유발군에서 유의적으로 높게 나타났으나, 대장암유발군에 비해 각각의 시료 공급군에서는 유의적인 차이가 나타나지 않았다. 총 콜레스테롤, HDL-콜레스테롤, LDL-콜레스테롤 수준은 정상대조군에 비해 대장암유발군에서 유의적인 차이를 보이지 않았으며, 대장암유발군과 우유 함유식이, 홍삼농축액 및 홍삼농축액 가수분해물

첨가 우유 함유식이를 섭취한 군 간에서도 유의적인 차이를 보이지 않았다 (표 20).

**<표 20> Effect of milk contained red ginseng extract or red ginseng extract hydrolysate on plasma lipid profiles of DMH-treated rats**

Ingredients	Normal control <sup>1)</sup>	DMH	DMH + milk	DMH + RS milk	DMH + FRS milk
Total cholesterol (mg/dL)	106.7 ± 2.2 <sup>ns2)</sup>	118.4 ± 4.8	112.9 ± 5.7	116.0 ± 6.3	109.3 ± 1.9
Triglyceride (mg/dL)	48.7 ± 2.9 <sup>a</sup>	65.6 ± 4.4 <sup>b</sup>	71.4 ± 4.6 <sup>b</sup>	77.4 ± 5.9 <sup>b</sup>	68.1 ± 5.5 <sup>b</sup>
HDL-cholesterol (mg/dL)	47.0 ± 3.0 <sup>ns</sup>	51.9 ± 2.3	49.7 ± 2.8	47.0 ± 1.8	48.0 ± 1.3
LDL-cholesterol (mg/dL)	50.0 ± 4.7 <sup>ns</sup>	53.5 ± 2.2	48.9 ± 2.8	53.5 ± 18.5	47.7 ± 1.5

Values are mean±SE for 10 animals in each group.

<sup>1)</sup>NC, Rats were treated with normal control diet; DMH, Rats were treated with dimethyl-hydrazine (DMH) 210 mg/kg + normal control diet; DMH+Milk, DMH + 10% Milk powder diet; DMH+RS Milk, DMH + 10% red ginseng milk powder diet; DMH+FRS Milk, DMH + 10% red ginseng hydrolysate milk powder diet; <sup>2)</sup>ns, no significant difference.

#### (6) 혈장 내 간 기능 지표 분석

ALT 수치는 정상대조군에 비해 대장암유발군에서 유의적으로 높게 나타났으나, 대장암유발군에 비해 각각의 시료 공급군에서 유의적인 차이가 나타나지 않았다. AST 수치는 정상대조군에 비해 대장암유발군에서 유의적인 차이를 보이지 않았으며, 대장암유발군과 우유 함유식이, 홍삼농축액 및 홍삼농축액 가수분해물 첨가 우유 함유식이를 섭취한 군 간에서도 유의적인 차이를 보이지 않았다(표 17).

<표 17> Effect of milk contained red ginseng extract or red ginseng extract hydrolysate on plasma lipid profiles of DMH-treated rats

Ingredients	Normal control <sup>1)</sup>	DMH	DMH + milk	DMH + RS milk	DMH + FRS milk
Total cholesterol (mg/dL)	106.7 ± 2.2 <sup>ns2)</sup>	118.4 ± 4.8	112.9 ± 5.7	116.0 ± 6.3	109.3 ± 1.9
Triglyceride (mg/dL)	48.7 ± 2.9 <sup>a</sup>	65.6 ± 4.4 <sup>b</sup>	71.4 ± 4.6 <sup>b</sup>	77.4 ± 5.9 <sup>b</sup>	68.1 ± 5.5 <sup>b</sup>
HDL-cholesterol (mg/dL)	47.0 ± 3.0 <sup>ns</sup>	51.9 ± 2.3	49.7 ± 2.8	47.0 ± 1.8	48.0 ± 1.3
LDL-cholesterol (mg/dL)	50.0 ± 4.7 <sup>ns</sup>	53.5 ± 2.2	48.9 ± 2.8	53.5 ± 18.5	47.7 ± 1.5

Values are mean ± SE for 10 animals in each group.

<sup>1)</sup>NC, Rats were treated with normal control diet; DMH, Rats were treated with dimethyl-hydrazine(DMH) 210 mg/kg + normal control diet; DMH + Milk, DMH + 10% Milk powder diet; DMH + RS Milk, DMH + 10% red ginseng milk powder diet; DMH+FRS Milk, DMH + 10% red ginseng hydrolysate milk powder diet; <sup>2)</sup>ns, no significant difference.

(6) 혈장 내 간 기능 지표 분석

ALT 수치는 정상대조군에 비해 대장암유발군에서 유의적으로 높게 나타났으나, 대장암유발군에 비해 각각의 시료 공급군에서 유의적인 차이가 나타나지 않았다. AST 수치는 정상대조군에 비해 대장암유발군에서 유의적인 차이를 보이지 않았으며, 대장암유발군과 우유 함유식이, 홍삼농축액 및 홍삼농축액 가수분해물 첨가 우유 함유식이를 섭취한 군 간에서도 유의적인 차이를 보이지 않았다(표 18).

**<표 18> Effect of milk contained red ginseng or red ginseng hydrolysate on activities of AST, ALT of DMH-treated rats**

Ingredients	NC <sup>1)</sup>	DMH	DMH + milk	DMH + RS milk	DMH + FRS milk
AST(U/L)	43.9 ± 3.0 <sup>ns2)</sup>	53.9 ± 3.6	43.9 ± 3.0	53.0 ± 3.5	49.1 ± 3.0
ALT(U/L)	17.7 ± 1.6 <sup>a</sup>	32.6 ± 3.6 <sup>b</sup>	30.6 ± 2.9 <sup>b</sup>	32.3 ± 1.7 <sup>b</sup>	31.0 ± 2.2 <sup>b</sup>

Values are mean ± SE for 10 animals in each group.

<sup>1)</sup>NC, Rats were treated with normal control diet; DMH, Rats were treated with dimethyl-hydrazine(DMH) 210 mg/kg + normal control diet; DMH + Milk, DMH + 10% Milk powder diet; DMH + RS Milk, DMH + 10% red ginseng milk powder diet; DMH+FRS Milk, DMH + 10% red ginseng hydrolysate milk powder diet; <sup>2)</sup>ns, no significant difference.

(7) 혈액 내 항산화 상태 분석

총 항산화능(TRAP)과 Catalase 효소활성, GSH-Px 효소활성, 지질과산화(CD) 수준은 정상 대조군에 비해 대장암유발군에서 유의적인 차이를 보이지 않았으며, 대장암유발군과 우유 함유식이, 홍삼농축액 및 홍삼농축액 가수분해물 첨가 우유 함유식이를 섭취한 군 간에서도 유의적인 차이를 보이지 않았다(표 19).

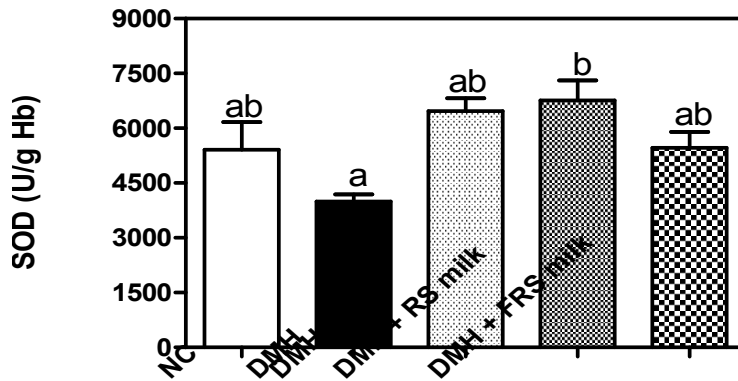
**<표 19> Effect of milk contained red ginseng or red ginseng hydrolysate on total antioxidant capacity and antioxidant status of DMH-treated rats**

Ingredients	NC <sup>1)</sup>	DMH	DMH + milk	DMH + RS milk	DMH + FRS milk
TRAP(mM)	1.2 ± 0.0 <sup>a</sup>	1.2 ± 0.0 <sup>ab</sup>	1.2 ± 0.1 <sup>ab</sup>	1.3 ± 0.0 <sup>b</sup>	1.3 ± 0.0 <sup>ab</sup>
Catalase (K/g Hb)	798.1 ± 132.3 <sup>ns2)</sup>	795.9 ± 89.6	731.5 ± 88.0	822.5 ± 72.2	794.4 ± 50.7
GSH-Px (U/g Hb)	1450.0 ± 160.4 <sup>ns</sup>	1099.4 ± 172.4	1112.7 ± 230.9	1033.2 ± 172.2	1036.8 ± 169.4
CD(μM)	3.8 ± 0.3 <sup>ns</sup>	4.0 ± 0.2	4.1 ± 0.1	3.8 ± 0.1	4.2 ± 0.3

Values are mean ± SE for 10 animals in each group.

<sup>1)</sup>NC, Rats were treated with normal control diet; DMH, Rats were treated with dimethyl-hydrazine(DMH) 210 mg/kg + normal control diet; DMH + Milk, DMH + 10% Milk powder diet; DMH + RS Milk, DMH + 10% red ginseng milk powder diet; DMH + FRS Milk, DMH + 10% red ginseng hydrolysate milk powder diet; <sup>2)</sup>ns, no significant difference.

SOD 효소활성은 정상대조군에 비해 대장암유발군에서 유의적인 차이를 보이지 않았으며, 홍삼농축액 첨가 우유 함유식이를 섭취한 군이 대장암유발군에 비해 유의적으로 높은 것으로 나타났으나, 우유 함유식이, 홍삼농축액 가수 분해물 첨가 우유 함유식이를 섭취한 군은 대장암유발군과 유의적인 차이를 보이지 않았다(그림 45).



<그림 45> Effect of milk contained ginseng supplementation on superoxide dismutase(SOD) activity of DMH-treated rats. DMH: One week after beginning the diets, rats were treated with dimethyl-hydrazin(DMH) 30 mg/kg for 7 weeks.

NC, Rats were treated with normal control diet; DMH, Rats were treated with dimethyl-hydrazine(DMH) 210 mg/kg + normal control diet; DMH + Milk, DMH + 10% Milk powder diet; DMH + RS Milk, DMH + 10% red ginseng milk powder diet; DMH + FRS Milk, DMH + 10% red ginseng hydrolysate milk powder diet.

Bars represent mean  $\pm$  S.E.

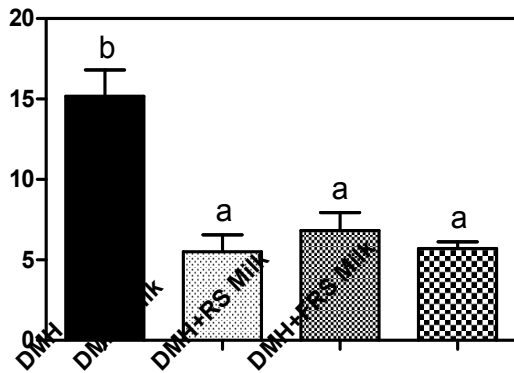
Bars with different superscripts are significantly different at the  $P < 0.05$  level by ANOVA and Duncan's multiple range test.

#### (8) Aberrant Crypt Foci (ACF) 측정

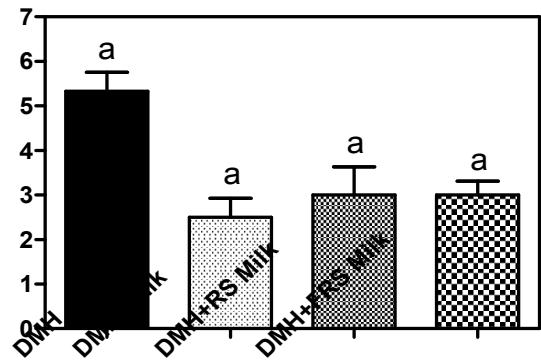
비정상적인 세포분열에 의해 주변의 정상 crypt에 비해 세포의 모양과 크기가 달라지고 상피조직이 두꺼워진 crypt를 AC(aberrant crypt)라고 하며, 이러한 비정상적인 crypt가 여러 개 모여 생성된 것이 ACF(aberrant crypt foci)이다.

AC 생성 수치는 대장암유발군에 비하여 우유 함유식이, 홍삼농축액 및 홍삼농축액 가수분해물 첨가 우유 함유식이 섭취 군에서 63.8%, 55.0%, 62.4% 정도 유의적으로 감소하였다. ACF 생성 수치 역시 대장암유발군에 비하여 우유 함유식이, 홍삼농축액 및 홍삼농축액 가수분해물 첨가 우유 함유식이 섭취 군에서 유의적으로 감소하였다. 그러나 각각의 시료 간에는 AC 및 ACF 생성 수치에 있어서 유의적인 차이를 보이지 않았다(그림 46).

(A)



(B)



<그림 46> Effect of milk contained red ginseng or red ginseng hydrolysate supplementation on total number of aberrant crypt(AC) and aberrant crypt foci(ACF) in distal colon.

NC, Rats were treated with normal control diet; DMH, One week after beginning the diets, rats were treated with dimethyl-hydrazin(DMH) 30 mg/kg for 7 weeks without for normal control group; DMH, Rats were treated with dimethyl-hydrazine(DMH) 210 mg/kg + normal control diet; DMH + Milk, DMH + 10% Milk powder diet; DMH + RS Milk, DMH + 10% red ginseng milk powder diet; DMH + FRS Milk, DMH + 10% red ginseng hydrolysate milk powder diet.

Bars represent mean  $\pm$  S.E.

Bars with different superscripts are significantly different at the  $P < 0.05$  level by ANOVA and Duncan's multiple range test.

#### (9) 혈액 내 지용성 비타민 측정

혈장 내 retinol은 총 정상대조군에 비해 대장암유발군에서 유의적으로 높게 나타났으나, 대장암유발군과 우유 함유식이, 홍삼농축액 및 홍삼농축액 가수분해물 첨가 우유 함유食이를 섭취한 군 간에서는 유의적인 차이를 보이지 않았다.  $\gamma$ -tocopherol은 정상대조군에 비해 대장암유발군에서 유의적인 차이를 보이지 않았으며, 대장암유발군과 우유 함유식이, 홍삼농축액 및 홍삼농축액 가수분해물 첨가 우유 함유食이를 섭취한 군 간에서도 유의적인 차이를 보이지 않았다.  $\alpha$ -tocopherol은 정상대조군에 비해 대장암유발군에서 유의적인 차이를 보이지 않았으며, 우유 함유식이, 홍삼농축액 첨가 우유 함유食이를 섭취한 군에서는 대장암유발군에 비해 유의적으로 낮게 나타났다. 그러나 홍삼농축액 가수분해물 첨가 우유 함유食이를 섭취한 군에서는 대장암유발군에 비해 유의적인 차이를 보이지 않았다(표 20).

<표 20> Effect of milk contained ginseng on plasma retinol,  $\gamma$ -tocopherol and  $\alpha$ -tocopherol of DMH-treated rats

Ingredients	NC <sup>1)</sup>	DMH	DMH + milk	DMH + RS milk	DMH + FRS milk
Retinol( $\mu\text{g}/\text{dL}$ )	82.1 $\pm$ 4.8 <sup>a</sup>	110.6 $\pm$ 8.2 <sup>b</sup>	99.4 $\pm$ 6.0 <sup>ab</sup>	97.1 $\pm$ 5.5 <sup>ab</sup>	99.4 $\pm$ 5.2 <sup>ab</sup>
$\gamma$ -tocopherol ( $\mu\text{g}/\text{dL}$ )	50.2 $\pm$ 5.4 <sup>ns2)</sup>	48.7 $\pm$ 6.0	50.3 $\pm$ 6.4	45.7 $\pm$ 6.1	51.8 $\pm$ 7.1
$\alpha$ -tocopherol ( $\mu\text{g}/\text{dL}$ )	877.8 $\pm$ 53.8 <sup>ab</sup>	971.9 $\pm$ 53.3 <sup>b</sup>	765.3 $\pm$ 44.2 <sup>a</sup>	756.6 $\pm$ 35.5 <sup>a</sup>	859.6 $\pm$ 90.2 <sup>ab</sup>

Values are mean  $\pm$  SE for 10 animals in each group.

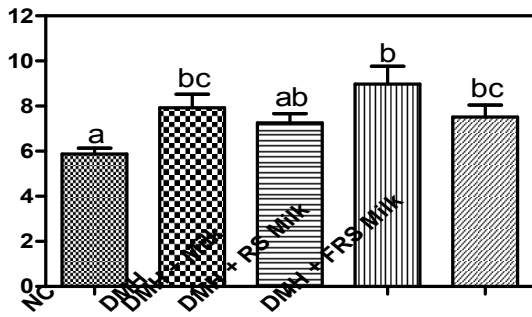
<sup>1)</sup>NC, Rats were treated with normal control diet; DMH, Rats were treated with dimethyl-hydrazine (DMH) 210 mg/kg + normal control diet; DMH + Milk, DMH + 10% Milk powder diet; DMH + RS Milk, DMH + 10% red ginseng milk powder diet; DMH + FRS Milk, DMH + 10% red ginseng hydrolysate milk powder diet; <sup>2)</sup>ns, no significant difference.

(10) 백혈구 및 대장 조직 내 DNA 손상의 측정을 위한 comet assay

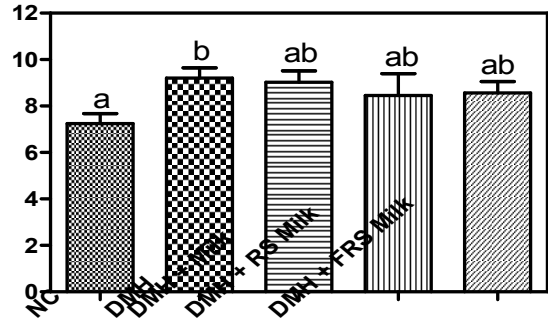
각각의 세포수준에서의 DNA 손상을 직접 확인하기 위해 처음 도입된 comet assay는 Singh 등에 의해 보다 민감하게 DNA 손상을 감지해낼 수 있는 방법으로 발전되어 많은 연구에 다양하게 적용된다. Comet assay는 간편하고 신속하게 다양한 재료를 이용하여 DNA 손상 여부를 cell level에서 감지 할 수 있는 장점이 있다.

산화적 스트레스를 유발하지 않은 혈액 내 백혈구 DNA 손상도는 정상대조군에 비해 대장암 유발군에서 유의적으로 증가하였으나, 대장암유발군과 우유 함유식이, 홍삼농축액 및 홍삼농축액 가수분해물 첨가 우유 함유食이를 섭취한 군 간에는 유의적인 차이를 보이지 않았다(그림 47-A). H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>로 산화적 스트레스가 유발된 혈액 내 백혈구 DNA 손상도는 대장암유발군이 정상대조군에 비해 유의적인 차이를 보였으나, 대장암유발군과 우유 함유식이, 홍삼농축액 및 홍삼농축액 가수분해물 첨가 우유 함유食이를 섭취한 군 간에서는 유의적인 차이를 보이지 않았다(그림 47-B). H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>로 산화적 스트레스를 유발하지 않은 대장 내 백혈구 DNA 손상도는 정상대조군에 비해 대장암유발군에서 유의적인 차이를 보이지 않았으며, 대장암유발군과 우유 함유식이, 홍삼농축액 및 홍삼농축액 가수분해물 첨가 우유 함유食이를 섭취한 군 간에서도 유의적인 차이를 보이지 않았다(그림 47-C).

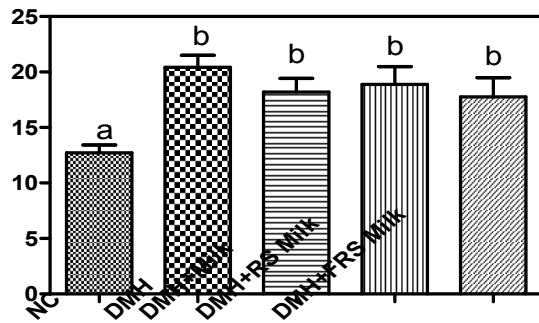
(A)



(B)



(C)



<그림 47> Effect of milk contained ginseng supplementation on DNA damage of DMH-treated rats.

DMH: One week after beginning the diets, rats were treated with dimethyl-hydrazine (DMH) 30 mg/kg for 7 weeks without for normal control group.

NC, Rats were treated with normal control diet; DMH, Rats were treated with dimethyl-hydrazine (DMH) 210 mg/kg + normal control diet; DMH + Milk, DMH + 10% Milk powder diet; DMH + RS Milk, DMH + 10% red ginseng milk powder diet; DMH + FRS Milk, DMH + 10% red ginseng hydrolysate milk powder diet.

Bars represent mean ± S.E.

Bars with different superscripts are significantly different at the  $P < 0.05$  level by ANOVA and Duncan's multiple range test.

A : blood leukocyte, B: blood leukocyte + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, C: colonleukocyte



## 8. 홍삼 요구르트의 특성 연구

### 가. 홍삼 요구르트의 이화학적 특성

Yogurt base에 홍삼농축액(0.5%, 1%, 1.5%, 2%)과 펙틴 0.1%를 첨가한 후 교반하였다. Yogurt base는 시유(서울우유)에 skim milk powder(서울우유)을 첨가하여 고형분 함량을 11%로 조정하였다. Yogurt base를 90°C에서 10분 간 살균을 시킨 후 냉각하여 온도를 낮춘 후 yogurt starter culture(ABT-L; *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium longum*, *Streptococcus thermophilus*)를 0.02% 접종하였다. Yogurt의 pH가 4.4~4.5일 때까지 42°C incubator에서 배양하였다. pH 4.5가 되면 yogurt를 냉각시켜 발효를 정지시킨 후 냉장보관하였다. Yogurt의 이화학적 특성으로 lactose · protein · 수분 · 총 고형분 · 회분 함량과 색도, 산도를 측정하였다. Lactose · protein · 수분 · 회분 함량은 AOAC법을 이용하여 측정하였으며, 색도는 colorimeter를 이용하여 측정하였다. 산도는 시료 10 g을 DW 40 mL에 희석한 후 0.1 N NaOH로 pH 8.1이 될 때까지 적정하였다(Collins et al. 1991).

산도를 측정한 결과, 홍삼농축액 첨가 농도가 증가함에 따라 산도도 홍삼농축액에 비례하여 증가하였다. 색도를 측정한 결과, 홍삼농축액 첨가 농도가 증가함에 따라 L의 수치는 감소하였고 a와 b의 수치는 증가하였다(표 21). L은 명암을, a는 적색과 녹색을, b는 황색과 청색을 나타내는 수치이다. 일반 성분을 측정한 결과, 홍삼농축액의 농도가 증가할수록 lactose · protein · 총 고형분 · 회분 함량은 증가하였고 수분함량은 감소하였다(표 22). 홍삼농축액의 농도가 증가함에 따라 lactose 함량이 증가하였는데 이는 여과지에 Cu<sub>2</sub>O 이외에 다른 물질들이 남아 있는 것으로 판단된다(표 22).

**<표 21> Changes of titratable acidity and color in yogurt added with red ginseng extract**

Concentration(%)	Titratable Acidity(%)	Color		
		L <sup>1)</sup>	a <sup>2)</sup>	b <sup>3)</sup>
0	0.867	93.99 ± 0.60	-3.04 ± 0.41	6.13 ± 1.21
0.5	0.923	87.64 ± 0.92	-0.31 ± 0.10	15.49 ± 0.09
1	0.937	82.51 ± 0.72	1.06 ± 0.64	18.83 ± 0.36
1.5	0.944	79.51 ± 0.76	1.90 ± 0.06	21.24 ± 0.71
2	0.997	77.86 ± 0.64	2.46 ± 0.06	22.42 ± 0.60

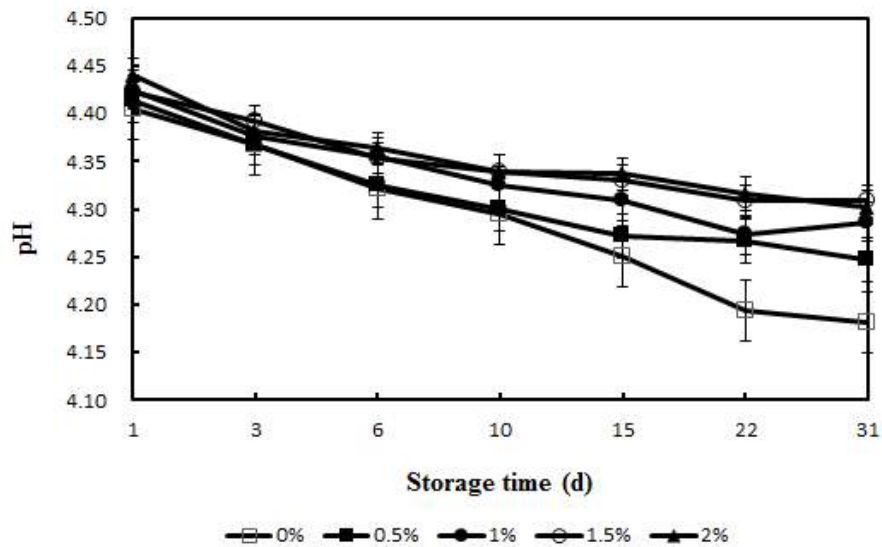
<sup>1)</sup>L, light ~ dark(100 ~ 0); <sup>2)</sup>a, red ~ green(60 ~ -60); <sup>3)</sup>b, yellow ~ blue(60 ~ -60).

**<표 22> Changes of component in yogurt added with red ginseng extract**

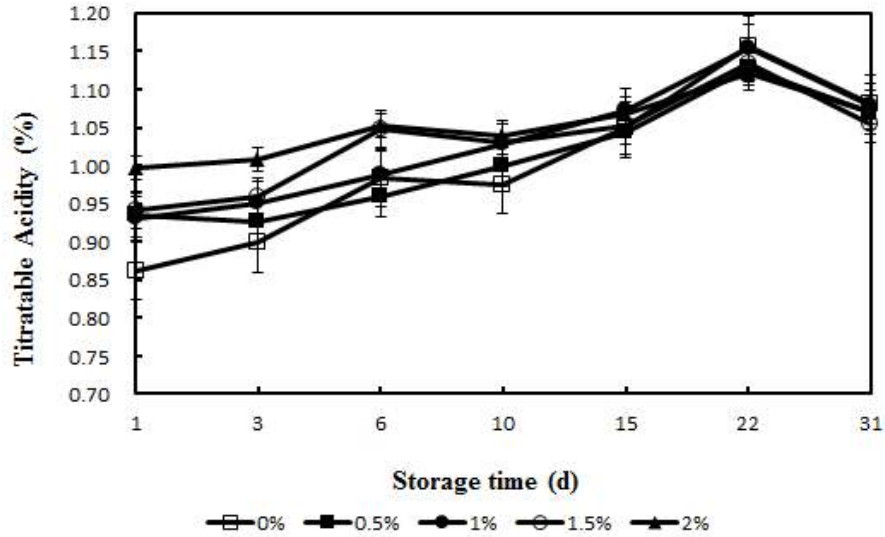
Concentration(%)	Lactose(%)	Protein(%)	Moisture(%)	Total solids(%)	Ash(%)
0	1.60 ± 0.17	3.93 ± 0.34	85.55 ± 0.71	14.45 ± 0.71	0.87 ± 0.01
0.5	1.98 ± 0.37	4.21 ± 0.51	84.95 ± 0.07	15.05 ± 0.07	0.88 ± 0.01
1	1.88 ± 0.26	4.35 ± 0.21	84.71 ± 0.30	15.29 ± 0.30	0.90 ± 0.01
1.5	2.04 ± 0.45	4.45 ± 0.49	84.42 ± 0.10	15.58 ± 0.10	0.94 ± 0.00
2	1.64 ± 0.06	4.73 ± 0.30	84.43 ± 0.15	15.57 ± 0.15	0.95 ± 0.01

### 나. 홍삼 요구르트의 저장 요일별 특성

고형분 함량이 11%인 yogurt base에 홍삼농축액(0.5%, 1%, 1.5%, 2%)를 교반시킨 후 90℃에서 10분 간 살균하였다. 살균시킨 yogurt의 온도를 낮춘 후 starter culture 0.02% 접종시키고 42℃로 setting된 incubator에서 pH 4.4~4.5가 될 때까지 발효시킨다. pH 4.5가 되면 냉장시켜 발효를 정지시키고 냉장보관하였다. 31일 동안 4℃로 setting된 incubator에 보관하면서 1일, 3일, 6일, 10일, 15일, 22일, 31일에 sampling을 하여 pH와 산도, 균수를 측정하였다. *Lactobacillus acidophilus*는 MRS agar에 *Streptococcus thermophilus*는 M17 agar에 도말하여 균수를 측정하였다(Ashraf et al. 2011). Yogurt의 저장 기간이 길어짐에 따라 pH는 점차 감소하였고 산도는 증가하였다(그림 48, 그림 49).

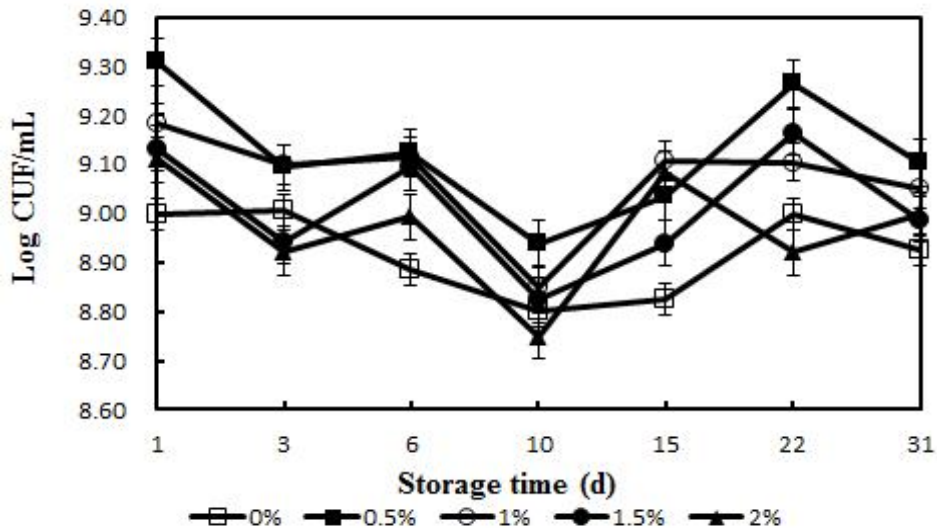


<그림 48> Changes of pH in yogurt added with red ginseng extract during storage at 4°C.

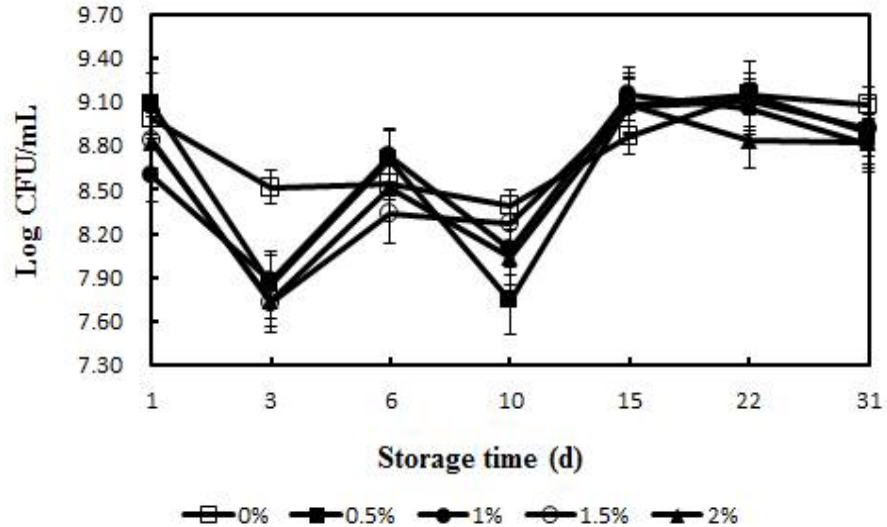


<그림 49> Changes of titratable acidity in yogurt added with red ginseng extract during storage at 4°C.

유산균수를 측정한 결과, 저장 기간 동안의 균수는 크게 차이나지 않았다. 균수의 변화는 yogurt 점성으로 인해 희석하는 과정에서의 문제로 판단된다(그림 50, 그림 51).



<그림 50> Changes of number of *Streptococcus thermophilus* in yogurt added with red ginseng extract during storage at 4°C.



<그림 51> Changes of number of *Lactobacillus acidophilus* in yogurt added with red ginseng extract during storage at 4°C.

#### 다. 동물실험 및 임상시험을 위한 시료 제조

홍삼농축액 첨가 우유와 홍삼농축액 첨가 요구르트를 동물실험을 통해 면역증강 효과를 검증하였다. 홍삼농축액 2%를 우유에 교반시킨 후 냉장보관 하였다. Yogurt base는 시유(서울우유)의 고형분 함량을 skim milk powder(서울우유)를 첨가하여 11%로 조정하였다. 홍삼농축액 첨가 요구르트는 홍삼농축액 2%와 pectin 0.1%를 yogurt base에 교반시킨 후 90°C에서 10분간 살균하였다. 냉각시킨 yogurt base에 starter culture 0.02%를 접종 후 발효시켜 pH 4.5가 되면 냉각시킨 후 냉장보관 하였다. Yogurt은 총 volume이 5 L인 발효조에서 발효시켰으며 발효 전날 seed culture을 제조하여 발효조에 yogurt를 발효시킬 때 seed culture 2%를 접종하였다. 제조한 우유와 요구르트는 춘천바이오산업진흥원과 한국생명과학연구소를 통해 동결건조를 하였으며 동결건조된 시료는 사료에 첨가하여 동물실험을 진행하였다. 임상시험 시료는 표 11과 같은 재료배합을 통해 요구르트를 제조하였다. 플라시보와 홍삼농축액 첨가 요구르트의 색과 향 차이가 나지 않게 하기 위해 카라멜 색소와 니코틴산 아마이드을 첨가하였다. 임상시험기간 동안 안전과 위생상 문제 발생을 예방하기 위해 분말화시켜 파우치 형태로 시료를 제조하였다. 임상시험은 제품을 4주 분량으로 박스에 포장한 후 임상시험을 진행한 전북대학교로 전달하였다. 제품을 인수할 때 제조한 기관에서 임상시험을 진행하는 기관이 함께 박스 내 제품 개수와 총 박스 개수를 확인하였다.

A



B



<그림 52> 동물실험 및 임상시험 시료 제조.  
A, 발효조를 이용한 요구르트 제조; B, 동결건조기.

A



B



<그림 53> 임상시험 시료 포장.  
A, 파우치 형태의 sample; B, 4주 분량의 sample/box.

## 9. 홍삼 요구르트의 *in vitro* 및 *in vivo* 상에서의 면역증강 효과 검증

### 가. *In vitro* 상에서의 항산화능 평가

홍삼농축액 첨가 요구르트의 항산화능은 DPPH assay와  $\beta$ -carotene bleaching activity를 통해 비교 평가하였다(Şengül et al. 2012). 항산화능의 사용될 시료는 제조한 홍삼농축액 첨가 요구르트를 원심분리(2,076  $\times$ g, 4°C, 30 min)하여 얻은 상등액을 filtering한 후 사용하였다. DPPH assay는 시료 200  $\mu$ L와 0.1 mM DPPH(2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl) solution 1 mL를 혼합시킨 sample을 실온에서 15분 간 정치한 후 517 nm에서 흡광도를 측정하였다.

그 결과, control인 요구르트의 항산화능이 64%인 것에 반해 홍삼농축액 첨가 요구르트의 항산화능은 90%가 넘었으며 홍삼농축액 농도가 증가함에 따라 항산화능은 증가하였다.  $\beta$

-Caroten bleaching activity는 시료 500  $\mu$ L와 solution 4.5 mL를 혼합하고 50°C water bath에 정치한 후 0시간부터 2시간 간격으로 470 nm에서 흡광도를 측정하였다.  $\beta$ -Caroten bleaching assay를 한 결과, control인 요구르트와 홍삼농축액 첨가 요구르트의 항산화능의 차이는 거의 없었다(표 23).

<표 23> Antioxidant activities of yogurt added with red ginseng extract

Concentration(%)	DPPH free radical scavenging activity(%)	Inhibition of $\beta$ -carotene and linoleic acid oxidation(%)
0	62.58 $\pm$ 1.57 <sup>a</sup>	23.66 $\pm$ 2.00 <sup>a</sup>
0.5	91.87 $\pm$ 0.39 <sup>b</sup>	36.31 $\pm$ 0.21 <sup>b</sup>
1	95.48 $\pm$ 0.20 <sup>c</sup>	36.65 $\pm$ 0.66 <sup>b</sup>
1.5	95.65 $\pm$ 0.37 <sup>c</sup>	37.50 $\pm$ 0.22 <sup>b</sup>
2	95.28 $\pm$ 0.30 <sup>c</sup>	35.40 $\pm$ 0.48 <sup>b</sup>

#### 나. *In vivo* 상에서의 면역증강 효과 검증

##### (1) 실험동물 및 실험식이

생후 6주령의 암컷 balb/c 마우스를 분양 받아 1주 간 pellet으로 적응시키고 난 후에 마우스의 무게를 달아 난괴법으로 5군으로 나누어 cage에 한 마리씩 분리 사육하고, 4종류의 실험식을 5주 간 사육하였다. 물은 자유공급 하고 실험식은 pair feeding 하였다. 사육실의 실내 온도는 22  $\pm$  2°C, 습도는 50  $\pm$  5%를 유지하고, 전등을 조절하여 낮 12시간, 밤 12시간으로 조절하였다. 실험식은 일반식이(Normal control group, NC)와 일반 우유 함유 식이(milk, M), 2%의 홍삼농축액 첨가 우유 함유 식이(red-ginseng milk, RGM), 요구르트 함유 식이(yogurt, Y), 2%의 홍삼농축액 첨가 요구르트 함유 식이(red-ginseng yogurt, RGY) 등 총 5군으로 나누어 각 군당 8마리씩 배정하였으며 실험 식이는 5주 간 급여하였다. 식이섭취량은 하루에 한 번씩, 체중은 일주일에 한 번 일정한 시간에 측정하였다.

\* 식이효율(FER)= 체중 증가량(g/day)/ 주간 식이섭취량(g/day) \* 100

<표 24> Composition of the experimental diets(%)

Ingredients	NC <sup>1)</sup>	M	RGM	Y	RGY
Casein	20	16.47	16.75	16.42	16.68
Corn starch	15	15	14	15	14
Sucrose	50	44.16	44.50	44.25	44.65
Corn oil	5	0.37	0.75	0.33	0.67
Cellulose	5	5	5	5	5
Vitamin mixture <sup>2)</sup>	1	1	1	1	1
Mineral mixture <sup>3)</sup>	3.5	3.5	3.5	3.5	3.5
Choline bitartrate	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
DL-Methionine	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3
sample		14	14	14	14
Total	100	100	100	100	100

<sup>1)</sup>NC, Normal control group; M, milk; RGM, 2% red-ginseng milk; Y, yogurt; RGY, 2% red-ginseng yogurt; <sup>2)</sup>Vitamin mixture, AIN-76A; <sup>3)</sup>Mineral mixture, AIN-76.

(2) 혈액 및 각종 장기의 채취

실험동물을 희생시키기 전 12시간 동안 금식을 시킨 후, 이산화탄소로 마취하여 복부 대동맥으로부터 혈액을 채취하고 헤파린으로 응고를 방지하였다. 혈액 내 DNA 손상정도를 분석하기 위해 전혈 20 µL을 채취하여 slide 처리를 하였고, 남은 혈액을 3000 rpm에서 30분 간 원심분리하여 혈장과 적혈구를 분리 하여 분석 시까지 -70°C에 냉동 보관하였다. 실험동물의 장기는 적출하여 생리식염수에 세척한 후, 흡수지로 물기를 제거하고 무게를 측정하였다.

(3) 체중 증가량 및 식이섭취량, 식이효율에 미치는 영향

실험기간 중 그룹간의 체중 증가량이 일반식이 대조군이 우유 함유 식이, 홍삼농축액 첨가 우유 함유 식이, 요구르트 함유 식이, 홍삼농축액 첨가 요구르트 함유 식이군에 비해 유의적으로 높게 증가하였고, 식이섭취량은 우유 함유 식이군이 일반식이 대조군, 홍삼농축액 첨가 우유 함유 식이, 요구르트 함유 식이, 홍삼농축액 첨가 요구르트 함유 식이군에 비해 유의적으로 높았다. 또한 식이효율은 일반식이 대조군에서 우유 함유 식이, 홍삼농축액 첨가 우유 함유 식이, 요구르트 함유 식이, 홍삼농축액 첨가 요구르트 함유 식이군에 비해 유의적으로 높게 나타났다(표 25).

**<표 25> Effects of dairy products contained ginseng on Body weight gains, and FER in mice**

Ingredients	NC <sup>1)</sup>	M	RGM	Y	RGY
Body weight gain(g)	3.6 ± 0.2 <sup>b</sup>	2.5 ± 0.2 <sup>a</sup>	2.2 ± 0.2 <sup>a</sup>	2.5 ± 0.3 <sup>a</sup>	2.8 ± 0.1 <sup>a</sup>
Food intake(g/day)	4.2 ± 0.1 <sup>a</sup>	4.5 ± 0.1 <sup>b</sup>	4.2 ± 0.1 <sup>a</sup>	4.2 ± 0.0 <sup>a</sup>	4.2 ± 0.1 <sup>a</sup>
FER <sup>2)</sup>	2.4 ± 0.1 <sup>b</sup>	1.6 ± 0.2 <sup>a</sup>	1.5 ± 0.1 <sup>a</sup>	1.7 ± 0.2 <sup>a</sup>	1.9 ± 0.1 <sup>a</sup>

Values are mean ± S.E. for 8 animals in each group

<sup>1)</sup>NC, Normal control group; M, milk; RGM, 2% red-ginseng milk; Y, yogurt; RGY, 2% red-ginseng yogurt; <sup>2)</sup>FER, food efficiency ratio = weight gain(g/day)/food intake(g/day)\*100.

(4) 장기 무게에 미치는 영향

심장, 간, 신장 비장 조직의 무게는 일반식이 대조군에 비해 우유 및 요구르트 함유 식이를 섭취한 군에서 유의적인 차이를 보이지 않았으며, 우유 및 홍삼농축액 첨가 우유 함유식이, 요구르트 및 홍삼농축액 첨가 요구르트 함유 식이 간에서도 유의적인 차이를 보이지 않았다(표 26).

**<표 26> Relative organ weight of liver, heart, kidney and spleen in mice**

Ingredients	NC <sup>1)</sup>	M	RGM	Y	RGY
	Relative organ weight(g/100 g BW)				
Liver	5.4 ± 0.1 <sup>ns2)</sup>	5.4 ± 0.1	5.3 ± 0.1	5.5 ± 0.1	5.4 ± 0.1
Heart	0.6 ± 0.0 <sup>ns</sup>	0.6 ± 0.0	0.6 ± 0.0	0.6 ± 0.0	0.6 ± 0.0
Kidney	1.4 ± 0.0 <sup>ns</sup>	1.4 ± 0.0	1.5 ± 0.0	1.5 ± 0.0	1.5 ± 0.0
Spleen	0.5 ± 0.0 <sup>ns</sup>	0.4 ± 0.0	0.4 ± 0.0	0.4 ± 0.0	0.4 ± 0.0

Values are mean ± S.E. for 8 animals in each group

<sup>1)</sup>NC, Normal control group; M, milk; RGM, 2% red-ginseng milk; Y, yogurt; RGY, 2% red-ginseng yogurt; <sup>2)</sup>ns, no significantly difference.

(5) 강제수영부하 실험

강제수영부하 실험은 체력 또는 인내력 증강에 의한 면역증진 효과를 검증할 수 있다. 강제수영부하 실험은 6분 간 측정되며, 처음 2분은 적응시간으로 간주하여 4분만을 측정하였다. 이때 마우스가 수면위로 머리를 내밀고 움직임이 없고, 위쪽을 향해 떠 있을 때를 부동시간으로 하였다.

5주 간의 식이 투여 후 측정한 강제수영부하 실험 결과에서 일반식이 대조군의 부동시간 (immobility time)과 우유 및 요구르트 함유 식이와 유의적인 차이를 보이지는 않았으나, 홍삼



농축액 첨가 우유 함유 식이 군이 일반식이 대조군에 비해 감소한 경향을 보였다(표 27).

**<표 27> Effects of dairy products contained ginseng on the forced swimming test in mice**

Ingredients	NC <sup>1)</sup>	M	RGM	Y	RGY
Immobility time(sec)	95.3 ± 11.4 <sup>ns2)</sup>	131.3 ± 23.2	77.0 ± 16.5	92.3 ± 15.9	104.3 ± 25.6

Values are mean ± S.E. for 8 animals in each group

<sup>1)</sup>NC, Normal control group; M, milk; RGM, 2% red-ginseng milk; Y, yogurt; RGY, 2% red-ginseng yogurt; <sup>2)</sup>ns, no significantly difference.

(6) 비장세포 배양액 및 복강 대식세포 배양액의 cytokine(IL-1β, IL-6, IL-10, IFN-γ, TNF-α)

우유 및 홍삼농축액 첨가 우유 함유 식이가 LPS를 처리한 복강 대식세포의 cytokine 농도에 미치는 영향을 표 28에 나타내었다. Pro-inflammatory cytokine에 속하는 IL-1β, IFN-γ의 농도는 LPS를 처리 시, 정상대조군(without LPS)에 비해 유의적으로 증가하였고, 우유 및 홍삼농축액 첨가 우유 함유 식이군에서는 LPS 대조군과 유의적인 차이는 없었지만, 감소하는 경향을 보였다. IL-10은 IL-1β나 IFN-γ의 분비를 조절하여 면역 조절 작용에 관여하는 것으로 anti-inflammatory cytokine에 속한다. IL-10의 농도를 측정된 결과, 우유 및 홍삼농축액 첨가 우유 함유 식이군에서 LPS 대조군과 유의적인 차이를 보이지는 않았지만, 증가하는 경향을 보였다. LPS 처리에 따른 IL-10 농도의 증가가 항원을 자극하여 B세포 활성화에 따른 체액성 면역 반응을 조절하고, 세포성 면역 반응을 하향 조절하여 과잉된 면역 반응을 조절할 것으로 사료된다. 따라서 홍삼 우유 식이가 항원 자극 시 pro-inflammatory cytokine과 anti-inflammatory cytokine간의 균형을 조절하여 면역력을 증가시킬 수 있을 것으로 사료된다. 따라서 홍삼 우유 식이가 항원 자극 시 pro-inflammatory cytokine과 anti-inflammatory cytokine간의 균형을 조절하여 면역력을 증가시킬 수 있을 것으로 사료된다.

**<표 28> Cytokine production by activated peritoneal macrophages of mice orally administered with dairy products for 5 weeks**

	Without LPS <sup>1)</sup>	LPS	LPS + M	LPS + RGM
IL-1β(pg/mL)	27.1 ± 2.5 <sup>a</sup>	40.7 ± 5.0 <sup>b</sup>	29.1 ± 2.7 <sup>ab</sup>	35.9 ± 4.3 <sup>ab</sup>
IL-10(pg/mL)	50.5 ± 6.1 <sup>a</sup>	240.2 ± 25.2 <sup>b</sup>	246.8 ± 17.5 <sup>b</sup>	268.6 ± 38.7 <sup>b</sup>
IFN-γ(pg/mL)	82.8 ± 2.5 <sup>a</sup>	211.5 ± 46.5 <sup>b</sup>	211.9 ± 49.5 <sup>b</sup>	113.9 ± 9.8 <sup>ab</sup>

Values not sharing the same letter within a row are significantly different from one another ( $P < 0.05$ ) by Duncan's multiple range test.

<sup>1)</sup>Without LPS, normal control diet; LPS, LPS + normal control diet; LPS + M, LPS + milk diet; LPS + RGM, LPS + 2% red-ginseng milk diet.

요구르트 및 홍삼농축액 첨가 요구르트 함유 식이 섭취가 LPS를 처리한 복강 대식세포의

cytokine 농도에 미치는 영향을 표 29에 나타내었다. TNF- $\alpha$ 과 IFN- $\gamma$ 의 농도는 LPS 처리 시, 정상대조군(without LPS)에 비해 유의적으로 증가하였고, 요구르트 및 홍삼농축액 첨가 요구르트 함유 식이군에서는 LPS 대조군과 유의적인 차이는 없었다. 그러나 홍삼농축액 첨가 요구르트 함유 식이군은 LPS 대조군에 비해 감소하는 경향이 보였다. IL-1 $\beta$  농도는 정상대조군과 LPS 대조군, 식이 섭취군 간의 유의적인 차이는 없었지만, 홍삼농축액 첨가 요구르트 함유 식이군의 IL-1 $\beta$ 의 농도가 정상대조군 수준까지 낮아진 것을 볼 수 있었다. IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ 과 IFN- $\gamma$ 는 pro-inflammatory cytokine에 속하며, 홍삼농축액 첨가 요구르트를 섭취함으로써 앞서 언급한 cytokine의 수준을 낮추어 면역 증진에 도움이 될 것으로 사료된다.

**<표 29> Cytokine production by activated peritoneal macrophages of mice orally administered with dairy products for 5 weeks**

	Without LPS <sup>1)</sup>	LPS	LPS + Y	LPS + RGY
IL-1 $\beta$ (pg/mL)	27.1 $\pm$ 2.5 <sup>ns2)</sup>	40.7 $\pm$ 5.0	40.4 $\pm$ 8.8	27.8 $\pm$ 2.0
TNF- $\alpha$ (pg/mL)	111.4 $\pm$ 11.1 <sup>a</sup>	449.8 $\pm$ 42.6 <sup>b</sup>	456.7 $\pm$ 21.8 <sup>b</sup>	429.7 $\pm$ 78.2 <sup>b</sup>
IFN- $\gamma$ (pg/mL)	82.8 $\pm$ 2.5 <sup>a</sup>	211.5 $\pm$ 46.5 <sup>b</sup>	207.9 $\pm$ 31.4 <sup>b</sup>	147.5 $\pm$ 19.5 <sup>ab</sup>

Values not sharing the same letter within a row are significantly different from one another ( $P < 0.05$ ) by Duncan's multiple range test.

<sup>1)</sup>Without LPS, normal control diet; LPS, LPS+normal control diet; LPS + Y, LPS + yogurt diet; LPS + RGY, LPS + 2% red-ginseng yogurt diet; <sup>2)</sup>ns, not significant.

우유 및 홍삼농축액 첨가 우유 함유 식이가 Con A 및 LPS를 처리한 비장세포의 cytokine 농도에 미치는 영향을 표 30과 표 31에 나타내었다. Con A가 처리된 비장세포의 IL-6, IFN- $\gamma$ 의 생성 농도를 측정한 결과, IL-6 농도는 Con A 만을 처리한 군에 비해 홍삼농축액 첨가 우유 함유 식이군에서 유의적으로 낮게 나타났다. 우유 함유 식이군은 Con A 만을 처리한 그룹에 비해 유의적이지는 않으나, 낮은 경향을 보였다. IFN- $\gamma$  농도는 Con A 만을 처리한 그룹에 비해 우유 및 홍삼농축액 첨가 우유 함유 식이군이 유의적으로 낮게 나타났다.

**<표 30> Cytokine production by Con A treated splenocyte of mice orally administered with dairy products for 5 weeks**

	Con A <sup>1)</sup>	Con A + M	Con A + RGM
IL-6(pg/mL)	284.6 $\pm$ 21.1 <sup>b</sup>	211.3 $\pm$ 32.0 <sup>ab</sup>	135.9 $\pm$ 13.9 <sup>a</sup>
IFN- $\gamma$ (pg/mL)	2588.1 $\pm$ 268.3 <sup>b</sup>	998.3 $\pm$ 655.2 <sup>a</sup>	584.7 $\pm$ 44.4 <sup>a</sup>

Values not sharing the same letter within a row are significantly different from one another ( $P < 0.05$ ) by Duncan's multiple range test.

<sup>1)</sup>Con A, Con A + normal control diet; Con A + M, Con A + milk diet; Con A + RGM, Con A + 2% red-ginseng milk diet.

또한 LPS가 처리된 비장세포의 IL-1 $\beta$ , IL-6, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ 의 생성 농도를 측정한 결과, IL-1 $\beta$ , IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  농도가 LPS 만을 처리한 군과 우유 및 홍삼농축액 첨가 우유 함유 식

이군 간의 유의적인 차이는 없었으나, 우유 및 홍삼농축액 첨가 우유 함유 식이군에서 낮은 경향을 보였다. IL-6 농도는 홍삼농축액 첨가 우유 함유 식이군에서 LPS 만을 처리한 군에 비해 유의적으로 낮은 것으로 나타났다.

**<표 31> Cytokine production by LPS treated splenocyte of mice orally administered with dairy products for 5 weeks**

	LPS <sup>1)</sup>	LPS + M	LPS + RGM
IL-1β(pg/mL)	57.3 ± 16.3 <sup>ns2)</sup>	67.4 ± 25.9	39.2 ± 10.1
IL-6(pg/mL)	1049.7 ± 105.7 <sup>b</sup>	1009.2 ± 9.3 <sup>ab</sup>	436.5 ± 208.1 <sup>a</sup>
IFN-γ(pg/mL)	461.5 ± 225.9 <sup>ns</sup>	677.1 ± 390.9	163.9 ± 59.7
TNF-α(pg/mL)	313.8 ± 272.6 <sup>ns</sup>	42.3 ± 0.6	42.1 ± 2.2

Values not sharing the same letter within a row are significantly different from one another ( $P < 0.05$ ) by Duncan's multiple range test.

<sup>1)</sup>LPS, LPS + normal control diet; LPS + M, LPS + milk diet; LPS + RGM, LPS + 2% red-ginseng milk diet; <sup>2)</sup>ns, not significant.

요구르트 및 홍삼농축액 첨가 요구르트 함유 식이가 Con A 및 LPS를 처리한 비장세포의 cytokine 농도에 미치는 영향을 표 32와 표 33에 나타내었다. Con A가 처리된 비장세포의 IL-6, TNF-α와 IFN-γ의 생성 농도를 측정된 결과, IL-6와 IFN-γ의 농도는 Con A 만을 처리한 군에 비해 요구르트 함유 식이, 홍삼농축액 첨가 요구르트 함유 식이군에서 유의적으로 낮게 나타났다. TNF-α의 농도는 식이 섭취 그룹과 Con A만을 처리한 대조군과는 유의적인 차이가 없었으나, 홍삼농축액 첨가 요구르트 함유 식이군은 Con A만을 처리한 대조군에 비해 낮은 경향을 보였다.

**<표 32> Cytokine production by Con A treated splenocyte of mice orally administered with dairy products for 5 weeks**

	Con A <sup>1)</sup>	Con A + Y	Con A + RGY
IL-6(pg/mL)	284.6 ± 21.1 <sup>b</sup>	262.3 ± 106.0 <sup>a</sup>	186.2 ± 48.6 <sup>a</sup>
TNF-α(pg/mL)	47.6 ± 2.3 <sup>ns2)</sup>	50.7 ± 2.7	44.5 ± 3.7
IFN-γ(pg/mL)	2588.1 ± 268.3 <sup>b</sup>	717.5 ± 176.4 <sup>a</sup>	695.6 ± 262.5 <sup>a</sup>

Values not sharing the same letter within a row are significantly different from one another ( $P < 0.05$ ) by Duncan's multiple range test.

<sup>1)</sup>Con A: Con A + normal control diet, Con A + Y: Con A + yogurt diet, Con A + RGY: Con A + 2% red-ginseng yogurt diet. <sup>2)</sup>ns; not significant.

또한 LPS가 처리된 비장세포의 IL-1β, IL-6, IL-10의 생성 농도를 측정된 결과, IL-1β와 IL-6의 농도가 LPS 만을 처리한 그룹과 요구르트 및 홍삼농축액 첨가 요구르트 함유 식이군 간의 유의적인 차이는 없었으나, 요구르트 및 홍삼농축액 첨가 요구르트 함유 식이군에서 낮은 경향을 보였다. IL-1β나 IL-6, TNF-α 등과 같은 pro-inflammatory cytokine의 생성을 조

절하여 면역 조절 작용에 관하여는 것으로 알려진 IL-10의 농도는 LPS 만을 처리한 그룹과 요구르트 및 홍삼농축액 첨가 요구르트 함유 식이군 간의 유의적인 차이는 없었으나, 홍삼농축액 첨가 요구르트 함유 식이군에서 높은 경향을 보였다.

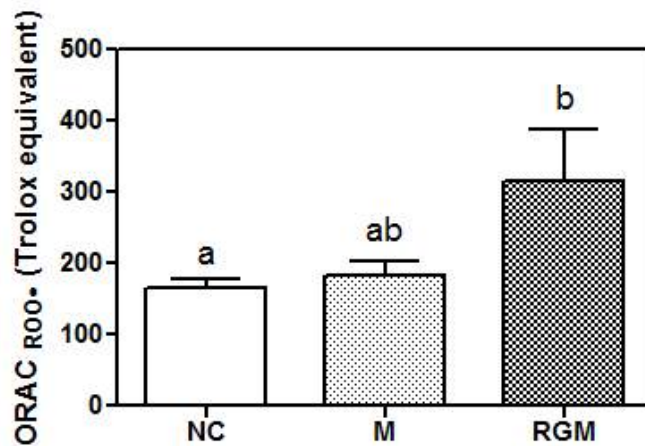
**<표 33> Cytokine production by LPS treated splenocyte of mice orally administered with dairy products for 5 weeks**

	LPS <sup>1)</sup>	LPS + Y	LPS + RGY
IL-1β(pg/mL)	57.3 ± 16.3 <sup>ns2)</sup>	32.6 ± 5.7	32.4 ± 3.1
IL-6(pg/mL)	1049.7 ± 105.7 <sup>ns</sup>	662.2 ± 121.5	877.5 ± 143.4
IL-10(pg/mL)	766.3 ± 52.4 <sup>ns</sup>	684.9 ± 118.1	854.5 ± 51.4

<sup>1)</sup>LPS, LPS + normal control diet; LPS + Y, LPS + yogurt diet; LPS + RGY, LPS + 2% red-ginseng yogurt diet; <sup>2)</sup>ns, not significant.

(7) 혈액 내 ORAC(oxygen radical absorbance capacity) 측정

혈액 내 ORAC 수치는 그림 54에 나타내었다. 일반식이 대조군에 비해 우유 함유 식이군에서 유의적이지는 않으나 증가하는 경향이 나타났고, 홍삼농축액 첨가 우유 식이군은 일반식이 대조군에 비해 유의적으로 높은 것으로 나타났다.



**<그림 54> Oxygen radical absorbance capacities(ORAC) of mice orally administered with dairy products for 5 weeks.**

Bars represent mean ± S.E.

Bars with different superscripts are significantly different at the  $P < 0.05$  level by ANOVA and Duncan's multiple range test.

NC, normal control diet; M, milk diet; RGM, 2% red-ginseng milk diet.

(8) 비장세포 내 DNA 손상의 측정을 위한 comet assay

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>로 유도된 산화적 DNA 손상에 대한 우유 및 홍삼농축액 첨가 우유 함유 식이의 보호 효과 결과는 표 34에 제시하였다. 5주 간 식이를 섭취한 마우스의 비장세포에 200 µM 농도의 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 처리하여 산화적 스트레스가 유도된 DNA 손상도를 측정된 결과, 정상대조군에 비해 우유 및 홍삼농축액 첨가 우유 함유 식이군의 DNA 손상도가 유의적인 차이를 보이지는 않았지만, 감소하는 경향을 보였다. 요구르트 및 홍삼 요구르트를 섭취한 그룹에서도 정상 대조군의 DNA 손상도에 비해 유의적인 차이를 보이지는 않았지만, 감소한 경향을 보였다.

<표 34> H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> induced splenocyte DNA damage of mice orally administered with dairy products for 5 weeks

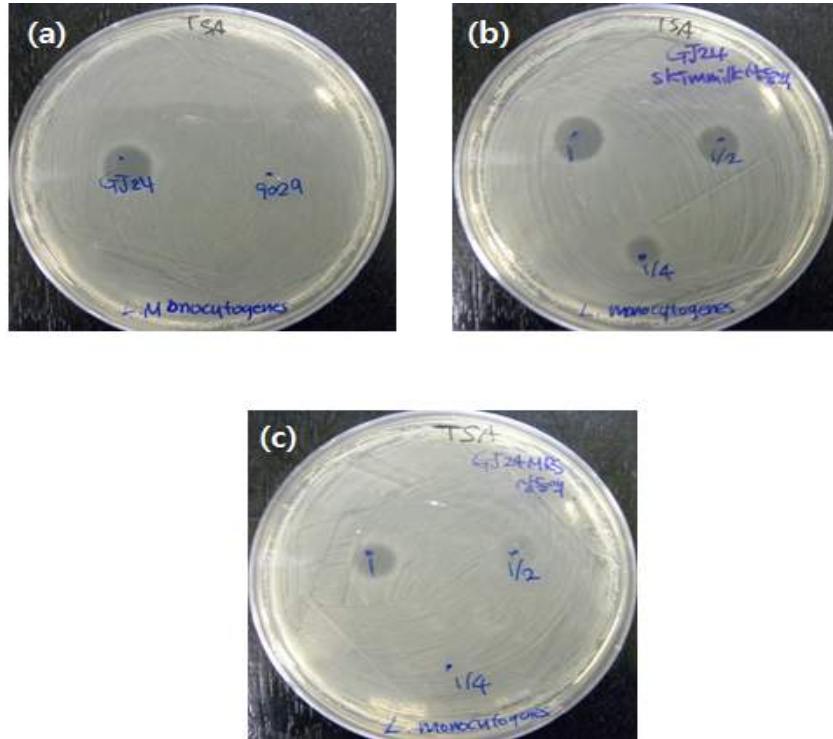
	NC <sup>1)</sup>	M	RGM	Y	RGY
Tail DNA(%)	29.6 ± 2.4 <sup>ns2)</sup>	27.1 ± 2.3	23.5 ± 1.4	27.1 ± 2.5	25.8 ± 1.8

<sup>1)</sup>NC, Normal control group; M, milk; RGM, 2% red-ginseng milk; Y, yogurt; RGY, 2% red-ginseng yogurt; <sup>2)</sup>ns, no significantly difference.

## 10. *Lactobacillus salivarius* GJ-24의 항균 효과 검증

### 가. *Lactobacillus salivarius* GJ-24의 항균 효과 검증

*L. salivarius* GJ-24 를 액체배지에 배양 후 spot-on-lawn assay에 의해 병원성 균인 *Listeria monocytogenes* KCTC 3710에 대한 항균 활성력을 측정하였다. MRS와 10% 환원 탈지유에 각각 1%씩 균주를 접종하여 항균 활성 정도를 측정하였다. 각각의 시료의 상등액을 filtering한 cell free supernatant를 멸균 증류수에 1/2씩 희석한 후 지시균을 도말한 TSA배지에 10 µL씩 접종하여 clear zone의 생성 유무를 통해 항균 활성력을 비교하였다. GJ-24의 항균 활성 측정 결과는 그림 55에서 보는 바와 같다. GJ-24균주와 비교 균주인 *L. casei* YIT 9029의 항균 활성력을 비교 측정된 결과, GJ-24가 lactose를 분해하며 박테리오신을 생산하는 것으로 확인되었다. 특히, MRS 배지에서 분리한 상등액에서는 150 AU/mL의 항균력을 보였으며, 10% skim milk에서는 600 AU/mL의 항균력을 보였다. 이러한 결과를 통하여 *L. salivarius* GJ-24 균주는 MRS 배지에서보다 skim milk에서 박테리오신을 더 많이 생성하며, skim milk가 박테리오신의 생산에 더 적합한 배지임을 확인하였다.



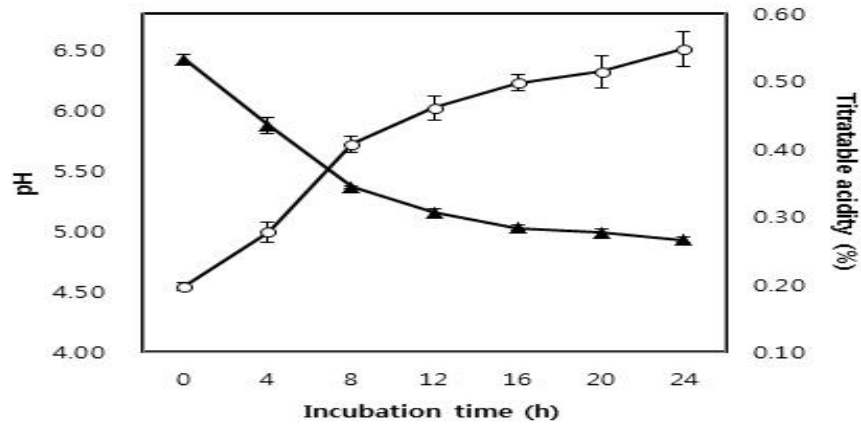
<그림 55> *Lactobacillus salivarius* GJ-24 균주의 향균 활성 측정.

(a), MRS 배지에서 배양된 *L. salivarius* GJ-24 균주와 *L. casei* YIT9029 균주의 향균활성; (b), 10% 환원탈지유 배지에서 배양된 GJ-24 균주의 향균 활성; (c), MRS 배지에서 배양된 GJ-24 균주의 향균 활성.

#### 나. 환원 탈지유에서 *Lactobacillus salivarius* GJ-24의 성장 특성

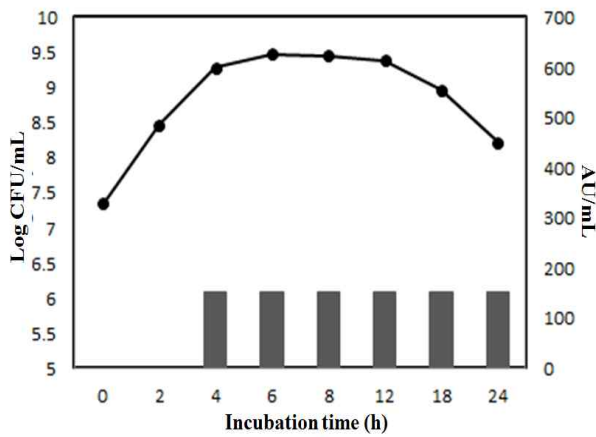
성인 분변에서 분리된 *L. salivarius* GJ-24의 환원 탈지유에서의 생균수, pH, 적정산도를 측정하였다. 생균수는 MRS 액체배지에 2차 계대 배양한 뒤 10% skim milk 20 mL에 균주를 200  $\mu$ L 접종한 후 37°C에서 4시간 간격으로 24시간까지 배양하면서 측정하였다. 배양한 각 시료를 혐기미생물 희석액에 희석하여 MRS agar를 이용하여 pouring한 후 37°C에서 48시간 배양하여 계수하였다. pH는 배양한 시료를 pH meter(M530P, Nova Analytics Crop., USA)를 이용하여 측정하였다. 시료 9 mL을 취하여 배양 중 생성된 산을 0.1 N NaOH용액으로 적정하여 lactic acid함량을 %로 산출하였다. 시료는 오염방지를 위하여 각 시간별로(0, 4, 8, 12, 16, 20, 24 h) tube에 균주를 접종하여 측정하였다. *L. salivarius* GJ-24의 환원 탈지분유에서 37°C에서 배양하는 동안 pH와 산도의 변화를 측정한 결과는 그림 56에서 보는 바와 같다. *L. casei* YIT9029 균주보다는 산 생성 속도가 느리지만 24시간 이상 배양을 하면 커드를 생성하기 때문에 발효유 제조에 이용 가능한 것으로 판단된다. GJ-24 균주의 MRS 액체배지와 우유배지에서 37°C 배양시간에 따른 생균수와 박테리오신의 활성을 비교한 결과는 그림 57에서 보는 바

와 같다. MRS 액체배지에서 배양 4 시간 만에 생균수가 2 log정도 증가하여 거의 지체기에 도달되고, 이때의 박테리오신 활성은 150 AU/mL로 확인되었으나 그 이후에는 배양시간에 따른 추가적인 박테리오신 활성은 나타나지 않았다. 우유배지에서는 MRS 배지에 비하여 성장속도가 느리고, 최종 균수도 1 log정도 낮게 측정되었으며, 박테리오신 활성은 우유배지에서 배양 8시간 만에 600 AU/mL정도가 되었고 24시간까지는 거의 비슷한 수준으로 유지되었다.

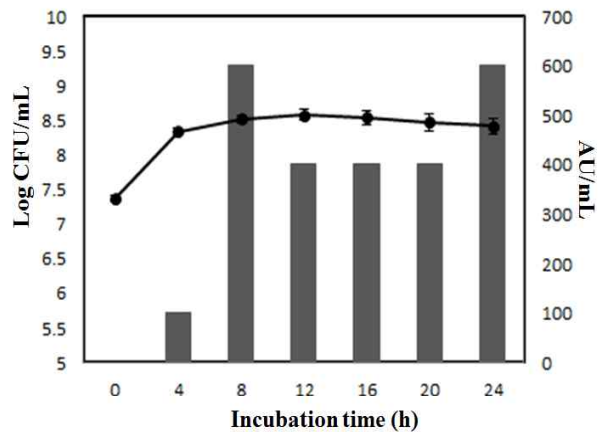


<그림 56> 10% 환원탈지유 배지에서 배양시간에 따른 pH와 산도(titratable acidity, %)의 변화. ▲, pH; ○, Titratable acidity(%).

(A)



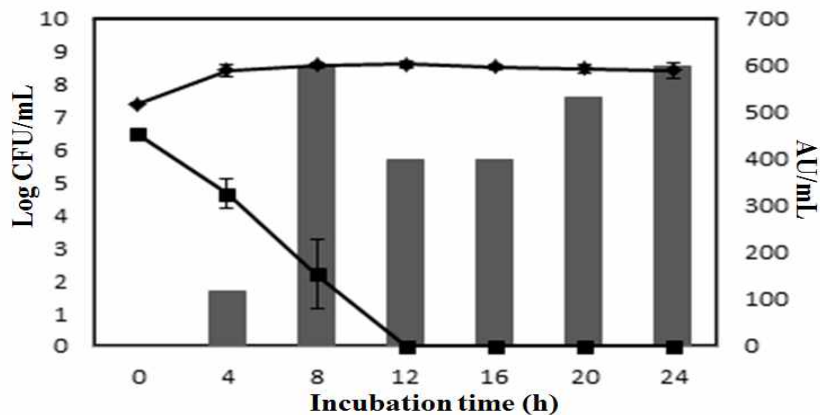
(B)



<그림 57> *Lactobacillus salivarius* GJ-24 균주의 배양시간에 따른 균수와 박테리오신 활성 측정. (A), 10% 환원탈지유에서 배양; (B), MRS 배지에서 배양. ■, 박테리오신 활성; ●, 세균수.

다. 환원 탈지유에서 GJ-24의 생장에 따른 *Listeria monocytogenes*의 사멸

환원 탈지유에서의 *Lactobacillus salivarius* GJ-24 생장에 따른 박테리오신 생산 및 *Listeria monocytogenes* KCTC 3710의 시간 별 사멸 양상을 관찰하였다. 멸균 처리한 20 mL의 10% skim milk에 미리 계대 배양한 GJ-24와 KCTC 3710 각각 1%(v/v)를 접종하여 37°C water bath에서 24시간까지 배양하였다. KCTC 3710의 초기 접종 농도는  $10^6$  CFU/mL로 접종하였으며, GJ-24의 초기 접종 농도는  $10^7$  CFU/mL로 접종하였다. *Listeria*의 생균수는 Modified Oxford *Listeria* selective agar를 이용하였다. GJ-24균주의 항균 활성 능력을 확인한 뒤, 발효 시 어느 정도의 억제 능력이 있는지 알아보기 위해 *Listeria monocytogenes* KCTC 3710과 혼합 배양을 실시한 결과는 그림 58과 같다. 접종 시작부터 *Listeria monocytogenes* KCTC 3710의 초기 접종량과 GJ-24의 접종량을 확인하여 4시간 간격으로 균수를 조사한 결과, *Listeria monocytogenes* KCTC 3710의 균수가 접종 후 12시간 만에 완전히 사멸하는 것을 확인할 수 있었다. 특히 접종 후 4시간에서 8시간 사이에 KCTC 3710의 급격한 감소를 확인할 수 있었다. 본 연구에서 *Listeria monocytogenes* KCTC 3710의 사멸 또한 이러한 박테리오신 생성 균주의 특성과 연관이 있을 것으로 사료되며, 발효유 및 유제품의 생산에 있어 병원성 미생물을 예방하는 목적으로의 응용 가능성을 확인하였다.



<그림 58> 10% 환원탈지유에서 병원성 세균과의 혼합 배양에 따른 박테리오신 활성과 균수의 변화. ◆, *Lactobacillus salivarius* GJ-24 세균수; ■, *Listeria monocytogenes* 세균수; ■, 박테리오신 활성.



## 제 7 절 생물학적 기술을 이용한 맵지 않은 캡사이신 유도체의 개발 및 축산 식품에 대한 적용

우리나라 전통 발효 고추절임으로부터 고추의 캡사이신을 효과적으로 분해하여 영양원으로 이용해 성장하는 미생물 균주를 분리하였고, 16S rRNA 유전자 서열 분석을 통하여 바실러스 리케니포르미스 SK1230 (*Bacillus licheniformis* SK1230)으로 동정하였다 (특허등록: 10-0930291호). 이 균주를 이용하면 고춧가루 혹은 캡사이신을 포함하는 배양액에서 캡사이신의 분해 산물 혹은 중간체(intermediates)의 일부들이 생산되고 이것들은 맵지 않으면서도 항비만, 항염증, 항신경통 등 생리활성을 보유하고 있어 기능성 식품 소재로 첨가 활용할 수 있다. 따라서 본 연구에서는 생물학적 기술을 이용한 맵지 않은 캡사이신 유도체를 개발하고 축산식품 중 yoghurt에 적용하고자 다음과 같이 연구를 수행하였다.

### 1. 캡사이신을 분해하는 세균의 분리 및 동정

맵지않는 캡사이신 유도체를 이용하여 기능성 축산식품에 적용하고자 캡사이신을 분해하는 균주를 스크리닝하고 그 특성을 규명하였다.

#### 가. M9-capsaicin 배지를 이용한 캡사이신 이용 세균의 분리

-분리원: 토양, 김치, 고추절임 등을 각각 멸균된 0.85% NaCl 용액과 혼합하여 균질화 한 후에 실험에 사용

-분리용 배지: M9 배지 (1M MgSO<sub>4</sub>-0.4 mL/200 mL, 0.1M CaCl<sub>2</sub>-0.2 mL/200 mL, 0.34% Vitamin B1-1 mL/200 mL), (Z), (E) capsaicin (Tocris) 100 mM

-분리결과

- ① 총 42개 균주를 각각의 분리원에서 분리
- ② 분리된 균주들의 (Z) capsaicin와 (E) capsaicin 이용성 평가를 위하여 LB 배지에서 균체의 성장을 평가 (표 1, 2).

<u>1</u> Growth characteristics of (Z) capsaicin utilizing bacteria on LB agar plate

Stains No	Incubation time, day		
	1	3	5
1	-	+	++
2	+/-	+	+++
3	-	+/-	+
4	+/-	+	+
5	-	+	+
6	-	+	+
7	-	++	+++
8	++	++	+++
9	+/-	+	+
10	++	+++	+++
11		+	++
12	++	+++	+++
13	+	++	++
14	+++	+++	+++
15	++	++	++
16	+++	+++	+++
17	++	++	++
18	+/-	+	++
19	+/-	+	++

-, +/- mean no growth and very weak growth..

+, ++ and +++ mean weak, medium and very well growth, respectively.

<표 2> Growth characteristics of (E) capsaicin utilizing bacteria on LB agar plate

Stains No	Incubation time, day		
	1	3	5
20	+/-	+	++
21	-	+	+
22	-	+	+
23	-	+	++
24	-	+	++
25	-	-	-
26	-	+	+
27	+	+	+
28	+	+	+
29	+++	+++	+++
30	+++	+++	+++
31	++	+++	+++
32	+++	+++	+++
33	-	+/-	+
34	+++	+++	+++
35	++	++	++
36	++	+++	+++
37	+	+	+
38	+/-	+	+
39	+++	+++	+++
40	-	-	-
41	++	+++	+++
42	-	-	-

-, +/- mean no growth and very week growth

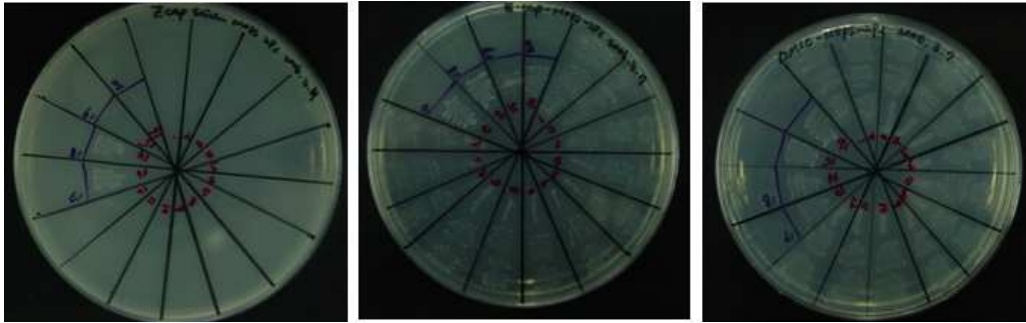
+, ++ and +++ mean week, medium and very well growth, respectively

나. MOPS-capsaicin 배지를 이용한 캡사이신 분해 균주의 선발

-분리원: 고추절임

-분리용 배지: MOPS agar 배지 (pH 7.4, MOPS powder 8.37%, Tricine 0.07%, NaCl 0.3%, NH<sub>4</sub>Cl 0.05%, KOH 0.16%, K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0.276mM, MgCl<sub>2</sub> 0.528mM, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 2.0 mM, Bacto agar 1.6%)+0.05mM (z)-Capsaisin, (Z)-N-[(4-Hydroxy-3-methoxyphenyl)methyl]-8-methyl-6-enoamide (Tocris Bioscience, Cat No 0463)

-균주선발: 고추절임에서 캡사이신을 분해하는 세균 2종을 분리 (그림 1).



<그림 1> Isolation of capsacin degrading bacteria.

다. 캡사이신 분해 능력 확인을 위한 투명대 형성 확인 시험

- 캡사이신은 물에 녹지 않는 특징을 가지고 있어 일정 농도 이상에서는 배지의 탁도를 증가시킨다. 이러한 특징을 이용하여 선발된 2개의 균주의 배양액을 plate에 흡수시켜 투명대의 형성 여부를 조사하였다. 그 결과 투명대가 형성되었다 (그림 2).



<그림 2> Clear zone appearance test. Culture broth dropping (left) and streaking of SK1230 and 1233 (right).

라. 배지내 영양소원으로 캡사이신의 이용성을 기준으로 한 균주 선발 (상대적 성능지수)

- 캡사이신 외에 탄소원과 질소원으로 각각 포도당과 염화암모니움의 유무에 따른 선발균주의 성장 효율을 이용하여 최종 균주를 선발
- 바실러스 최소배지 (Alain et al., 2004)를 사용 (표 3)

<표 3> Minimal medium of *Bacillus* for auxotrophy determination

Component	Amount
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	12.8 g/L
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	3 g/L
NaCl	0.5 g/L
NH <sub>4</sub> Cl	1 g/L
MgSO <sub>4</sub>	1mM
CaCl <sub>2</sub>	0.1mM
pH	7.4

- 탄소원 및 질소원 첨가 실험 설계 및 결과: 탄소원과 질소원으로 포도당과 염화암모니움을 첨가한 실험의 설계와 그 결과는 표 5에서 보는 것과 같다. 영양원 시험결과 선발균주 SK1233은 별도로 첨가된 탄소원 포도당에 의하여 오히려 성장에 저해를 받는 현상이 나타났으며, 두 균주 모두 별도로 첨가되는 질소원, 염화암모늄에 의하여 오히려 성장에 저해를 받는 현상이 나타났다. 이에 최종적으로 탄소원에 저해를 받지 않는 SK1230균주를 선발하였다(표 4).

<표 4> Experiment design and growth of SK1230 and SK1233

Treatment	Glucose	Nitrogen (NH <sub>4</sub> Cl)	(Z) capsaicin	Growth	
				1230	1233
A	0.2	0.1	-	+++	+++
B	-	0.1	50μM	+	+
C	0.02	-	50μM	++	-
D	-	-	50μM	++	++

-,+,++ and +++ mean no growth, week, medium and strong growth.

마. 선발균주의 생화학적 특성조사

- 선발된 균주 SK1230 균주의 생화학적 특성을 조사한 결과는 표 5에서 보는 것과 같다.

<표 5> Biochemical characteristics of selected strain, SK1230

Substrate	Utilization	Substrate	Utilization
대조군(control)	-	갈락토스(galactose)	-
글리세롤(glycerol)	+	글루코스(glucose)	+
에리트리톨(erythritol)	-	프럭토스(fructose)	+
D-아라비노스(D-arabinose)	-	만노스(mannose)	+
L-아라비노스(L-arabinose)	+	소르보스(SorBosE)	-
리보스(ribose)	+	람노스(rhamnose)	-
D-자일로스(D-xylose)	+	둘시톨(dulcitol)	-

L-자일로스(L-xylose)	-	이노시톨(inositol)	-
아도니톨(adonitol)	-	만니톨(mannitol)	+
$\beta$ -메틸-D-자일로시드( $\beta$ -methyl-D-xyloside)	-	소비톨(Sorbitol)	-
$\alpha$ -메틸-D-만노시드( $\alpha$ -methyl-D-mannoside)	-	멜리비오스(melibiose)	-
$\alpha$ -메틸-D-글루코시드( $\alpha$ -methyl-D-glucoside)	+	수크로스(sucrose)	+
N-아세틸-글루코사인(N-acetyl-glucosaine)	+	트레할로스(Trehalose)	+
아미그달린(amygdalin)	+	이눌린(inulin)	+
알부틴(arbutin)	+	멜레치토오스(melezitose)	-
에스쿨린(esculin)	+	라피노스(raffinose)	+
살리신(salicin)	+	스타치(starch)	+
셀로비오스(cellobiose)	+	글리코젠(glycogen)	+
말토스(maltose)	+	자일리톨(xylitol)	-
락토스(lactose)	-	겐티오비오스(gentiobiose)	+
D-튜라노스(D-turanose)	+	D-아라비톨(D-arabitol)	+
D-라일조스(D-lyxose)	+	L-아라비톨(L-arabitol)	-
D-타가토스(D-tagatose)	+	글루코네이트(gluconate)	-
D-푸코스(D-fucose)	-	2-케토-글루코네이트(2-keto-gluconate)	-
L-푸코스(L-fucose)	-	5-케토-글루코네이트(5-keto-gluconate)	-

바. 선발균주의 동정

- 선발된 SK1230균주의 16S rRNA를 분석하였다 (그림 3). 염시서열을 이용하여 균주를 동정한 결과 *Bacillus licheniformis*와 99%로 가장 높은 유사성을 나타내었고, 이에 선발된 균주를 *Bacillus licheniformis* SK1230으로 명명하였다.

CACGTGGGTAACCTGCCTGTAAGACTGGGATAACTCCGGGAAACCGGGGCTAATACCGGATGCTTG  
 ATTGAACCGCATGGTTCAATTATAAAAGGTGGCTTTTAGCTACCACTTACAGATGGACCCGCGGCG  
 CATTAGCTAGTTGGTGAGGTAACGGCTCACCAAGGCAACGATGCGTAGCCGACCTGAGAGGGTGAT  
 CGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGC  
 AATGGACGAAAAGTCTGACGGAGCAACGCCGCGTGAGTGATGAAGGTTTTTCGGATCGTAAAACTCTG  
 TTGTTAGGGAAGAACAAGTACCGTTCGAATAGGGCGGTACCTTGACGGTACCTAACAGAAAGCCA  
 CGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGC  
 GTAAAGCGCGCGCAGGCGGTTTCTTAAGTCTGATGTGAAAGCCCCGGCTCAACCGGGGAGGGTCA  
 TTGAAAACCTGGGAACTTGAGTGCAGAAGAGGAGAGTGGAATTCCACGTGTAGCGGTGAAATGCG  
 TAGAGATGTGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGACTCTCTGGTCTGTAACCTGACGCTGAGGCGCG  
 AAAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGAGTGCT

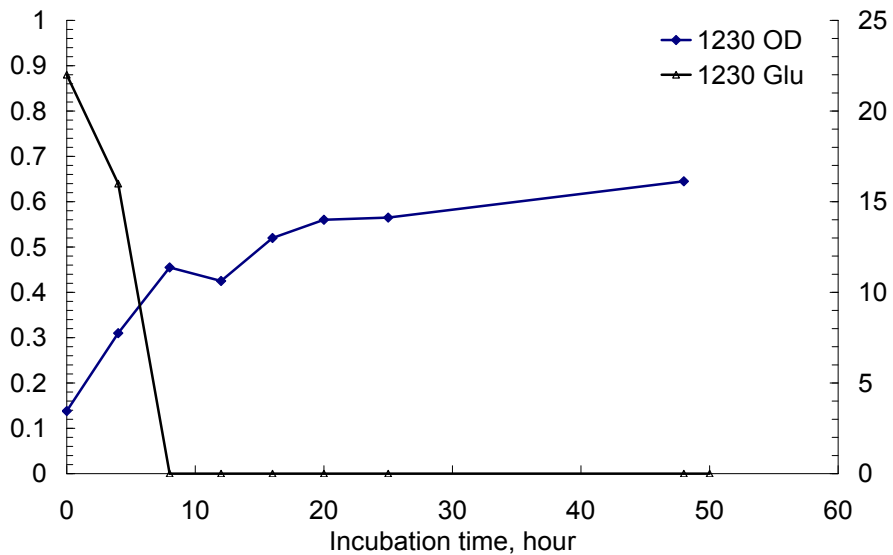
<그림 3> 16S ribosomal RNA gene sequence of isolated strain, SK1230.

사. 캡사이신 분해 효율 분석

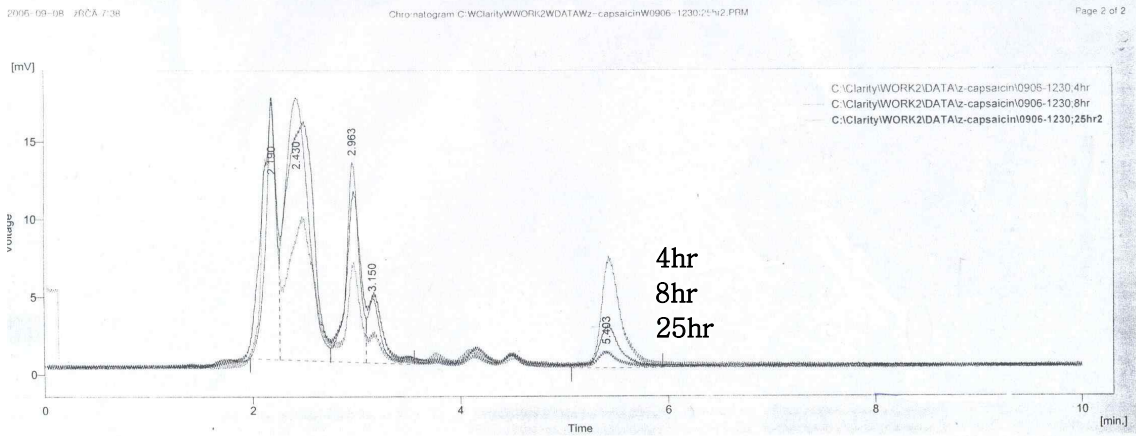
- 선발된 균주를 이용하여 캡사이신 분해 능력을 확인하였다. 선발된 균주는 바실러스 최소배지에 캡사이신과 소량의 포도당을 첨가한 배지에서 48시간 동안 배양한 후, 배양 시간별 캡사이신 농도를 HPLC를 이용하여 분석하였다.

- 실험에 사용된 배지조성:  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  33.51mM  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  22.04mM, NaCl 8.56mM,  $\text{NH}_4\text{Cl}$  18.69mM,  $\text{MgSO}_4$  1.00mM,  $\text{CaCl}_2$  0.10mM, Glucose 10mM, capsaicin 0.05mM

- 배양시간대별 포도당의 이용성과 균체 성장은 그림 4에서 보는 것과 같다. 그리고 각 시간대별 배양액에 잔류하는 캡사이신의 농도에 대한 HPLC 분석은 그림 5에서 보는 것과 같다.



<그림 4> Glucose utilization and cell growth of SK1230.



<그림 5> Capsaicin content profile in the culture broth of SK 1230 at different incubation time.

아. 유제품 생산을 위한 캡사이신 분해이용 유산균의 분리 (1)

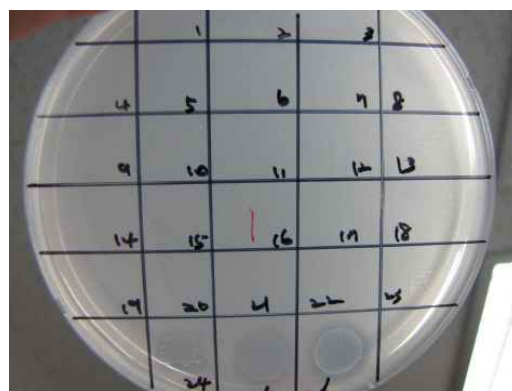
- 캡사이신 분해 이용 유산균을 선발하기 위하여 마늘 발효에 관여하는 24종의 유산균 (*Leuconostoc citreum*, *Leuconostoc mesentericus*, *Lactobacillus plantarum* 외)들을 대상으로 캡사이신 분해 이용성을 평가함 (표 6, 그림 6).

- 평가용 배지조성은 유산균의 성장을 촉진시키는 CHO buffer를 사용하였으며, 배지의 조성은 sodium acetate, 1 g/L, NaCl 1 g/L, dipotassium phosphate 1 g/L, magnesium chloride 0.1 g/L이며 capsaicin (Sigma) 0.1 mM을 사용하였다.



<표 6> Growth and clear zone appearance of various lactic acid bacteria and *Bacillus licheniformis* in CHO buffer medium containing capsaicin

Strains (No. in plate of Fig. 6)	Growth	Clear zone
<i>Leuconostoc citreum</i> SK2531 (1)	-	-
<i>Leuconostoc citreum</i> SK2555 (2)	-	-
<i>Leuconostoc citreum</i> SK2556 (3)	-	-
<i>Leuconostoc citreum</i> SK2589 (4)	-	-
<i>Leuconostoc citreum</i> SK2587 (5)	-	-
<i>Leuconostoc citreum</i> SK2592 (6)	-	-
<i>Leuconostoc citreum</i> SK2593 (7)	-	-
<i>Leuconostoc citreum</i> SK2596 (8)	-	-
<i>Leuconostoc citreum</i> SK2597 (9)	-	-
<i>Leuconostoc citreum</i> SK2601 (10)	-	-
<i>Leuconostoc citreum</i> SK2605 (11)	-	-
<i>Leuconostoc citreum</i> SK2607 (12)	-	-
<i>Leuconostoc citreum</i> SK2619 (13)	-	-
<i>Leuconostoc citreum</i> SK2963 (14)	-	-
<i>Leuconostoc citreum</i> SK2621 (15)	-	-
<i>Leuconostoc citreum</i> SK2625 (16)	-	-
<i>Leuconostoc mesenteroides</i> SK2532 (17)	-	-
<i>Leuconostoc mesenteroides</i> SK2591 (18)	-	-
<i>Wiesella cibaria</i> SK2554 (19)	-	-
<i>Wiesella confusa</i> SK2585 (20)	-	-
<i>Leuconostoc lactis</i> SK2626 (21)	-	-
<i>Lactobacillus plantarum</i> SK2629 (22)	-	-
<i>Bacillus licheniformis</i> SK1230 (23)	-	-
<i>Bacillus licheniformis</i> SK1233 (24)	+	+
<i>Bacillus licheniformis</i> SK1230 culture broth (25)		+
<i>Bacillus licheniformis</i> SK1233 culture broth (26)		+



<그림 6> Clear zone appearance in CHO buffer medium containing capsaicin. Each number in plate means test strains described in Table 6.

자. 유제품 생산을 위한 캡사이신 분해이용 유산균의 분리 (2)

- 유제품 생산을 위한 캡사이신 분해 유산균의 분리를 위하여 캡사이신을 유일 탄소원으로 하는 배지를 조성하였다. 사용된 선발 배지는 유산균의 성장을 촉진시키는 CHO buffer를 사용하였으며, 배지의 조성은 sodium acetate, 1 g/L, NaCl 1 g/L, dipotassium phosphate 1 g/L, magnesium chloride 0.1 g/L이며 capsaicin (Sigma) 98.2 mM을 사용하였다. 그리고 형성된 콜로니 중 산생성 세균을 분리하기 위하여 bromocresol purple을 배지에 첨가하였다.

- 분리원으로는 오이김치, 총각김치, 파김치, 깻잎김치를 사용하였다. 캡사이신 분해 유산균의 분리 기준으로는 캡사이신 분해를 통하여 형성된 투명대와 산생성을 통하여 bromocresol purple이 노란색으로 변한 것에 대한 유무를 기준으로 총 7개의 콜로니를 분리하였다.

- 분리된 콜로니를 배양한 후에 16S rRNA를 분석한 후에 NCBI에서 BLAST를 이용하여 상동성 검색 결과 모두 유산균인 *Leuconostoc mesenteroides*로 나타났다 (그림7-그림13, 표 7).

```
AACACGTGGACAACCTGCCTCAAGGCTGGGGATAACATTTGGAAACAGATGCTAATACCGAATAAACT
TAGTGTGCGCATGACAAAAAGTTAAAAGGCGCTTCGGCGTCACCTAGAGATGGATCCGCGGTGCATTAGTT
AGTTGGTGGGGTAAAGGCCTACCAAGACAATGATGCATAGCCGAGTTGAGAGACTGATCGGCCACATTG
GGACTGAGACACGGCCCAAACCTCCTACGGGAGGCTGCAGTAGGGAATCTTCCACAATGGGCGAAAGCCT
GATGGAGCAACGCCGCTGTGTGATGAAGGCTTTCGGGTCGTAAAGCACTGTTGTATGGGAAGAACAGC
TAGAATAGGAAATGATTTTACGTTTACGTTTACCGTACCATAACAGAAAGGGACGGCTAAATACGTGCCAGCAGC
CGCGTAATACGTATGTCCCGAGCGTTATCCGGATTTATTGGGCGTAAAGCGAGCGCAGACGGTTTATTA
AGTCTGATGTGAAAGCCCGGAGCTCAACTCCGGAATGGCATTGGAAACTGGTTAACTTGAGTGCAGTAG
AGGTAAGTGGAACTCCATGTGTAGCGGTGGAATGCGTAGATATATGGAAGAACACCAGTGGCGAAGGCG
GCTTACTGGACTGCAACTGACGTTGAGGCTCGAAAGTGTGGGTAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTA
GTCCACACCGTAAACGATGAACACTAGGTGTTAGGAGGTTTCCGCCTCTTAGTGCCGAAGCTAACGCATT
AAGTGTTCGCCTGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGACCCGCACAAGC
GGTGGAGCATGTGGTTTAAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGTCTTGACATCCTTTGAAGCTTT
TAGAGATAGAAGTGTCTTTCGGAGACAAAGTGACAGGTGGTGCATGGTTCGTCGTCAGCTCGTGTCTGTG
AGATGTTGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATTGTTAGTTGCCAGCATTACAGTGGCAGCTCT
AGCGAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGCGGGGACGACGTCAGATCATCATGCCCTTATGACCT
GGGCTACACAGTGTACAATGGCGTATAACAACGAGTTGCCAACCCGCGAGGGTGAGCTAATCTCTTAA
AGTACGTCCTCAGTTCGGATTGTAGTCTGCAACTCGACTACATGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGCGGAT
CAGCACCGCGGTTGAATACGTTCCCGGCTTGTACACACCGCC
```

<그림 7> 16S rRNA gene sequence of SK3054.

```
ACGTGGACAACCTGCCTCAAGGCTGGGGATAACATTTGGAAACAGATGCTAATACCGAATAAACTTAG
TGTCGCATGACAAAAAGTTAAAAGGCGCTTCGGCGTCACCTAGAGATGGATCCGCGGTGCATTAGTTAGT
TGGTGGGGTAAAGGCCTACCAAGACAATGATGCATAGCCGAGTTGAGAGACTGATCGGCCACATTGGGA
CTGAGACACGGCCCAAACCTCCTACGGGAGGCTGCAGTAGGGAATCTTCCACAATGGGCGAAAGCCTGAT
GGAGCAACGCCGCTGTGTGATGAAGGCTTTCGGGTCGTAAAGCACTGTTGTATGGGAAGAACAAGTAG
AATAGGAAATGATTTTACGTTTACGTTTACCGTACCATAACAGAAAGGGACGGCTAAATACGTGCCAGCAGCCG
GGTAATACGTATGTCCCGAGCGTTATCCGGATTTATTGGGCGTAAAGCGAGCGCAGACGGTTTATTAAGT
CTGATGTGAAAGCCCGGAGCTCAACTCCGGAATGGCATTGGAAACTGGTTAACTTGAGTGCAGTAGAGG
TAAGTGGAACTCCATGTGTAGCGGTGGAATGCGTAGATATATGGAAGAACACCAGTGGCGAAGGCGGCT
TACTGGACTGCAACTGACGTTGAGGCTCGAAAGTGTGGGTAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTC
CACACCGTAAACGATGAACACTAGGTGTTAGGAGGTTTCCGCCTCTTAGTGCCGAAGCTAACGCATTAAG
TGTTCCGCCTGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGACCCGCACAAGCGGT
GGAGCATGTGGTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGTCTTGACATCCTTTGAAGCTTTTAG
AGATAGAAGTGTCTTTCGGAGACAAAGTGACAGGTGGTGCATGGTTCGTCGTCAGCTCGTGTCTGTGAGA
TGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATTGTTAGTTGCCAGCATTACAGATGGGCAGCTAGC
GAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGCGGGGACGACGTCAGATCATCATGCCCTTATGACTCTGGG
CTACACAGTGTACAATGGCGTATAACAACGAGTTGCCAACCCGCGAGGGTGAGCTAATCTCTTAAAGTA
CGTCTCAGTTCGGATTGTAGTCTGCAACTCGACTACATGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGC
ACCGCGCGGTTGAATACGTTCCCGGCTTGTACACA
```

<그림 8> 16S rRNA gene sequence of SK3055.

ACACGTGGACAACCTGCCTCAAGGCTGGGGATAACATTTGGAAACAGATGCTAATACCGAATAAACTT  
AGTGTGCGCATGACAAAAAGTTAAAAGGCGCTTCGGCGTCACCTAGAGATGGATCCGCGGTGCATTAGTT  
AGTTGGTGGGGTAAAGGCCTACCAAGACAATGATGCATAGCCGAGTTGAGAGACTGATCGGCCACATTG  
GGACTGAGACACGGCCCAAATCCTACGGGAGGCTGCAGTAGGGAATCTCCACAATGGGCGAAAGCCT  
GATGGAGCAACGCCGCGTGTGTGATGAAGGCTTTCGGGTCGTAAAGCACTGTTGTATGGGAAGAACAGC  
TAGAATAGGAAATGATTTTGTGACGGTACCATAACCAGAAAGGGACGGCTAAATACGTGCCAGCAGC  
CGCGGTAATACGTATGTCCCGAGCGTTATCCGGATTTATTGGGCGTAAAGCGAGCGCAGACGGTTTATTA  
AGTCTGATGTGAAAGCCCGGAGCTCAACTCCGGAATGGCATTGGAAACTGGTTAACTTGAGTGCAGTAG  
AGGTAAGTGGAACTCCATGTGTAGCGGTGGAATGCGTAGATATATGGAAGAACCAGTGGCGAAGGCG  
GCTTACTGGACTGCAACTGACGTTGAGGCTCGAAAGTGTGGGTAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTA  
GTCCACACCGTAAACGATGAACACTAGGTGTAGGAGGTTTCGCGCTCTTAGTGCCGAAGCTAACGCATT  
AAGTGTCCGCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGACCCGCACAAGC  
GGTGGAGCATGTGGTTTAAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGCTTTGACATCCTTTGAAGCTTT  
TAGAGATAGAAGTGTCTCTTCGGAGACAAAGTGACAGGTGGTGCATGGTTCGTCGTCAGCTCGTGTCTGTG  
AGATGTTGGGTTAAGTCCCACAACGAGCGCAACCCTTATTGTTAGTTGCCAGCATTGAGATGGGCACCT  
AGCGAGACTGCCGTTGACAAACCGGAGGAAGGCGGGGACGACGTCAGATCATCATGCCCTTATGACCTG  
GGGTACACACGTGCTACAATGGCGTATACAACGAGTTGCCAACCCGCGAGGGGTGAGCTAATCTTTAA  
AGTACGTCTCAGTTCGGATTGTAGTCTGCAACTCGACTACATGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGCGGAT  
CAGCACGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGTCTTG

<그림 9> 16S rRNA gene sequence of SK3057.

AACACGTGGACAACCTGCCTCAAGGCTGGGGATAACATTTGGAAACAGATGCTAATACCGAATAAACTT  
TAGTGTGCGCATGACAAAAAGTTAAAAGGCGCTTCGGCGTCACCTAGAGATGGATCCGCGGTGCATTAGTT  
AGTTGGTGGGGTAAAGGCCTACCAAGACAATGATGCATAGCCGAGTTGAGAGACTGATCGGCCACATTG  
GGACTGAGACACGGCCCAAATCCTACGGGAGGCTGCAGTAGGGAATCTCCACAATGGGCGAAAGCCT  
GATGGAGCAACGCCGCGTGTGTGATGAAGGCTTTCGGGTCGTAAAGCACTGTTGTATGGGAAGAACAGC  
TAGAATAGGAAATGATTTTGTGACGGTACCATAACCAGAAAGGGACGGCTAAATACGTGCCAGCAGC  
CGCGGTAATACGTATGTCCCGAGCGTTATCCGGATTTATTGGGCGTAAAGCGAGCGCAGACGGTTTATTA  
AGTCTGATGTGAAAGCCCGGAGCTCAACTCCGGAATGGCATTGGAAACTGGTTAACTTGAGTGCAGTAGA  
GGTAAGTGGAACTCCATGTGTAGCGGTGGAATGCGTAGATATATGGAAGAACCAGTGGCGAAGGCGG  
CTTACTGGACTGCAACTGACGTTGAGGCTCGAAAGTGTGGGTAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGT  
CCACACCGTAAACGATGAACACTAGGTGTAGGAGGTTTCGCGCTCTTAGTGCCGAAGCTAACGCATTAA  
GTGTTCCGCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGACCCGCACAAGCGG  
TGGAGCATGTGGTTTAAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGCTTTGACATCCTTTGAAGCTTTTA  
GAGATAGAAGTGTCTCTTCGGAGACAAAGTGACAGGTGGTGCATGGTTCGTCGTCAGCTCGTGTCTGTGAG  
ATGTTGGGTTAAGTCCCACAACGAGCGCAACCCTTATTGTTAGTTGCCAGCATTGAGATGGGCACCTAG  
CGAGACTGCCGTTGACAAACCGGAGGAAGGCGGGGACGACGTCAGATCATCATGCCCTTATGACCTGG  
GCTACACACGTGCTACAATGGCGTATACAACGAGTTGCCAACCCGCGAGGGGTGAGCTAATCTTTAAAGT  
ACGTCTCAGTTCGGATTGTAGTCTGCAACTCGACTACATGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAG  
CACGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGTCTTGTACACACCGCC

<그림 10> 16S rRNA gene sequence of SK3058.

GGACAACCTGCCTCAAGGCTGGGGATAACATTTGGAAACAGATGCTAATACCGAATAAAAACCTTAGTGTC  
GCATGACAAAAAGTTAAAAGGCGCTTCGGCGTCACCTAGAGATGGATCCGCGGTGCATTAGTTAGTTGGT  
GGGGTAAAGGCCTACCAAGACAATGATGCATAGCCGAGTTGAGAGACTGATCGGCCACATTGGGACTGA  
GACACGGCCAAACTCCTACGGGAGGCTGCAGTAGGGAATCTTCCACAATGGGCGAAAGCCTGATGGAG  
CAACGCCGCGTGTGTGATGAAGGCTTTCGGGTCGTAAGCACTGTTGTATGGGAAGAACAGCTAGAATA  
GGAAATGATTTTAGTTTACGGTACCATAACCAGAAAGGGACGGCTAAATACGTGCCAGCAGCCGCGTA  
ATACGTATGTCGGAGCGTTATCCGGATTTATTGGGCGTAAAGCGAGCGCAGACGGTTTATTAAGTCTGA  
TGTGAAAGCCCGAGCTCAACTCCGGAATGGCATTGGAACCTGGTAACTTGAGTGCAGTAGAGGTAAG  
TGGAACCTCCATGTGTAGCGGTGGAATGCGTAGATATATGGAAGAACACCCAGTGGCGAAGGCGGCTACT  
GGACTGCAACTGACGTTGAGGCTCGAAAGTGTGGGTAGCAAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACA  
CCGTAAACGATGAACACTAGGTGTTAGGAGGTTTCCGCCTCTTAGTGCCGAAGCTAACGCATTAAGTGT  
CCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGACCCGCACAAGCGGTGGA  
GCATGTGGTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGTCTTGACATCCTTTGAAGCTTTTAGAGA  
TAGAAGTGTCTCTTCGGAGACAAAGTGACAGTGGTGCATGGTCGTCGTCAGCTCGTGTCTGTGAGATGTT  
GGGTAAAGTCCCGCAGGAGCGCACCCCTTATTGTTAGTTGCCAGCATTAGATGGGCACTCTAGCGAGACT  
GCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGCGGGGACGACGTCAGATCATGCCCCTTATGACCTGGGCTACACA  
ACGTGCTACAATGGCGTATAACAACGAGTTGCCAACCCGCGAGGGTGAGCTAATCTCTTAAAGTACGTCTC  
AGTTCGGATTGTAGTCTGCAACTCGACTACATGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCACGCCG  
CGGTGAATACGTTCCCGGGTCTTGTACACACC

<그림 11> 16S rRNA gene sequence of SK3059.

CAACCTGCCTCAAGGCTGGGGATAACATTTGGAAACAGATGCTAATACCGAATAAAAACCTTAGTGTCGCAT  
GACAMAAAGTTAAAAGGCGCTTCGGCGTCACCTAGAGATGGATCCGCGGTGCATTAGTTAGTTGGTGGG  
GTAAAGGCCTACCAAGACAATGATGCATAGCCGAGTTGAGAGACTGATCGGCCACATTGGGACTGAGAC  
ACGGCCCAAACCTCCTACGGGAGGCTGCAGTAGGGAATCTTCCACAATGGGCGAAAGCCTGATGGAGCAA  
CGCCGCGTGTGTGATGAAGGCTTTCGGGTCGTAAGCACTGTTGTATGGGAAGAACAGCTAGAATAGGA  
AATGATTTTAGTTTACGGTACCATAACCAGAAAGGGACGGCTAAATACGTGCCAGCAGCCGCGTAATA  
CGTATGTCGGAGCGTTATCCGGATTTATTGGGCGTAAAGCGAGCGCAGACGGTTTATTAAGTCTGATGT  
GAAAGCCCGGAGCTCAACTCCGGAATGGCATTGGAACCTGGTAACTTGAGTGCAGTAGAGGTAAGTGG  
AACTCCATGTGTAGCGGTGGAATGCGTAGATATATGGAAGAACACCCAGTGGCGAAGGCGGCTTACTGGA  
CTGCAACTGACGTTGAGGCTCGAAAGTGTGGGTAGCAAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACCG  
TAAACGATGAACACTAGGTGTTAGGAGGTTTCCGCCTCTTAGTGCCGAAGCTAACGCATTAAGTGTCCG  
CCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGACCCGCACAAGCGGTGGAGCAT  
GTGGTTAATTGGAAGCAACGCAAGAACCTTACCAGGTCTTGACATCCTTTGAAGCTTTTAGAGATAGA  
AGTGTCTCTTCGGAGACAAAGTGACAGGTGGTGCATGGTTCGTCGTCAGCTCGTGTCTGTGAGATGTTGGG  
TTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTTATTGTTAGTTGCCAGCATTAGATGGGCACTCTAGCGAGACTG  
CCGGTGACAAACCGGAGGAAGGCGGGGACGACGTCAGATCATGCCCCTTATGACCTGGGCTACACA  
CGTGTACAATGGCGTATAACAACGAGTTGCCAACCCGCGAGGGTGAGCTAATCTCTTAAAGTACGTCTCA  
GTTTCGGATTGTAGTCTGCAACTCGACTACATGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCACGCCG  
GGTGAATACGTTCCCGGGTCTTGTACACACC

<그림 12> 16S rRNA gene sequence of SK3060.

CGTGGACAACCTGCCTCAAGGCTGGGGATAACATTTGGAAACAGATGCTAATACCGAATAAAAACCTTAGT  
GTCGCATGACAAAAAGTTAAAAGGCGCTTCGGCGTCACCTAGAGATGGATCCGCGGTGCATTAGTTAGTT  
GGTGGGGTAAAGGCCTACCAAGACAATGATGCATAGCCGAGTTGAGAGACTGATCGGCCACATTGGGAC  
TGAGACACGGCCAAACTCCTACGGGAGGCTGCAGTAGGGAATCTTCCACAATGGGCGAAAGCCTGATG  
GAGCAACGCCGCGTGTGTGATGAAGGCTTTCGGGTCGTAAGCACTGTTGTATGGGAAGAACAGCTAGA  
ATAGGAAATGATTTTAGTTTACGGTACCATAACCAGAAAGGGACGGCTAAATACGTGCCAGCAGCCGCG  
GTAATACGTATGTCGGAGCGTTATCCGGATTTATTGGGCGTAAAGCGAGCGCAGACGGTTTATTAAGTC  
TGATGTGAAAGCCCGGAGCTCAACTCCGGAATGGCATTGGAACCTGGTAACTTGAGTGCAGTAGAGGT  
AAGTGGAACTCCATGTGTAGCGGTGGAATGCGTAGATATATGGAAGAACACCCAGTGGCGAAGGCGGCT  
ACTGGACTGCAACTGACGTTGAGGCTCGAAAGTGTGGGTAGCAAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCC  
ACACCGTAAACGATGAACACTAGGTGTTAGGAGGTTTCCGCCTCTTAGTGCCGAAGCTAACGCATTAAGT  
GTTCCGCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGACCCGCACAAGCGGTG  
GAGCATGTGGTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGTCTTGACATCCTTTGAAGCTTTTAGA  
GATAGAAGTGTCTCTTCGGAGACAAAGTGACAGGTGGTGCATGGTTCGTCGTCAGCTCGTGTGAGAT  
GTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTTATTGTTAGTTGCCAGCATTAGATGGGCACTCTAGCG  
AGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGCGGGGACGACGTCAGATCATGCCCCTTATGACCTGGGCTACACA  
TACACAGTGTACAATGGCGTATAACAACGAGTTGCCAACCCGCGAGGGTGAGCTAATCTCTTAAAGTAC  
GTCTCAGTTCGGATTGTAGTCTGCAACTCGACTACATGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCA  
CGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGTCTTGTACACACC

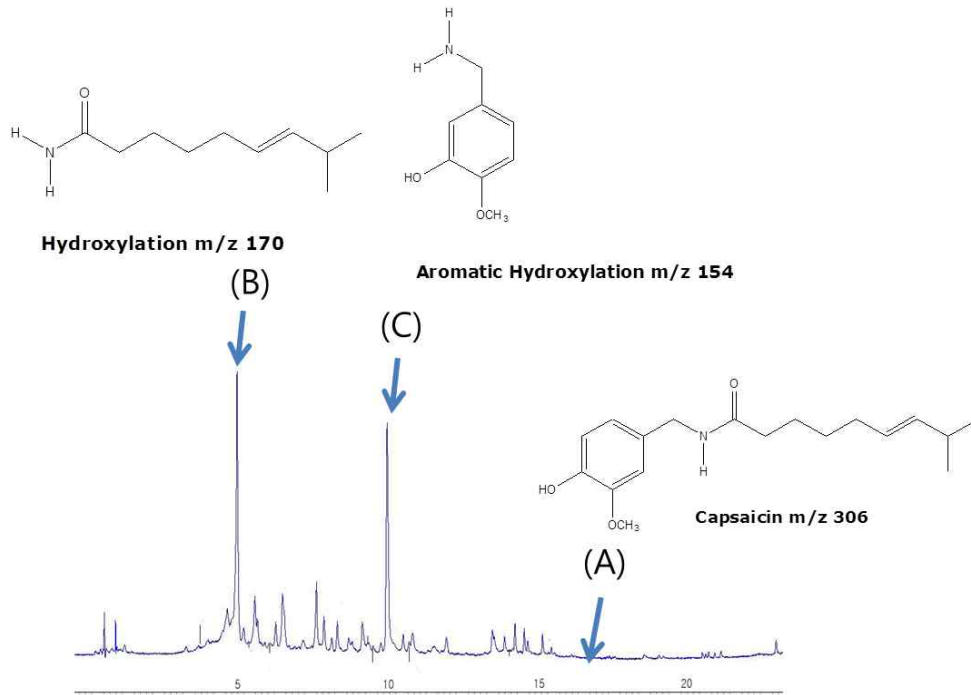
<그림 13> 16S rRNA gene sequence of SK3062.

<표 7> Homology search results with isolated strains

Strain No	Homology search results		
	Accession No	Description	Max identity
SK3054	EF579730.1	<i>Leuconostoc mesenteroides</i> strain PC13 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	100%
	GQ351321.1	<i>Leuconostoc mesenteroides</i> strain OR2P-2 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	100%
SK3055	EF579730.1	<i>Leuconostoc mesenteroides</i> strain PC13 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	100%
	GQ351321.1	<i>Leuconostoc mesenteroides</i> strain OR2P-2 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	100%
SK3057	GU591845.1	<i>Leuconostoc mesenteroides</i> strain Bae17 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	100%
	GU138560.1	<i>Leuconostoc mesenteroides</i> IMAU:10232 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	100%
SK3058	GQ351322.1	<i>Leuconostoc mesenteroides</i> strain MU3 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	100%
	GU138560.1	<i>Leuconostoc mesenteroides</i> IMAU:10232 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	100%
SK3059	HM218802.1	<i>Leuconostoc mesenteroides</i> strain NM195-3 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	99%
	HM218711.1	<i>Leuconostoc mesenteroides</i> strain NM174-5 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	99%
SK3060	HM217972.1	<i>Leuconostoc mesenteroides</i> subsp. <i>mesenteroides</i> strain S3-2 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	99%
	HM217976.1	<i>Leuconostoc mesenteroides</i> subsp. <i>mesenteroides</i> strain S16-3 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	99%
SK3062	HQ450738.1	<i>Leuconostoc mesenteroides</i> strain B8 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	100%
	GQ351322.1	<i>Leuconostoc mesenteroides</i> strain MU3 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	100%

## 2. 분해된 캡사이신의 구명 및 화학합성

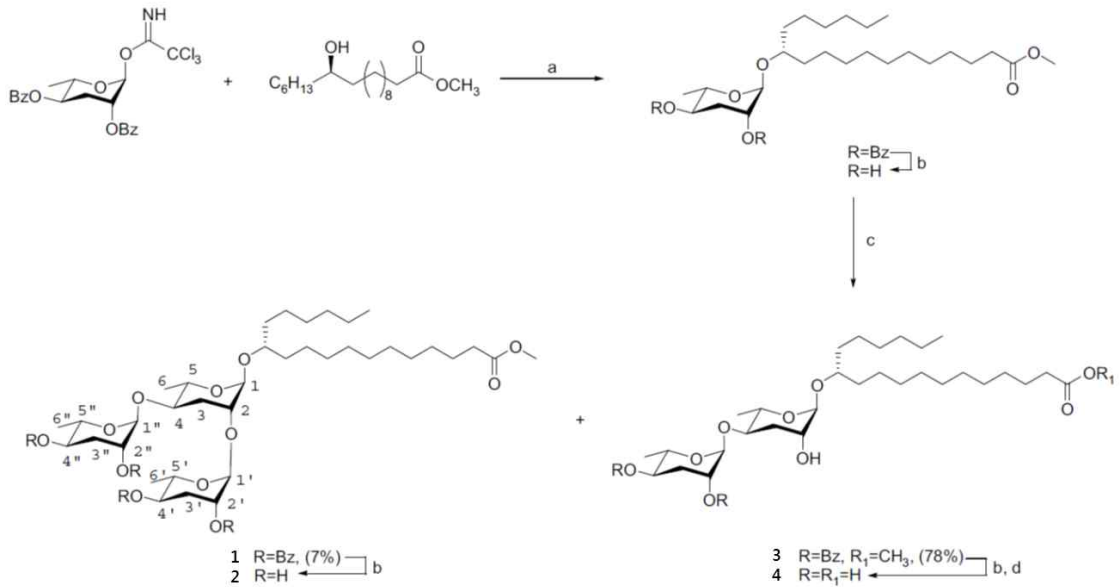
- 상기에서 동정된 균주 *Bacillus licheniformis* SK1230를 최소배지에 접종하고 30℃, 24시간 배양한 것에 대하여 Capsaicin 분해 정도를 HPLC-MS로 분석하였다. 캡사이신의 유도체로 가능한 모형을 예상하고 그 분자구조를 <그림 1>에 제시하였다. Capsaicin이 vanillylamine과 8-methyl-6-trans-nonenoic acid로 분해되는 것으로 판단되었다. 그러나 본 분자모델이 캡사이신을 분해하여 생기는 분자구조에 해당하는 지를 정확히 규명하기 위하여서는 HPLC-MS-MS로 분해물의 분자량 및 fragments를 확인하고 정제하여 NMR로 구조를 밝혀야 한다.



<그림 1> 캡사이신의 분해물에 대한 HPLC-MS 분석

캡사이신을 분해하기 위해서는 nonenamide의 탈아실화(deacylation)가 필요한데, 이는 특별한 미생물들이 효소적으로 분해할 수 있다. Lee 등(2010)은 *B. subtilis*에 의한 발효로 인해 맵지 않은 capsicum 제조 효과에 대해 연구하였으며, *B. subtilis* P3-3가 발효 과정 중 효과적으로 캡사이신 함량을 감소시키는 것을 보고하였다. 최소배지에서 유일한 탄소원으로 캡사이신을 사용할 수 있는 세균으로는 *Variovorax* sp.와 *Ralstonia* sp.가 알려졌고, 탄소와 질소원으로 vanillylamine을 사용할 수 있는 *Pseudomonas* 균주가 분리된 바 있다(Flagan & Leadbetter, 2005). Duarte 등 (2000)은 캡사이신의 가수분해를 위하여 시중에서 판매되는 효소를 이용한 실험에서 lipase B는 그 활성을 보였으나 단백질 분해효소들은 가수분해 효과를 나타내지 않았다고 보고하였다.

- 캡사이신 분해물의 화학합성: 상기 캡사이신 분해 정보를 바탕으로 분해물에 대한 화학합성을 다음과 같이 하였다 (그림 2).



<그림 2> 캡사이신의 분해물의 화학합성

위의 합성도를 바탕으로 2번, 4번 2개를 최종 산물로 획득하였다.

가. 2번의 구조 이름:

(12R)-Octadecanoic acid-3-deoxy- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1/4)-3-deoxy- $\alpha$ -L-rhamnopyranoside

Compound 1의 Debenzoylation은 deprotection의 일반적인 절차로 deprotected glycolipid (94 mg, 54 %)를 얻었다. 다음, deprotected glycolipid (94 mg, 0.16 mmol)를 THF - H<sub>2</sub>O 1:1 (2 mL)에 용해시킨 후 이 용액에 10% NaOH (0.1 mL)을 천천히 가하여 4 시간 동안 혼합하였다. 그 후, 혼합물은 EtOAc (2 mL)로 희석하였고, 다시 10% HCl (2 mL)을 첨가하고 1시간 동안 혼합하였다. 유기 층은 진공상태로 증발시켰고, 잔류물은 silica gel flash chromatography (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH, 7:1)로 정제하였고 무색의 오일과 같은 순수 compound 2 (11 mg, 51%)를 얻었다.

<sup>1</sup>H NMR (250 MHz, MeOD); d 4.78 (s, 1H), 4.65 (s, 1H), 3.78 - 3.77 (m, 2H), 3.65 - 3.60 (m, 5H), 2.28 - 2.26 (t, 2H, J<sub>H</sub> 7.3 Hz), 2.04 - 1.99 (m, 2H), 1.98 - 1.60 (m, 2H), 1.59 - 1.50 (m, 6H), 1.32 (s, 22H), 1.26 - 1.20 (m, 6H), 0.91 - 0.89 (m, 3H);

<sup>13</sup>C NMR (63 MHz, MeOD); d 178.1, 99.5, 98.0, 78.5, 75.7, 71.3, 71.2, 69.6, 68.6, 68.2, 35.8, 35.1, 34.6, 33.2, 33.0, 30.8, 30.7, 30.6, 30.4, 30.2, 26.7, 26.1, 26.0, 23.7, 18.2, 18.1, 18.0, 14.4.

나. 4번의 구조 이름:

(12R)-(Methyloctadecanoate)-3-deoxy- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1/2)-3-deoxy- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1/4)-3-deoxy- $\alpha$ -L-rhamnopyranoside.

Trichloroacetimidate glycosyl donor 4 (190 mg, 0.38 mmol)와 glycosyl 수용체 (169 mg,

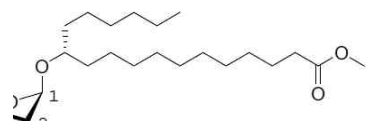
0.38 mmol) 및 4 Å molecular sieves (1.0 g)을 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (10 mL)에 혼합하여 30분 동안 상온에서 stirring하였다. 천천히 식힌 다음 상기의 혼합물을 3 시간 동안 stirring하였고, 포화 수용성 물질인 NaHCO<sub>3</sub> (20 mL)을 첨가하여 반응을 정지시켰다. 이를 Celite 패드로 여과하고, brine (20 mL)으로 씻고 여과액은 MgSO<sub>4</sub>로 건조하고 진공 하에서 농축하였다. 잔류물은 silica gel flash chromatography (EtOAc/hexane, 1:2)를 사용하여 정제해 무색 오일인 compounds 1 (235 mg, 79%)과 3 (94 mg, 7%)을 얻을 수 있었다. 일반적인 절차에 의한 compound 13b의 debenzoylation으로부터 무색 오일인 compound 4 (13 mg, 64%)를 얻을 수 있었다.

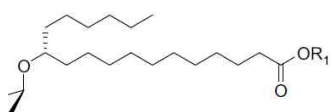
<sup>1</sup>H NMR (250 MHz, MeOD); d 4.81 (s, 1H), 4.66 (m, 2H), 3.79 (br s, 3H), 3.72 (br s, 1H), 3.64 (s, 3H), 3.62 - 3.53 (m, 6H), 2.31 (t, 2H, J 47.2 Hz), 2.03 - 1.94 (m, 3H), 1.85 - 1.73 (m, 3H), 1.65 - 1.51 (m, 6H), 1.31 (s, 22H), 1.25 - 1.20 (m, 9H), 0.90 - 0.88 (m, 3H)

<sup>13</sup>C NMR (63 MHz, MeOD); d 176.0, 99.6, 98.1, 96.0, 78.6, 75.2, 71.8, 71.5, 71.4, 71.3, 69.7, 69.6, 69.3, 68.2, 68.1, 35.9, 34.8, 34.6, 33.0, 30.7, 30.4, 30.2, 29.1, 26.7, 26.0, 23.7, 18.8, 18.2, 18.1, 14.5

다. 캡사이신 분해물 산물을 근거로 한 합성배경

위의 합성물 두 가지는 캡사이신에서 분해되는 것으로 추측한 그림 1의 B를 기준으로 활성이 가능한 합성유도체를 만들었다.

당의 부분은 체내에 흡수가 빨라지도록 붙인 부분이고  과

 캡사이신에서 분해되는 것을 모핵으로 하여 변형하였고, B는 시중에서 구입이 가능하므로 이를 바탕으로 활성을 상호 비교할 수 있을 것이다. 앞으로 화학합성된 캡사이신 유도체들의 다양한 생리활성들을 밝혀 축산식품에 응용하고자 한다.

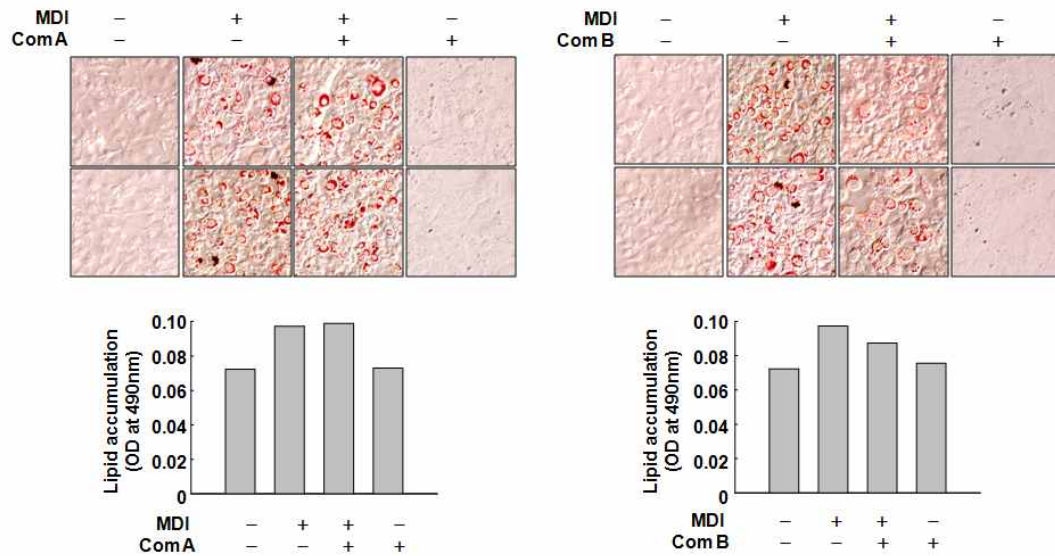
라. 지방세포 분화 억제 실험

상기에서 유기합성한 캡사이신 유도체에 대하여 다음과 같이 지방세포 분화 억제 실험을 수행하였다(그림 3).

- 3T3-L1을 60 mm dish에 plating, confluent 하게 배양 (이때 배지는 calf serum이 든 것을 사용)
- MDI solution (0.5 mM IBMX, 5 μM dexamethasone, 10 μg/mL insulin) in DMEM (FBS serum) 처리, 동시에 각 compound는 1 g/mL 처리
- 2일 후 10 μg/mL insulin) in DMEM (FBS serum) 처리, 동시에 각 compound는 1 g/mL 처리
- 2일 후 DMEM (FBS serum) 교환, 동시에 각 compound는 1 g/mL 처리
- 추가로 4일을 더 배양해서 지방세포의 분화가 확실히 이루어졌는지 확인
- 4% paraformaldehyde in PBS로 cell fixation 후 0.5% Oil red O 용액과 isopropanol을



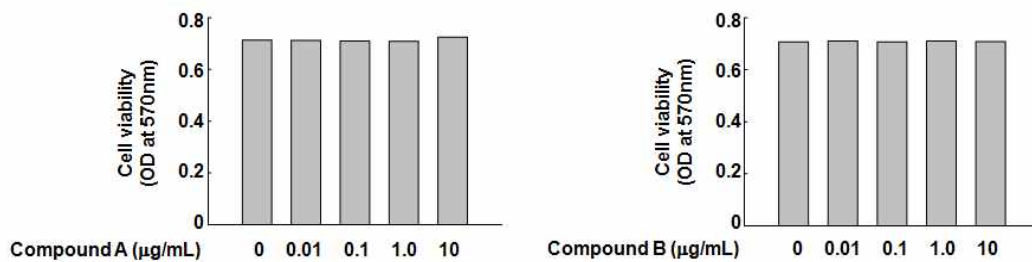
- 6:4의 비율로 희석한 염색액을 고정된 지방세포에 처리
- 차광시켜 1시간 반응시킨 후, 60% isopropanol로 세척한 다음, D.W.로 다시 세척하여 광학 현미경으로 관찰.
- 세포 내에 축적된 지방을 정량하기 위하여 oil red O로 염색한 세포에 isopropanol을 첨가하여 색소를 용해시켜 회수한 다음 490 nm에서의 흡광도를 측정



<그림 3> 지방세포 분화 억제 실험(1)

또 <그림 4>와 같이 농도별로 지방세포 분화 억제 실험을 수행하였으나 효과가 없는 것으로 인정되어 앞으로 이에 대한 연구가 보다 필요하다고 사료된다.

- 3T3-L1을 24-well plate에 plating
- 24h 후 각 compound를 지시된 농도대로 처리
- 24 h 후 0.1 mg/mL MTT를 배지에 첨가하여 차광시켜 4 h incubation
- 570 nm에서의 흡광도를 측정



<그림 4> 지방세포 분화 억제 실험(2)

### 3. 동물 실험을 통한 매운맛이 없는 캡사이시노이드의 항비만 활성 특성

고춧가루를 *Bacillus licheniformis* SK1230으로 발효시켜 샘플을 제조하였다. 고지방식이의 사료에 이를 첨가하여 ICR 수컷 mouse를 가지고 항비만 활성 실험을 진행하였다.

가. *Bacillus licheniformis* SK1230 균주를 이용한 발효고추 분말의 일반성분 분석

-발효고추 분말의 제조: 푸른 청양고추를 물을 첨가하지 않고 믹서기로 갈아 이를 동결건조하였다. 1 L의 배지 (sodium acetate 1 g/L, K<sub>2</sub>HPO 40.1 g/L, MgCl 20.01 g/L, NaCl 1 g/L)에 1.5%의 glucose와 상기의 동결 고추분말 40 g을 첨가한 후 1 N KOH 용액으로 pH를 7.0으로 조정하고 121℃에서 15분간 멸균한 후 *Bacillus licheniformis* SK1230을 1% 접종하여 37℃의 shaking incubator에서 28일 동안 배양, 이를 동결 건조하여 발효고추분말로 사용하였다.

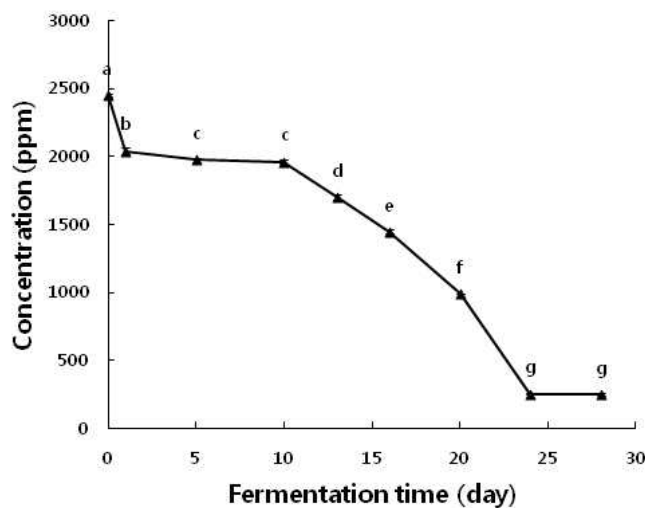
-고추분말과 발효고추분말의 일반 성분은 <표 1>과 같다. 조단백질과 수분 함량은 발효고추가 일반고추에 비해 각각 1.28%, 2.21% 유의적으로 (p<0.05) 증가하였고, 회분의 함량도 발효고추의 경우가 2배 이상 유의적으로 (p<0.05) 증가하였다. 조지방 함량은 일반고추와 발효고추에 있어서 유의적인 (p>0.05) 차이가 나타나지 않았으며 조섬유와 탄수화물의 함량은 발효고추가 일반고추에 비해 각각 0.9%, 11.72% 유의적으로 (p<0.05) 감소하였다.

<표 1> The general components analysis of normal and fermented chungyang pepper powder (%)

Items	Groups	
	NP	FP
Crude protein	16.6±0.00 <sup>b</sup>	17.9±0.24 <sup>a</sup>
Moisture	7.9±0.26 <sup>b</sup>	10.1±0.87 <sup>a</sup>
Ash	7.3±0.01 <sup>b</sup>	15.3±0.12 <sup>a</sup>
Crude fat	3.1±0.01 <sup>NS</sup>	4.2±0.03
Crude fiber	25.4±0.10 <sup>a</sup>	24.5±0.23 <sup>b</sup>
Carbohydrate	39.6±0.85 <sup>a</sup>	27.9±0.96 <sup>b</sup>
Total	100	100

나. 고추분말과 발효고추분말의 capsaicin 함량 분석

발효가 진행되는 28일간의 total capsaicin의 함량은 그림 2와 같다. 전체적으로 발효시간이 진행됨에 따라 capsaicin의 함량이 유의적으로 감소하였다 (p<0.05).

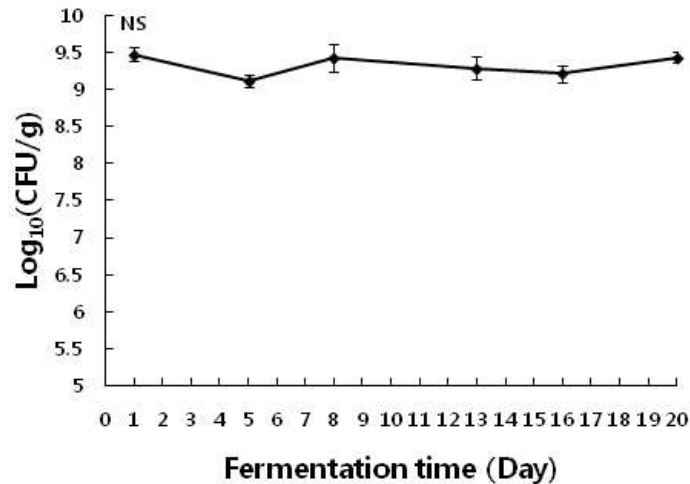


<그림 2> Change of concentration of total capsaicin in fermented chungyang pepper

powder by fermentation time (ppm).

#### 다. 균수 측정

발효 진행 중 측정된 발효시간에 따른 발효고추분말 내 *Bacillus licheniformis* SK1230의 수는 그림 3에 나타내었다. 균 접종 후 20일 동안 균수는 9 log<sub>10</sub>(CFU/g)와 10 log<sub>10</sub>(CFU/g)내에서 측정되었으며 유의적인 차이는 (p>0.05) 나타나지 않았다.



<그림 3> The number of *Bacillus licheniformis* SK1230 in fermented pepper powder by fermentation time (Log<sub>10</sub>(CFU/g)).

#### 라. 증체량, 총 식이섭취량 및 식이효율

-고춧가루를 *Bacillus licheniformis* SK1230으로 발효시킨 것을 가지고 mouse 실험을 위하여 ICR 수컷 mouse 28마리를 가지고 다음 4군으로 나누어 실험을 진행하였다: 1. CON(일반식이) 2. HFD(고지방식이 45%) 3. NP(고지방식이 45%+일반고추) 4. FP(고지방식이 45%+발효고추). 조제사료에 일반고추와 발효 고추는 섭취하는 capsaicin의 함량이 총 식이량의 0.014%가 되도록 첨가하고 일반고추와 동량이 되도록 첨가하였다.

-Mouse는 1주일간 적응기를 갖고, 4주 동안 일일 마리당 5g씩 제한급여로 사육하였다. 해부 전 24시간 절식하여, 멸균주사기로 후대정맥으로부터 채혈하고, 간, 신장, 비장, 맹장의 무게를 측정하고, 혈액은 원심분리를 하여 혈청에서 glucose, 총콜레스테롤, HDL콜레스테롤, 중성지방, ALT, AST를 분석하고, 간에서는 총콜레스테롤, 총 지질 및 중성지방을 분석하였다.

-고지방식이에 각각 고추분말과 발효고추분말을 첨가한 조제 사료를 급여하는 총 4주간의 실험기간 동안 변화된 체중과 사료 섭취량 및 식이효율을 측정된 결과를 <표 2>에 나타내었다.

<표 2> Body weight, food intake and food efficiency ratio of CON, HFD, NP and FP diet fed mouse for 4 weeks.

Items	Groups			
	CON	HFD	NP	FP
Initial body weight (g)	37.7±1.53 <sup>NS</sup>	38.3±1.53	37.3±1.15	36.0±3.00
Final body weight (g)	38.7±1.53 <sup>b</sup>	46.0±4.58 <sup>a</sup>	40.0±2.65 <sup>ab</sup>	43.7±4.51 <sup>ab</sup>
Body weight gain (g)	1.0±0.00 <sup>b</sup>	7.7±3.21 <sup>a</sup>	2.7±2.52 <sup>b</sup>	7.7±1.53 <sup>a</sup>
Total food intake (g)	90.7±2.25 <sup>a</sup>	92.6±4.06 <sup>a</sup>	77.7±4.84 <sup>b</sup>	95.6±0.66 <sup>a</sup>
FER (%)	1.1±0.13 <sup>b</sup>	8.2±3.30 <sup>a</sup>	3.3±3.06 <sup>b</sup>	8.0±1.55 <sup>a</sup>

체중에 따른 유의차가 ( $p>0.05$ ) 나타나지 않도록 군을 배치하여 4주간의 실험식이를 급여한 결과 HFD군이 CON군에 비해 고지방식이에 의한 유발된 것으로 보이는 20% 이상의 유의적인 체중 증가를 보였다 ( $p<0.05$ ). 증체량에 있어서는 HFD군과 FP군이 CON군과 NP군에 비해 유의적으로 ( $p<0.05$ ) 높게 나타났으며 NP군은 CON군과 유의적인 차이를 ( $p>0.05$ ) 보이지 않았다. 총 식이섭취량은 NP군이 다른 군들에 비해 유의적으로 ( $p<0.05$ ) 낮게 나타났는데 고추분말 특유의 매운 맛과 풍미에 의한 것으로 사료된다. 또한 FP군은 다른 모든 고지방식이 급여군에 비해 높은 식이섭취량을 보였는데 이는 발효고추분말이 발효과정을 통하여 고추분말의 매운 맛과 그 풍미가 저하되었기 때문인 것으로 생각된다.

#### 마. 장기 무게

각 군 간 실험식이의 급여에 따른 간, 비장 및 신장의 무게는 <표 3>에 나타내었다. NP군의 간 무게는 HFD군에 비해 약 16% 감소하였지만 군 간 유의적인 차이는 ( $p>0.05$ ) 나타나지 않았다. 비장과 신장의 무게에 있어서도 유의적인 변화 ( $p>0.05$ )가 나타나지 않았다.

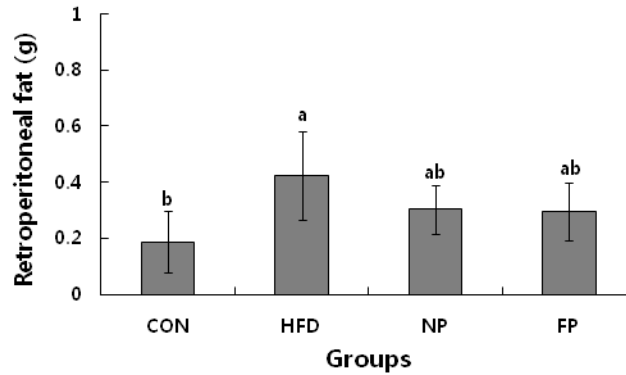
<표 3> Weights of liver, spleen and kidney of CON, HFD, NP and FP diet fed mouse for 4 weeks (g).

Items	Groups			
	CON	HFD	NP	FP
Liver	1.6±0.40 <sup>NS</sup>	1.5±0.15	1.3±0.03	1.5±0.11
Spleen	0.1±0.01 <sup>NS</sup>	0.1±0.01	0.1±0.01	0.1±0.01
Kidney	0.6±0.02 <sup>NS</sup>	0.6±0.05	0.5±0.01	0.6±0.03

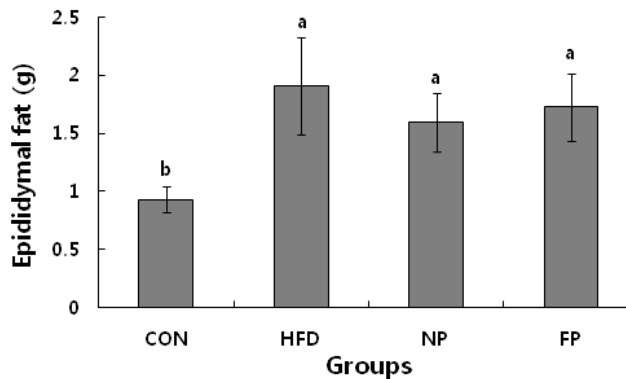
#### 바. 지방조직의 무게

적출한 신장주위지방과 부고환주위지방의 무게는 그림 4와 그림 5에 나타내었다. HFD군의 신장주위지방의 무게는 CON군에 비해 유의적으로 ( $p<0.05$ ) 높게 나타났으며 NP군과 FP군은 CON군과 HFD군과 비교하였을 때 모두 유의적인 ( $p>0.05$ ) 변화를 보이지 않았지만 HFD군에 비해 감소하는 경향을 보였다. 부고환주위지방의 경우 CON군을 제외한 모든 고지방식이 급여군이 CON군보다 유의적으로 ( $p<0.05$ ) 높은 무게를 보였으며 NP군과 FP군은 HFD군에 비해

감소하는 경향을 보였다.



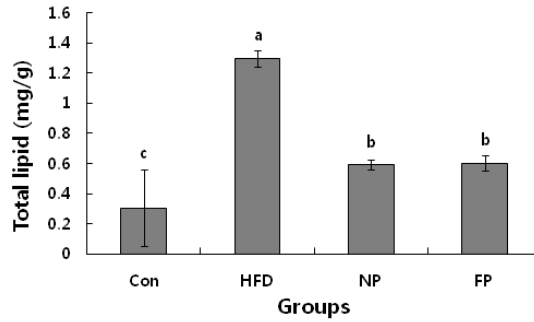
<그림 4> Retroperitoneal fat weights of CON, HFD, NP and FP diet fed mouse for 4 weeks (g).



<그림 5> Epididymal fat weights of CON, HFD, NP and FP diet fed mouse for 4 weeks (g).

사. 간장 내 총 지질 분석

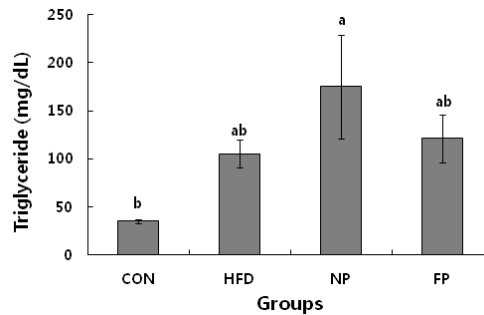
4주 동안 급여한 각 군 간 실험식이의 섭취에 따른 간장 내 총 지질 함량은 그림 6에 나타내었다. 간장 내 총 지질은 HFD군이 가장 높은 함량을 보였으며 NP군과 FP군은 HFD군에 비해 유의적으로 ( $p < 0.05$ ) 낮게 측정되었다. HFD군과 NP군 그리고 FP군은 CON군에 비해 모두 유의성 있게 ( $p < 0.05$ ) 높은 결과를 보였는데 이는 조제식이에 함유되어 있는 고지방성분으로 인한 것으로 사료된다.



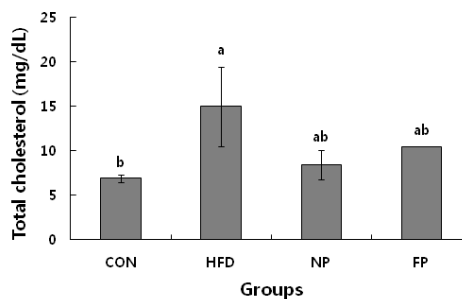
<그림 6> Amounts of total lipid in liver of CON, HFD, NP and FP diet fed mouse for 4 weeks (mg/g).

아. 간장 내 triglyceride 및 total cholesterol 분석

간장에서 분리한 triglyceride와 total cholesterol의 함량은 각각 그림 7과 그림8에 나타내었다. 간장 내 triglyceride와 total cholesterol은 총 지질과 마찬가지로 모든 고지방식이 급여군이 CON군보다 높은 함량을 나타내었다. CON군을 제외한 모든 고지방식이 급여군 간의 유의적인 차이는 ( $p>0.05$ ) 나타나지 않았지만 triglyceride는 NP군이 CON군에 비해 유의성 ( $p<0.05$ ) 있게 증가하였고 total cholesterol함량은 HFD군이 CON군에 비해 유의적으로 ( $p<0.05$ ) 높게 나타났다. 간장 내 total cholesterol의 경우 NP군과 FP군이 HFD군에 비해 감소하는 경향을 보였으나 유의적인 차이는 ( $p>0.05$ ) 나타나지 않았다.



<그림 7> Amounts of triglyceride in liver of CON, HFD, NP and FP diet fed mouse for 4 weeks (mg/dL).



<그림 8> Amounts of total cholesterol in liver of CON, HFD, NP and FP diet fed mouse for 4 weeks (mg/dL).

자. 혈청의 생화학적 분석

4주 동안 급여한 각 군 간 실험식이의 섭취에 따른 혈청 중 triglyceride, total cholesterol, HDL cholesterol 및 LDL cholesterol의 함량을 <표 4>에 나타내었다. 혈청 중 triglyceride는 CON군을 제외한 모든 고지방식이 급여군에서 유의적으로 ( $p < 0.05$ ) 증가하였고, NP군과 FP군의 혈청 triglyceride의 함량은 HFD군에 비해 감소하는 경향을 보였으나 유의차는 나타나지 않았다 ( $p > 0.05$ ).

혈청 중 total cholesterol 함량의 경우 FP군이 다른 군들에 비해 유의적으로 ( $p < 0.05$ ) 높은 함량을 보였으며 HDL cholesterol의 함량도 FP군이 CON군과 HFD군, 그리고 NP군에 비해 유의적으로 ( $p < 0.05$ ) 높은 함량을 나타내었다. LDL cholesterol은 CON군이 HFD군과 FP군에 비해 유의적으로 ( $p < 0.05$ ) 감소하였으며 CON군을 제외한 모든 고지방식이 급여군 간에는 유의적인 변화가 나타나지 않았다 ( $p > 0.05$ ). 위 결과를 종합하여 볼 때 FP군은 HFD군에 비해 혈청 중 HDL cholesterol이 유의적으로 ( $p < 0.05$ ) 증가한 것으로 보이고 triglyceride는 감소하는 경향을 보여 지질대사 개선에 효과가 있는 것으로 사료된다. 따라서 *Bacillus licheniformis* SK1230을 이용하여 발효한 발효고추분말이 체지방 축적을 억제하는 것으로 사료된다.

<표 4> Serum levels of triglyceride, total cholesterol, HDL cholesterol and LDL cholesterol of CON, HFD, NP and FP diet fed mouse for 4 weeks (mg/dL).

Items \ Groups	CON	HFD	NP	FP
Triglyceride	132.3±14.01 <sup>b</sup>	257.3±53.41 <sup>a</sup>	199.3±27.74 <sup>a</sup>	221.0±23.64 <sup>a</sup>
Total cholesterol	217.0±9.54 <sup>c</sup>	242.3±8.96 <sup>b</sup>	230.0±7.00 <sup>bc</sup>	290.3±15.50 <sup>a</sup>
HDL cholesterol	211.7±8.39 <sup>b</sup>	203.7±10.02 <sup>b</sup>	215.3±4.51 <sup>b</sup>	275.0±15.13 <sup>a</sup>
LDL cholesterol	31.8±3.70 <sup>b</sup>	50.5±13.86 <sup>a</sup>	46.1±1.89 <sup>ab</sup>	55.5±4.74 <sup>a</sup>

## 차. 발효 청고추즙 첨가 요구르트의 동물실험

### (1) 발효고추즙 및 yoghurt 제조

청양고추를 구매하여 흐르는 물로 수차례 세척하여 물기 및 꼭지를 제거한 다음 분쇄 후 여과포로 걸러 제조하였다. 2배 농도의 *Bacillus* 최소배지(BMM)에 고추즙을 첨가하여 BMM 성분이 최종적으로 1배가 되도록 제조하고 이를 50% 고추즙 배지로 하였다. 이 배지에 *Bacillus licheniformis* SK1230을 5% 접종하여 37°C의 shaking incubator에서 5일간 발효하여 -80°C 보관 후 발효 고추즙 요구르트의 제조 시 첨가하여 사용하였다. Yoghurt 제조는 이하(“4. 발효 고춧가루의 제조 및 이를 첨가한 yoghurt 생산”)에서 서술되는 방법으로 제조하였다.

### 2) 동물실험

6주령의 SD rat에 그림 1과 같이 5개 군으로 나누어 발효 청양 청고추를 첨가하여 제조한 요구르트의 항비만 및 콜레스테롤 감소효과에 대하여 동물실험을 실시하였다.

CON: 일반식이

HFCD: 고콜레스테롤 식이(45% kcal 고지방식이 + 고콜레스테롤)

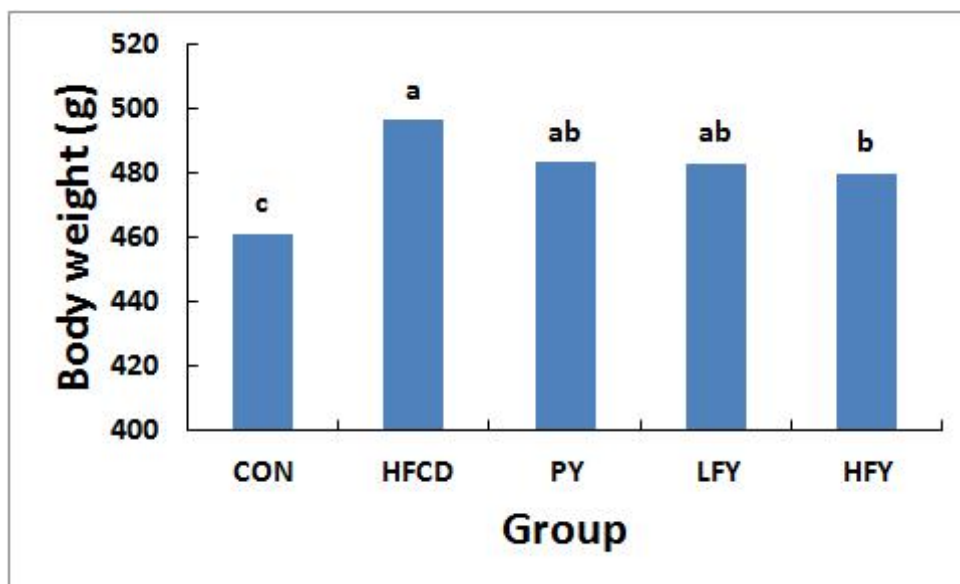
PY: HFCD

식이 + 2% 플레인 요구르트

LFY: HFCD 식이 + 2% 발효 고추 요구르트

HFY: HFCD 식이 + 5% 발효 고추 요구르트

급여 후 7일째의 체중의 변화에서 5% 발효 고추 요구르트가 고지방식이만을 먹인 처리구에 비교하여 유의성 있게 체중이 감소하였다( $p < 0.05$ ). 8주간의 조제사료의 급여 후, 24시간 절식시켜 해부하여 혈청에서 total cholesterol, HDL cholesterol, LDL cholesterol, glucose, triglyceride, 유리지방산, 담즙산, IgG를 측정하고, 간에서 total lipids, triglyceride, total cholesterol, HDL cholesterol, LDL cholesterol, AST, ALT 및 histology를 분석할 것이다.



<그림 9> Change of body weight by the diet supplemented with fermented green pepper yoghurt.



#### 4. 발효 고춧가루의 제조 및 이를 첨가한 yoghurt 생산

캡사이신 유도체들은 항비만과 항염증 효과를 가지는 것으로 보고되고 있다. 따라서 본 연구에서는 생물학적으로 분해된 맵지않는 캡사이신 유도체를 얻고자 본 연구팀의 특허등록 (10-0930291호) 균주인 캡사이신 분해균 *Bacillus licheniformis* SK1230을 이용하여 고춧가루를 발효시켰다.

가. *Bacillus licheniformis* SK1230 이용 발효 고춧가루 제조를 위한 조건 검토

(1) 청양고춧가루 농도 및 glucose가 *Bacillus licheniformis* SK1230의 성장에 미치는 효과

*Bacillus* 최소배지 <표 1>에 청양 고춧가루를 각각 0.3%, 1%, 3%로 첨가하여 37°C에서 3일 동안 발효시켰다. *Bacillus licheniformis* SK1230 균주는 고춧가루를 발효시키고 이때 분해되는 캡사이신 유도체들이 많이 생성되며 매운맛이 점차적으로 감소되었다. 고춧가루에 의한 *Bacillus licheniformis* SK1230 균주의 생존성 및 적정 고춧가루의 농도를 찾기 위하여 다음과 같은 실험을 실시하였다. 또 *Bacillus* 최소배지에 glucose를 첨가하여 균주의 초기 성장을 촉진 여부를 검토하고자 하였다.

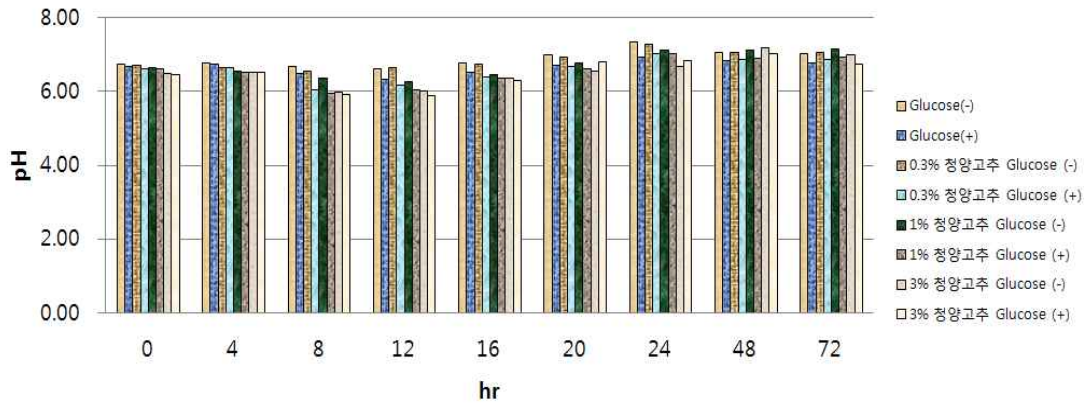
<표 1> Composition of *Bacillus* minimal medium

Ingredients	Amount, g
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	33.5
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	22.04
NaCl	8.56
NH <sub>4</sub> Cl	18.69
MgSO <sub>4</sub>	1.0
CaCl <sub>2</sub>	0.1
Glucose	10.0
Distilled water	1000 ml

Adjusted to pH 7.0

(가) pH에 미치는 영향

청양 고춧가루 농도가 증가할수록 그리고 glucose가 첨가되면 pH는 낮아졌다 (그림 1). 따라서 *Bacillus* 최소배지에서 청양고춧가루 농도의 증가와 glucose 첨가는 *Bacillus licheniformis* SK1230의 성장을 촉진시키는 것으로 판단된다.

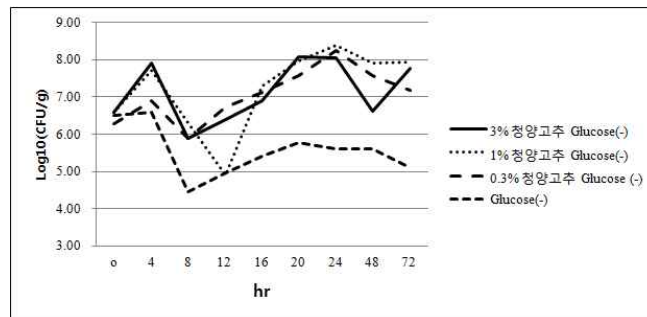


<그림 1> 청양고추가루 농도 및 glucose 첨가가 *Bacillus licheniformis* SK1230의 성장 중 pH에 미치는 효과

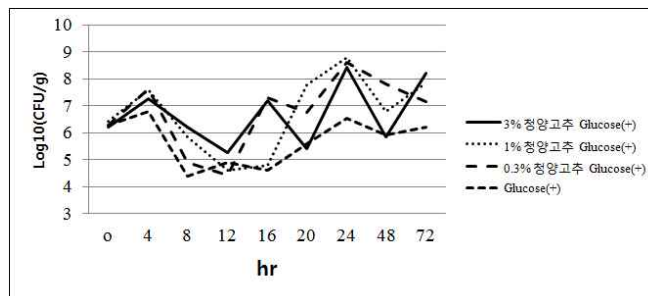
(나) 생균수 변화에 미치는 영향

<그림 2A>와 같이 glucose 첨가가 없을 때 고춧가루의 첨가는 *Bacillus licheniformis* SK1230의 균체성장을 촉진시키는 것으로 나타났다. Glucose만 첨가시 보다는 glucose에 고춧가루를 첨가하였을 경우 생균수는 보다 높은 것으로 나타나 고춧가루가 *Bacillus licheniformis* SK1230의 균체성장을 촉진시키는 것으로 나타났다 (그림 2B). 그러나 고춧가루의 첨가 농도에 따른 생균수 변화는 크게 나타나지 않았다.

(A) Glucose 무첨가



(B) Glucose 첨가



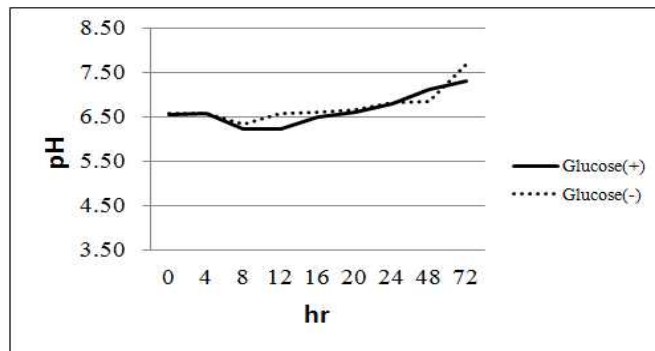
<그림 2> 청양고추 농도 및 glucose 첨가가 *Bacillus licheniformis* SK1230의 성장에 미치는 효과

(2) 3% 청양고추 사용시 *Bacillus licheniformis* SK1230의 성장

상기의 실험에서 최종 3% 고춧가루의 첨가에서도 *Bacillus licheniformis* SK1230의 성장이 좋았으므로 pH와 생균수를 다시 한번 3반복으로 측정하였다.

(가) pH변화

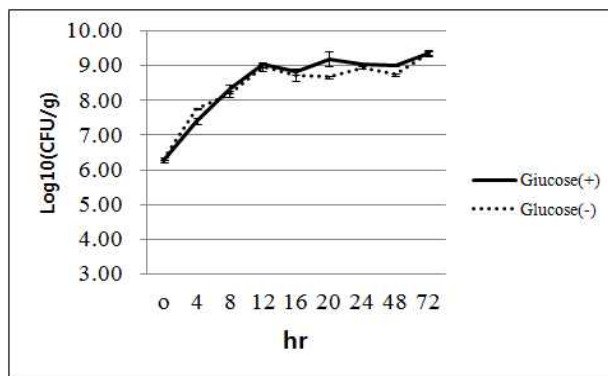
pH는 시간이 지날수록 pH6.2에서 pH7.5 가까이로 증가하였다 (그림 3). Glucose의 첨가 유무는 pH에 크게 영향을 미치지 않는 듯하였다.



<그림 3> 3% 청양 고춧가루 사용시 *Bacillus licheniformis* SK1230의 성장 중 pH에 미치는 효과

(나) *Bacillus licheniformis* SK1230의 생균수의 변화

*Bacillus licheniformis* SK1230균주는 배양 12시간까지 대수적으로 증가하여 그 이후부터는 정체기를 가지면서 배양 3일 동안 계속 그 숫자가 유지되는 경향을 보였다 (그림 4). Glucose를 첨가하면 성장이 조금은 촉진되는 것으로 보였으나 크게 변하지는 않았다.

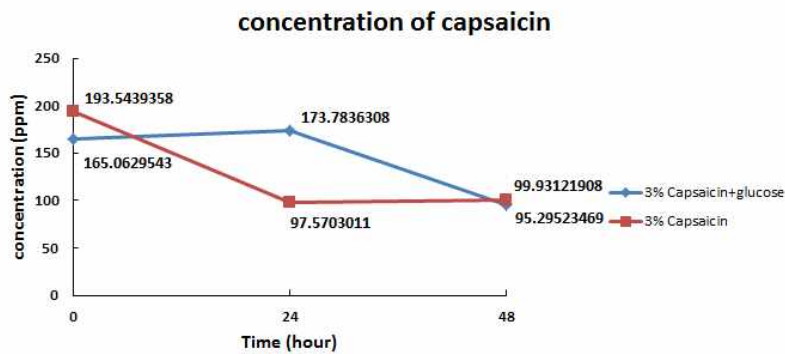


<그림 4> 3% 청양 고춧가루 사용시 *Bacillus licheniformis* SK1230의 균체 성장에 미치는 효과

*Bacillus licheniformis* SK1230 균주를 이용하여 발효 고춧가루 제조를 위한 조건 검토 결과, *Bacillus* 최소배지에 청양 고춧가루를 최종 3%로 첨가가 가능하고 37°C에서 2일 동안 발효시키면 매운맛이 감소되는 것으로 보아 캡사이신 유도체들이 생성되는 것으로 판단된다.

(다) 3% 청양 고춧가루 첨가시 배양시간별에 따른 캡사이신 농도 감소 측정

3% 청양 고춧가루를 첨가한 배양액 샘플 7 ml을 각각 동결건조 한 시료 0.5 g에 methanol: acetic acid (9:1) 용액 25 ml과 혼합을 한 후 4 hr 동안 방치를 하였다. 이것을 여과지로 여과 한 후 evaporator로 진공농축 후 10 ml의 methanol로 희석하였고 시린지 필터로 여과 후 10  $\mu$ l를 HPLC로 분석을 하였다. <그림 5>에서 보는 것과 같이 배양 2일째에는 캡사이신 농도가 glucose 무첨가시 193 ppm에서 약 100 ppm으로, glucose 첨가시는 165 ppm에서 95 ppm으로 각각 52%, 58%씩 감소하였다. 이는 *Bacillus licheniformis* SK1230 균주가 고춧가루 내 캡사이신을 분해하여 영양소로 이용하기 때문이며 이때 맵지 않음에서도 기능성을 가진 캡사이신 유도체들이 생산된다고 판단된다.



<그림 5> 3% 청양 고춧가루를 첨가 시 배양시간별에 따른 캡사이신 농도 측정

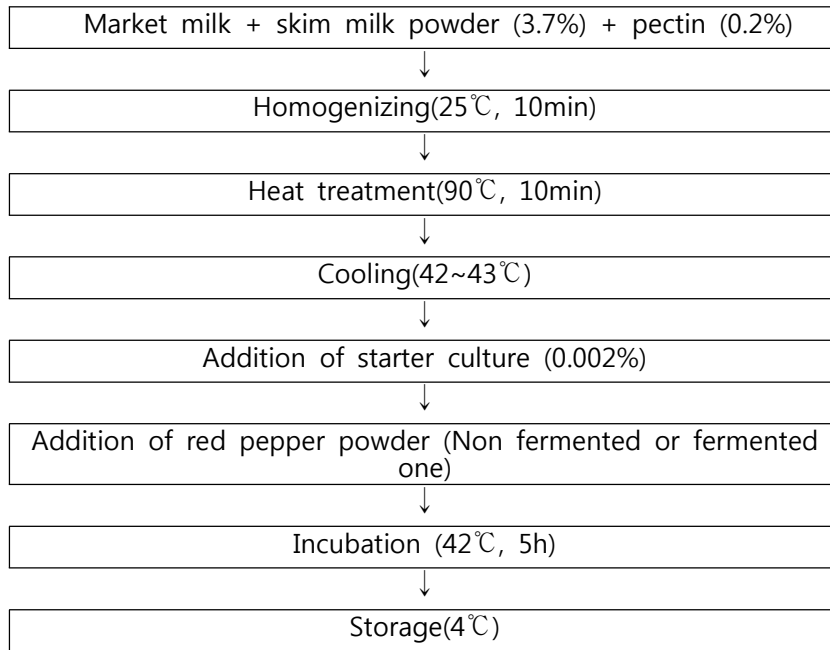
나. 청양 고춧가루 첨가 yoghurt 제조

(1) 캡사이신 분해 미생물을 이용한 고춧가루 발효액 제조

*Bacillus licheniformis* SK1230를 LB broth에 접종하여 37°C shaking incubator에서 24시간 동안 배양하였다. 배양된 *Bacillus licheniformis*를 Bacillus minimal media에 최종 1%로 접종하고 37°C에서 24시간 배양하였다. 새로운 Bacillus minimal media에 곱게 분쇄된 고춧가루를 최종 3%로 첨가하고 Autoclave에서 90°C, 10분간 멸균한 뒤 *Bacillus licheniformis*를 1% 접종한 뒤 37°C에서 48시간 발효시켰다. 고춧가루는 청양 고추를 대형마트에서 구입하여 분쇄한 후에 동결건조된 분말을 첨가하였다.

(2) 캡사이신 yoghurt 제조

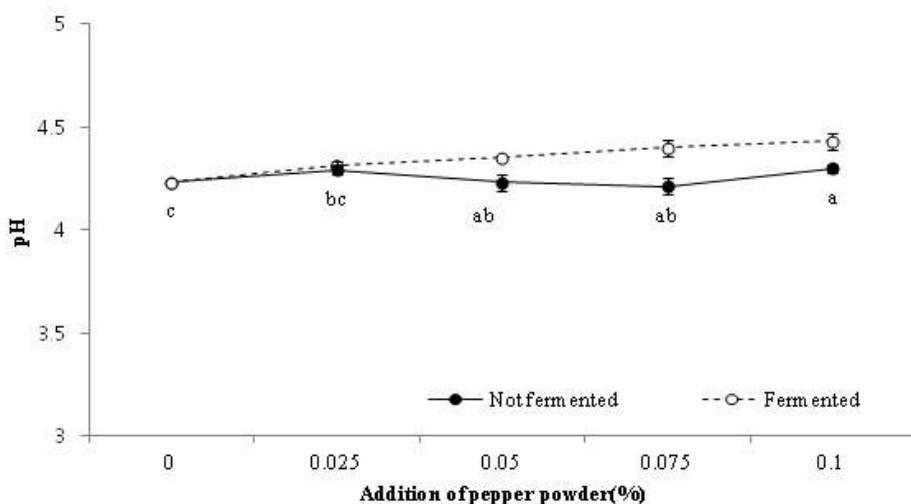
Yoghurt 제조공정은 <그림 6>와 같으며, 비발효 및 발효된 고춧가루를 65°C에서 30분 동안 저온살균한 후 0~0.1%를 각각 첨가하여 균질화한 후 균을 접종하였다. 사용된 starter 균주는 *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* ssp. bulgaricus, *Lactobacillus acidophilus* 및 *Bifidobacterium animalis* ssp. lacti가 포함되어 있다(Lyofast YAB 450 AB, Sacco srl., Codarago, Italy). pH가 4.5가 되는 시점에서 발효를 종료시켰으며 이 요구르트 시료를 4°C에서 24시간 저장한 후 pH, 생균수, 적정산도, 색도, 점도를 측정하고 또한 관능평가를 실시하였다.



<그림 6> Yoghurt 제조공정

(가) pH 변화

발효는 42°C에서 5시간 정도로 pH가 4.5가 되는 시점에서 발효를 종료시켰다. 발효가 끝난 요구르트 시료를 4°C에서 24시간 저장한 후 pH를 측정하였다. 비발효 고춧가루와 발효고춧가루 첨가에 따른 pH를 측정한 결과는 <그림 7>와 같다. 비발효 고춧가루 첨가량은 첨가량이 증가할수록 pH가 감소하다가 0.01%에서 4.3으로 증가하였고, 발효고춧가루 첨가량은 첨가량이 증가할수록 pH가 증가하는 경향을 보였다. 발효 고춧가루 첨가량의 증가에 비례하여 pH가 높아진 것은 고춧가루를 발효시킬 때 사용한 *B. licheniformis* SK1230의 영향으로 사료되었다. 국내에서 시판되고 있는 요구르트의 pH는 3.27~4.53라는 보고와 비교하여 볼 때 고춧가루 첨가 요구르트는 정상적인 제품의 pH 범위 내에 있었다.

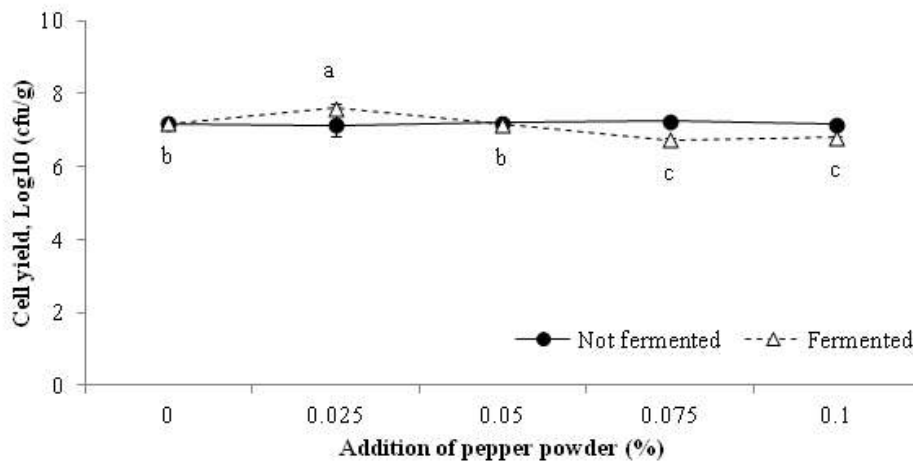


<그림 7> Changes in pH of pepper powder yogurt. <sup>a,b,c</sup> Means with different superscripts are

significantly different ( $p < 0.05$ ).

(나) 생균수 변화

요구르트 시료를 멸균 식염수 (0.8% NaCl)에 십진 희석하여 MRS agar(Difco Laboratories, Detroit, MI, USA)에서 37°C에서 48시간 배양하여 형성된 colony를 계측하여 CFU(colony forming unit)/ml로 나타내었다. 측정은 3회 반복 실험을 하여 평균값을 나타내었다. 발효과정 중 젖산균수의 경시적인 변화는 <그림 8>과 같다. 비발효 고춧가루의 첨가, 발효 고춧가루의 첨가 함량에 따른 일관된 변화 양상이 관찰되지 않았으며 이는 고춧가루가 젖산균을 발효시키는데 영향을 미치지 않기 때문이라고 사료된다. 비발효 고춧가루 첨가시에는 유산균수의 변화가 두드러지지 않는 반면 발효 고춧가루 첨가시에는 유산균수가 감소하였다. 이는 고춧가루를 발효시킬 때 사용된 *B. licheniformis* SK1230의 영향으로 추측된다.



<그림 8> Changes in viable cell count of pepper powder yogurt. <sup>a,b,c</sup> Means with different superscripts are significantly different ( $p < 0.05$ ).

(다) 적정산도의 변화

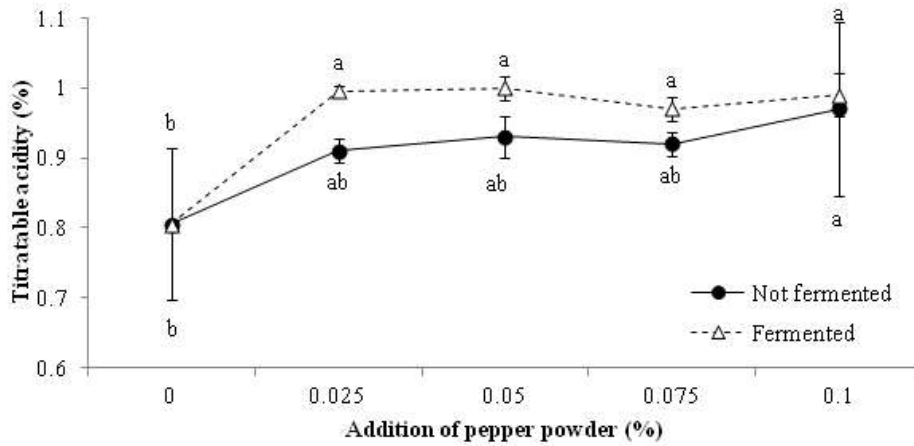
적정산도는 4°C에서 24시간 저장된 요구르트 시료 3g에 멸균된 증류수 27 ml를 가하여 혼합한 다음 여기에 지시약으로 0.1% phenophtalein 용액을 3~4방울씩 첨가하여 분홍색이 나타날 때까지 중화 적정하여 소비된 0.1N NaOH의 ml를 다음 식을 이용하여 lactic acid(%)로 환산하였다.

$$\text{Lactic acid(\%)} = [ 0.1\text{N NaOH의 적정 ml수} \times f \times 0.009 ] / \text{시료의 양(g)}$$

$$F : 0.1\text{N NaOH의 역가 (1.000} \pm 0.005)$$

고춧가루 첨가 요구르트의 발효과정중 적정산도의 변화는 <그림 9>과 같다. 비발효 고춧가루 첨가 요구르트의 적정산도는 점차 증가하는 추세를 보이며 발효 고춧가루의 적정산도는 점차 감소하는 추세를 보였다. 이는 비발효 고춧가루만 첨가한 요구르트는 유산균에 영향을 주지 않고 또 스타터로 사용한 혼합균주로 인해 산생성이 증가된 것으로 사료되며 발효 고춧가루를 첨가한 요구르트는 고춧가루를 발효시킬 때 사용된 *B. licheniformis* SK1230이 유산균의 산 생

성력(혹은 생존)에 영향을 주어 적정산도를 감소시킨 것으로 사료되었다. 국내에서 시판되고 있는 요구르트의 적정산도는 0.97~1.40%라는 보고와 비교하여 볼 때 고춧가루 첨가 요구르트의 적정산도는 0.8~0.99%로 비슷하게 나타났다.



<그림 9> Changes in titratable acidity of pepper powder yogurt. <sup>a,b,c</sup> Means with different superscripts are significantly different ( $p < 0.05$ ).

(라) 색도 변화

색도는 4°C에서 24시간 저장된 요구르트 시료를 색도계 (MINOLTA CHPOMA METER CR-210)를 사용하여 밝은 정도를 나타내는 L-value(lightness), 붉은색 정도를 나타내는 a-value(redness), 노란색 정도를 나타내는 b-value(yellowness)를 처리군 별로 3회 반복으로 측정하였다. 이때 사용한 표준 백색판(standard plate)의 L, a, b값은 각각 97.83, -0.45, 2.00이었다.

비발효 고춧가루를 첨가한 요구르트는 고춧가루 첨가량이 증가할수록 노란색 정도를 나타내는 b-value가 증가하는 경향을 보였고, 명도를 나타내는 L-value는 대조구에 비해 낮은 값을 나타내었다 (표 2). 발효 고춧가루를 첨가한 요구르트의 색도의 b-value도 비발효 고춧가루를 첨가한 요구르트와 같이 첨가량이 많아질수록 증가하는 경향을 보였다 (표 3).

<표 2> 비발효 고춧가루 첨가 요구르트의 색도 변화

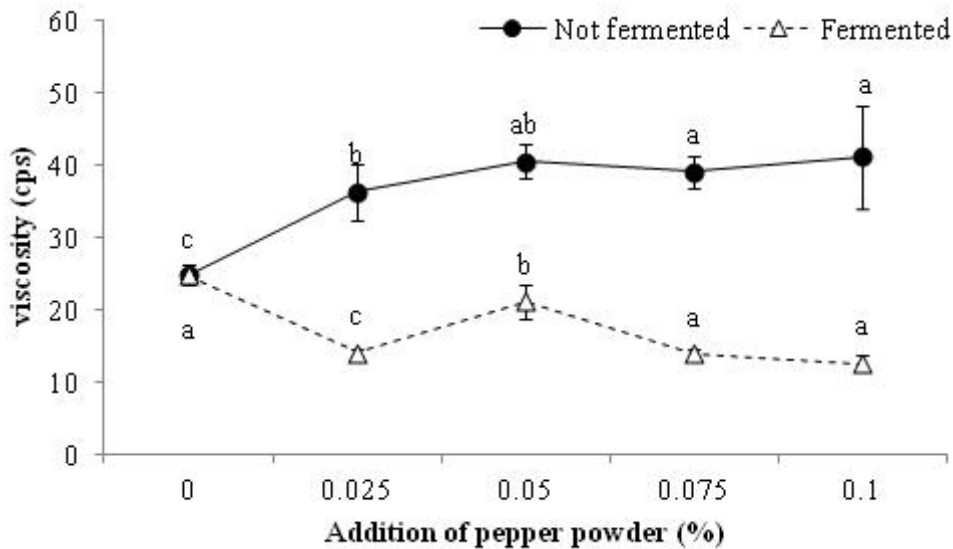
	Addition of red pepper powder (%)				
	0	0.025	0.05	0.075	0.1
L	88.38±0.92	84.87±0.93	87.87±0.52	86.77±0.75	85.58±0.76
a	-3.12±0.19	-2.59±0.34	-3.48±0.15	-3.57±0.20	-3.79±0.19
b	7.64±1.20	6.22±0.75	8.26±0.61	8.63±0.91	8.86±0.66

<표 3> 발효 고춧가루 첨가 요구르트의 색도 변화

	Addition of red pepper powder (%)				
	0	0.025	0.05	0.075	0.1
L	88.38±0.92	84.83±0.44	85.80±0.70	84.40±0.49	86.27±0.27
a	-3.12±0.19	-2.46±0.13	-3.16±0.21	-3.06±0.15	-4.02±0.05
b	7.64±1.20	5.23±0.26	7.19±0.66	7.39±0.40	10.28±0.27

(마) 점도 및 물리적 특성변화

점도측정은 4°C에서 24시간 저장된 요구르트 시료를 Brookfield-Viscometer (Model LVDV I+, Version 3.0, Stongton, MA, USA), Spindle No.3을 사용하여 100 rpm에서 5~8분까지 1분 간격으로 점도를 측정하여 평균치로 나타내었다 (그림 10). 비발효 고춧가루 첨가량이 증가할수록 요구르트의 점도도 증가하였으며, 무첨가군에 비해 높은 점도를 나타낸다. 발효 고춧가루를 첨가한 요구르트는 무첨가군과 고춧가루 첨가 군에 비해 낮은 점도를 나타냈으며, 0.05% 첨가구를 제외하고 첨가량이 많아질수록 감소하는 경향을 나타내었다. 요구르트의 점도는 요구르트 혼합액의 총고형분 함량, 단백질의 가수분해 정도, 사용균주의 slime 생산능력, 산 생성력 등 다양한 요인에 의하여 영향을 받는 것으로 보고되고 있다. 한편 고춧가루 첨가에 의한 유분리 및 응집성 등의 물리적 특성에 미치는 영향은 없는 것으로 나타났다.



<그림 10> Changes in viscosity of pepper powder yogurt. <sup>a,b,c</sup> Means with different superscripts are significantly different ( $p < 0.05$ ).

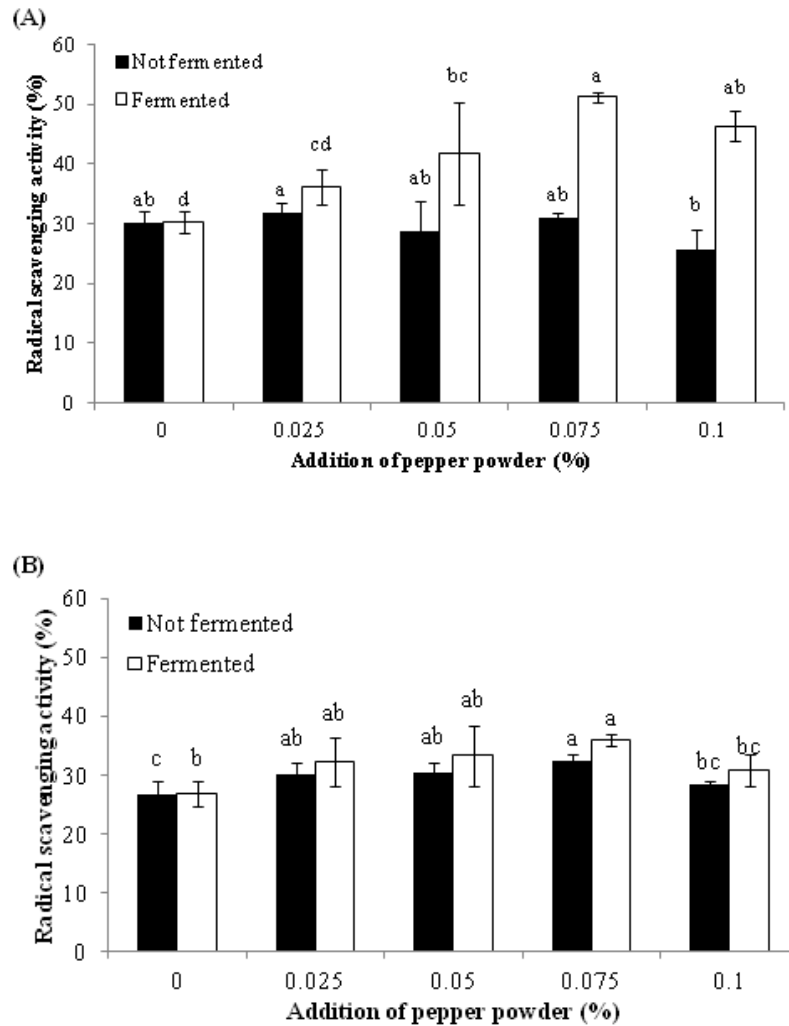
(바) 항산화 활성

요구르트 시료를 메탄올에 10배 희석하여 그 상등액을 0.15 mM DPPH용액과 4:1로 혼합하여 30분 동안 반응시킨 다음 517 nm에서 흡광도를 측정하여 다음과 같이 계산하였다.

$$\text{Radical Scavenging activity(\%)} = \left( 1 - \frac{\text{시료첨가군의흡광도}}{\text{시료무첨가군의흡광도}} \right) \times 100$$



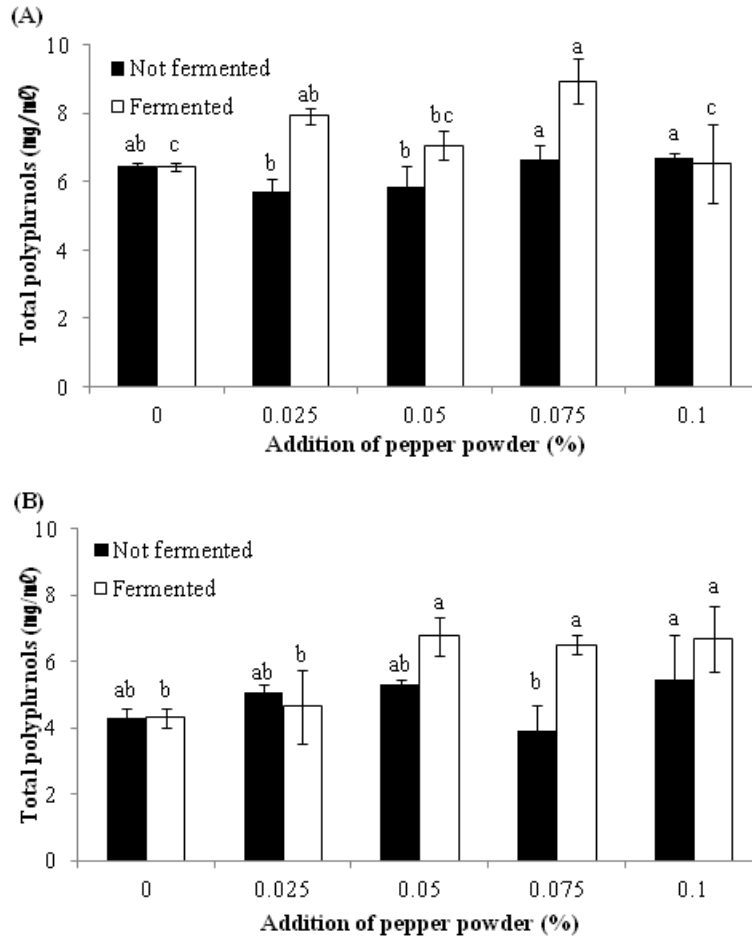
<그림 11A>와 같이 요구르트를 물로 추출한 샘플의 경우 비발효 고춧가루의 항산화 활성은 첨가 고추농도의 증가에 따라 크게 변화가 관찰되지 않았으나, 발효 고춧가루의 경우는 비발효 시보다 항산화 활성의 증가를 보였다. 메탄올 추출물의 경우도 발효 고춧가루 첨가시가 비발효 보다도 항산화 활성이 약간 증가하는 경향을 보였다 <그림 11B>.



<그림 11> Fig. 5. Effect of pepper powder concentration on DPPH radical scavenging activity of yogurt. (A) Water extract, (B)Methanol extract.

(사) 폴리페놀 함량

요구르트 시료 100  $\mu$ l와 F-C phenol reagent 2N 용액 1 ml을 혼합한 뒤, 상온에서 3분간 반응시켰다. 반응이 완료된 혼합액에 1N Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 용액 300  $\mu$ l을 첨가하고 다시 90분간 상온에서 반응 시켰다. 반응이 완료된 혼합액에 증류수 2 ml을 첨가한 후에 분광광도계를 사용하여 725 nm에서 흡광도를 측정하였다. 폴리페놀의 표준물질로는 gallic acid을 사용하였다. 발효 고춧가루 요구르트의 폴리페놀 함량이 비발효 고춧가루 요구르트의 폴리페놀 함량보다 더 높았다 <그림 12>.



<그림 12> Total polyphenol contents of yogurt added with pepper powder. (A) Water extract, (B)Methanol extract.

(아) 관능평가

4°C에서 24시간 저장된 요구르트 시료의 관능적 특성인 taste, flavor, appearance, hot taste, overall acceptability를 실시하였다. 관능검사는 훈련된 관능검사 요원 10명을 선발하여 임하였다. 관능적 특성의 강도 평가는 5점법으로 실시하였으며, 매우 좋음(5), 좋음 (4), 보통(3), 나쁨 (2), 매우 나쁨(1)으로 평가하였다. 매운맛 특성은 매우 강할수록 5점, 매우 약할수록 1점을 표시하도록 하였다. 각 시료마다 무작위로 조합된 3자리 숫자가 주어졌으며, 동일한 요구르트 시료를 일회용 컵에 담아 제시하였다. 비발효 고춧가루 첨가 요구르트와 발효 고춧가루 첨가 요구르트를 나누어 실시하였으며 이를 2번 반복하였다.

○ 비발효 고춧가루 첨가 요구르트의 관능적 특성

요구르트의 대한 선호도는 대조구가 가장 높았고, 고춧가루 첨가량이 증가할수록 선호도는 낮아지는 것을 확인 하였다. 이것은 매운맛에 기인한 것으로 사료되며 고춧가루 첨가 요구르트 중에서 0.025% 고춧가루 첨가구가 가장 높은 선호도를 나타내었다 (표 4).

<표 4> Sensory characteristics of non fermented pepper powder yogurt

Attributes	Addition of red pepper powder (%)				
	0	0.025	0.05	0.075	0.1
Taste	2.91±1.21	2.70±1.04	2.91±1.28	2.26±1.19	2.26±1.11
Flavor	3.39±1.05	2.87±0.95	3.26±1.19	2.61±0.92	2.52±1.21
Color	3.57±1.17	3.22±0.98	3.30±0.95	2.78±0.88	2.83±0.96
Hot taste	1.22±0.51	2.39±1.05	2.96±1.00	3.22±1.02	3.83±1.01
Overall acceptability	3.13±1.12	2.91±1.06	2.83±1.13	2.13±1.03	2.09±0.97

○ 발효고춧가루 첨가 요구르트의 관능적 특성

발효고춧가루 첨가 요구르트도 대조구가 제일 높은 선호도를 보였으며 0.05, 0.025, 0.075 0.1 순이다. 비발효 고춧가루 첨가 요구르트에 비해 발효 고춧가루 첨가 요구르트는 매운맛이 감소하여 비발효 고춧가루 첨가 요구르트의 선호도는 0.025%첨가구가 높은 반면 발효 고춧가루 첨가 요구르트의 선호도는 0.05%가 높게 나타나났다 (표 5).

<표 5> Sensory characteristics of fermented pepper powder yogurt

Attributes	Addition of red pepper powder (%)				
	0	0.025	0.05	0.075	0.1
Taste	3.45±1.08	3.14±0.83	3.24±1.11	2.71±1.03	2.43±0.73
Flavor	3.64±1.07	3.29±1.03	3.14±1.08	2.67±0.94	2.52±0.73
Color	3.91±1.24	3.52±1.01	3.10±0.61	2.86±0.83	2.71±0.82
Hot taste	1.27±0.62	1.71±0.76	2.38±1.05	3.10±0.97	3.38±1.09
Overall acceptability	3.55±1.16	3.05±1.05	3.33±0.78	2.57±0.95	2.43±1.00

관능평가 결과를 종합하면 비발효 고춧가루 Yoghurt 제조시 최종 0.025%를 첨가하는 것이 좋았다. 발효 고춧가루 Yoghurt 제조시는 최종 0.05% 정도 첨가하는 것이 매운 맛을 느끼지 않는 가운데 기능성을 부여하는 농도로 판단되었다.

## 5. 발효 고추즙의 제조 및 이를 첨가한 yoghurt 생산

상기에서 고춧가루 발효 후 Capsaicin 분해를 측정하였을 때 그 속도가 비교적 느린 편이어서 발효시간을 단축하고자 고추즙을 발효한 후 이를 첨가하여 yoghurt를 제조하였다. 고추즙은 착즙을 통하여 제조하였으며, 즉 청양고추를 흐르는 물에 수차례 세척한 후 티슈로 물기를 완전히 제거하였고, 녹즙기(대성 헬스믹 DA5000)를 사용하여 착즙하였다. 착즙액은 -70℃ deep freezer에 저장하여 사용 하였다. 본 연구에서 발효 고추즙 함유 요구르트는 50% 고추즙 배지에서 *Bacillus licheniformis* SK1230를 5% 접종하여 5일 발효시켜 얻은 고추즙을 멸균하여 제조하였다. 요구르트 발효에 사용된 유산균 starter (Lyofast YAB 450 AB,Sacco srl., Codarago, Italy)는 *Streptococcus thermophilus*와 *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium animalis* ssp. *lacti*로 구성되었다.

가. *Bacillus licheniformis* SK1230을 이용한 고추즙 발효 특성

(1) 고추즙 발효시 pH 변화

본 실험에서는 청양고추인 홍고추와 청고추를 각각 *B. licheniformis* SK1230균주를 이용하여 발효시켰다. 50% 고추즙 배지에 *B. licheniformis* SK1230을 5% 접종하여 19일간 발효시켜 pH 변화를 관찰한 결과는 Fig. 1과 같다. 발효 0일차에서 15일차까지 발효액의 pH는 6.08에서 9.25로 서서히 증가하다가 발효 19일차에서 pH 8.9로 약간 감소하였다. Lee 등(2010)은 *Bacillus subtilis* P3-3을 이용하여 고추를 발효 하였을 때, 시간에 따라 pH가 증가하는 것으로 보고하였고, 본 실험의 결과와도 일치하였다. *Bacillus* 균주를 이용한 발효에 있어 발효 후반부에 pH가 상승하는 이유는 *Bacillus*의 대사산물로서 암모니아가 생성되고, 생성된 암모니아가 발효액의 pH를 상승시키는 것으로 알려져 있다 (Lee et al., 1999).

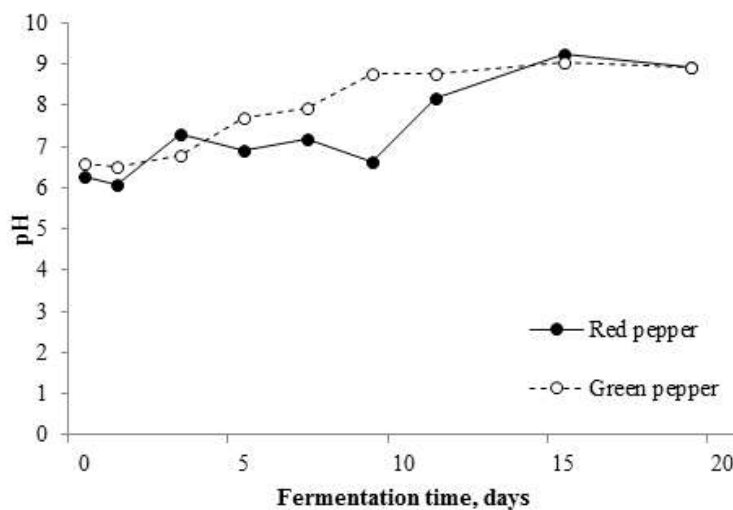


Fig. 1. pH change during the fermentation of pepper juice using *B. licheniformis* SK1230. Fill and empty circles mean red and green pepper juices, respectively.

(2) 생균수 측정

*B. licheniformis* SK1230을 5% 접종하여 19일간 고추즙을 발효시키는 동안 *B. licheniformis* SK1230의 균수 변화를 조사하였고, 얻어진 결과들을 Log10 상용로그 값으로 나타내었다(Fig. 2). 발효 0일차의 홍고추와 청고추의 초기 균수들은 각각 6.32 Log10(CFU/g)와 6.88 Log10(CFU/g)이었고 발효 1일차부터 8.59Log10(CFU/g), 8.84Log10(CFU/g)에서 발효 19일차에는 9.36 Log10(CFU/g), 9.19Log10(CFU/g)으로 높은 균수를 유지 하였다. Lee (2010)의 연구에서는 *B. subtilis* P3-3을 고추에 접종하여 48시간 발효 하였을 때 최대 균수가  $10^8$ 이었고, 그 이후로는 감소하는 경향을 나타내었다. 본 실험에서는 발효 3일까지는  $10^8$ 의 균수를 유지하였고 5일 이후에는  $10^9$ 으로 매우 높은 균수를 유지할 수 있었다. 홍고추와 청고추즙이 *B. licheniformis* SK1230의 성장을 방해하지 않는 것으로 판단되었다.

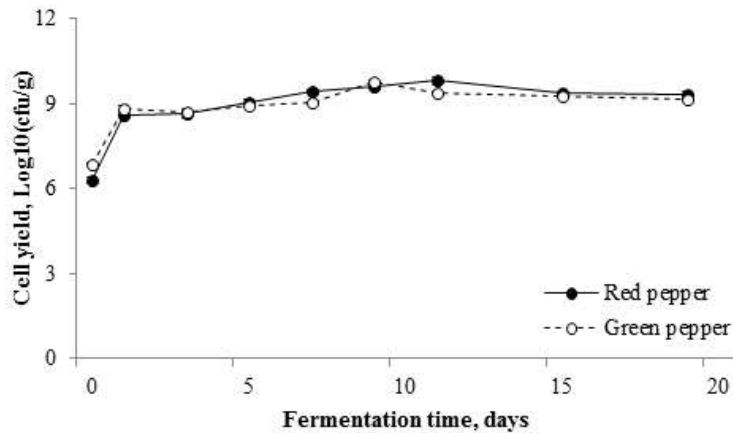


Fig. 2. Cell yields during the fermentation of pepper juice by *B. licheniformis* SK1230. Fill and empty circle mean red and green pepper juices, respectively.

### (3) 항산화 활성 및 총 폴리페놀 함량

발효 기간 중의 발효액의 항산화 활성의 변화는 Fig. 3에서 보는 것과 같다. 발효 전 기간 동안 청고추즙을 이용한 발효액보다 홍고추즙을 이용한 발효액에서 더 높은 항산화 활성을 나타내었다. 그러나 고추즙의 종류와 관계없이 발효기간이 지속될수록 항산화 활성은 감소하는 결과를 나타내었다. 사용된 고추즙의 종류에 따라서 발효기간 동안 항산화 활성이 감소하는 형태는 유의적으로 다르게 나타났다( $p < 0.05$ ).

50% 고추즙 배지에 *B. licheniformis* SK1230을 5% 접종하여 19일간 발효시켜 총 폴리페놀 함량 변화를 관찰한 결과는 Fig. 4와 같다. 발효기간 동안 총 폴리페놀 함량은 홍고추즙 배지에서 201.06~216.83 mg/ml(garlic acid, equivalent), 청고추즙 배지에서 87.46~113.94 mg/ml로 일정한 수준을 유지하였고 청고추즙 배지 보다 홍고추즙 배지에 총 폴리페놀 함량이 더 높게 나타났다.

*Bacillus subtilis* P3-3을 고추에 접종하여 capsaicin을 분해시킨 Lee(2010)연구에서 발효 0시간에서의 총 폴리페놀 함량이 0.439mg/ml이라고 보고하였고 농촌진흥청(2009) 자료에 따르면 홍고추(생것)에는 2.22 mg/ml, 청고추(생것)에는 1.78 mg/ml이 함유되어있다고 보고하였다. 이에 비해 본 실험에서 측정된 폴리페놀 함량은 100배 정도 높게 측정되었다. 이는 총 폴리페놀 함량 측정에 있어 실험방법이 다르기 때문이라고 사료된다.

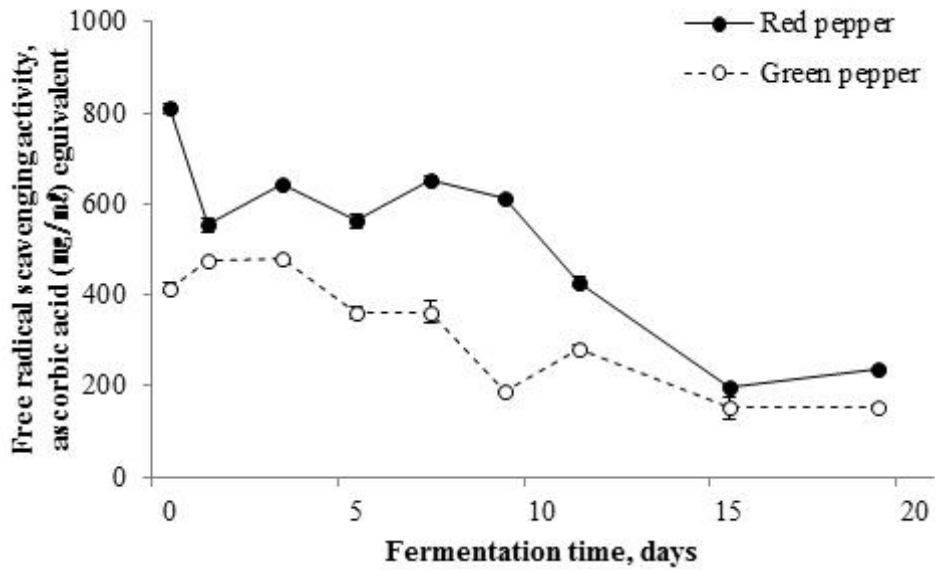


Fig. 3. Antioxidant activity during the fermentation of pepper juice by *B. licheniformis*. Fill and empty circle mean red and green pepper juices, respectively.

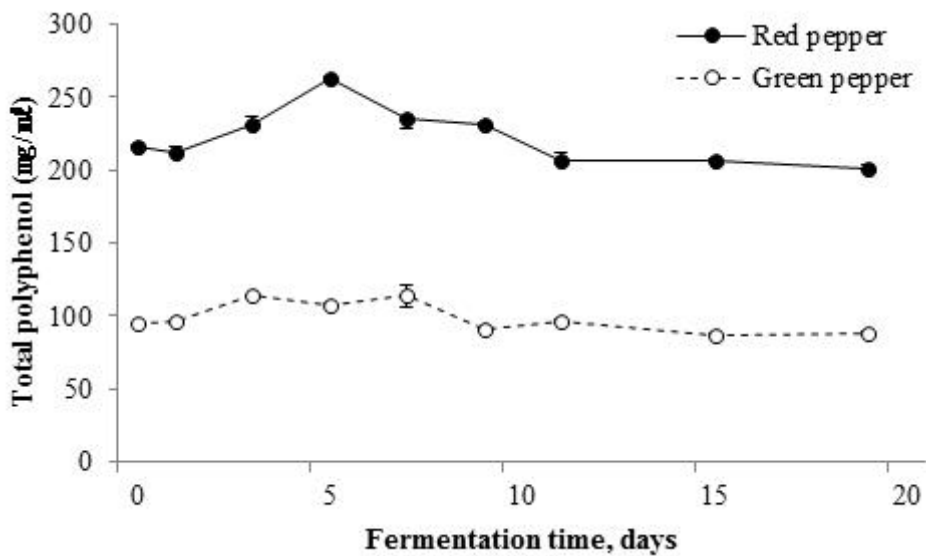


Fig. 4. Total polyphenol content profiles during the fermentation of pepper juice by *B. licheniformis* SK1230. Fill and empty circle mean red and green pepper juices, respectively.

#### (4) 환원당 함량 측정

발효 기간 중에 환원당 함량 변화의 변화를 조사하였다(Fig. 5). 발효 0차에서 5일차까지 99.29, 93.20 mg/ml에서 23.29, 5.23 mg/ml까지 급격하게 감소를 하였다. 발효 7일차부터 19일까지 오히려

추즙 배지에 경우는 15.19 mg/ml에서 5.08 mg/ml로, 청고추즙 배지에 경우 4.38 mg/ml에서 2.45 mg/ml로 매우 낮게 측정되었다. 이는 발효하는 동안 *B. licheniformis* SK1230이 성장하면서 환원당을 적극적으로 이용하기 때문인 것으로 사료된다. 전반적으로 *B. licheniformis* SK1230의 환원당의 이용성은 청고추즙 첨가가 높은 것으로 나타났다.

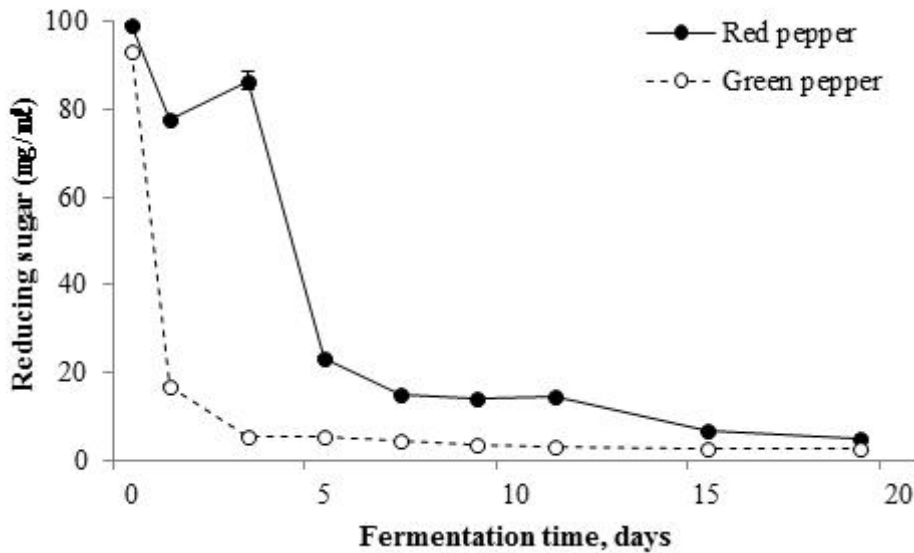


Fig. 5. Reduced sugar during the fermentation of pepper juice by *B. licheniformis* SK1230. Fill and empty circle mean red and green pepper juices, respectively.

#### (5) Capsaicinoid 함량 분석

Bacillus minimal medium(BMM)과 고추즙을 1:1로 희석한 것을 발효 시키면서 0, 1, 3, 5, 7, 9, 11, 15, 19일 간격으로 sampling하여 동결 건조한 분말 1g당 capsaicin과 dihydrocapsaicin의 함량을 HPLC로 정량하여 ppm으로 나타내었다(Fig. 6). 발효 시간이 지남에 따라 capsaicin과 dihydrocapsaicin의 함량이 감소하였다. 홍고추즙 배지의 경우 발효 0일에서 5일까지 capsaicin과 dihydrocapsaicin이 급격하게 감소하였으며 7일차부터 19일차까지 capsaicin은 최대 341.98 ppm에서 최소 71.03 ppm 정도를 유지하였고 dihydrocapsaicin은 검출되지 않았다. 청고추즙 배지는 5일 까지 급격하게 감소하고 7 일차 에서는 capsaicin과 dihydrocapsaicin이 검출되지 않았다. 이와 같은 결과는 Lee(2010)의 연구와 유사하며, 환원당 함량과 capsaicinoid 함량에 변화가 유사한 이유는 발효에 사용된 *B. subtilis* P3-3가 capsaicin과 환원당을 동시에 사용한다고 보고하였다.

그 외의 고추를 발효한 실험으로는 고추와 dextrin을 첨가하여 별도의 접종 없이 30℃에서 90일간 발효하였을 때 초기 24.7g/ml, 14.7g/ml이던 capsaicin과 dihydrocapsaicin 함량이 발효 90일차 에서는 각각 15.5, 6.45 g/ml으로 감소하였다고 보고하였다(Suh et al., 2002).

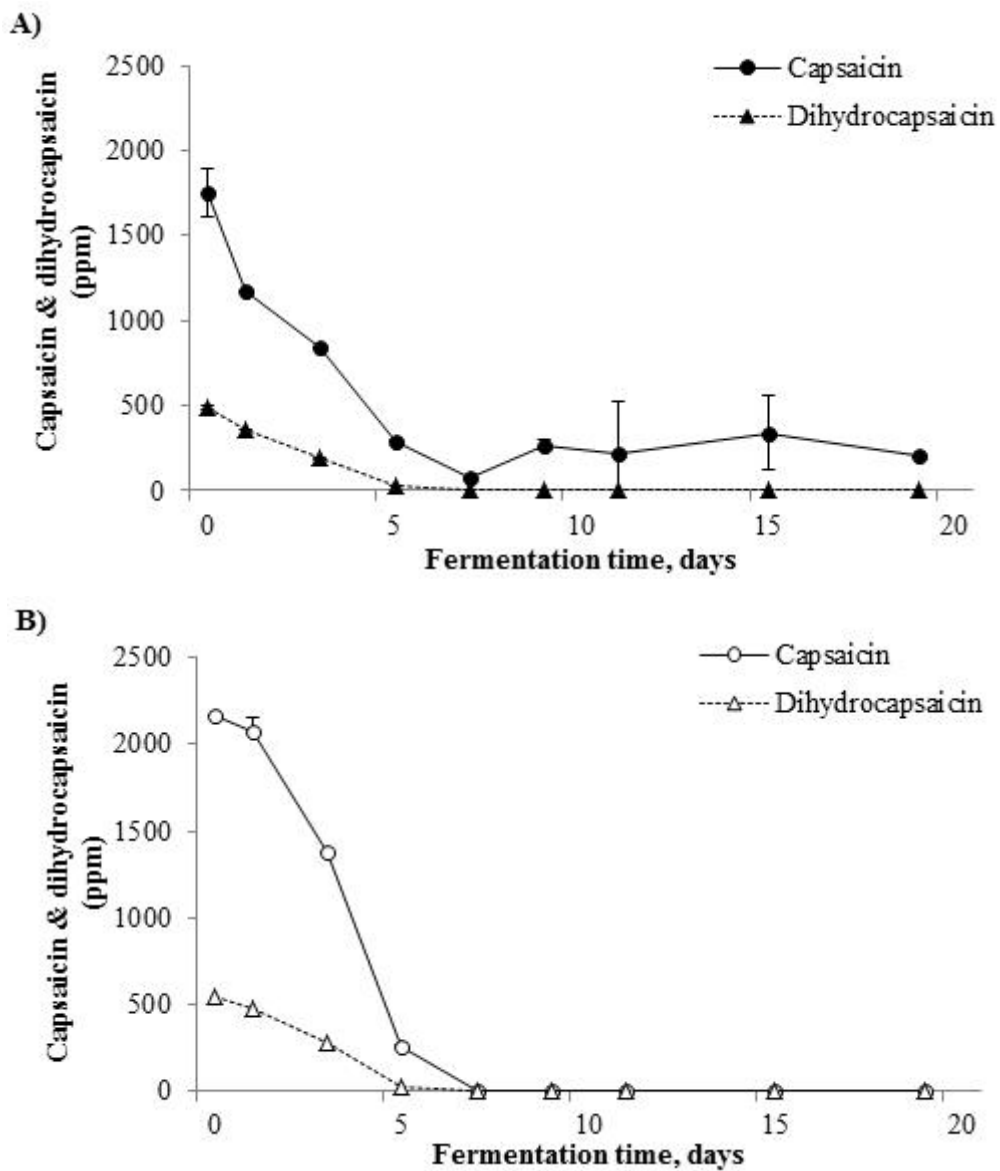


Fig. 6. Capsaicinoid contents during the fermentation by *B. licheniformis* SK1230 in red (A) and green (B) pepper juices. Cycle and triangle mean capsaicin and dihydrocapsaicin, respectively



## 나. 발효 고추즙 첨가량 별 요구르트의 품질특성

### (1) 일반성분 분석

발효 고추즙을 0%, 1%, 3% 그리고 5% 첨가한 요구르트의 일반성분 분석 결과는 Table 2에서와 같다. 본 실험에서 제조한 대조구 요구르트의 일반성분 분석 결과 수분은 82.73~82.84%, 단백질 3.50~3.53%, 지방 3.92~4.0%, 회분 0.2%를 나타내었고, 발효 홍고추즙 첨가 요구르트의 수분은 82.59~82.70%, 단백질 3.44~3.73%, 지방 3.98~4.25%, 회분 0.2%를 나타내었으며 발효 청고추즙 첨가 요구르트의 수분은 82.77~83.08%, 단백질 3.48~3.70%, 지방 3.91~4.26%, 회분 0.2%를 나타내었다. 회분과 수분은 발효 고추즙 함량이 증가 함에 따른 변화가 관찰되지 않았으며, 단백질 함량, 지방함량 및 고형물함량이 유의적으로 증가하였다( $p < 0.05$ ).

또한 발효 홍고추의 첨가량이 증가할수록, 유당함량이 유의적으로 증가하였다( $p < 0.05$ ), 성분의 차이는 미미하게 증가하는 경향 이었으며, 본 실험에서 제조한 요구르트와 식품 성분표(농촌진흥청, 2011)에 제시된 값을 비교한 결과 수분과 지방은 높게 측정되었고 단백질함량은 비슷하였으며 회분은 낮게 측정 되었다.

**Table 2. Proximate analysis of pepper yogurt**

Component	Addition levels of fermented pepper juice (%)	Treatment	
		Red pepper	Green pepper
Moisture	0	82.84±0.07 <sup>1)</sup>	82.73±0.29
	1	82.67±0.20	82.77±0.12
	3	82.70±0.22	82.86±0.20
	5	82.59±0.10	83.08±0.11
Ash	0	0.20±0.00	0.20±0.00
	1	0.20±0.00	0.20±0.00
	3	0.20±0.00	0.20±0.00
	5	0.20±0.00	0.20±0.00
Protein	0	3.53±0.08 <sup>bc</sup>	3.50±0.03 <sup>b</sup>
	1	3.44±0.04 <sup>c</sup>	3.50±0.14 <sup>b</sup>
	3	3.58±0.06 <sup>b</sup>	3.48±0.04 <sup>b</sup>
	5	3.73±0.01 <sup>a</sup>	3.70±0.11 <sup>a</sup>
Fat	0	3.92±0.11 <sup>b</sup>	4.00±0.02 <sup>b</sup>
	1	3.98±0.05 <sup>b</sup>	3.91±0.19 <sup>b</sup>
	3	4.06±0.09 <sup>b</sup>	4.04±0.05 <sup>b</sup>
	5	4.25±0.01 <sup>a</sup>	4.26±0.08 <sup>a</sup>
Lactose	0	6.38±0.24 <sup>b</sup>	6.50±0.16
	1	6.74±0.12 <sup>a</sup>	6.61±0.02
	3	6.63±0.02 <sup>ab</sup>	6.66±0.01
	5	6.71±0.00 <sup>a</sup>	6.66±0.06
Total solids	0	14.30±0.38 <sup>b</sup>	14.44±0.11 <sup>b</sup>
	1	14.51±0.08 <sup>b</sup>	14.44±0.32 <sup>b</sup>
	3	14.68±0.15 <sup>b</sup>	14.59±0.08 <sup>b</sup>
	5	15.08±0.01 <sup>a</sup>	15.03±0.19 <sup>a</sup>

<sup>1)</sup>Mean ± standard deviation (n=3)

a, b, c Means with different superscripts in same column are significantly different ( $p < 0.05$ ).

(2) pH 및 적정산도

5일 동안 발효한 고추즙의 농도(1, 3, 5%)를 달리하여 제조한 호상 요구르트를 4℃에서 1일 저장한 후 pH를 측정한 결과는 Fig. 7과 같다. 발효 고추즙을 첨가한 호상 요구르트의 pH 범위는 4.48~4.61 이었으며 발효 고추즙 첨가량 증가에 따른 변화는 관찰되지 않았다. 요구르트의 적정산도(Fig. 8) 범위는 발효 홍고추즙 첨가 요구르트의 경우 0.80~0.90%이고, 발효 청고추즙 첨가 요구르트의 경우 0.81~0.87%로 시료 첨가량이 많아질수록 유의적으로 증가하였다. 이는 고추즙에 함유된 유기산에 의한 것으로 사료된다.

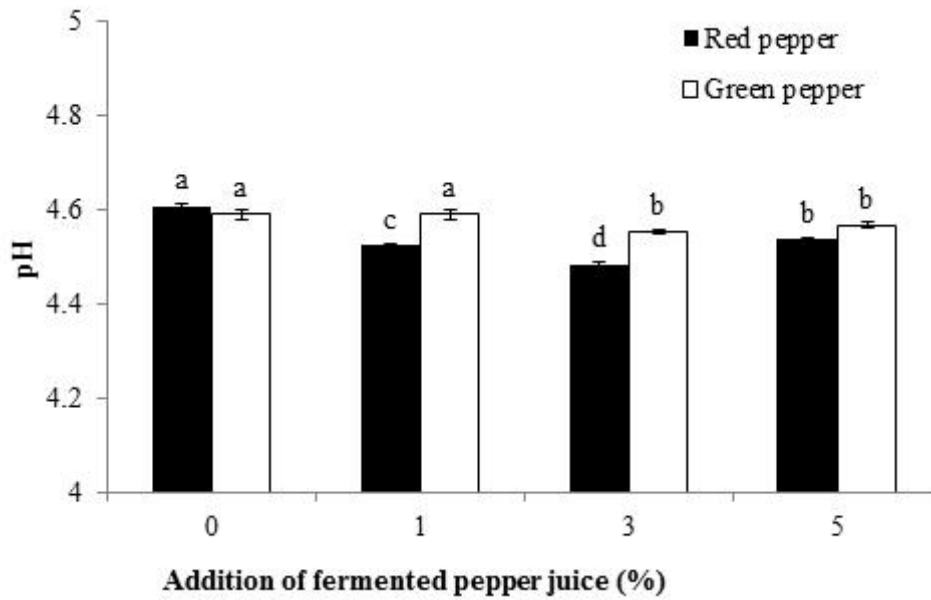


Fig. 7. pH changes according to the addition levels of two different fermented pepper juices in yogurts. Filled and empty bars mean red and green pepper juices, respectively.

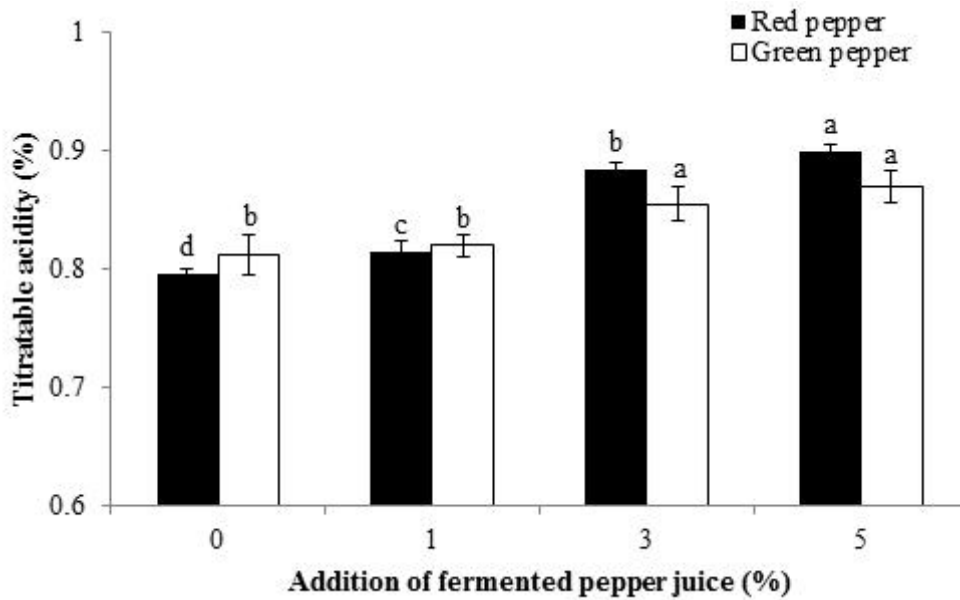


Fig. 8. Changes in titratable acidity according to the addition levels of two different fermented pepper juices in yogurts. Filled and empty bars mean red and green pepper juices, respectively.

### (3) 유산균 수

발효 고추즙의 농도(0, 1, 3, 5%)를 달리하여 첨가한 호상 요구르트를 4°C에서 1일 저장한 후 MRS배지를 이용하여 유산균 수를 측정된 결과는 Fig. 9와 같다. 발효 고추즙을 첨가한 요구르트의 유산균 수는 홍고추즙 1% 첨가 요구르트에서 9.12 Log<sub>10</sub>(CFU/g), 3%는 9.19 Log<sub>10</sub>(CFU/g), 5%는 9.26 Log<sub>10</sub>(CFU/g)으로 점차 증가하지만 통계적인 유의적 차는 없었고, 청고추즙 1% 첨가 요구르트에서 9.09 Log<sub>10</sub>(CFU/g), 3%는 9.16 Log<sub>10</sub>(CFU/g), 5%는 9.35 Log<sub>10</sub>(CFU/g)으로 시료 첨가량이 많아질수록 유의적으로 증가하였다.

Clark PA(1993)의 연구에 따르면 유산균의 생육은 생강, 파, 마늘, 고추의 첨가에 의해 효과적으로 저해된다고 보고하였다. 그러나 흑마늘 첨가 요구르트 경우 본 연구와 같이 첨가량이 많아짐에 따라 유산균수가 증가하는 경향을 보였다. 이는 흑마늘 가공 과정 중 열처리 등으로 인해 항균활성이 일부 소실되거나 당의 함량 증가로 오히려 유산균에 생육에 도움을 주고 혼합균주 사용으로 영향을 적게 받았다고 보고하였다(Shin et al., 2010). 이와 같이 발효 고추즙 요구르트도 유산균 수의 증가는 혼합 균주를 사용하여 제조하였고, 발효를 통하여 항균활성을 가지고 있는 capsaicin 함량이 줄어들었기 때문이라고 사료된다.

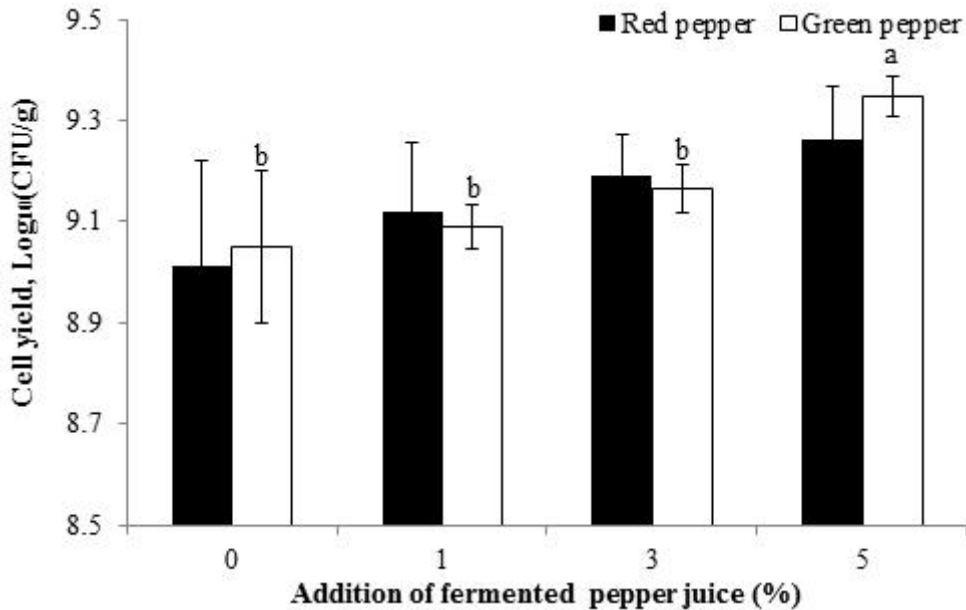


Fig. 9. Viable cell counts according to the addition levels of two different fermented pepper juices in yogurts. Filled and empty bars mean red and green pepper juices, respectively.

### (4) 점도 측정

발효 고추즙을 0%, 1%, 3% 그리고 5% 첨가한 호상 요구르트를 4°C에서 1일 저장한 후 점도를 측정된 결과는 Fig. 10과 같다. 발효 고추즙 첨가 호상 요구르트의 점도 변화는 홍고추즙 첨가 요구르트의 경우 1638.75 cps ~ 914.75 cps였고, 청고추즙 첨가 요구르트의 경우 1660.25 cps ~ 968.25 cps로 시료 첨가량이 증가할수록 낮게 측정되었다.

요구르트의 점도는 산 생성량에 비례하여 증가하는 것으로 보고되어 있다(Sung et al., 2005). Fig. 2-3과 같이 산 생성량이 증가되었음에도 불구하고 요구르트의 점도가 낮아진 것은

Shin 등(2010)의 연구결과와 일치한다. 즉 발효 고추즙 첨가가 유산균의 성장을 촉진시키고, 우유 내 단백질과 작용하여 겔 강도를 감소시켰기 때문이라고 사료된다.

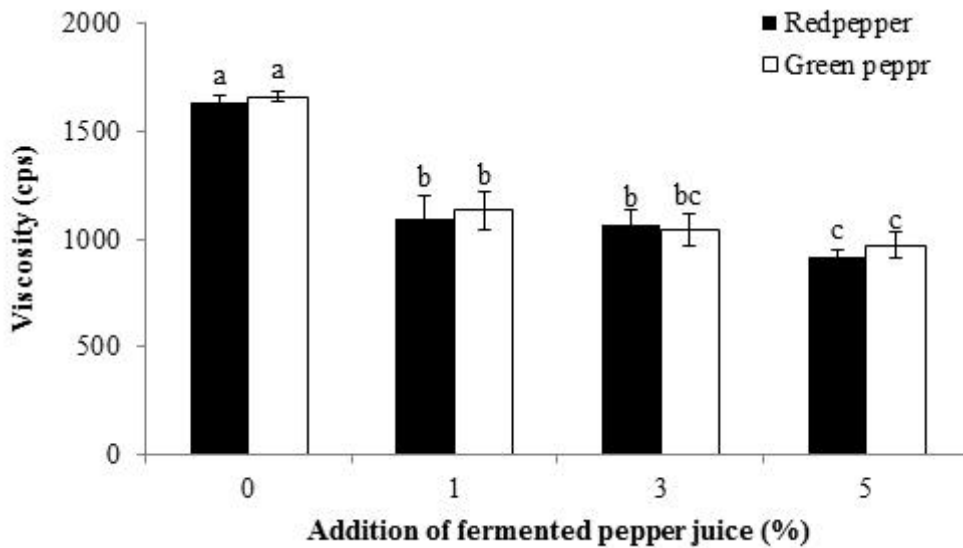


Fig. 10. Change in viscosity of pepper yogurt according to the addition levels of two different fermented pepper juices in yogurts. Filled and empty bars mean red and green pepper juices, respectively.

(5) 색도 측정

발효 고추즙을 0%, 1%, 3% 그리고 5% 첨가한 호상 요구르트의 색도의 변화를 관찰하기 위하여 Hunter L-value, a-value, b-value를 측정한 결과는 Table 3과 같다. 발효 고추즙을 첨가한 요구르트는 시료 첨가량에 따라 명도를 나타내는 L값이 유의적 차이를 나타내며 감소하였다. 적색도를 나타내는 a값과 황색도를 나타내는 b값은 시료 첨가량이 많을수록 유의적으로 증가하였다. 이는 홍고추와 청고추의 고유한 색에 의한 것이며, 마카 열매 열수 추출물 요구르트 (Chung et al., 2010), 분리 대두단백 요구르트(Jang and yoon, 1997)등 에서 첨가량이 증가 함에 따라 L값은 감소하고 a값과 b값은 증가하였다고 보고하여 본 실험과 일치하였다.

Table 3. Changes in color of pepper yogurt

Color value	Treatment	Addition of fermented pepper juice (%)			
		0	1	3	5
L	Red pepper	91.08±0.34 <sup>a1)</sup>	85.55±0.01 <sup>b</sup>	81.12±0.06 <sup>c</sup>	77.61±0.38 <sup>d</sup>
	Green pepper	89.57±0.38 <sup>a</sup>	87.90±0.34 <sup>b</sup>	87.09±0.47 <sup>b</sup>	84.95±0.67 <sup>c</sup>
a	Red pepper	-3.79±0.11 <sup>d</sup>	3.08±0.03 <sup>c</sup>	6.67±0.16 <sup>b</sup>	8.08±0.27 <sup>a</sup>
	Green pepper	-3.14±0.12 <sup>c</sup>	-2.91±0.10 <sup>b</sup>	-2.89±0.09 <sup>b</sup>	-2.68±0.10 <sup>a</sup>
b	Red pepper	8.48±0.07 <sup>d</sup>	21.62±0.06 <sup>c</sup>	28.26±0.10 <sup>b</sup>	32.19±0.72 <sup>a</sup>
	Green pepper	6.35±0.37 <sup>b</sup>	6.78±0.35 <sup>b</sup>	9.08±0.52 <sup>a</sup>	9.59±0.16 <sup>a</sup>

<sup>1)</sup>Mean ± standard deviation (n=3)

<sup>a, b, c</sup> Means with different superscripts in same row are significantly different ( $p < 0.05$ ).

#### (6) 항산화 활성 및 총 폴리페놀 함량

5일 동안 발효시킨 고추즙을 수준별(0, 1, 3, 5%)로 첨가하여 제조한 요구르트의 항산화 활성과 총 폴리페놀 함량을 측정하였다. 요구르트 시료를 증류수와 methanol에 각각 10배 희석하여 그 상등액을 분석용 시료로 사용하였다.

발효 고추즙 첨가 호상 요구르트의 항산화 활성을 조사한 결과는 Fig. 11과 같다. 발효 고추즙 1~5% 첨가군에서 증류수로 추출한 시료의 경우 0.008~0.106 mg/ml로 나타났고, methanol로 추출한 시료의 경우 0.017~0.076 mg/ml로 나타났으며 시료 첨가량에 따라 항산화 활성이 증가하였다. Methanol로 추출하여 측정한 경우보다 증류수로 추출하여 측정한 경우의 ascorbic acid 함량이 더욱 높게 측정되었다.

총 폴리페놀 함량은 Fig. 12와 같다. 증류수로 추출하여 측정한 경우보다 methanol로 추출하여 측정한 경우의 garlic acid 함량이 더욱 높게 측정되었다. 대조구 요구르트의 증류수 추출 시료에 경우 0.0038 mg/ml, methanol 추출물의 경우 0.016 mg/ml로 가장 낮은 값을 나타내었다. 발효 홍고추즙 첨가구는 증류수 추출물의 경우 0.0052~0.0123 mg/ml, methanol 추출물의 경우 0.022~0.033 mg/ml였고, 발효 청고추즙 첨가구는 증류수 추출물의 경우 0.0045~0.0079 mg/ml, methanol 추출물의 경우 0.023~0.024 mg/ml로 발효 고추즙의 농도가 짙을수록 폴리페놀 함량이 증가하였다. 이는 발효 고추즙의 함유된 폴리페놀 화합물에 의해 발효 고추즙을 농도별로 첨가함에 따라 요구르트의 총 폴리페놀 함량이 증가하였다고 사료되며, Jeon(2011)과 Chung(2010)이 보고한 2단 발효마 분말 첨가요구르트와 마카 열수추출물 요구르트에서 폴리페놀 화합물이 함유된 원재료의 첨가량이 증가할수록 총 폴리페놀 함량이 증가하였다는 보고와 일치하였다.

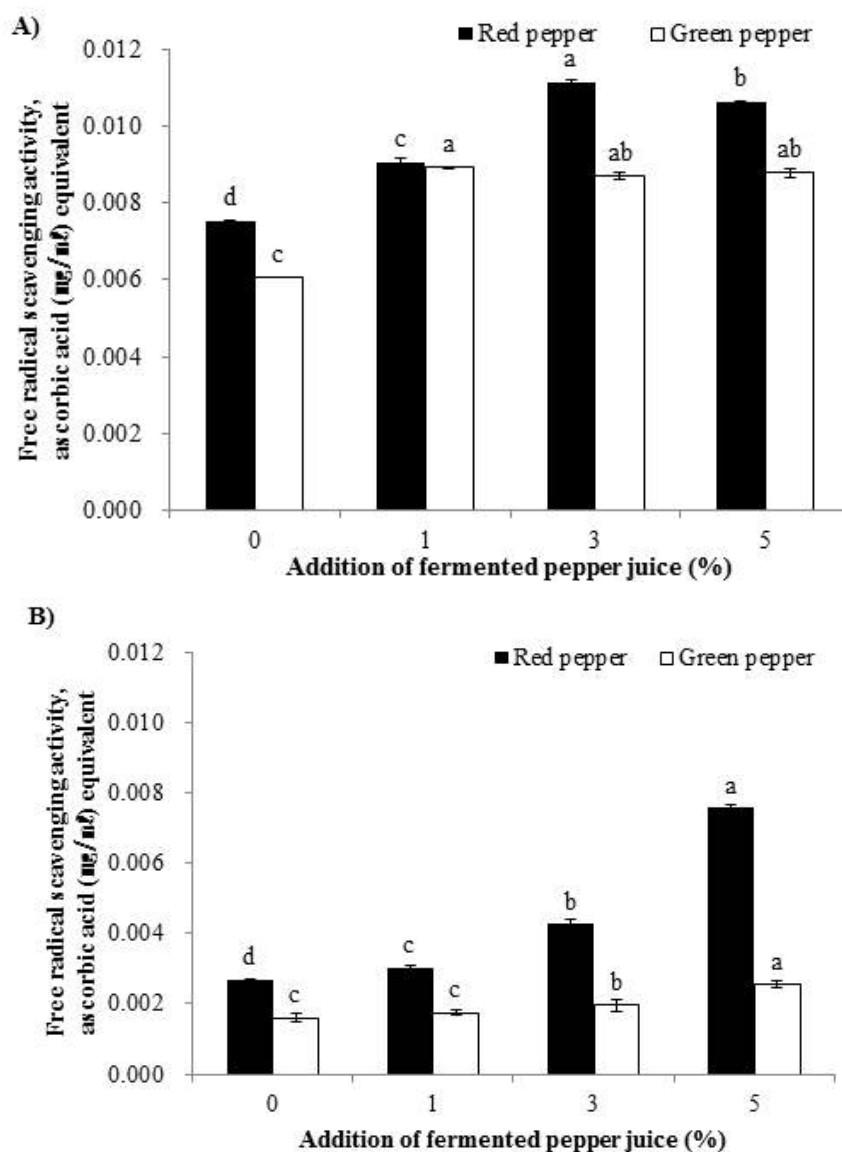


Fig. 11. Antioxidant activity in extracts prepared using different solvents from yogurt with different addition levels of fermented pepper juices. (A) and (B) are water and methanol extracts, respectively. Filled and empty bars mean red and green pepper juices, respectively.

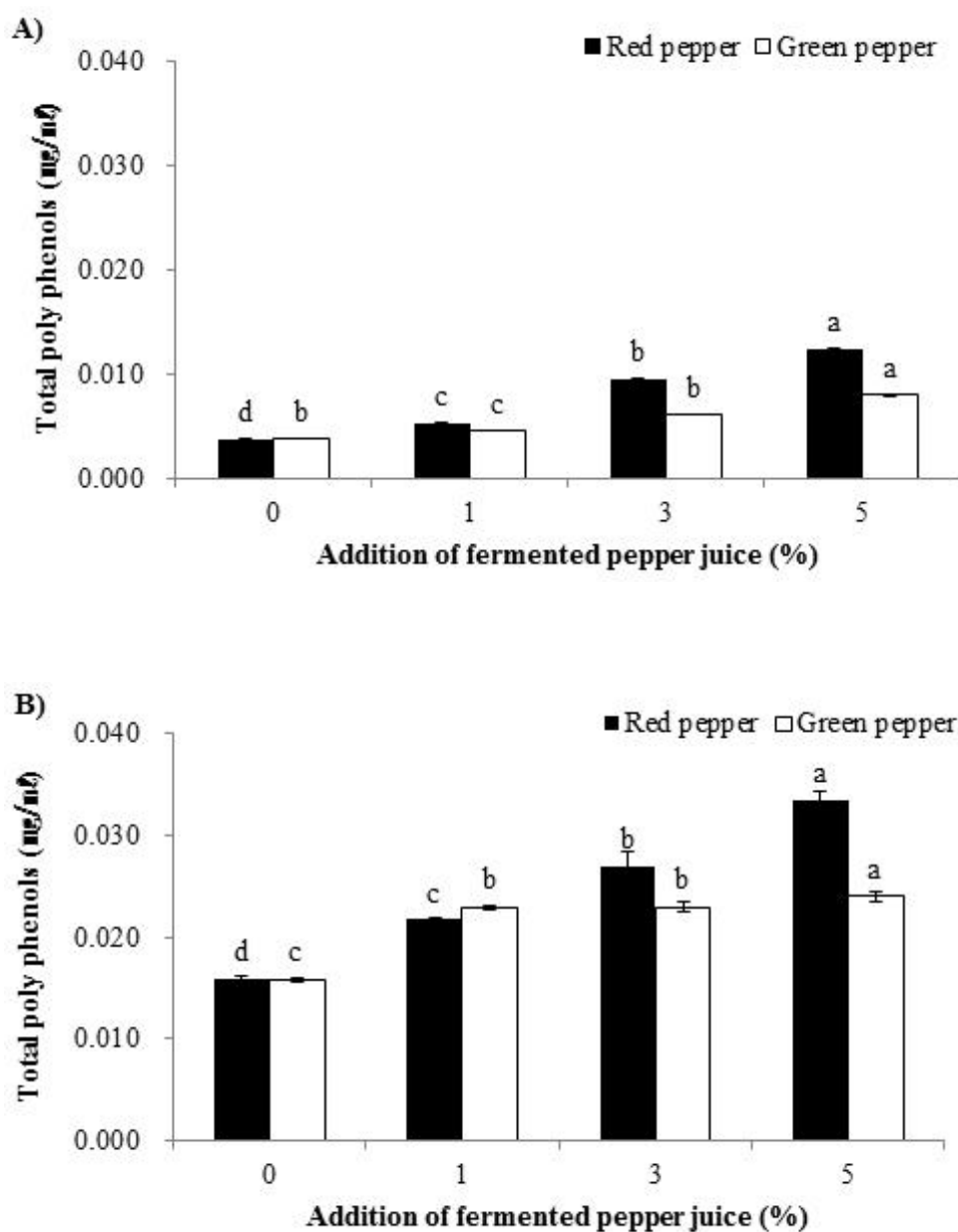


Fig. 12. Total poly phenol contents in extracts prepared using different solvents from yogurt with different addition levels of fermented pepper juices. (A) and (B) are water and methanol extracts, respectively. Filled and empty bars mean red and green pepper juices, respectively.



(7) 관능평가

발효 고추즙 첨가 요구르트의 제조를 위한 최적 발효 즙 첨가량을 결정하기 위해 발효 고추즙(1%, 3%, 5%)을 첨가하여 제조한 호상 요구르트와 발효 고추즙 무첨가구의 관능평가를 실시한 결과는 Table 4와 같다. 발효 홍고추의 경우 맛(taste)은 시료첨가량이 적을수록 높은 점수를 받았으나 향(flavor)과 외관(appearance)에서는 발효 고추즙 첨가 3%, 1%, 5% 첨가구 순으로 높은 점수를 받았다. 이는 기호도 평가(overall acceptability)와 유사한 결과를 나타내었는데 기호도를 정하는데 있어 맛보다는 향과 외관이 더 크게 작용한다는 것을 알 수 있었다.

Fig. 2-4에서 발효 고추즙의 첨가량이 증가할수록 점도가 감소한 것에 비해 조직감(texture)에서는 유의적 차이가 나타나지 않아 발효 고추즙에 첨가량에 따른 점도에 감소가 관능적으로 영향을 미치는 수준이 아닌 것으로 사료된다. 매운맛(hot taste)은 첨가량이 많아질수록 유의적으로 증가하였다( $p < 0.05$ ). Yogurt의 품질은 소비자의 기호성에 의해 결정된다는 Kroger(1971) 보고에 따라 발효 홍고추즙 첨가 요구르트는 제조 시 최종 3%를 첨가하고, 발효 청고추즙 첨가 요구르트 제조 시 최종 1% 첨가 하는 것이 매운맛이 강하지 않은 범위에서 기능성을 부여하는 농도로 판명되었다.

**Table 4. Sensory characteristics of pepper yogurt**

Treatment	Attributes	Addition of fermented pepper juice (%)			
		0	1	3	5
Red pepper	Taste	4.29±0.49 <sup>a1)</sup>	3.71±0.49 <sup>a</sup>	2.86±0.69 <sup>b</sup>	1.43±0.53 <sup>c</sup>
	Flavor	4.14±0.38 <sup>a</sup>	3.14±0.69 <sup>b</sup>	3.86±0.90 <sup>a</sup>	1.71±0.49 <sup>c</sup>
	Appearance	4.86±0.38 <sup>a</sup>	3.43±0.79 <sup>b</sup>	4.57±0.53 <sup>a</sup>	2.14±0.38 <sup>c</sup>
	Texture	4.14±0.90	3.43±1.13	3.71±1.11	3.14±1.21
	Hot taste	1.00±0.00 <sup>c</sup>	2.00±0.58 <sup>b</sup>	2.71±0.76 <sup>ab</sup>	3.29 ±1.11 <sup>a</sup>
	Overall acceptability	4.00±1.00 <sup>a</sup>	3.71 ±0.76 <sup>a</sup>	3.86±0.69 <sup>a</sup>	2.00 ±0.00 <sup>b</sup>
Green pepper	Taste	3.86±0.69 <sup>a</sup>	3.14±0.69 <sup>a</sup>	3.29±0.76 <sup>a</sup>	1.86±0.38 <sup>b</sup>
	Flavor	3.43±0.53 <sup>ab</sup>	3.86±0.90 <sup>a</sup>	2.71±0.76 <sup>bc</sup>	2.14±0.69 <sup>c</sup>
	Appearance	4.29±0.49 <sup>a</sup>	3.86±0.69 <sup>ab</sup>	3.29±0.49 <sup>b</sup>	2.29±0.49 <sup>c</sup>
	Texture	3.00±0.58	3.29±0.76	2.86±0.69	3.29±0.95
	Hot taste	1.43±0.79 <sup>c</sup>	2.29±0.76 <sup>bc</sup>	2.57±0.79 <sup>b</sup>	3.71±0.95 <sup>a</sup>
	Overall acceptability	4.14±0.90 <sup>a</sup>	3.71±0.49 <sup>a</sup>	2.71±0.95 <sup>b</sup>	2.29±0.76 <sup>b</sup>

<sup>1)</sup>Mean ± standard deviation (n=3)

a, b, c Means with different superscripts in same row are significantly different ( $p < 0.05$ ).

다. 발효 고추즙 첨가 요구르트 저장 기간 동안의 품질특성

(1) 일반성분 분석

발효 고추즙 첨가 요구르트를 제조하여 저장 기간 동안의 일반성분을 분석한 결과는 Table 5와 같다 단백질함량은 3%로 홍고추즙을 첨가한 요구르트의 경우, 저장 8일차에 3.63%로 유

의적으로( $p < 0.05$ ) 증가하다가 12일 및 16일에는 각각 3.44% 및 3.54%로 감소하였다. 청고추즙 1% 첨가 요구르트의 경우에는 0일차에 3.44%로 저장 기간 중 가장 낮은 값을 나타내며 4일부터 16일까지 3.50~3.53%를 유지 되었다. 대조구는 8일차에 3.53%로 증가하다 12일차와 16일차에 3.45%의 값을 유지 하였다. 처리구 별로는 대조구에 비하여 고추즙을 첨가한 처리구에서 저장 기간에 관계없이 높게 나타났다. 대조구와 발효 청고추즙 첨가 요구르트의 경우, 저장 기간이 증가함에 따라서 지방함량이 감소하였으나, 발효 홍고추를 첨가한 처리구에서는 지방함량이 크게 변하지 않았다. 처리구 별로는 발효 고추즙을 첨가한 요구르트에서 저장 기간에 관계없이 대조구보다 낮게 유의적으로 낮게 나타났다( $p < 0.05$ ). 유당함량은 모든 처리구에서 저장 기간이 지남에 따라 증가하는 경향을 나타내었다. 처리구별 유당함량을 비교하면, 대조구에 비하여 고추즙을 첨가한 모든 처리구에서 유의적으로 높게 나타났다( $p < 0.05$ ). 총 고형물 함량은 처리구별 및 저장 기간별 일정한 형태의 변화를 나타내지 않았다. 결론적으로 요구르트 내에 발효 고추즙의 첨가는 저장 기간 중 품질변화에는 큰 영향을 미치지 않았다.

**Table 5. Proximate analysis of pepper yogurt stored at 4 °C**

Component	Storage period, days	Treatment		
		Control	Red	Green
Protein	0	3.37±0.01 <sup>CB</sup>	3.46±0.02 <sup>CA</sup>	3.44±0.02 <sup>BA</sup>
	4	3.39±0.02 <sup>CB</sup>	3.52±0.03 <sup>BA</sup>	3.50±0.02 <sup>AA</sup>
	8	3.53±0.03 <sup>AB</sup>	3.63±0.02 <sup>AA</sup>	3.53±0.02 <sup>AB</sup>
	12	3.45±0.03 <sup>BB</sup>	3.44±0.03 <sup>CB</sup>	3.53±0.02 <sup>AA</sup>
	16	3.45±0.03 <sup>BB</sup>	3.54±0.04 <sup>BA</sup>	3.51±0.01 <sup>AA</sup>
Fat	0	4.07±0.06 <sup>AA</sup>	3.91±0.01 <sup>AB</sup>	3.64±0.04 <sup>C</sup>
	4	4.04±0.06 <sup>AA</sup>	3.89±0.02 <sup>AB</sup>	3.63±0.02 <sup>C</sup>
	8	4.08±0.05 <sup>AA</sup>	3.96±0.03 <sup>AB</sup>	3.65±0.02 <sup>C</sup>
	12	3.88±0.06 <sup>BA</sup>	3.76±0.07 <sup>BB</sup>	3.64±0.01 <sup>C</sup>
	16	4.04±0.02 <sup>AA</sup>	3.80±0.06 <sup>BB</sup>	3.62±0.01 <sup>C</sup>
Lactose	0	6.59±0.04 <sup>AB</sup>	6.73±0.04 <sup>BA</sup>	6.76±0.03 <sup>BCA</sup>
	4	6.58±0.00 <sup>BB</sup>	6.72±0.04 <sup>BA</sup>	6.73±0.04 <sup>CA</sup>
	8	6.60±0.02 <sup>AB</sup>	6.75±0.03 <sup>BA</sup>	6.75±0.04 <sup>BCA</sup>
	12	6.63±0.03 <sup>AB</sup>	6.82±0.02 <sup>AA</sup>	6.80±0.01 <sup>ABA</sup>
	16	6.63±0.02 <sup>AC</sup>	6.70±0.02 <sup>BB</sup>	6.85±0.03 <sup>AA</sup>
Total solids	0	14.44±0.09 <sup>BA</sup>	14.53±0.05 <sup>BA</sup>	14.17±0.04 <sup>BB</sup>
	4	14.39±0.04 <sup>BCB</sup>	14.47±0.03 <sup>BA</sup>	14.20±0.01 <sup>BC</sup>
	8	14.57±0.01 <sup>AB</sup>	14.71±0.04 <sup>AA</sup>	14.25±0.03 <sup>ABC</sup>
	12	14.33±0.03 <sup>C</sup>	14.35±0.05 <sup>C</sup>	14.30±0.04 <sup>AB</sup>
	16	14.53±0.03 <sup>A</sup>	14.38±0.01 <sup>C</sup>	14.35±0.15 <sup>A</sup>

Mean ± standard deviation (n=3)

The different small letters in same column and capitalized letters in same row mean significantly different ( $p < 0.05$ ).

## (2) pH 및 적정산도

5일 동안 발효한 고추즙을 홍고추 3%, 청고추 1%를 첨가하여 제조한 호상 요구르트를 4°C에서 16일간 저장 중 4일 간격(0, 4, 8, 12, 16 일)으로 pH를 측정된 결과는 Fig. 13과 같다. 저장 기간 중에 pH범위는 무 첨가구, 3% 홍고추즙 첨가구, 1% 청고추즙 첨가구가 각각 4.41~4.31, 4.39~4.26, 4.42~4.27 이었으며 저장 기간 동안 pH가 감소하였지만, 바람직한 요구르트의 pH 범위가 3.27~4.53 이라는 Chamber(1979)와 Kroger(1973)의 보고와 같이 저장 기간 16일 동안 pH 4.2 이상을 유지하는 것을 보아 품질저하가 없는 것으로 사료된다.

적정산도는 요구르트의 품질을 평가하는 기준의 하나로, Fig. 14에 나타난 바와 같이 무첨가 요구르트는 0.87%에서 0.91%로, 3% 홍고추즙 첨가 요구르트는 0.93%에서 0.96%로, 1% 청고추즙 첨가 요구르트는 0.90%~0.93%로 저장 기간이 지날수록 유의적으로 증가하였다. 저장 중 젖산균의 대사활동이 어느 정도 이루어지고 있어 산량이 증가하고 그로 인해 pH가 감소된 것

으로 사료되며 이 결과는 배양인삼 을 첨가한 요구르트(Lee et al., 2003)의 보고와 일치하였다. 정상적인 제품의 적정산도는 0.7~1.20%에서 나타난다는 Davis(1970)의 연구와 같이 바람직한 산도를 나타내었다.

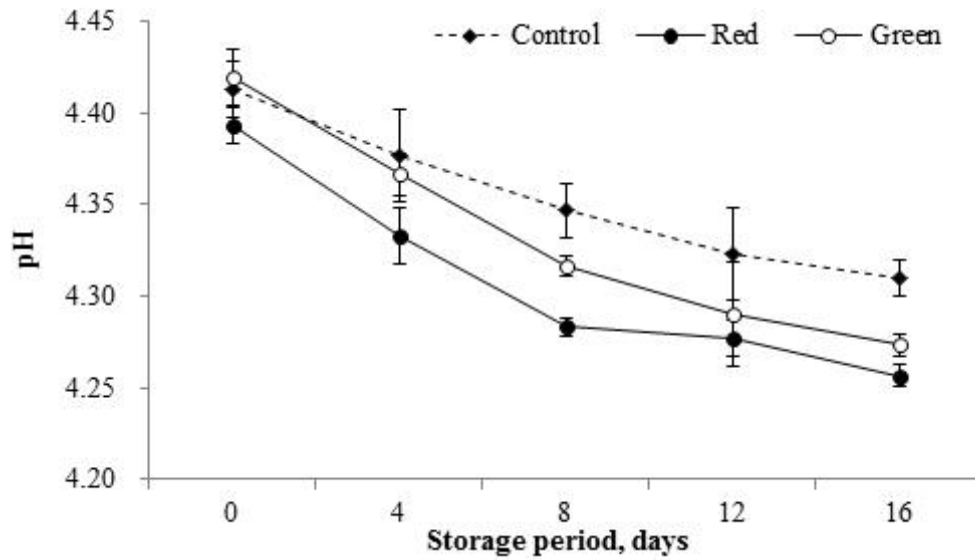


Fig. 13. pH profiles during storage periods of yogurts with different fermented pepper juice. Filled square with dotted line is for control. Filled and empty circles with solid line are for red and green pepper juices, respectively.

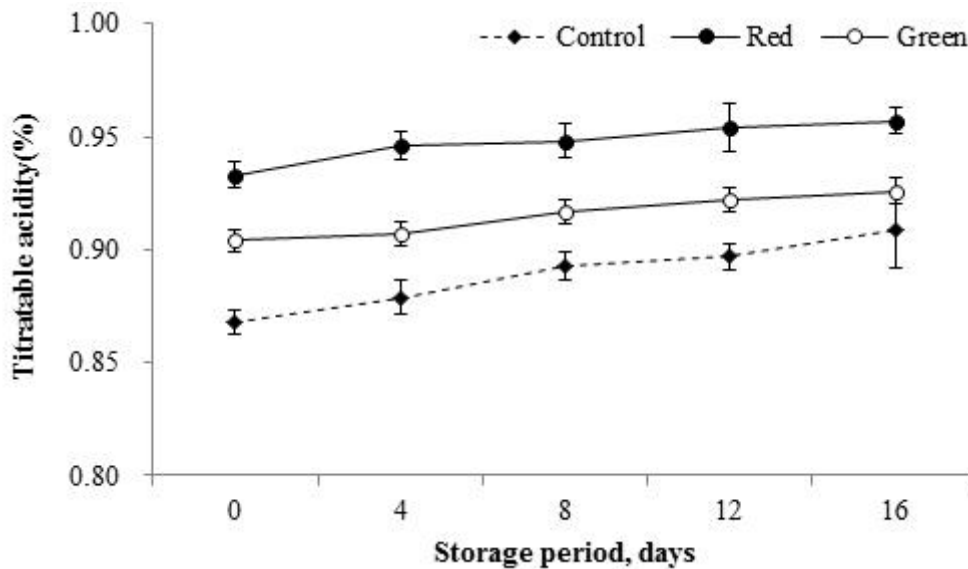


Fig. 14. Changes in titratable acidity during storage periods of yogurts with different fermented pepper juice. Filled square with dotted line is for control. Filled and empty circles with solid line are for red and green pepper juices, respectively.

### (3) 유산균 수

발효 고추즙을 첨가한 호상 요구르트를 4°C 에서 16일간 저장 중 4일 간격으로 유산균수를 측정 한 결과는 Fig. 15와 같다. 실험을 위해 제조한 모든 요구르트가 발효 8일차까지 유의적으로 증가하였으며 12일부터 감소하는 경향을 나타내었다. 반면 BCP배지에서 측정 한 유산균 수는 (Fig. 16) 저장 기간 중의 변화는 MRS배지에서 측정 한 결과와 유사하였지만, MRS에서 측정 한 유산균 수에 비해 10배정도 낮은 값을 나타냈다. 이는 유산균 strater에 함유된 균 중 *Bifidobacterium lactis*가 BCP배지에서는 자라지 않기 때문이라고 사료된다. 식품공전에 의하면 호상요구르트의 생균수는 10<sup>8</sup> CFU/ml 이상으로 규정하고 있다. 본 연구에서 제조된 호상요구르트는 모두 적정치 범위 이상의 유산균이 존재하여 성분 규격에 적합하고 장내 균총의 개선 효과도 기대 할 수 있을 것으로 사료된다.

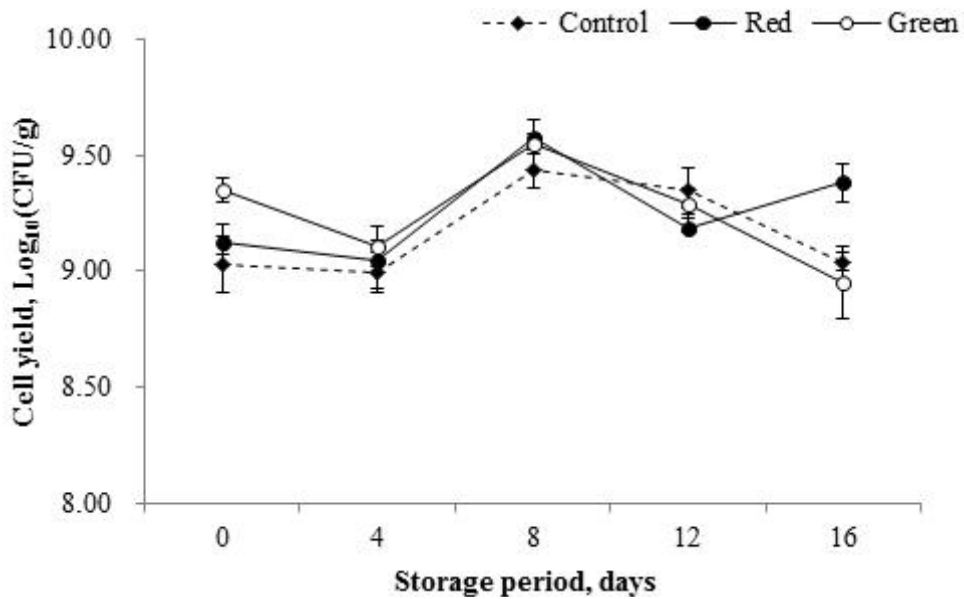


Fig. 15. Changes of viable cell counts in MRS solid medium during storage periods of yogurts with different fermented pepper juice at 4°C. Filled square with dotted line is for control. Filled and empty squares with solid line are for red and green pepper juices, respectively.

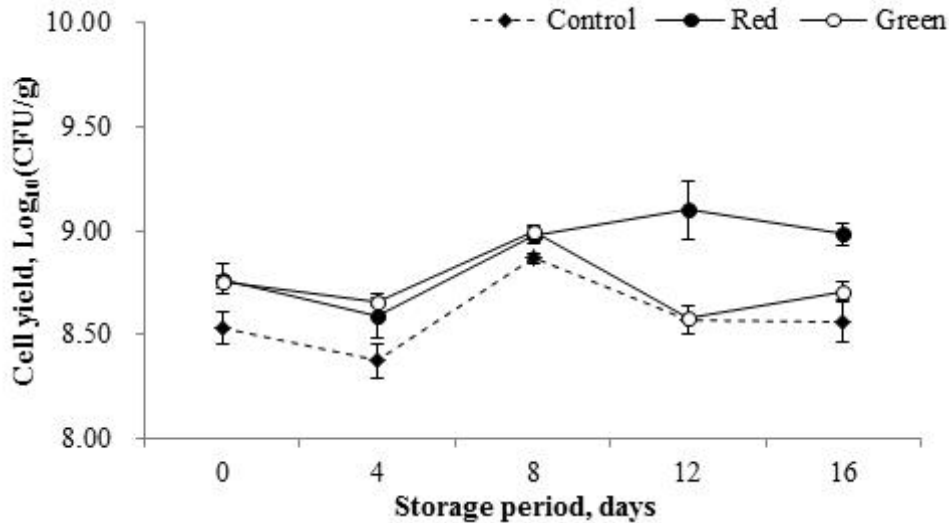


Fig. 16. Changes of viable cell counts in BCP solid medium during storage periods of yogurts with different fermented pepper juice at 4°C. Filled square with dotted line is for control. Filled and empty squares with solid line are for red and green pepper juices, respectively.

#### (4) 점도 측정

5일 동안 발효한 고추즙을 홍고추 3%, 청고추 1%를 첨가하여 제조한 호상 요구르트를 4°C에서 16일간 저장 중 4일 간격(0, 4, 8, 12, 16 일)으로 점도를 측정된 결과는 Fig. 17과 같다. 발효 고추즙을 첨가한 호상요구르트의 저장 기간에 따른 점도는 저장 8일 까지 증가하다가 저장 8일부터 감소하는 경향을 나타냈으며, 발효 고추즙 무첨가 요구르트 점도보다 발효 고추즙 첨가 요구르트의 점도가 감소하는 경향 보였다. 이는 Shin 등(2010)의 스피루리나 첨가 요구르트의 점도가 저장 6일 까지 증가하다가 저장 9일째부터 서서히 감소하고 저장 12일째 가장 낮은 점도를 나타내었다는 보고와 유사하다.

요구르트의 점도에 대한 영향을 주는 요인으로는 요구르트 혼합액의 총 고형분 함량, 단백질의 가수분해 정도, 사용균주의 산 생성력 및 slime 생산능력(Taminme AY 와 Robinson RK 1999), 유산균에 의하여 생성되는 다당류로 이루어진 점액성 물질(Rasic JL과 Kurmann JA 1978), 유산균의 생성에 의한 커드의 발달 정도(Bae JH 등 2000), 우유 중의 카제인 미셀과 지방글로불린, 유당, 유청단백, 염의 농도 등(Robinson RK 1981)이 있으며, 산 생성량이 증가 하였음에도 점도가 감소하는 것은 점도를 형성하는 유단백질의 응고가 발효 고추즙 성분 에 의해 저해되었다고 사료된다. 일반성분 분석 결과에서 점도가 감소하기 시작한 저장 8일차부터 단백질함량과 총 고형분 함량의 변화와 연관성이 있는 것으로 사료된다.

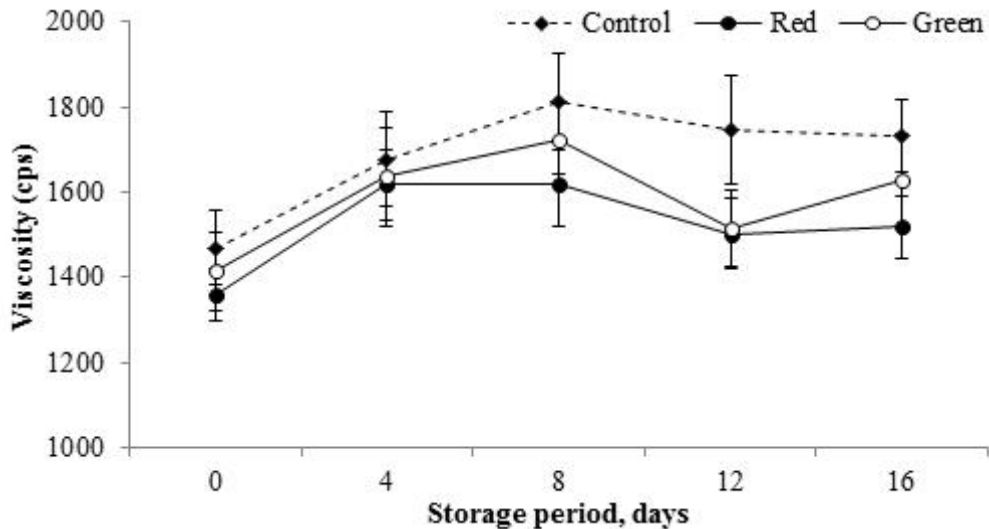


Fig. 17. Changes of viscosity during storage periods of yogurts with different fermented pepper juice at 4°C. Filled square with dotted line is for control. Filled and empty squares with solid line are for red and green pepper juices, respectively.

(5) 색도 측정

발효 고추즙을 첨가한 호상 요구르트를 4°C에서 16일간 저장 중 4일 간격으로 색도를 측정한 결과는 Table 6과 같다. 명도를 나타내는 L값은 저장 기간이 지날수록 유의적으로 증가 하였지만 3% 홍고추즙 첨가 요구르트는 4일차에 가장 낮은 값을 나타내고 그 외의 저장 기간 동안에는 차이가 없었다. 적색도를 나타내는 a값은 실험을 위해 제조된 모든 요구르트가 저장 기간 동안 유의적으로 감소하였다. 황색도를 나타내는 b값은 발효 고추즙 무 첨가 요구르트와 3% 홍고추즙 첨가 요구르트는 유의적으로 감소하는 경향을 나타내는 것에 비해 1% 청고추즙 첨가 요구르트는 유의적으로 증가하는 경향을 나타내었다. 발효 고추즙 첨가 요구르트에서 저장일에 따른 색상변화가 관찰되었으나 그 변화폭이 유의적으로 크게 차이 나지 않아 제조 당시 고유의 색을 유지 하는 것을 알 수 있었다.

**Table 6 Changes of color in pepper yogurt stored at 4 °C**

Color	Storage period, days	Treatment		
		Control	Red	Green
L	0	85.58±0.05 <sup>cA</sup>	80.46±0.22 <sup>aC</sup>	84.96±0.24 <sup>dB</sup>
	4	87.84±0.57 <sup>bA</sup>	79.81±0.41 <sup>bC</sup>	86.42±0.46 <sup>CB</sup>
	8	88.66±0.19 <sup>aA</sup>	80.15±0.34 <sup>abC</sup>	81.82±0.45 <sup>EB</sup>
	12	88.69±0.61 <sup>aA</sup>	80.61±0.31 <sup>aC</sup>	87.60±0.32 <sup>bB</sup>
	16	87.12±0.29 <sup>bB</sup>	80.70±0.09 <sup>aC</sup>	89.23±0.15 <sup>aA</sup>
a	0	-2.63±0.07 <sup>aB</sup>	7.55±0.47 <sup>aA</sup>	-2.51±0.07 <sup>aB</sup>
	4	-3.28±0.18 <sup>bB</sup>	4.95±0.49 <sup>dA</sup>	-2.89±0.19 <sup>bB</sup>
	8	-3.57±0.07 <sup>CB</sup>	6.01±0.58 <sup>CA</sup>	-3.06±0.27 <sup>bCB</sup>
	12	-3.65±0.21 <sup>CB</sup>	7.00±0.50 <sup>abA</sup>	-3.33±0.08 <sup>CB</sup>
	16	-3.08±0.11 <sup>dB</sup>	6.65±0.26 <sup>bCA</sup>	-3.62±0.02 <sup>dC</sup>
b	0	5.26±0.27 <sup>CB</sup>	25.58±0.40 <sup>aA</sup>	5.70±0.18 <sup>CB</sup>
	4	7.10±0.50 <sup>aB</sup>	23.88±0.34 <sup>bA</sup>	5.98±0.71 <sup>cC</sup>
	8	7.79±0.19 <sup>aB</sup>	24.36±0.66 <sup>bA</sup>	6.24±0.27 <sup>bCC</sup>
	12	7.83±0.63 <sup>aB</sup>	25.31±0.60 <sup>aA</sup>	7.20±0.20 <sup>aB</sup>
	16	6.25±0.24 <sup>bC</sup>	24.75±0.11 <sup>abA</sup>	6.84±0.42 <sup>abB</sup>

Mean ± standard deviation (n=3)

The different small letters in same column and capitalized letters in same row mean significantly different ( $p < 0.05$ ).

(6) 항산화 활성 및 총 폴리페놀 함량

5일 동안 발효한 고추즙을 홍고추 3%, 청고추 1%를 첨가하여 제조한 호상 요구르트를 4°C에서 16일간 저장 중 4일 간격(0, 4, 8, 12, 16 일)으로 분석용 시료를 제조하여 항산화 활성과 총 폴리페놀 함량을 측정하였다.

항산화 활성(Fig. 18)은 저장 기간에 따라 ascorbic acid 함량에 큰 변화는 없었으며, 증류수 추출 시료의 경우 발효 고추즙 무첨가 요구르트가 0일차에 최소 0.007 mg/ml에서 16일차에 최대 0.007 mg/ml을 나타내었고, 발효 홍고추즙 첨가 요구르트는 0.009 mg/ml 정도를 유지 하였고 발효 청고추즙 첨가 요구르트는 0.008 mg/ml 정도를 유지하였다. Methanol 추출 시료의 경우 발효 고추즙 무첨가 요구르트가 0일차에 최소 0.0040 mg/ml에서 4일차에 최대 0.005 0mg/ml을 나타내었고, 발효 홍고추즙 첨가 요구르트는 0일차에 최소 0.006 mg/ml에서 4일차에 최대 0.007 mg/ml, 발효 청고추즙 첨가 요구르트는 0일차에 최소 0.005 mg/ml에서 8일차에 최대 0.006 mg/ml을 나타내었다.

총 폴리페놀 함량(Fig. 19)은 증류수로 추출하여 실험한 결과 3% 발효 홍고추즙을 첨가한 요구르트는 저장 4일에 0.01 mg/ml로 가장 높은 폴리페놀 함량을 나타내었으며 1% 발효 청고추즙을 첨가한 요구르트는 저장 8일에 0.009 mg/ml로 가장 높았다. Methanol로 추출하여 실험한



결과 3% 발효 홍고추즙, 1% 발효 청고추즙 첨가 요구르트 모두 가장 높은 폴리페놀 함량을 나타냈을 때는 저장 4일째로 0.02 mg/ml이 측정 되었다. 3% 발효 홍고추즙을 첨가한 요구르트의 저장 기간 동안 폴리페놀 함량은 증류수 추출에 경우 0.009~0.010 mg/ml, 메탄올추출에 경우 0.020~0.022 mg/ml를 나타내었고, 1% 발효 청고추즙을 첨가한 요구르트의 저장 기간 동안 폴리페놀 함량은 증류수 추출에 경우 0.006~0.009 mg/ml, 메탄올추출에 경우 0.018~0.020 mg/ml이 측정 된 것으로 보아 저장 기간 동안 폴리페놀 함량의 차이가 크지 않은 것을 확인 할 수 있었다.

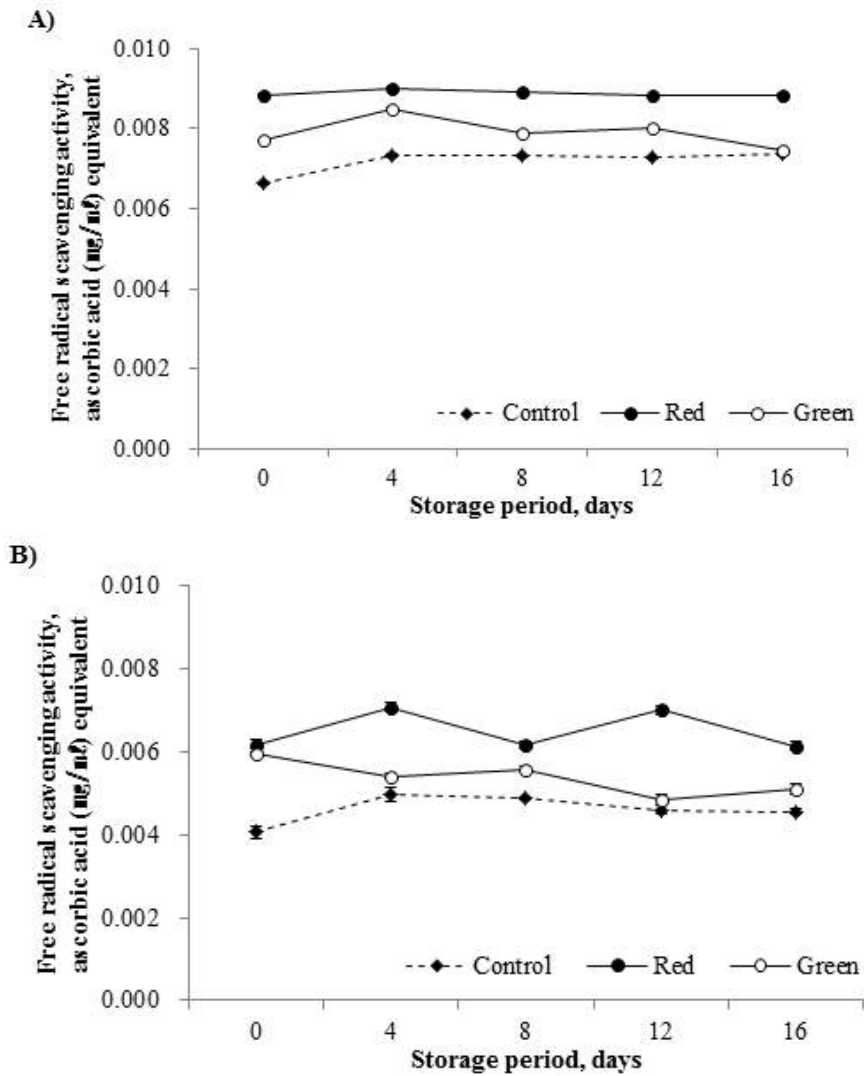


Fig. 18. Changes of antioxidant activity during storage periods of yogurt with different fermented pepper juice. (A) Water extract, (B) methanol extract. Filled square with dotted line is for control. Filled and empty squares with solid line are for red and green pepper juices, respectively.

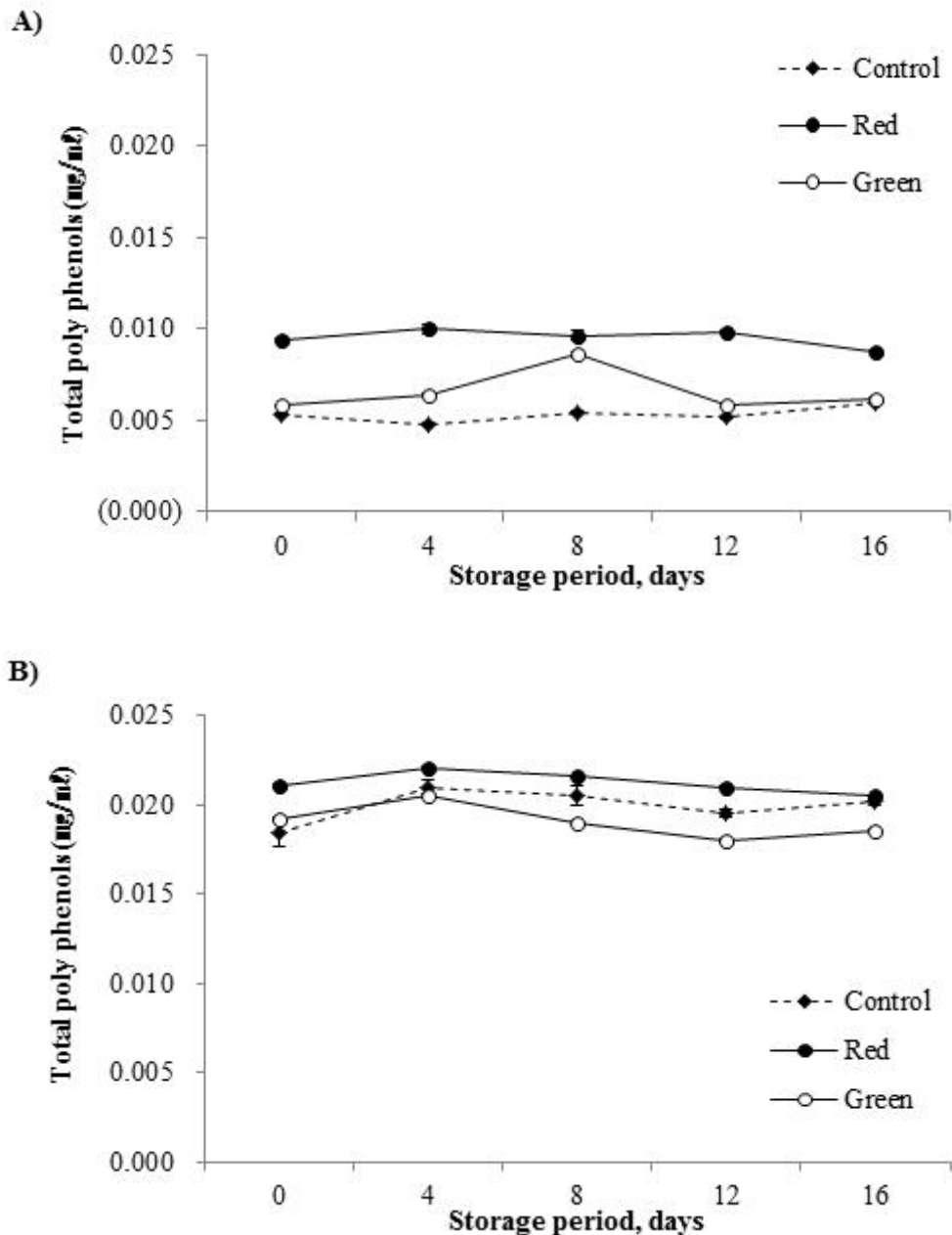


Fig. 19. Changes of total poly phenol contents during storage periods of yogurt with different fermented pepper juice. (A) Water extract, (B) methanol extract. Filled square with dotted line is for control. Filled and empty squares with solid line are for red and green pepper juices, respectively.

#### (7) 관능평가

발효 홍고추즙 3%와 발효 청고추즙 1%를 첨가하여 제조한 호상 요구르트를 16일간 저장 하여 4일 간격(0, 4, 8, 12, 16)으로 비교한 관능 평가 결과는 Table 7과 같다. 발효 고추즙을 첨가한 호상 요구르트는 4°C에서 저장한 것을 5점법으로 평가하였다. 발효 고추즙 첨가 요구르트는 맛(taste)에 있어서 차이가 매우 분명하게 나타났다. 발효 홍고추즙을 첨가한 호상 요구르트가 저장 기간에 관계없이 유의적으로 낮은 점수를 나타내었다( $p < 0.05$ ). 그러나 발효 청고추즙

을 첨가한 호상요구르트는 대조구에 비해 낮은 점수를 나타내다가, 저장 4일차에서는 대조구와 같은 점수를 나타내었다( $p>0.05$ ). 호상 요구르트의 향(flavor)은 발효 홍고추즙을 첨가한 처리구에서 저장 기간에 관계없이 유의적으로 낮은 점수를 나타내었다( $p<0.05$ ). 외형적 모양(appearance)에 있어서는 맛 평가의 결과와 비교할 때에 매우 흥미로운 결과를 나타내었다. 맛 평가에서 가장 낮은 점수를 받은 발효 홍고추 첨가 처리구가 외형적 모양에서는 대조구와 유의적인 차이를 나타내지 않았다. 반면 맛 평가에서 비교적 높은 점수를 획득한 발효 청고추 첨가 처리구의 외형적 모양 점수는 유의적으로 낮게 나타났었다( $p<0.05$ ). 요구르트의 조직감(texture)에 대하여서는 처리구별 및 저장 기간별 차이는 나타나지 않았다( $p>0.05$ ). 매운 맛(hot-taste)에 대한 평가는 저장 기간에 관계없이 홍고추를 첨가한 처리구에서 유의적으로 높게 나타났으며( $p<0.05$ ) 저장 기간에 따른 매운맛에 변화는 관찰할 수 없었다.

**Table 7. Sensory characteristics on storage periods of yogurt with different fermented pepper juice.**

Attributes	Storage period, days	Treatment		
		Control	Red	Green
Taste	0	4.86±0.38 <sup>A</sup>	2.86±0.38 <sup>aC</sup>	4.00±0.58 <sup>aB</sup>
	4	4.71±0.49 <sup>A</sup>	2.71±0.49 <sup>abB</sup>	4.14±0.90 <sup>aA</sup>
	8	4.86±0.38 <sup>A</sup>	2.71±0.49 <sup>abC</sup>	4.00±0.82 <sup>aB</sup>
	12	4.43±0.79 <sup>A</sup>	2.43±0.79 <sup>abC</sup>	3.43±0.53 <sup>abB</sup>
	16	4.29±0.76 <sup>A</sup>	2.14±0.69 <sup>bC</sup>	3.00±0.58 <sup>bB</sup>
Flavor	0	4.14±0.90 <sup>A</sup>	2.43±0.79 <sup>B</sup>	3.29±0.95 <sup>AB</sup>
	4	4.00±0.82 <sup>A</sup>	2.29±0.76 <sup>B</sup>	3.14±0.90 <sup>AB</sup>
	8	4.14±0.90 <sup>A</sup>	2.43±0.79 <sup>B</sup>	3.29±0.95 <sup>AB</sup>
	12	4.00±0.82 <sup>A</sup>	1.86±0.69 <sup>B</sup>	3.14±0.90 <sup>A</sup>
	16	3.43±0.53 <sup>A</sup>	1.86±0.69 <sup>B</sup>	2.86±0.90 <sup>A</sup>
Appearance	0	4.29±0.76 <sup>A</sup>	4.14±0.69 <sup>A</sup>	2.57±0.79 <sup>B</sup>
	4	4.14±0.90 <sup>A</sup>	4.00±0.58 <sup>A</sup>	2.71±0.49 <sup>B</sup>
	8	4.00±0.82 <sup>A</sup>	4.00±0.58 <sup>A</sup>	2.57±0.79 <sup>B</sup>
	12	3.86±0.69 <sup>A</sup>	3.71±0.49 <sup>A</sup>	2.43±0.79 <sup>B</sup>
	16	3.71±0.76 <sup>A</sup>	3.57±0.53 <sup>A</sup>	2.14±0.90 <sup>B</sup>
Texture	0	4.29±0.95	4.00±1.00	4.00±1.00
	4	4.00±1.15	3.86±0.90	3.86±0.90
	8	4.00±0.82	3.71±0.76	3.71±0.76
	12	3.86±1.07	3.71±0.76	3.71±0.76
	16	3.86±1.46	3.57±0.98	3.57±0.98

(Continued)

Attributes	Storage period, days	Treatment		
		Control	Red	Green
Hot taste	0	1.14±0.38 <sup>C</sup>	3.43±0.53 <sup>A</sup>	2.43±0.53 <sup>B</sup>
	4	1.29±0.49 <sup>C</sup>	3.29±0.49 <sup>A</sup>	2.29±0.49 <sup>B</sup>
	8	1.29±0.49 <sup>C</sup>	3.29±0.49 <sup>A</sup>	2.29±0.49 <sup>B</sup>
	12	1.29±0.49 <sup>C</sup>	3.29±0.49 <sup>A</sup>	2.29±0.49 <sup>B</sup>
	16	1.29±0.49 <sup>C</sup>	3.29±0.49 <sup>A</sup>	2.29±0.49 <sup>B</sup>
Overall acceptability	0	3.43±0.98	3.29±1.25	3.29±1.38
	4	3.57±0.98	3.43±1.13	3.57±1.51
	8	3.57±0.98	3.57±0.98	3.57±1.13
	12	3.29±0.95	3.14±1.46	3.29±1.70
	16	3.57±0.53	3.29±1.50	3.29±1.50

Mean ± standard deviation (n=7)

The different small letters in same column and capitalized letters in same row mean significantly different ( $p < 0.05$ ).

일련의 관능평가를 종합하여 평가한 결과, 발효 고추즙을 첨가한 호상요구르트(대조구)와 비교하여 유의적인 차이를 나타내지 않았다( $p > 0.05$ ). 결과적으로 발효 고추즙을 이용하여 제조한 호상요구르트는 관능 평가 상에서 큰 문제점을 나타내지 않았다. 이에 기능성 요구르트 제조를 위한 소재로서 훌륭하게 이용될 수 있을 것이다. 특히 발효 홍고추즙의 첨가는 비교적 강한 매운 맛에도 불구하고 외형적인 점수가 우수하게 나타났다. 따라서 독특한 맛을 선호하는 소비자들에 대하여 기호성이 있을 것으로 기대된다.

## 제 8 절 기능성축산식품의 인체적용시험

### 1. 불포화지방산(n-3)이 강화된 기능성축산식품 섭취 시 혈중 중성지방의 변화양상을 평가하는 인체적용시험

#### 가. 연구내용

##### (1) 연구목적

- 오메가-3 지방산 섭취가 돈육햄 섭취에 따른 식후중성지방 및 그 외 생체표지자의 변화에 미치는 영향을 관찰하여 그 유효성과 안전성을 비교 평가한다.

##### (2) 연구내용

###### (가) 피험자 선정

- 연령이 만 20세 이상 60세 이하인 건강한 성인
- 체중이 50kg 이상이면서, 이상체중(ideal body weight)의  $\pm 30\%$  이내의 체중을 지닌 자
- 12시간 공복 중성지방 수치가 200mg/dL 이하인 자
- 인체적용시험에 대한 자세한 설명을 듣고 완전히 이해한 후, 자의로 참여를 결정하고 주의사항을 준수하기로 서면 동의한 자

###### (나) 연구 방법

###### ① 시험디자인

- 본 연구는 총 10명의 건강한 피험자에서 오메가-3 지방산 섭취가 돈육햄 섭취 후 식후 중성지방의 변화에 미치는 영향을 평가하기 위한 3주간 무작위배정, 이중눈가림, 평행군-비교 인체적용시험이다. 피험자는 자의적 서면동의하에 인체적용시험에 참여하였고, 스크리닝 방문에서 선정/제외기준을 평가받았다. 시험자는 1차방문일(기초평가일)에 피험자를 등록하고 오메가-3 중용량군(5명)과 오메가-3 고용량군(5명)에 무작위배정하였다. 피험자는 1차방문일에 기초평가(baseline)를 완료한 후 시험용제품(오메가-3 중용량 또는 오메가-3 고용)을 1일 2회, 매일 섭취하며 인체적용시험에 참여하였고 3주 후 센터에 재방문하여 계획서에 명시한 검사 등을 수행하였다.



그림 1. 인체적용시험 디자인

② 섭취량 및 섭취방법

㉠ 섭취량

- 오메가-3 지방산 중용량(아침, 저녁 식후 경구 섭취)  
: 1일 오메가-3 지방산 2캡슐(오메가-3 785mg/일) + 플라세보 2캡슐
- 오메가-3 지방산 고용량(아침, 저녁 식후 경구 섭취)  
: 1일 오메가-3 지방산 4캡슐(오메가-3 1569.2mg/일)

㉡ 섭취방법

- 피험자는 제공되는 인체적용시험용 제품을 1일 2회(4캡슐/일) 섭취한다.

③ 평가항목

㉠ 1차 유효성 평가 항목

- 혈중 중성지방(돈육햄 섭취 전(0시간), 섭취 후 1, 2, 3, 4, 5, 6시간)

㉡ 2차 유효성 평가 항목

- 총콜레스테롤, HDL-콜레스테롤, LDL-콜레스테롤

㉢ 안전성 평가 항목

- 이상반응 모니터링, 신체검진, 진단검사의학 검사, 심전도, 활력징후

\*유효성평가방법(지질부하검사)

: 피험자들은 시험기간 동안 과도한 지방, 알코올 및 오메가-3가 많이 들어있는 식품을 제한하도록 식사 교육을 실시하였으며, 식이섭취조사를 통해 이를 확인하였다. 시험일에 피험자들은 인체적용시험용 돈육햄 134g(약 596kcal)을 약 10~15분 사이에 모두 섭취하였다. 섭취 전(0시간)과 섭취 후 1, 2, 3, 4, 5, 6시간에 채혈하여 혈중 중성지방 수치를 분석하였다.

## 나. 연구결과

### (1) 인구학적 정보

- 인체적용시험에 참여한 피험자는 총 10명이며, 무작위배정에 따라 오메가-3 중용량군(5명), 오메가-3 고용량군(5명)으로 나뉘었다. 피험자의 인구학적 정보를 표 1에 요약하였다. 피험자들의 인구학적 정보에서 연령, 신장, 체중은 두 섭취군 간 통계적으로 유의한 차이가 없었다. 이를 통해 두 섭취군의 무작위배정이 잘 이루어졌다고 판단하였다.

표 1. 인구학적 정보

	오메가-3 중용량군(n=5)	오메가-3 고용량군(n=5)	Total (n=10)	p-value <sup>1)</sup>
나이(세)	22.40±1.14	22.00±0.71	22.20±0.92	0.524
신장(cm)	174.12±4.29	179.14±3.60	176.63±4.58	0.080
체중(kg)	64.84±4.22	68.42±8.42	66.63±6.56	0.420

<sup>1)</sup>Independent t-test

### (2) 1차 유효성 평가: 식후 중성지방 농도 변화

- 인체적용시험용 제품(오메가-3 중용량, 오메가-3 고용량) 섭취 전과 섭취 3주 후의 혈중 중성지방의 변화를 표 2에 요약하였다.

시험 결과, 오메가-3 고용량군에서 식후 3시간째 식후중성지방 농도가 시험제품 섭취 전에 비해 섭취 3주 후 유의하게 증가하였다. 또한 오메가-3 중용량군과 오메가-3 고용량군 모두에서 중성지방의 iAUC가 시험제품 섭취 전에 비해 섭취 3주 후 유의하게 증가하였다. 그 외 항목에서는 섭취 전 · 후 비교 시, 그리고 시험군 간 비교 시 통계적으로 유의한 차이가 없었다.

표 2. 인체적용시험용제품 섭취 전 · 섭취 3주 후 지질부하검사 시 혈중 중성지방 변화

	ω-3 중용량군 (n=5)			ω-3 고용량군 (n=5)			p-value <sup>2)</sup>
	0 주	3 주	p-value <sup>1)</sup>	0 주	3 주	p-value <sup>1)</sup>	
<b>중성지방 (mg/dL)</b>							
0hour	89.20 ±35.55	106.40 ±52.66	0.272	64.60 ±15.87	78.00 ±35.06	0.236	0.821
1hour	84.80 ±34.26	99.40 ±47.57	0.298	63.60 ±25.30	76.00 ±35.61	0.177	0.882
2hour	136.80	156.60	0.396	101.60	139.20	0.063	0.505

	±30.78	±71.23		±18.69	±36.44		
3hour	217.20	245.60	0.191	145.40	227.00	<0.05*	0.161
	±74.08	±91.65		±47.11	±47.34		
4hour	226.80	289.20	0.072	156.00	235.80	0.064	0.679
	±90.97	±134.00		±50.53	±54.18		
5hour	213.40	296.60	0.083	150.00	199.60	0.252	0.534
	±102.64	±165.49		±45.89	±66.77		
6hour	190.20	291.40	0.063	133.80	181.40	0.389	0.422
	±101.54	±184.76		±46.93	±85.10		
iAUC	22.34	45.22	<0.01**	20.03	49.69	<0.001***	0.277
	±9.84	±15.17		±7.29	±9.63		
C <sub>max</sub>	233.40	316.80	0.093	158.80	241.40	0.052	0.987
	±86.50	±162.93		±47.76	±50.50		
T <sub>max</sub>	4 <sup>a</sup> (3 <sup>b</sup> -6 <sup>c</sup> )	5 (3-6)	0.178	4 (3-4)	3 (3-5)	1.000	0.347

Values are presented a mean±SD

<sup>1</sup>)Paired *t*-test, <sup>2</sup>)Linear mixed model for repeated measures data, \*\**p*<0.01, \*\*\**p*<0.001

<sup>a</sup>median value, <sup>b</sup>minimum value, <sup>c</sup>maximum value

(3) 2차 유효성 평가: 혈중지질(총콜레스테롤, HDL-콜레스테롤, LDL-콜레스테롤)

- 인체적용시험용 제품(오메가-3 중용량, 오메가-3 고용량) 섭취 전과 섭취 3주 후의 혈중지질의 변화를 표 3에 요약하였다.

시험 결과, 오메가-3 고용량군에서 시험제품 섭취 전에 비해 섭취 3주 후 총콜레스테롤이 통계적으로 유의하여 두 군 간 유의한 차이가 있었다. 그 외 항목에서는 섭취 전 · 후 비교 시, 그리고 시험군 간 비교 시 통계적으로 유의한 차이가 없었다.

표 3. 인체적용시험용제품 섭취 전 · 섭취 3주 후 혈중 지질 변화



	$\omega$ -3 중용량군 (n=5)			$\omega$ -3 고용량군 (n=5)			<i>p</i> -value <sup>2)</sup>
	0 주	3 주	<i>p</i> -value <sup>1)</sup>	0 주	3 주	<i>p</i> -value <sup>1)</sup>	
총콜레스테롤 (mg/dL)	130.60 ±21.44	139.00 ±21.00	0.073	141.80 ±25.58	164.60 ±34.67	0.006**	0.033
중성지방 (mg/dL)	89.20 ±35.55	106.40 ±52.66	0.236	64.60 ±15.87	78.00 ±35.06	0.272	0.821
HDL-콜레스테롤 (mg/dL)	48.00 ±14.63	48.40 ±15.42	0.757	47.00 ±4.64	55.00 ±11.77	0.075	0.065
LDL-콜레스테롤 (mg/dL)	63.00 ±16.69	69.40 ±21.27	0.266	78.80 ±24.20	89.20 ±29.72	0.062	0.550

Values are presented a mean±SD

<sup>1)</sup>Paired *t*-test, <sup>2)</sup>Linear mixed model for repeated measures data, \*\**p*<0.01, \*\*\**p*<0.001

#### (4) 식이섭취조사 결과

- 혈중지질, 특히 중성지방은 식이섭취 영향을 많이 받으므로 인체적용시험에 참여한 피험자들에게 시험기간 과도한 지방, 알코올 및 오메가-3가 많이 함유되어 있는 식품 섭취를 제한하도록 식사교육을 실시하였으며 식이섭취조사를 통해 이를 확인하였다. 피험자로 하여금 유효성 평가일(방문일) 전 일주일 동안 식이 기록지를 작성하도록 하여 식이섭취 분석을 하였고, 피험자들이 일정하고 동일한 식사를 할 수 있는 조건을 만들기 위하여 평가일(방문일) 전 3일 동안 전북대학교병원 기능성식품 임상시험지원센터에서 매끼 식사를 제공하였다. 피험자들의 식이섭취조사 결과를 표 4에 요약하였다.

분석 결과, 두 군 모두에서 섭취 열량을 비롯한 다량영양소 섭취에 있어서 인체적용시험용 제품 섭취 전과 섭취 3주 후에 통계적으로 유의한 차이가 없었고, 두 섭취군 간 통계적으로 유의한 차이가 없었다.

표 4. 인체적용시험용제품 섭취 전 · 섭취 3주 후 식이섭취 변화

	$\omega$ -3 중용량군 (n=5)			$\omega$ -3 고용량군 (n=5)			<i>p</i> -value <sup>2)</sup>
	0 주	3 주	<i>p</i> -value <sup>1)</sup>	0 주	3 주	<i>p</i> -value <sup>1)</sup>	
열량 (kcal)	1559.32 ±420.80	1387.87 ±188.14	0.470	1374.80 ±260.41	1196.52 ±172.10	0.149	0.978
탄수화물 (g)	55.16 ±10.56	53.44 ±3.21	0.279	52.70 ±13.20	45.05 ±7.68	0.270	0.759
단백질 (g)	44.68 ±10.92	45.75 ±8.48	0.789	39.13 ±10.39	34.22 ±14.26	0.082	0.413

지질 (g)	234.16 ±71.07	198.96 ±36.85	0.908	203.33 ±41.42	178.93 ±10.77	0.329	0.555
-----------	------------------	------------------	-------	------------------	------------------	-------	-------

Values are presented a mean±SD

<sup>1)</sup>Paired *t*-test, <sup>2)</sup>Linear mixed model for repeated measures data, \*\**p*<0.01, \*\*\**p*<0.001

(5) 안전성 평가

- 안전성 평가를 위하여 인체적용시험용 제품(오메가-3 중용량, 오메가-3 고용량) 섭취 전과 섭취 3주 후에 이상반응 확인, 신체검진, 활력징후, 진단검사의학 검사, 심전도 검사 등을 수행하였다. 활력징후와 진단검사의학 검사의 기술통계학적 결과를 표 5, 6, 7에 요약하였다.

인체적용시험용 제품 섭취 후 임상 및 통계적으로 유의한 이상반응은 나타나지 않았다.

활력징후 측정 결과, 오메가-3 고용량군에서 제품 섭취 전에 비해 섭취 3주 후 지질부하검사 전에 측정한 활력징후에서 이완기혈압이 통계적으로 유의하게 감소하였고(*p*=0.047), 지질부하검사 후에 측정한 활력징후에서 수축기혈압이 통계적으로 유의하게 감소하였다(*p*=0.045). 그러나 임상적 의미가 없는 변화라고 판단하였다.

진단검사의학 검사 결과, 오메가-3 중용량군에서 Hb, Hct, creatinine이 시험제품 섭취 전에 비해 복용 3주 후 통계적으로 유의하게 감소하였고(*p*=0.040, *p*=0.015, *p*=0.004), 오메가-3 고용량군에서 RBC, Hb, Hct, creatinine이 시험제품 섭취 전에 비해 복용 3주 후 통계적으로 유의하게 감소하였다(*p*=0.006, *p*=0.001, *p*=0.007, *p*=0.026). 그러나 모두 참고치 범위 내 변화이므로 임상적 의미가 없다고 판단하였다. 기타 항목에서는 인체적용시험용 제품 섭취 전 · 섭취 3주 후와 두 섭취군 간 통계적으로 유의한 차이가 없었다.

심전도 및 신체검진 결과, 시험 기간 동안 임상적으로 의미 있는 변화가 발생하지 않았다.

표 5. 인체적용시험용제품 섭취 전 · 섭취 3주 후 활력징후 변화(지질부하 검사 전)

	ω-3 중용량군 (n=5)			ω-3 고용량군 (n=5)			<i>p</i> -value <sup>2)</sup>
	0 주	3 주	<i>p</i> -value <sup>1)</sup>	0 주	3 주	<i>p</i> -value <sup>1)</sup>	
수축기혈압 (mmHg)	116.40 ±16.95	122.00 ±10.56	0.492	123.20 ±14.48	123.60 ±15.88	0.920	0.549
이완기혈압 (mmHg)	66.40 ±9.61	72.60 ±6.77	0.372	76.20 ±11.67	69.40 ±8.93	0.047*	0.085
맥박수 (회/분)	68.40 ±10.50	72.20 ±8.04	0.610	74.40 ±9.79	74.60 ±7.23	0.952	0.646

Values are presented a mean±SD

<sup>1)</sup>Paired *t*-test, <sup>2)</sup>Linear mixed model for repeated measures data, \**p*<0.05

표 6. 인체적용시험용제품 섭취 전 · 섭취 3주 후 활력징후 변화(지질부하검사 후; 식후 6시간)

	ω-3 중용량군 (n=5)			ω-3 고용량군 (n=5)			<i>p</i> -value <sup>2)</sup>
	0 주	3 주	<i>p</i> -value <sup>1)</sup>	0 주	3 주	<i>p</i> -value <sup>1)</sup>	
수축기혈압 (mmHg)	117.00 ±14.51	122.80 ±17.37	0.721	121.80 ±13.07	120.20 ±9.91	0.045*	0.646
이완기혈압 (mmHg)	64.40 ±14.15	70.20 ±10.08	0.444	58.80 ±8.90	62.00 ±2.74	0.150	0.616
맥박수 (회/분)	72.20 ±8.35	75.00 ±8.46	0.761	74.80 ±4.82	76.00 ±12.27	0.570	0.791

Values are presented a mean±SD

<sup>1)</sup>Paired *t*-test, <sup>2)</sup>Linear mixed model for repeated measures data, \*\**p*<0.01

표 7. 인체적용시험용제품 섭취 전 · 섭취 3주 후 진단검사의학검사 항목 변화

	ω-3 중용량군 (n=5)			ω-3 고용량군 (n=5)			<i>p</i> -value <sup>2)</sup>
	0 주	3 주	<i>p</i> -value <sup>1)</sup>	0 주	3 주	<i>p</i> -value <sup>1)</sup>	
WBC [4.8~10.8×10 <sup>3</sup> /μl]	5.66 ±1.60	7.03 ±1.89	0.074	5.10 ±1.16	5.73 ±1.23	0.286	0.363
RBC [4.7~6.1×10 <sup>3</sup> /μl]	5.17 ±0.24	5.02 ±0.19	0.079	5.24 ±0.19	5.06 ±0.21	0.006**	0.724
Hemoglobin [13~18 g/dl]	16.02 ±0.44	15.48 ±0.66	0.040*	16.26 ±0.62	15.54 ±0.62	0.001**	0.394
Hematocrit [42~52%]	45.96 ±0.81	44.08 ±0.93	0.015*	46.42 ±1.71	44.56 ±1.72	0.007**	0.974
MCV [81~99 fL]	89.10 ±5.19	87.92 ±4.33	0.199	88.68 ±0.96	88.06 ±1.54	0.560	0.664
MCH [27~32 pg]	31.10 ±2.21	30.90 ±2.37	0.230	31.08 ±0.47	30.72 ±0.51	0.002	0.318
MCHC [33~37 g/dl]	34.86 ±0.77	35.10 ±0.93	0.470	35.04 ±0.59	34.88 ±0.88	0.683	0.422
Platelet [130~450×10 <sup>3</sup> /μl]	252.60 ±29.03	241.00 ±36.86	0.177	218.80 ±34.39	208.80 ±36.23	0.249	0.880
ALP [45~129IU/L]	61.80 ±8.20	64.40 ±10.06	0.324	64.20 ±17.74	60.40 ±13.74	0.279	0.133
GGT [12~73 IU/L]	15.20 ±3.90	14.00 ±2.45	0.596	15.60 ±4.16	15.80 ±5.40	0.847	0.559
AST [12~33IU/L]	17.60 ±4.04	17.60 ±5.68	1.000	15.60 ±3.51	16.20 ±4.27	0.646	0.845
ALT	10.20	14.40	0.152	13.80	14.40	0.736	0.249

[5~35IU/L]	±3.03	±5.77		±2.59	±4.04		
<b>Total bilirubin</b>	0.97	0.81		1.02	1.02		
[0.2~1.2mg/dl]	±0.43	±0.38	0.163	±0.36	±0.21	0.976	0.317
<b>Total protein</b>	7.12	6.66		7.28	7.14		
[6.7~8.3g/dl]	±0.13	±0.38	0.084	±0.37	±0.22	0.481	0.271
<b>Albumin</b>	4.46	4.34		4.62	4.52		
[3.5~5.3g/dl]	±0.15	±0.22	0.236	±0.19	±0.13	0.394	0.886
<b>BUN</b>	12.80	15.60		9.20	10.60		
[8~23mg/dl]	±1.30	±4.51	0.221	±0.84	±0.89	0.052	0.504
<b>Creatinine</b>	0.86	0.80		0.78	0.71		
[0.7~1.7mg/dl]	±0.12	±0.12	0.004**	±0.05	±0.08	0.026*	0.559
<b>Glucose</b>	81.20	3.19		88.80	81.20		
[76~100mg/dl]	±3.19	±5.96	0.958	±4.82	±6.53	0.115	0.193

Values are presented a mean±SD

<sup>1)</sup>Paired *t*-test, <sup>2)</sup>Linear mixed model for repeated measures data, \*\**p*<0.01, \*\*\**p*<0.001

## (6) 결론

- 본 연구는 건강한 성인 피험자를 대상으로 오메가-3 지방산 섭취가 근육량 섭취 후 식후 중성지방의 변화에 미치는 영향을 평가하기 위한 무작위배정, 이중눈가림, 평행군, 비교 인체적용시험으로 총 10명의 피험자를 대상으로 유효성 및 안전성 평가를 시행하였다.

유효성 평가 결과, 지질부하검사 후 혈중 중성지방 iAUC가 오메가-3 중용량군(0.78g/일)과 오메가-3 고용량군(1.50g/일) 모두에서 섭취 전에 비해 섭취 3주 후 통계적으로 유의하게 증가하였고(*p*<0.01, *p*<0.001), 공복 총콜레스테롤이 오메가-3 고용량군에서 시험제품 섭취 전에 비해 섭취 3주 후 유의하게 증가하였다(*p*=0.006).

피험자들의 식이섭취 분석 결과, 열량을 비롯한 다량영양소가 시험용제품 섭취 전과 섭취 3주 후를 비교 시 통계적으로 유의한 차이가 없어 식이섭취가 연구결과에 미친 영향은 미미하였을 것이라 판단하였다.

안전성 평가를 위해 이상반응, 진단검사의학 검사, 활력징후 및 신체계측 등의 변화를 분석한 결과, 시험용제품에 의한 임상적으로 유의한 변화가 없어 중용량 및 고용량 오메가-3 지방산 섭취가 인체에 안전함을 확인하였다.

요약하면, 본 연구를 통해 3주간 중용량 및 고용량 오메가-3 지방산 섭취가 공복 혈중 지질 개선 및 식후중성지방 개선에 유효함을 증명할 수 없었다.

## 2. 이소플라본이 강화된 기능성축산식품 섭취 시 혈중 지질의 변화양상을 평가하는 인체적용시험

### 가. 연구내용

#### (1) 연구목적

- 혈중 지질 상승을 동반한 갱년기 여성에서 이소플라본강화살라미 또는 일반살라미 섭취가 혈중 지질 및 갱년기 지표 변화에 미치는 영향을 관찰하여 그 유효성과 안전성을 비교 평가한다.

#### (2) 연구내용

##### (가) 피험자 선정

- 연령이 만 40세 이상 65세 이하인 성인 여성
- 갱년기장애 증상이 있으며 다음 2가지를 만족하는 자
  - 월경이 12개월 이상 지속적으로 없는 자
  - 쿠퍼만지수(Modified Kupperman's index)가 20점 이상인 자
- 공복채혈검사에서 총콜레스테롤 200~260mg/dL 또는 LDL-콜레스테롤 110~190mg/dL 인 자
- 인체적용시험에 대한 자세한 설명을 듣고 완전히 이해한 후, 자의로 참여를 결정하고 주의사항을 준수하기로 서면 동의한 자

##### (나) 연구 방법

#### ① 시험디자인

- 본 연구는 총 20명의 혈중 지질 상승을 동반한 갱년기 여성에서 이소플라본강화살라미 섭취가 혈중지질 및 갱년기 지표 변화에 미치는 영향을 평가하기 위한 4주간, 무작위배정, 이중눈가림, 평행군-비교 인체적용시험이다. 피험자는 자의적 서면동의 하에 인체적용시험에 참여하였고, 스크리닝 방문에서 선정/제외기준을 평가받았다. 시험자는 1차방문일(기초평가일)에 피험자를 등록하고 이소플라본강화살라미군(10명)과 일반살라미(10명)에 무작위배정하였다. 피험자는 1차방문일에 기초평가(baseline)를 완료한 후 1일 20g에 해당하는 시험용제품(이소플라본강화살라미 또는 일반살라미)을 매일 섭취하며 시험에 참여하였고 4주 후 센터에 재방문하여 계획서에 명시한 검사 등을 수행하였다.

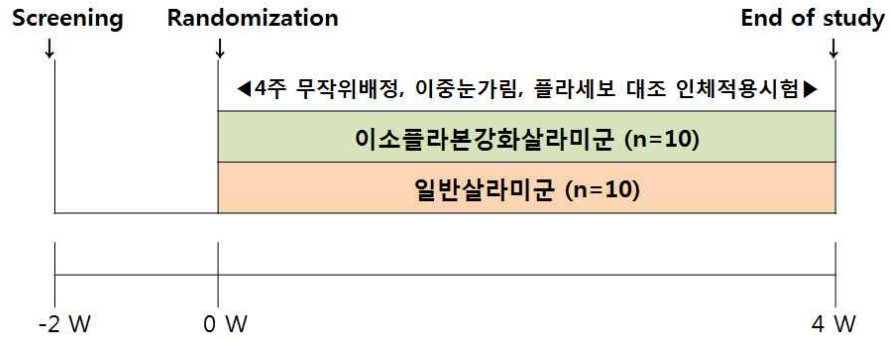


그림 2. 인체적용시험 디자인

② 섭취량 및 섭취방법

㉠ 섭취량

- 이소플라본강화살라미  
: 1일 20g(이소플라본 50mg/일)
- 일반살라미  
: 1일 20g

㉡ 섭취방법

- 피험자는 제공되는 인체적용시험용 제품을 매일 20g 섭취한다.

③ 평가항목

㉠ 1차 유효성 평가 항목

- 혈중 지질(총콜레스테롤, 중성지방, HDL-콜레스테롤, LDL-콜레스테롤)

㉡ 2차 유효성 평가 항목

- 혈중 아포지단백(Apo-A I, Apo-B)
- 갱년기지수(Modified Kupperman's Index)
- 여성호르몬(E2, FSH)

㉢ 안전성 평가항목

- 이상반응 모니터링, 신체검진, 진단검사의학 검사, 심전도, 활력징후

## 나. 연구결과

### (1) 인구학적 정보

- 인체적용시험에 참여한 피험자는 총 20명이며, 무작위배정에 따라 이소플라본살라미군(10명), 일반살라미군(10명)으로 나뉘었다. 피험자의 인구학적 정보를 표 8에 요약하였다. 피험자들의 인구학적 정보에서 연령, 신장, 체중은 두 섭취군 간 통계적으로 유의한 차이가 없었다. 이를 통해 두 섭취군의 무작위배정이 잘 이루어졌다고 판단하였다.

표 8. 인구학적 정보

	이소플라본살라미군(n=10)	일반살라미군(n=10)	Total (n=10)	p-value <sup>1)</sup>
나이(세)	54.70±3.62	54.40±2.91	54.55±3.20	0.939
신장(cm)	156.90±4.95	155.00±3.33	155.95±4.22	0.566
체중(kg)	57.76±7.73	58.04±6.38	57.90±6.90	0.910

<sup>1)</sup>Wilcoxon rank-sum test, <sup>2)</sup>Fisher's exact test

### (2) 1차 유효성 평가: 혈중지질 변화

- 인체적용시험용제품(이소플라본강화살라미, 일반살라미) 섭취 전과 섭취 4주 후의 혈중지질의 변화를 표 9에 요약하였다.

시험 결과, 혈중 중성지방이 플라세보군에서 섭취 전에 비해 섭취 4주 후 감소하여 ( $p=0.004$ ) 시험군 간 통계적으로 유의한 차이가 있었다( $p=0.047$ ). 그 외 항목에서는 섭취 전 · 후 비교 시, 그리고 시험군 간 비교 시 통계적으로 유의한 차이가 없었다.

표 9. 인체적용시험용제품 섭취 전 · 섭취 4주 후 혈중지질 변화

	이소플라본강화살라미군 (n=10)			일반살라미군 (n=10)			p-value <sup>2)</sup>
	0 주	4 주	p-value <sup>1)</sup>	0 주	4 주	p-value <sup>1)</sup>	
총콜레스테롤 (mg/dL)	218.20 ±20.59	221.60 ±21.20	0.820	212.90 ±24.01	220.80 ±23.15	0.131	0.640
중성지방 (mg/dL)	109.40 ±37.18	102.00 ±41.17	0.787	149.10 ±48.61	110.30 ±22.55	0.004*	0.047*
HDL-콜레스테롤 (mg/dL)	55.00 ±10.80	56.50 ±13.66	0.471	48.80 ±7.89	51.30 ±7.53	0.109	0.752
LDL-콜레스테롤 (mg/dL)	131.90 ±15.70	135.10 ±16.37	0.449	132.60 ±14.65	143.00 ±19.96	0.115	0.326

Values are presented a mean±SD

<sup>1)</sup>Wilcoxon signed-rank test, <sup>2)</sup>Linear mixed model for repeated measures data, \* $p < 0.05$

(3) 2차 유효성 평가

(가) 아포지단백 변화

- 인체적용시험용제품(이소플라본강화살라미, 일반살라미) 섭취 전과 섭취 4주 후의 아포지단백의 변화를 표 10에 요약하였다.  
시험 결과, Apo-A I 과 Apo-B는 섭취 전 · 후 비교 시, 그리고 시험군 간 비교 시 통계적으로 유의한 차이가 없었다.

표 10. 인체적용시험용제품 섭취 전 · 섭취 4주 후 아포지단백 변화

	이소플라본강화살라미군 (n=10)			일반살라미군 (n=10)			$p$ -value <sup>2)</sup>
	0 주	4 주	$p$ -value <sup>1)</sup>	0 주	4 주	$p$ -value <sup>1)</sup>	
<b>Apo-AI</b> (g/L)	1.42 ±0.16	1.46 ±0.20	0.301	1.39 ±0.18	1.41 ±0.19	0.652	0.846
<b>Apo-B</b> (g/L)	1.14 ±0.15	1.14 ±0.14	0.676	1.20 ±0.13	1.18 ±0.16	0.656	0.664

Values are presented a mean±SD

<sup>1)</sup>Wilcoxon signed-rank test, <sup>2)</sup>Linear mixed model for repeated measures data

(나) 갱년기증상 지수 변화

- 인체적용시험용제품(이소플라본강화살라미, 일반살라미) 섭취 전과 섭취 4주 후의 쿠퍼만지수(Modified Kupperman's index)의 변화를 표 11에 요약하였다.  
시험 결과, 쿠퍼만지수는 이소플라본살라미군과 플라세보군 모두에서 시험용제품 섭취 전에 비해 섭취 4주 후 유의하게 감소하였으나 두 섭취군 간 통계적으로 유의한 차이는 없었다.

표 11. 인체적용시험용제품 섭취 전 · 섭취 4주 후 아포지단백 변화

	이소플라본강화살라미군 (n=10)			일반살라미군 (n=10)			$p$ -value <sup>2)</sup>
	0 주	4 주	$p$ -value <sup>1)</sup>	0 주	4 주	$p$ -value <sup>1)</sup>	
<b>갱년기증상 지수</b> <b>(쿠퍼만지수)</b>	32.90 ±9.16	22.50 ±14.13	0.039*	28.80 ±5.47	15.80 ±7.70	0.010*	0.650

Values are presented a mean±SD

<sup>1)</sup>Wilcoxon signed-rank test, <sup>2)</sup>Linear mixed model for repeated measures data, \* $p < 0.05$



(다) 여성호르몬 변화

- 인체적용시험용제품(이소플라본강화살라미, 일반살라미) 섭취 전과 섭취 4주 후 여성호르몬(FSH, E2) 변화를 표 12에 요약하였다.  
시험 결과, FSH와 E2는 섭취 전 · 후 비교 시, 섭취군 간 비교 시 통계적으로 유의한 차이가 없었다.

표 12. 인체적용시험용제품 섭취 전 · 섭취 4주 후 여성호르몬 변화

	이소플라본강화살라미군 (n=10)			일반살라미군 (n=10)			p-value <sup>2)</sup>
	0 주	4 주	p-value <sup>1)</sup>	0 주	4 주	p-value <sup>1)</sup>	
<b>FSH</b> (mIU/dL)	92.52 ±34.29	89.24 ±40.53	1.000	81.80 ±32.25	84.20 ±33.87	0.625	0.560
<b>E2</b> (pg/mL)	8.21 ±3.90	7.93 ±4.59	0.938	5.95 ±2.39	6.10 ±3.37	0.750	0.729

Values are presented a mean±SD

<sup>1)</sup>Wilcoxon signed-rank test, <sup>2)</sup>Linear mixed model for repeated measures data, \*p<0.05

(4) 안전성 평가

- 안전성 평가를 위하여 인체적용시험용 제품(이소플라본강화살라미, 일반살라미) 섭취 전과 섭취 4주 후에 이상반응 확인, 신체검진, 활력징후, 진단검사의학 검사, 심전도 검사 등을 수행하였다. 활력징후와 진단검사의학 검사의 기술통계학적 결과를 표 13, 14에 요약하였다.

인체적용시험용 제품 섭취 후 임상적, 통계적으로 유의한 이상반응은 나타나지 않았다.

활력징후 측정 결과, 인체적용시험용 제품 섭취 전 · 후 비교 시, 섭취군 간 비교 시 통계적으로 유의한 차이가 없었다.

진단검사의학 검사 결과, WBC, Platelet이 이소플라본살라미군에서 증가하고 일반살라미군에서 감소하여 두 섭취군 간 통계적으로 유의한 차이가 있었다(p=0.050, p=0.032). Albumin은 이소플라본살라미군 내에서 유의하게 증가하였으나 두 섭취군 간 통계적으로 유의한 차이는 없었으며, 참고치 범위 내에서 일어난 임상적 의미가 없는 변화라고 판단하였다. 기타 항목에서는 인체적용시험용 제품 섭취 전 · 섭취 4주 후와 두 섭취군 간 통계적으로 유의한 차이가 없었다.

심전도 및 신체검진 결과, 시험 기간 임상적으로 의미 있는 변화가 발생하지 않았다.

표 13. 인체적용시험용제품 섭취 전 · 섭취 3주 후 활력징후 변화(지질부하 검사 전)

	이소플라본강화살라미균 (n=10)			일반살라미균(n=10)			<i>p</i> -value <sup>2)</sup>
	0 주	4 주	<i>p</i> -value <sup>1)</sup>	0 주	4 주	<i>p</i> -value <sup>1)</sup>	
	수축기혈압 (mmHg)	122.20 ±12.91	117.40 ±12.58	0.164	117.70 ±10.84	115.70 ±8.10	
이완기혈압 (mmHg)	78.50 ±8.87	74.90 ±10.74	0.422	76.80 ±7.41	75.40 ±9.32	0.539	0.521
맥박수 (회/분)	67.10 ±6.56	68.20 ±6.76	0.391	68.90 ±6.06	68.30 ±8.56	0.906	0.489

Values are presented a mean±SD

<sup>1)</sup>Wilcoxon signed-rank test, <sup>2)</sup>Linear mixed model for repeated measures data

표 14. 인체적용시험용제품 섭취 전 · 섭취 3주 후 진단검사의학 검사 항목 변화

	이소플라본강화살라미균 (n=10)			일반살라미균 (n=10)			<i>p</i> -value <sup>2)</sup>
	0 주	4 주	<i>p</i> -value <sup>1)</sup>	0 주	4 주	<i>p</i> -value <sup>1)</sup>	
	WBC [4.8~10.8×10 <sup>3</sup> /μl]	4.34 ±0.69	4.63 ±0.86	0.232	4.87 ±1.10	4.55 ±0.75	
RBC [4.7~6.1×10 <sup>3</sup> /μl]	4.18 ±0.23	4.24 ±0.21	0.150	4.32 ±0.29	4.32 ±0.26	0.576	0.306
Hemoglobin [13~18 g/dl]	12.76 ±0.81	12.95 ±0.74	0.141	13.19 ±0.67	13.23 ±0.73	1.000	0.324
Hematocrit [42~52%]	38.54 ±2.14	39.19 ±1.89	0.098	39.71 ±1.81	39.91 ±2.06	0.863	0.404
Platelet [130~450×10 <sup>3</sup> /μl]	249.70 ±33.79	268.80 ±36.90	0.008*	252.70 ±38.55	255.80 ±39.59	0.551	0.032*
ALP [45~129IU/L]	72.40 ±12.24	74.40 ±11.59	0.383	61.90 ±9.87	61.50 ±11.67	0.797	0.409
GGT [12~73 IU/L]	17.40 ±11.60	16.50 ±8.17	0.711	22.10 ±9.16	23.00 ±9.12	1.000	0.494
AST [12~33IU/L]	24.20 ±5.55	22.40 ±6.43	0.182	23.30 ±5.03	21.70 ±5.46	0.102	0.908
ALT [5~35IU/L]	20.70 ±7.90	16.90 ±6.45	0.059	22.50 ±14.62	21.80 ±13.77	0.547	0.188
Total bilirubin [0.2~1.2mg/dl]	0.85 ±0.27	0.89 ±0.32	0.719	0.83 ±0.35	0.82 ±0.27	0.865	0.616
Total protein [6.7~8.3g/dl]	7.22 ±0.40	7.37 ±0.39	0.012	7.26 ±0.21	7.35 ±0.35	0.371	0.491
Albumin [3.5~5.3g/dl]	4.26 ±0.14	4.35 ±0.14	0.031*	4.40 ±0.12	4.46 ±0.13	0.156	0.563
BUN [8~23mg/dl]	15.20 ±2.62	16.00 ±4.11	0.797	14.40 ±2.99	15.70 ±2.87	0.166	0.764

<b>Creatinine</b>	0.65	0.65		0.65	0.65		
[0.7~1.7mg/dl]	±0.05	±0.06	0.607	±0.08	±0.05	0.750	0.792
<b>Glucose</b>	90.60	89.10		87.20	89.70		
[76~100mg/dl]	±7.43	±7.72	0.500	±5.35	±6.72	0.109	0.080

Values are presented a mean±SD

<sup>1)</sup>Wilcoxon signed-rank test, <sup>2)</sup>Linear mixed model for repeated measures data, \* $p<0.05$

##### (5) 결론

- 본 연구는 혈중지질 상승을 동반한 갱년기 여성을 대상으로 이소플라본강화살라미 섭취가 혈중지질의 변화에 미치는 영향을 평가하기 위한 무작위배정, 이중눈가림, 평행군, 플라세보-비교 인체적용시험으로 총 20명의 피험자를 대상으로 유효성 및 안전성평가를 시행하였다.

유효성 평가 결과, 혈중지질, 아포지단백 및 여성호르몬 변화가 두 섭취군 간 통계적으로 유의한 차이가 없었다. 혈중 중성지방은 플라세보군에서 감소하여 두 섭취군 간 통계적으로 유의한 차이가 있었다. 갱년기증상 지수(쿠퍼만지수)는 이소플라본강화살라미군과 플라세보군 모두에서 섭취 전에 비해 섭취 4주 후 감소하였으나 두 섭취군 간 통계적으로 유의한 차이는 없었다.

안전성 평가를 위해 이상반응, 진단검사의학검사, 활력징후 및 신체계측 등의 변화를 분석한 결과, 인체적용시험용 제품에 의한 임상적으로 유의한 변화가 없어 이소플라본강화살라미 섭취가 인체에 안전함을 확인하였다.

요약하면, 본 연구를 통해 4주간의 이소플라본강화살라미 섭취가 혈중지질 개선 및 갱년기 증상 개선에 유효함을 증명할 수 없었다.

### 3. 홍삼이 강화된 기능성축산식품 섭취 시 면역 관련 지표의 변화양상을 평가하는 인체적용시험

#### 가. 연구내용

##### (1) 연구목적

- 건강한 성인에서 홍삼요구르트분말 또는 플라세보 섭취가 면역력 관련 지표 변화에 미치는 영향을 관찰하여 그 유효성과 안전성을 비교 평가한다.

##### (2) 연구내용

###### (가) 피험자 선정

- 연령이 만 30세 이상 65세 이하인 성인 남녀
- 체중이 50kg 이상이면서, 이상체중(ideal body weight)의  $\pm 30\%$  이내 체중을 지닌 자
- 인체적용시험에 대한 자세한 설명을 듣고 완전히 이해한 후, 자의로 참여를 결정하고 주의사항을 준수하기로 서면 동의한 자

###### (나) 연구 방법

###### ① 시험디자인

- 본 연구는 총 20명의 건강한 피험자에서 홍삼요구르트분말 섭취가 면역 관련 지표의 변화에 미치는 영향을 평가하기 위한 8주간, 무작위배정, 이중눈가림, 평균-비교 인체적용시험이다. 피험자는 자의적 서면동의 하에 인체적용시험에 참여하였고, 스크리닝 방문에서 선정/제외기준을 평가받았다. 시험자는 1차방문일(기초평가일)에 피험자를 등록하고 홍삼요구르트분말군(10명)과 플라세보군(10명)에 무작위배정하였다. 피험자는 1차방문일에 기초평가(baseline)를 완료한 후 시험용제품(홍삼요구르트분말 또는 플라세보)을 1일 1회, 매일 섭취하며 인체적용시험에 참여하였고 제품 섭취 4주, 8주 후 센터에 재방문하여 계획서에 명시한 검사 등을 수행하였다.

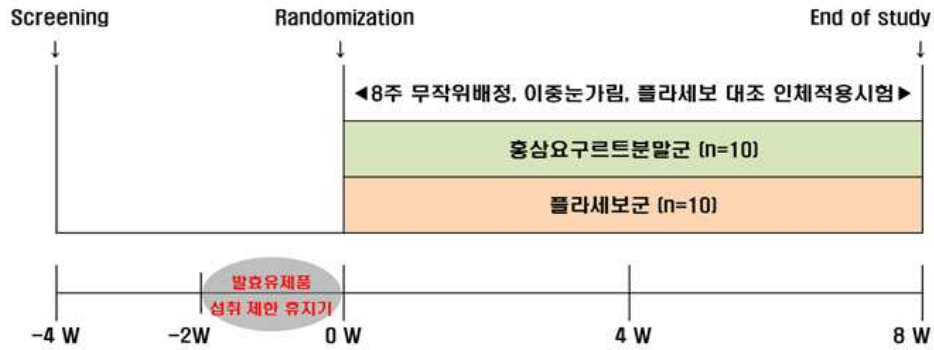


그림 1. 인체적용시험 디자인

## ② 섭취량 및 섭취방법

### ㉠ 섭취량

- 홍삼요구르트분말  
: 1일 1포, 28g/포(Rg1, Rb1, Rg3의 합 12mg/일)
- 플라세보  
: 1일 1포, 28g/포

### ㉡ 섭취방법

- 피험자는 제공되는 인체적용시험용 제품을 우유 20ml에 용해시킨 후 매일 아침 식후에 섭취한다.

## ③ 평가항목

### ㉠ 1차유효성 평가항목

- 세포독성(NK cell activity)

### ㉡ 2차유효성 평가항목

- Cytokine (IL-4, IL-10, IFN- $\gamma$ )
- 일반혈액검사(WBC, RBC, Hb, Hct, MCV, MCH, MCHC, Platelet)

### ㉢ 안전성 평가항목

- 이상반응 모니터링, 신체검진, 진단검사의학 검사, 심전도, 활력징후

## 나. 연구결과

### (1) 인구학적 정보

- 인체적용시험에 참여한 피험자는 총 20명이며, 무작위배정에 따라 홍삼요구르트분말군(10명), 플라세보군(10명)으로 나뉘었다. 피험자의 인구학적 정보를 표 15에 요약하였다. 피험자들의 인구학적 정보에서 연령, 성별, 신장, 체중은 두 섭취군 간 통계적으로

유의한 차이가 없었다. 이를 통해 두 섭취군의 무작위배정이 잘 이루어졌다고 판단하였다.

표 15. 인구학적 정보

	홍삼요구르트분말군 (n=10)	플라세보군 (n=10)	Total (n=20)	p-value <sup>1)</sup>
나이(세)	54.00±8.1	51.70±7.02	52.85±7.47	0.506
성별(남/ 여) <sup>2)</sup>	2/8	3/7	5/15	1.000
신장(cm)	159.00±6.51	160.10±7.00	159.55±6.61	0.720
체중(kg)	59.72±6.16	60.78±7.89	60.25±6.91	0.742

<sup>1)</sup>Independent t-test, <sup>2)</sup>Fisher's exact test

(2) 1차 유효성 평가: 세포독성(NK cell activity) 변화

- 인체적용시험용 제품(홍삼요구르트분말, 플라세보) 섭취 전과 섭취 8주 후의 세포독성 변화를 표 16에 요약하였다.

시험 결과, 섭취 전 · 후 비교 시, 시험군 간 비교 시 통계적으로 유의한 차이가 없었다.

표 16. 인체적용시험용제품 섭취 전 · 섭취 8주 후 세포독성 변화

	시험군(n=10)			플라세보군(n=10)			p-value <sup>2)</sup>
	0주	8주	p-value <sup>1)</sup>	0주	8주	p-value <sup>1)</sup>	
세포독성 (%)	43.16 ±15.46	42.27 ±14.11	0.756	33.47 ±9.68	29.76 ±5.51	0.383	0.572

<sup>1)</sup>Paired t-test

<sup>2)</sup>Linear mixed model for repeated measures data

(3) 2차 유효성 평가

(가) Cytokine 변화

- 인체적용시험용 제품(홍삼요구르트분말, 플라세보) 섭취 전과 섭취 8주 후의 Cytokine의 변화를 표 17에 요약하였다.

시험 결과, 모든 항목에서 섭취 전 · 후 비교 시, 시험군 간 비교 시 통계적으로 유의한 차이가 없었다.

표 17. 인체적용시험용제품 섭취 전 · 섭취 8주 후 Cytokine 항목 변화

	시험군(n=10)	플라세보군(n=10)	p-value <sup>2)</sup>
--	-----------	-------------	-----------------------

	0주	8주	$p$ -value <sup>1)</sup>	0주	8주	$p$ -value <sup>1)</sup>	
<b>IL-4</b> (pg/mL)	0.28 ±0.05	0.26 ±0.03	0.152	0.26 ±0.04	0.25 ±0.02	0.292	0.447
<b>IL-10</b> (pg/mL)	0.51 ±0.07	0.49 ±0.09	0.699	0.53 ±0.12	0.55 ±0.09	0.456	0.461
<b>IFN-<math>\gamma</math></b> (pg/mL)	21.49 ±10.55	14.96 ±2.20	0.085	21.95 ±12.8	12.41 ±2.22	0.054	0.589

<sup>1)</sup>Paired  $t$ -test

<sup>2)</sup>Linear mixed model for repeated measures data

(나) 일반혈액검사(CBC) 변화

- 인체적용시험용 제품(홍삼요구르트분말, 플라세보) 섭취 전과 섭취 8주 후의 일반 혈액검사 항목의 변화를 표 18에 요약하였다.

시험 결과, RBC, Hemoglobin 및 Hematocrit가 플라세보군 내에서 유의하게 감소 하였으나( $p=0.048$ ,  $p=0.001$ ,  $p=0.032$ ) 섭취군 간 통계적으로 유의한 차이가 없었다.

표 18. 인체적용시험용제품 섭취 전 · 섭취 8주 후 일반혈액검사 항목 변화

	시험군(n=10)			플라세보군(n=10)			$p$ -value <sup>2)</sup>
	0주	8주	$p$ -value <sup>1)</sup>	0주	8주	$p$ -value <sup>1)</sup>	
<b>WBC</b> [4.8~10.8×10 <sup>3</sup> / $\mu$ l]	5.26 ±1.42	5.20 ±0.97	0.838	5.45 ±1.52	5.21 ±1.73	0.570	0.711
<b>RBC</b> [4.7~6.1×10 <sup>3</sup> / $\mu$ l]	4.61 ±0.47	4.55 ±0.46	0.324	4.46 ±0.39	4.37 ±0.34	0.048*	0.672
<b>Hemoglobin</b> [13~18 g/dl]	14.00 ±1.07	13.68 ±1.08	0.106	13.84 ±1.32	13.36 ±1.16	0.001**	0.446
<b>Hematocrit</b> [42~52%]	41.47 ±3.15	40.28 ±2.27	0.084	40.55 ±3.34	39.57 ±2.74	0.032*	0.775
<b>Platelet</b> [130~450×10 <sup>3</sup> / $\mu$ l]	251.30 ±33.42	245.00 ±31.74	0.433	223.50 ±46.0	224.90 ±37.9	0.868	0.502

<sup>1)</sup>Paired  $t$ -test, <sup>2)</sup>Linear mixed model for repeated measures data, \* $p<0.05$ , \*\* $p<0.01$

(4) 안전성 평가

- 안전성 평가를 위하여 인체적용시험용 제품(홍삼요구르트분말, 플라세보) 섭취 전과 섭취 8주 후 이상반응 확인, 신체검진, 활력징후, 진단검사의학 검사, 심전도 검사 등을 수행하였다. 활력징후와 진단검사의학 검사의 기술통계학적 결과를 표 19, 20에 요약하였다.

인체적용시험용 제품 섭취 후 임상 및 통계적으로 유의한 이상반응은 나타나지 않았다. 활력징후 측정 결과, 수축기혈압과 이완기혈압이 홍삼요구르트분말군에서 감소하고 플라세보군에서 증가하여 두 섭취군 간 통계적으로 유의한 차이가 있었다( $p=0.010$ ,  $p=0.016$ ). 진단검사의학검사 결과, total protein, albumin이 플라세보군 내에서 유의하게 감소하였으나 두 섭취군 간 통계적으로 유의한 차이는 없었으며, 참고치 범위 내에서 일어난 임상적 의미가 없는 변화라고 판단하였다. 기타 항목에서는 인체적용시험용제품 섭취 전 · 섭취 4주 후와 두 섭취군 간 통계적으로 유의한 차이가 없었다. 심전도 및 신체검진 결과, 시험 기간 동안 임상적으로 의미 있는 변화가 발생하지 않았다.

#### (5) 결론

- 본 연구는 건강한 성인을 대상으로 홍삼요구르트분말의 섭취가 면역 관련 지표의 변화에 미치는 영향을 평가하기 위한 무작위배정, 이중눈가림, 평행군, 플라세보-비교 인체적용시험으로 총 20명의 피험자를 대상으로 유효성 및 안전성평가를 시행하였다.

유효성 평가 결과, 세포독성(NK cell activity), Cytokine 및 일반혈액검사 항목에서 두 섭취군 간 통계적으로 유의한 차이가 없었다. 일반혈액검사 항목 중 RBC, Hemoglobin, Hct은 플라세보군 내에서 섭취 전에 비해 섭취 8주 후 유의하게 감소하였으나 두 섭취군 간 통계적으로 유의한 차이가 없었다.

안전성 평가를 위해 이상반응, 진단검사의학검사, 활력징후 및 신체계측 등의 변화를 분석한 결과, 인체적용시험용 제품에 의한 임상적으로 유의한 변화가 없어 홍삼요구르트분말의 섭취가 인체에 안전함을 확인하였다.

요약하면, 본 연구를 통해 8주간의 홍삼요구르트분말의 섭취가 면역관련 지표 개선에 유효함을 증명할 수 없었다.



## 제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

### 제 1 절 연구 목표

#### 1. 1핵심과제 연차별 목표

세부과제명	연차별 목표
(1-1세부) 유황 함유물 기능성 발효 축산 가공품 개발 및 산 업화	○ 1차년도 고급 기능성 원료육 생산 및 발효 육제품 가공품 제조 (특허: 법제유황식이 무 향생제 고품질돈육 생산방법, 특허출원번호 제07-48433호, 대한민국) ○ 2차년도 유황함유물을 이용한 기능성 원료육 생산 (1차년도 결과물을 통한 수정보완) 검정콩 껍질 발효물을 이용한 이소플라본 강화 발효소시지 개발 비임상시험 및 임상시험을 통해 개발한 기능성 유황돈육발효소시지의 기능성에 관 한 검증 1차년도 생산 제품의 지속적인 품질특성 검사 및 발효 숙성 완료 후 제품검사 ○ 3차년도 유황돈육 숙성 생햄의 품질평가 측정, 고품질 유황돈육 숙성 생햄 제조 ,유황돈육 이용 발효소시지 개발 및 관련 기술 이전 및 제품의 산업화
(1-2세부) 돈 피 (pork skin) 콜라 겐과 식이섬 유를 활용한 기능성 식육 제품 개발	○ 1차년도 돈피(pork skin) 콜라겐과 식이섬유를 활용하여 고기 순대의 가공 적성을 조사 하고 콜라겐과 식이섬유를 활용한 웰빙형 고기 순대를 개발 ○ 2차년도 돈피(pork skin), 돈피 콜라겐 분말과 식이섬유를 활용하여 제조한 소시지의 가공적성 을 조사하고 콜라겐과 식이섬유를 활용한 저지방, 저칼로리 기능성 소시지를 개발 ○ 3차년도 기능성 발효소시지 제조 시 콜라겐의 최적 배합비 및 제조공정 확립 및 돈피 콜라겐 및 식이섬유를 활용한 발효 소시지의 표준화
(1-3세부) 기능성 유산 균을 이용한 소비자 맞춤형 축산가공 품 제조 및 상품화 개발	○ 1차년도 발효 육제품 제조의 경우 지방의 함량이 최소화될 때 육제품의 육색이나 발효 숙성도, 풍미, 습도 등 복합적인 기능이 저하되고, 발효소시지를 제조하더라도 표면의 주름이나 표면의 일부분이 일찍 건조됨으로써 발생하는 피막경화 현상 등이 매우 큰 문제점으로 발생하여 이와 같은 기술적인 문제점을 해결하기 위 한 숙성 기간 중의 온·습도 상관관계 연구 등이 이루어 져야 하며, 이러한 단 점들을 최소화하는 연구

세부과제명	연차별 목표
(1-3세부) 기능성 유산균을 이용한 소비자 맞춤형 축산가공품 제조 및 상품화 개발	○ 2차년도 발효건조소시지의 제조공정 확립과 발효건조시 숙성 및 건조에 따른 온도, 습도 및 유속에 관한 연구를 통하여 육제품의 급속표면건조와 부패미생물의 증식을 방지하며 저칼로리 발효제품으로 지방 대체제를 활용하여 저지방 함량의 발효육제품을 개발 ○ 3차년도 돈장을 이용한 소형 발효육제품의 생산 기술이전. ,저염 저지방형 발효육제품의 기호도 조사 및 시식행사 및 발효건조 소시지의 품질특성 및 저장성 조사

## 2. 2핵심과제 연차별 목표

세부과제명	연차별 목표
(2-1세부) 고도불포화지방산과 콜레스테롤 저하 기능성 성장 첨가제 개발	○ 1차년도 성장 촉진, 불포화지방산 강화 및 콜레스테롤 저하 기능이 부여되는 천연 미생물 균주 확보, 성장 촉진, 불포화지방산 강화 및 콜레스테롤 저하 기능성 미생물의 최적 생장에 필요한 탄소원, 질소원, C/N ratio, nutrient formula, 물리적 배양조건 등 최적 배양조건 확립, 성장 촉진, 불포화지방산 강화 및 콜레스테롤 저하 기능성 미생물의 효능 최적화를 위한 배양 조건으로서 탄소원, 질소원, C/N ratio, nutrient formula, 물리적 배양조건 등 최적화 ○ 2차년도 성장촉진, 불포화지방산 강화 및 콜레스테롤 저하 기능이 부여되는 미생물 균주 개량. 성장촉진, 불포화지방산 강화 및 콜레스테롤 저하 균주들의 최적 생장에 필요한 탄소원, 질소원, C/N ratio, nutrient formula, 물리적 배양조건 등 최적 배양조건을 바탕으로 성장촉진 및 LC/N3 강화미생물 첨가제 생산을 위한 액상 증식 공정 개발. 성장촉진, 불포화지방산 강화 및 콜레스테롤 저하 기능성미생물의 최적 생장에 필요한 탄소원, 질소원, C/N ratio, nutrient formula, 물리적 배양조건 등 최적 배양조건을 바탕으로 성장촉진 및 LC/N3 강화미생물 첨가제 생산을 위한 고체 생산 공정 개발 및 성장촉진 및 LC/N3 강화 첨가제의 동물실험을 통한 효능 평가 ○ 3차년도 성장촉진 및 LC/N3 강화 첨가제의 효능평가. 성장촉진 및 LC/N3 강화 첨가제의 사업화 전략 수립 및 시장 조사. 성장촉진 및 LC/N3 강화 성장첨가제 산업재산권 확보, 기술이전 자료 확보 및 기술이전 마케팅 및 성장촉진 및 LC/N3 강화 첨가제의 생산기술 개발 완료 및 사업화

세부과제명	연차별 목표
(2-2세부) 진세노사이드 Rg <sub>3</sub> 및 유용 인삼 성분 강화 유제품의 개발 및 산업화	○ 1차년도 인삼 시료의 표준화 및 규격화 및 효소 및 미생물을 이용한 진세노 사이드 Rg <sub>3</sub> 전환 연구 방법 확립, 인삼 성분 함유 발효유 스타터(starter) 개발 ○ 2차년도 Rg <sub>3</sub> 및 유용 인삼 성분 적용 유제품의 제조 및 Rg <sub>3</sub> 및 유용 인삼 성분 적용 유제품의 건강 기능성 평가 ○ 3차년도 Rg <sub>3</sub> 및 유용 인삼 성분 대량생산 및 유제품 생산과 임상실험을 통한 개발 유제품의 건강기능성 평가
(2-3세부) 생물학적 기술을 이용한 맵지 않은 캡사이신 유도체의 개발 및 축산 식품에 대한 적용	○ 1차년도 캡사이신 분해 능력을 갖는 균주의 확립 및 캡사이신을 주된 탄소원으로 하는 defined media를 이용하여 후보 균주의 성장 효율 및 시간 별 배양액 내에 잔류하는 캡사이신 및 유도체의 농도를 측정하여 효율을 평가 ○ 2차년도 컬럼 상에서의 맵지 않은 캡사이시노이드의 분획, 분리 및 정제 연구 및 동물 실험을 통한 매운맛이 없는 캡사이시노이드의 항비만 활성 특성, 정제된 맵지 않은 캡사이시노이드를 이용한 유제품 제조 방법 개발 ○ 3차년도 캡사이신 분해 산물인 유도체를 생산할 수 있는 반응 시스템 구축 및 캡사이신 분해 산물의 대량 생산

### 3. 3핵심과제 연차별 목표

세부과제명	연차별 목표
(3-1세부) 기능성 축산 식품의 인체 적용시험	○ 1차년도 오메가-3 섭취와 발효햄 섭취에 따른 식후 중성지방 변화와 그 외 생체 표지자의 변화에 미치는 영향을 관찰하여 그 유효성과 안전성을 비교 평가 ○ 2차년도 1차년도 연구가 연장된 바 있어, 당해연차에서 1차년도 연구 수행을 마무리 하고자 함 또한 불포화지방산(n-3)이 강화된 기능성축산식품 섭취 시 혈중지질의 변화양상을 평가하는인체적용시험 프로토콜 개발 및 수행. Isoflavone이 강화된 기능성축산식품 섭취 시 혈중지질의 변화양상을 평가하는 인체적용시험 프로토콜 개발 및 수행 ○ 3차년도 개발된 기능성축산식품을 제공받아 기능성축산식품 섭취 시 혈중지질 또는 체지방의 변화를 평가하는 단기간 또는 중장기 인체적용시험 수행

## 제 2 절 연구목표 달성도

### 1. 1차년도 연구목표 달성도

구분	목 표	연구개발 수행내용	달성도(%)
1-1 세부	고급 기능성 유황 원료육 생산	○ 법제유황 급여한 고품질의 유황 돈육 생산	100
	고급 유황 원료육을 이용한 발효 육제품 제조	○ 유황폐지의 다리 부위를 사용하여 발효 생햄 생산	100
		○ 유산균 및 젖산 발효물 첨가 발효소시지(살라미) 생산 - 유산균 및 프로세싱 확보	100
1-2 세부	돈피의 전처리에 따른 콜라겐의 활용방안 조사	○ 산처리에 따른 돈피의 이화학적 특성변화 젤라틴 추출조건의 확립하였음.	100
	돈피 콜라겐, 식이섬유, 혈액의 가공적성 조사	○ 돈피 젤라틴, 식이섬유와 혈액 혼합물의 가공적성 조사함.	100
	콜라겐과 식이섬유를 활용한 고기순대의 개발 및 품질 특성 연구	○ 돈피콜라겐과 식이섬유를 활용한 고기순대의 가공적성 조사 및 품질특성 비교함. ○ 천연 식초로 팽윤된 돈피를 이용한 고기순대의 개발함.	100
	개발한 고기 순대의 저장성 조사	○ 천연식초로 팽윤된 돈피(pork skin)와 연잎·취잎 분말을 첨가한 고기순대의 저장성 연구 ○ 연잎·취잎 분말을 식이섬유와 돈피콜라겐을 활용한 고기순대에 첨가하여 저장성 비교 연구함.	100
1-3 세부	유산균주 접종화의 최적화 기술	○ 유산균의 종류에 따른 이론적·실 험적 연구 개발 수행	100
	살라미형 건조 육제품 개발	○ 페퍼로니, Bock wurst, Coburger의 제품의 생산에 필요한 케이싱, 향신료 및 유산균 확보	100
	숙성, 건조기술	○ 천연자원을 이용한 숙성, 건조기술의 확보를 위해 대관령지역의 온·습도 및 풍속 조사 완료 ○ 보유중인 냉장실 및 BOD인큐베이터의 온·습도 및 풍속 조사 완료	100

구분	목 표	연구개발 수행내용	달성도(%)
2-1 세부	성장촉진 및 LC/N3 강화 미생물 확보	○ 대조군에 비해 우수한 성장촉진효과를 가지는 microbiota 유래 미생물 균주 및 LC/N3 강화 미생물을 확보	100
	성장촉진 및 LC/N3 강화 미생물의 성장 최적화 배양 조건 탐색	○ 성장촉진 및 LC/N3 강화 미생물의 성장을 최적화하기 위해 탄소원, 질소원, C/N ratio 등 biomass 최적조건을 확립	100
	성장촉진 및 LC/N3 강화 미생물의 효능 최적화 배양 조건 탐색	○ 성장촉진 및 LC/N3 강화 효능을 최대화할 수 있도록 탄소원, 질소원, C/N ratio 등 생리 활성 최적조건 연구	100
2-2 세부	인삼추출물(extract)의 생산 지, 가공방법에 따른 TLC, HPLC를 이용한 진세노사이드 정성 및 정량분석 방법 확립	○ TLC 및 HPLC를 이용하여 진세노사이드의 정성 및 정량분석 방법 확립 및 수행	100
	Diaion HP-20을 이용한 식품 첨가용 인삼 사포닌 추출 방법 확립	○ Diaion HP-20 수지와 에탄올을 이용하여 식품 첨가용 인삼 사포닌 추출 방법을 확립하고, 기존의 수포화 부탄올 추출법과 진세노사이드 추출 정도를 비교 분석	100
	Major 진세노사이드로부터 Rg <sub>3</sub> 전환능이 있는 균주의 확보	○ β-Glucosidase를 생산하는 식품 및 인변 유래 균주, GRAS균주를 이용하여 진세노사이드 Rb <sub>1</sub> 전환능을 갖는 균주를 탐색 및 이들 중 전환능을 갖는 균주 19종(곰팡이 10종, 유산균 9종) 확보	100
	확보된 Rg <sub>3</sub> 전환 균주의 특성 연구	○ 확보한 균주 19종 중, 곰팡이 2종에 대하여 성장곡선 및 성장시간 별 배양상등액(조효소)의 진세노사이드 Rb <sub>1</sub> 전환능 확인 실험 및 진세노사이드 전환능을 갖는 유산균의 균주 특성 분석	100

구분	목 표	연구개발 수행내용	달성도(%)
2-2 세부	산업용 효소를 이용한 major 진세노사이드로부터 Rg <sub>3</sub> 전환 연구 방법 확립	○ 식품첨가용 당화효소 lactozyme, pectinex, viscozyme, dextrozyme, AMS를 사용하여 진세노사이드 Rb <sub>1</sub> 으로부터 Rg <sub>3</sub> 전환능을 갖는 효소 탐색	100
	총 사포닌 5% 이상 Rg <sub>3</sub> 함유	○ 효소 및 미생물 배양상등액의 진세노사이드 Rb <sub>1</sub> 으로부터 Rg <sub>3</sub> 전환능을 TLC를 통하여 확인하고, 패턴의 비교를 통해 진세노사이드 전환능 분석	100
	진세노사이드 Rg <sub>3</sub> 분해능을 갖지 않는 발효유 스타터 개발	○ 유유에서 성장 능력이 우수한 선별된 균주 10종에 대해 진세노사이드 분해능 확인	100
	선발된 균주의 내산성, 내담즙성, 항생제 내성 등 생리적 특성 연구	○ 발효유 스타터로서의 능력을 가지고 있는 균주 10개를 선발하여 내산성, 내담즙성 실험 수행	100
2-3 세부	캡사이신 분해 균주 선발	○ 토양, 김치 등의 전통발효식품으로부터 캡사이신 분해 미생물 스크리닝 ○ 캡사이신의 불수용성 특성을 이용한 캡사이신 분해 효소에 의한 투명대 형성 확인 ○ 캡사이신 분해 균주 확보	100
	분해균주 동정	○ 16S ribosomal RNA gene sequence를 이용한 균주 동정	100
	캡사이신 분해 능력 확인	○ 캡사이신을 주요 탄소원으로 하는 최소배지 조건에서 캡사이신의 분해정도를 배양시간별로 확인	100
	유제품 생산을 위한 균주 선발	○ 유산균을 대상으로 캡사이신 분해 능력 평가	100
3-1 세부	인체적용시험 계획단계	○ 시험제품의 선정, 시험방법 구상, 선행연구 자료조사 및 정리 및 인체적용시험계획서 및 증례기록서 개발	100
	인체적용시험 수행단계	○ 연구자 선정, 시험제품의 공급 준비, 기능성 식품윤리위원회 (IRB) 심의, 피험자모집/선정 및 pilot study 수행, 인체적용시험 모니터링 및 자료입력	100
	인체적용시험 보고단계	○ 통계분석, 보고서 작성	100

## 2. 2차년도 연구목표 달성도

구분	목 표	연구개발 수행내용	달성도(%)
1-1 세부	유황함유물 이용 고급 기능성 원료육 생산	○ 법제유황 급여한 고품질의 유황돈육 생산 및 산업화	100
	고급 유황 원료육을 이용한 발효 육제품 제조	○ 유황폐지 후지 이용하여 발효 생햄 생산 (1차년도 개발 제품 및 생산 기술, 품질 향상 된 2차년도 제품 생산 완료)	100
	비임상 및 임상 시험	○ 유산균 및 젖산 발효물 첨가 발효소시지(살라미) 생산 - 유산균 및 프로세싱 확보	100
1-2 세부	돈피 콜라겐 및 식이섬유 첨가량에 따른 유화형 육제품의 가공적성 조사	○ 돈피 콜라겐 및 식이섬유 혼합물의 첨가량에 따른 유화형 육제품의 가공적성을 조사하여 최적의 첨가 비율을 조사하였음. ○ 돈피 콜라겐 및 식이섬유 혼합물을 지방대체제로 활용하여 유화형 저지방 소시지를 개발하였음.	100
	콜라겐과 식이섬유를 활용한 저지방·저칼로리 한국형 소시지 개발	○ 현미식초를 이용하여 팽윤시킨 돈피에서 콜라겐을 추출하여 분말화 ○ 추출한 돈피 콜라겐 분말과 밀 식이섬유를 혼합한 pre-emulsion을 제조하였으며 이를 이용한 저지방·저칼로리 소시지 개발	100
	기능성 소시지의 품질특성 및 저장성 조사	○ 돈피 콜라겐 분말과 밀 식이섬유를 혼합한 pre-emulsion을 이용하여 제조한 저지방 소시지의 저장성을 향상시키기 위하여 항산화물질인 감과피 추출물을 첨가하여 지질산패도, 휘발성 염기태 질소화합물, 과산화물가, 공액이중결합가 등을 조사하여 저장성 향상	100
1-3 세부	발효건조소시지의 원료육배합 및 제조공정 확립	○ 원료육의 가공적성으로 사전조사하여 최적의 원료육 상태와 배합비율 및 충전재료 선택 ○ 가공원료육을 이용하여 돈장과 콜라겐 케이싱을 이용한 발효건조제품 생산	100

구분	목 표	연구개발 수행내용	달성도(%)
1-3 세부	발효건조시 숙성 및 건조에 따른 조건 설정	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 숙성과정시 유속과 습도의 변화로 급속한 건조를 방지하고 Data Loggor를 이용한 과학적 변화를 점검 조사</li> <li>○ 건조시 발생하는 건조피막을 최소화하여 발효가 정상적으로 진행되는지 조사</li> </ul>	100
	저지방함량의 발효육제품 개발 및 안전성 검사	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 지방의 함량을 저감하여 저지방 발효건조 제품 개발</li> <li>○ 육제품 개발에 따른 미생물 검사로 제품의 안전성을 조사하였고 이에 따른 저장성 확인</li> </ul>	100
2-1 세부	성장촉진 및 LC/N3 강화 미생물 균주 특성 개량	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 성장촉진 및 LC/N3 강화 미생물 균주들의 돌연변이를 통해 축산물에 성장촉진, 다가불포화지방산 강화 및 콜레스테롤 저하 기능을 강화하는 방향으로 균주 개량 연구 수행</li> </ul>	100
	성장촉진 및 LC/N3 강화 미생물 첨가제 생산공정 연구	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 축산물에 성장촉진, 다가불포화지방산 강화 및 콜레스테롤 저하 기능을 부여하는 미생물 최적 배양 조건 확립</li> <li>○ 성장촉진 및 LC/N3 강화미생물 첨가제 액상 배양 증식배지 공정 확립</li> <li>○ 성장촉진 및 LC/N3 강화미생물 첨가제 생산 배지 공정 확립</li> </ul>	100
	성장촉진 및 LC/N3 강화 첨가제의 제품화 경쟁력 강화	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 성장촉진 및 LC/N3 강화 첨가제의 효능 평가 연구</li> <li>○ 성장촉진 및 LC/N3 강화 첨가제 기반 특허 실적</li> <li>○ 기반 기술 제품화 또는 기술지도 수행</li> </ul>	100
2-2 세부	시유, 발효유, 아이스크림 등의 유제품에 대한 Rg <sub>3</sub> 및 유용 인삼 성분 적용	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 산업용 효소를 이용하여 major ginsenoside를 minor ginsenoside로 전환시킨 후 HPLC를 통해 Rg<sub>3</sub> 함량 분석</li> <li>○ 동결건조를 통해 분말 형태인 시료와 농축액을 시유에 적용한 후 이화학적 변화 측정</li> </ul>	100
	유제품의 저장기간에 따른 이화학적 특성 및 관능 검사	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 홍삼농축액과 분말 형태인 시료를 시유에 첨가한 후 이화학적 변화와 관능 검사를 통해 농도를 설정한 후 4℃에서 냉장 보관하면서 15일 동안 이화학적 변화 측정</li> </ul>	100



구분	목 표	연구개발 수행내용	달성도(%)
2-2 세부	발효유의 저장기간에 따른 인삼 사포닌 함량 변화 검사	○ 우유배지와 요구르트 원료유에서의 선발된 균주의 배양 특성 확인	100
	제품의 형태에 따른 기호도 조사	○ 유용 인삼 성분을 함유한 시유와 발효유의 기호도는 Likert 척도를 사용하여 평가	100
	Cell line을 이용한 <i>in vitro</i> 상의 항암, 면역증강 효과 검증	○ Cellulase 12T와 반응시킨 홍삼농축액에 대한 항암효과를 대조군과 비교 분석하였으며, 당화효소를 이용하여 minor ginsenoside가 증가된 시료에 대한 <i>in vitro</i> 상의 항암효과를 검증	100
	암 유발 쥐를 이용한 Rg3 및 유용 인삼 성분 강화 유제품의 항암 효과 및 관련 위험요인에 미치는 효과 평가	○ 실험동물에 1,2-dimethylhydrazine(DMH)으로 대장암을 유발하면서, 홍삼농축액과 홍삼농축액 가수분해물을 첨가한 고지방, 저섬유식이를 7주간 공급 후 희생시켰으며, 혈액을 3000 rpm에서 30분 간 원심분리하여 혈장과 적혈구를 분리하여 분석 시까지 -70℃에 냉동 보관 ○ 실험동물의 장기는 적출하여 생리식염수에 세척한 후, 흡수지로 물기를 제거하고 무게를 측정. 혈장 내 과산화 지질, 총 항산화능 및 지용성 비타민 등 분석 중에 있으며, 적혈구 내 항산화 효소 활성 분석	100
	항암효과의 작용기전 평가	○ 혈액 내 DNA 손상정도를 분석하기 위해 전혈 20 μL을 채취하여 slide 처리를 하였고, 대장 조직 내 DNA 손상 정도를 분석하기 위해 대장 0.5 cm를 적출하여 slide 처리를 하였고, ACF 측정을 위해 7 cm를 10% buffered formalin으로 고정 ○ 혈액 및 대장 조직 내 DNA 손상정도를 분석하기 위해 현미경 관찰 실시, ACF를 분석. 또한 cancer 관련 gene 발현 확인	100
2-3 세부	컬럼 상에서의 맵지 않은 캡사이시노이드의 분획, 분리 및 정제 연구	○ 추출방법의 최적화, 간소화, 용매 분배 및 silica gel column chromatography ○ Prep. HPLC상의 분리 및 정제 ○ Analytical HPLC 상의 분리 및 정제 ○ LC/MS/MS, 1H NMR, 13C NMR 상의 맵지 않은 캡사이시노이드의 구조 확인	100

구분	목 표	연구개발 수행내용	달성도(%)
2-3 세부	동물 실험을 통한 매운맛이 없는 캡사이시노이드의 항비만 활성 특성	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 캡사이신 분해 미생물을 이용한 고추발효물 제조</li> <li>○ 체중 및 지방조직 중량의 측정</li> <li>○ 유리 지방산 및 글루코스 수준의 변화</li> </ul>	100
	정제된 맵지 않은 캡사이시노이드를 이용한 유제품 제조 방법 개발	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 맵지 않은 캡사이시노이드 유제품 제조</li> <li>○ 유제품 특성에 미치는 맵지 않은 캡사이시노이드의 영향성 평가</li> </ul>	100
3-1 세부	기능성축산식품 인체적용시험 및 보고	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 불포화지방산(n-3)이 강화된 기능성축산식품 섭취 시 혈중지질의 변화양상을 평가하는 인체적용시험 프로토콜 개발 및 수행</li> <li>○ Isoflavone이 강화된 기능성축산식품 섭취 시 혈중지질의 변화양상을 평가하는 인체적용시험 프로토콜 개발 및 수행</li> </ul>	100

### 3. 3차년도 연구목표 달성도

구분	목 표	연구개발 수행내용	달성도(%)
1-1 세부	유황 돈육 후지 활용 한국형 발효 생햄(하몽)제조	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 유황 돼지 후지 이용한 숙성 생햄 생산(2차년도) 제품 품질 측정</li> <li>○ 제품 완성 및 관련 기술 홍보, 기술이전 실시</li> </ul>	100
		<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 고품질 3차년도 발효 생햄 제조(2012년 11월 제조 후 현재 9개월 차)</li> </ul>	100
	유황 돈육 활용 살라미 생산	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 이소플라본 강화 유황 돈육 살라미의 제조</li> <li>○ 삼채, 발효술잎추출물을 첨가한 살라미의 제조</li> </ul>	100

구분	목 표	연구개발 수행내용	달성도(%)
1-2 세부	기능성 발효소시지 제조 시 콜라겐의 최적 배합비 및 제조공정 확립	○ 기능성 발효 소시지의 제조 시 돈피 콜라겐의 첨가량에 따른 품질특성을 조사하여 최적의 첨가 비율 조사	100
	돈피 콜라겐 및 식이섬유를 활용한 발효 소시지의 표준화	○ 콜라겐과 식이섬유의 첨가 비율을 다르게 하여 제조한 지방대체제의 가공특성 조사 ○ 돈피 콜라겐 분말과 식이섬유를 혼합한 pre-emulsion을 제조하였으며 이를 이용한 저지방 발효소시지를 개발하여 품질특성 조사	100
	기능성 발효 소시지의 품질특성 및 저장성 조사	○ 돈피 콜라겐 분말과 식이섬유를 혼합한 pre-emulsion을 이용하여 지방을 대체한 저지방 발효소시지의 저장성 조사	100
1-3 세부	돈장을 이용한 소형 발효육 제품의 생산 기술이전	○ 자연환경을 이용한 발효제품을 생산 ○ 가내수공업형 제품개발(농가)	100
	저염 저지방형 발효육제품의 기호도 조사 및 시식행사	○ 대학생을 대상으로 기호도 및 시식행사 개최 ○ 일반인을 대상으로 기호도 조사	100
	발효건조 소시지의 품질특성 및 저장성 조사	○ 저장기간에 따른 부패미생물 증식 여부 평가 ○ 수분저감에 따른 연도, 풍미 및 식감조사	100
2-1 세부	성장촉진 및 LC/N3 강화 첨가제의 효능평가	○ 2차년도에 발굴된 성장촉진 균주 <i>Lactobacillus</i> spp. JBF-401의 성장촉진효과를 강화하기 위하여 추가적인 screening 및 성장촉진 기전 연구를 수행함으로써 성장촉진 및 LC/N3 강화 첨가제의 개발을 완료하고 제품을 출시하였으며 현재 축산농가에서 사용 중	100
	성장촉진 및 LC/N3 강화 첨가제의 사업화 전략 수립 및 시장 조사	○ 성장촉진 및 LC/N3 강화 첨가제 관련 기술을 국제 전시회에서 기술발표 및 상담을 통해 전략 수립	100

구분	목 표	연구개발 수행내용	달성도(%)
2-1 세부	성장촉진 및 LC/N3 강화 성장첨가제 산업재산권 확보, 기술이전 자료 확보 및 기술이전 마케팅	○ 성장촉진 및 LC/N3 강화 성장첨가제의 제품화에 필요한 기반 기술들이 현재 특허 출원 이후 전세계 등록 절차 수행	100
	성장촉진 및 LC/N3 강화 첨가제의 생산기술 개발 완료 및 사업화	○ 성장촉진 및 LC/N3 강화 첨가제의 개발을 완료하고 쉐로만 베이비 제품을 출시하였으며 현재 축산농가에서 사용 중	100
2-2 세부	Rg <sub>3</sub> 및 유용 인삼 성분 대량 생산 및 시제품 생산	○ Rg <sub>3</sub> 및 유용 인삼 성분 대량생산 및 유제품 생산	100
		○ 임상시험을 통한 개발 유제품의 건강 기능성 평가(3-1세부과제 의뢰)	100
2-3 세부	캡사이신 분해 산물인 유도체를 생산할 수 있는 반응 시스템 구축	○ 캡사이신 유도체 합성 화합물의 세포독성검사 ○ 청양고추발효물에 대한 cell-based assay 혹은 동물실험 수행 ○ 고춧가루 이용 <i>Bacillus licheniformis</i> SK1230 이용 캡사이신 유도체를 생산할 수 있는 반응 시스템 구축 ○ 캡사이신 및 그 유도체 분석	100
	캡사이신 분해 산물의 대량 생산	○ 캡사이신 유도체의 액상 및 동결건조 제품	100
3-1 세부	홍삼이 강화된 기능성축산 식품 섭취 시 면역 관련 지표의 변화양상을 평가하는 인체적용시험 프로토콜 개발 및 수행	○ 선행연구 조사 및 연구디자인 확립 ○ 인체적용시험계획서 개발 ○ 인체시험윤리위원회(IRB) 승인 ○ 인체적용시험 수행(피험자 모집, 유효성 및 안전성 평가) ○ 평가지표 분석 및 결과 도출	100

# 제 5 장 연구개발 성과 및 성과활용 계획

## 제 1 절 연구개발 성과

### 1. 상품화 및 산업화 성과

가. 1핵심 1세부(이치호)

- (1) 기술실시 : 유황돈육 생햄 제조 방법에 관한 기술이전 계약 완료 ( 2012.12) - 기술이전 비용 1천만원 입금 완료
- (2) 기술창업 : CoreMon 유황돈육 생햄제조기술을 활용한 기술창업 및 건국대학교 기술지주회사 설립을 위한 자회사 선정
- (3) 상품화 : CoreMon 유황돈육 후지 이용 생햄 상품화 예정

나. 2핵심 1세부(김현진)

- (1) 상품화 : 성장촉진용 LC/N3 미생물제 개발 완료 및 켈로만 베이비 출시



❖ JINIS Celloman Baby

켈로만은 지니스 BDRD 연구소의 핵심기술인 천연 유용미생물 발굴기술인 TOSS (Target Oriented Selective Screening) 기술로 발굴된 유익균 복합제입니다. 특히 켈로만 베이비는 성장촉진 특허균주인 JBD 501을 포함한 복합균 제제로, 어린 송아지와 자돈의 출생 이후 장균총 형성을 도와주어 동물의 영양상태 개선으로 육성률을 개선합니다.

❖ 특징

- 천연 장균총 (Gastrointestinal Tract) 유래 유익균 함유
- 성장촉진 특허 균주인 JBD501 함유
- 포유기 및 이유기 신생동물의 장균총 형성 및 소화흡수 개선

❖ 효능

- 신생 동물 (어린 송아지, 자돈)의 폐사율 감소
- 신생 동물 (어린 송아지, 자돈)의 영양소 이용 효율 향상
- 신생 동물 (어린 송아지, 자돈)의 육성률 향상
- 신생 동물 (어린 송아지, 자돈)의 발육 정체 개선

❖ 용량·용법

- 생후 1주일 이상 하루 한번 이상 1~10g 급여
- 끓인 물에 타서 정병으로 주면 좋습니다.

(2) 성장촉진용 LC/N3 미생물제 구매공급계약 체결

<p>지니스</p>	<p style="text-align: center;"><b>제품구매공급계약서</b></p>
<p>전북 완주군 봉동읍 문안리 구 제산동 1062 소재 황 이 보유하고 있는 "바이오 다음과 같은 비밀유지계약</p>	<p>전북 완주 소재 주식회사 지니스 (제품공급자, 이하 "갑"이라 칭함)와 원천장역시 소재</p> <div style="background-color: #cccccc; width: 100%; height: 100%; border-radius: 10px;"></div>
<p><b>제1조 목 적</b> 본 계약은 '갑'과 '을' 간에 series 기술 및 제품'에</p>	<p><b>제 2 조 (최소 구매 수량 및 단가)</b> "을"이 주문하는 계약제품의 연간 최소 발주량은 (150) case로 한다. 이에 관한 권리와 의무는 별표1에 정한 대로 한다.</p>
<p><b>제2조 비밀정보 / 비밀유지</b> 본 계약의 비밀정보 / 비밀 기술 및 제품"으로, "갑"이 실질 자료, 노하우, 기타 기 본 계약체결 이전부터 이미</p>	<p><b>제 3 조 (대금의 지급)</b> "을"은 주문 시 발주 금액을 "갑"이 지칭하는 은행계좌로 입금한다. 단, 조정이 필요한 경우 상호간 협의하여 결정한다.</p>
<p><b>제3조 비밀정보의 사용</b> "갑"은 "을"의 요청에 따라 으로부터 제공받은 "바이 습이전 또는 공급계약 체결</p>	<p><b>제 4 조 (제품의 주문)</b> (1) "을"은 납품 기일 10일 전에 주문일과, 주문제품명, 주문수량, 주문금액, 납품기일 및 장소가 명시된 주문서에 의하여 주문을 하여야 한다. (2) "갑"의 불가피한 사정으로 인하여 납기 이내의 "갑"이 제품을 공급할 수 없을 경우 이에 대한 사유 및 예정 납기일을 서면 또는 유선으로 통보하고, "을"과 협의하여 주문내용을 재조정하여야 한다.</p>
<p><b>제4조 비밀정보의 유지의무</b> ① "을"은 "갑"으로부터 제 전달, 공개, 누설, 유출 ② "을"은 본 계약과 관련 공개, 누설, 유출하여서</p>	<p><b>제 5 조 (계약기간)</b> 본 계약의 유효기간은 2011년 10월 1일부터 2012년 9월 30일까지로 한다. 계약기간 만료 1개월 전까지 계약 연장 의사 표시를 하면, 구매공급조건의 협의 하에 연장할 수 있다.</p>
<p><b>제5조 비밀유지기간</b> 본 계약은 체결일로부터 별 으로 하여, 이 기간은 상호</p>	<p><b>제 6 조 (비밀유지 의무)</b> (1) 본 계약과 관련된 단가 등 계약조건에 대해서 "갑", "을" 쌍방은 상호 비밀유지의 의무</p>
<p><b>제6조 계약해지 및 손해배상</b></p> <p>2011.09.01</p>	

(3) LC/N3 미생물제 기술이전을 위한 사전 계약 (Option Agreement)

**OPTION AGREEMENT**

This OPTION AGREEMENT ("Agreement") is entered into effective as of March 14, 2011 (the "Effective Date"), between JINIS Biopharmaceuticals Co., a Korea [corporation] with offices at 948-9 Dunsan-Li, Bongdong-Eup, Wanju-Gun, Jeollabuk-Do 565-902, South Korea; ("JINIS") and Access Business Group LLC, a Michigan limited liability company, with offices at 7575 East Fulton Street, Ada, Michigan 49355, USA ("ABG"). JINIS and ABG are referred to herein individually as a "Party" and together as the "Parties."

**RECITALS**

A. JINIS owns a probiotic strain JBD301 ("Ingredient").

B. ABG desires to assist JINIS in funding a clinical research study ("Study") of the Ingredient for for purposes of determining the possible commercialization thereof and the possible execution of an exclusive purchase agreement for the Ingredient from JINIS.

NOW, THEREFORE, in consideration of the premises and the mutual covenants contained herein, and other good and valuable consideration, the receipt and adequacy of which are hereby acknowledged, the parties hereto agree as follows:

1. Definitions.

(a) "Affiliate" shall mean, with respect to the applicable Party, any corporation, company, partnership, trust, sole proprietorship or other entity or individual which: (a) is owned or controlled by such Party, in whole or in part; (b) owns or controls such Party, in whole or in part; or (c) is under common ownership or control with such Party in whole or in part. For purposes of this definition, "control" means ownership, directly or through one or more Affiliates, of (a) fifty percent (50%) or more of the shares of stock entitled to vote for the election of directors, in the case of a corporation, or (b) fifty percent (50%) or more of the equity interests in the case of any other type of legal entity or status as a general partner in any partnership, or (c) any other arrangement whereby a Party controls or has the right to control the Board of Directors or equivalent governing body of a corporation or other entity.

(b) "Option Period" shall mean the period beginning on the Effective Date and continuing for six (6) months after the completion of the clinical study, unless terminated earlier in accordance with this Agreement.

(c) "Territory" shall mean all countries.

2. Grant of Option. During the Option Period and subject to the terms and conditions of this Agreement, JINIS hereby grants to ABG an exclusive, non-transferable option to enter into an exclusive purchase agreement ("Purchase Agreement") with JINIS for the Ingredient for use in the multi-level marketing channel in the Territory, and to use the Ingredient in the manufacture and use of ABG products.



## 2. 논문게재 성과

### 가. 논문

게재 연도	논문명	저자			학술지명	Vol.(No.)	국내외 구분	SCI 구분
		주저자	교신저자	공동저자				
2010	Antioxidant Activities of Lotus Leaves ( <i>Nelumbo nucifera</i> ) and Barley Leaves ( <i>Hordeum vulgare</i> ) Extracts	Choe, J. H	Kim, C. J.	J, A., Choi, J. H., Choi, Y. S., Han, D. J., Kim, H. Y., Lee, M. A., Kim, H. W.	Food Sci. Biotechnol	Vol. 19 831-836	국내	SCIE
2011	Oxidative and color stability of cooked ground pork containing lotus leaf ( <i>Nelumbo nucifera</i> ) and barley leaf ( <i>Hordeum vulgare</i> ) powder during refrigerated storage	Choe, J. H	Kim, C. J.	J, A., Lee, E. S., Choi, J. H., Choi, Y. S., Han, D. J., Kim, H. Y., Lee, M. A., Shim, S. Y	Meat Sci.	Vol. 87 12-18	국외	SCI
2011	Antioxidant Properties of Lotus Leaf( <i>Nelumbo nucifera</i> ) Powder and Barley Leaf ( <i>Hordeumvulgare</i> ) Powder in Raw Minced Pork during Chilled Storage	Choe, J. H	Kim, C. J.	Choi, J. H., Choi, Y. S., Han, D. J., Kim, H. Y., Lee, M. A., Kim, S. Y.	Korean J. Food Sci. Ani. Resour.	Vol. 31 32-39	국내	SCIE
2010	High Cell Density Cultivation of Recombinant <i>Escherichia coli</i> for Production of Rat Procarboxypeptidase B	Chang -Kyu Kim	Sang Min Jeong	Sang-Mahn Lee	Food Science and Biotechnology	19(6) 1627-1633	국내	SCIE

게재 연도	논문명	저자			학술지명	Vol.(No.)	국내외 구분	SCI 구분
		주저자	교신저자	공동저자				
2011	Protective effects of methoxyflavone derivates from black galingale against glutamate inuced neurotoxicity in primary cultured rat cortical cells	문형인	김수기	조상범, 이재현, 이영춘, 이준형, 이치호	Phytotherapy research	Online published (DOI:10.1002/ptr_3390)	국외	SCI
2010	Phorbaketals A, B & C, Sesterterpen with a Spiroketal of Hydrobenzopyran Moiety Isolated from the Phorbas sp	HJ Kim	JR Rho	JR Rho외	Organic letters	24 5590-5593	국외	SCI
2011	Beneficial dietary effect of tumeric and sulfur on weight gain, fat deposition and lipid profile of serum and liver in rats	Jin-Gyu Kim	Chi-Ho Lee	Prabhat Kumar Mandal, Kang-Duk Choi, Chang-Won Pyun, Go-Eun Hong	Journal of Food Science and Technology	Online-published, DOI: 10.1007/s13197-011-0569-8	국외	SCI
2012	Fermentation increases isoflavone aglycone contents in Black soybean pulp	Go-Eun Hong	Chi-Ho Lee	Prabhat Kumar Mandal, Ki-Won Lim	Asian Journal of Animal and Veterinary Advances	No. 7, Vol. 6, p.502-511	국외	SCI
2012	Hypolipidaemic effect of processed sulfur, Allium tuberosum Rottl. and fermented Allium tuberosum Rottl. in rat	Eun-Jeong Son	Chi-Ho Lee	Uttam Kumar Pal, Prabhat Kumar Mandal	Asian Journal of Animal and Veterinary Advances	Online-published, DOI: 10.3923/ajava	국외	SCI

게재 연도	논문명	저자			학술지명	Vol.(No.)	국내외 구분	SCI 구분
		주저자	교신저자	공동저자				
2011	Effect of Goldenrod (Solidago virgaurea) Leaf and Stem Powder on Physical and Sensory Characteristics of Emulsion-type Sausages	Choe, J. H	Kim, C. J.	Kim, H. Y., Han, D. J., Kim, Y. J., Park, J. H., Ham, Y. K.	Korean J. Food Sci. Ani. Resour.	Vol. 31, 668-675	국내	SCI
2011	Effects of pumpkin (Cucurbita moschata Duch.) leaf ethanolic extracts on lipid oxidation and microbial activity in refrigerated raw ground pork	Choe, J. H	Kim, C. J.	Kim, H. Y., Choi, Y. S., Han, D. J., Choi, J. H., Kim, Y. J.,	Meat Sci.	Vol. 31, 865-871	국내	SCI
2011	Genome squence of <i>Lactobacillus salivarius</i> GJ-24, a probiotic strain isolated from healthy adult intestine	조용준	김근배	최재경, 김지희, 임예슬, 함준상, 강대경, 전종식, 백현동	Journal of Bacteriology	193(18)	국외	SCI
2012	Antimicrobial effect of the extracts of a ginseng by-product produced by subcritical water extraction, nisin, and their combination against <i>Listeria monocytogenes</i> in milk products	김원주	백현동	민근영, 김기태, 이나경, 정명수, 조상우	Milchwissenschaft	67(4)	국외	SCI
2011	캡사이신(capsaicin) 분해균을 이용한 향비만 소재 개발	김정미	김수기	조상범	한국미생물학회 The Microorganisms and Industry	미생물과 산업 2011, 12, 6-12	국내	비SCI

게재 연도	논문명	저자			학술지명	Vol.(No.)	국내외 구분	SCI 구분
		주저자	교신저자	공동저자				
2012	Host-Microbial interaction in the mammalian intestine and their metabolic role inside	PandeyaDR	ST Hong	RD Souza, MM Rahman, S. Akhter, Hyeon-Jin Kim	Biomedical Research	23(1) 9-21	국외	SCI
2012	Effects of Fermented Black Soybean Pulp on Lipid and Bone Metabolism in Ovariectomized Rats	Go-Eun Hong	Chi-Ho Lee	Chang-Won Pyun, Soo-Ki Kim, Kyu-Ho Han, Cheul-Young Yang	Food Sci.Biotechnology	No. 21, Vol. 5, p.1397-1403	국외	SCI
2013	Quality of frankfurter-type sausages with added pig skin and wheat fiber mixture as fat replacers	Ju-Hui Choe	Cheon-Jei Kim	Hack-Young Kim, Jong-Moon Lee, Yong-Jae Kim	Meat Sci.	93	국외	SCI
2013	Antioxidant Activity of Goldenrod (Solidago virgaurea) Leaf and Stem Powder on Raw Ground Pork during Chilled Storage	Yong-Jae Kim	Cheon-Jei Kim	Hack-Young Kim, Ju-Hui Choe, Jae-Hyun Park, Youn-Kyung Ham, Eui-Joo Yeo, Ko-Eun Hwang	Korean J. Food Sci. Ani. Resour.	33(1)	국내	SCIE
2013	Antioxidant Activity and Phenolic Content of Persimmon Peel Extracted with Different Levels of Ethanol	Ju-Hui Choe	Cheon-Jei Kim		International Journal of Food Properties	(accepted)	국외	SCI

게재연도	논문명	저자			학술지명	Vol.(No.)	국내외 구분	SCI 구분
		주저자	교신저자	공동저자				
2012	Purification and characterization of a ginsenoside Rb <sub>1</sub> -hydrolyzing $\beta$ -glucosidase from <i>Aspergillus niger</i> KCCM11239	장경훈	백현동	조미나, 김기태	International Journal of Molecular Sciences	13(9)	국외	SCIE
2013	Biodegradation of capsaicin by <i>Bacillus licheniformis</i> SK1230	Sangbeum Cho	Soo-Ki Kim	Hyung-In Moon, Jeong-Mee Kim, Go-Eun Hong, Chi-Ho Lee	Romanian Biotechnological letters	Submitted	국외	SCIE
2013	Effects of Fermented Pepper Powder on Body Fat Accumulation in Mice Fed a High-Fat Diet	연수정	이치호	김수기 이시경	Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry	Submitted	국외	SCIE
2013	Quality characteristics of yoghurt prepared with fermented-red pepper powder	Mi-Sang Yu	Soo-Ki Kim	Chi-Ho Lee	Korean J. Food Sci. Ani. Resour.	In manuscript	국내	SCIE
2013	Fermentation of hot pepper juice by <i>Bacillus licheniformis</i> SK1230	Mi-Sang Yu	Soo-Ki Kim	Chi-Ho Lee	Romanian Biotechnological letters	In manuscript	국외	SCIE
2013	Preparation of yoghurt with red pepper juice	Mi-Sang Yu	Soo-Ki Kim	Chi-Ho Lee	J. Dairy Science	In manuscript	국외	SCI
2014	Cytotoxicity of the white ginseng extract and red ginseng extract treated with partially purified $\beta$ -glucosidase from <i>Aspergillus usamii</i> KCTC 6954	조미나	백현동	정지은, 이재훈, 박세호, 윤현주, 김기태	Food Science and Biotechnology	23(2) -게재예정	국내	SCIE

나. Proceeding 및 Poster 발표

계재연도	논문명	저자			학술지명	Vol.(No.)	국내외 구분
		주저자	교신저자	공동저자			
2011	Physicochemical Properties of Functional Soondae with Hydrolyzed Pork Skin and Dietary Fiber	김학연	최윤상 한두정 최주희 김현욱 황고은 박재현 정해경	김천제	한국축산 식품학회 제43차 정기학술 발표대회 p241	Poster	국내
2011	Effect of Swelled Pork Skin by Various Natural Vinegar on Quality Properties of Soondae	최주희	김학연 최윤상 한두정 김영재 정해경	김천제	한국축산 식품학회 제43차 정기학술 발표대회 p147	Poster	국내
2011	Capsaicin degradation in <i>Bacillus licheniformis</i> SK1233	조상범	김수기	이치호	한국미생물학 회	Proceeding	국제
2011	Isolation of capsaicin degrading bacteria and its cleavage	김수기	김수기	조상범 김수옥 원미영 이치호 문형인	Asian Pacific Conference on Clinical Nutrition	Proceeding	국제
2011	동일등급에 따른 YLD 돈육과 YBD 돈육의 육질에 관한 연구	정구용	정구용	-	한국축산 식품학회 제43차 정기학술 발표대회 p270	Poster	국내
2011	YLD 돈육과 YBD를 이용한 생햄 품질 비교에 관한 연구	정구용	정구용	-	한국축산 식품학회 제43차 정기학술 발표대회 p272	Poster	국내

게재연도	논문명	저자			학술지명	Vol.(No.)	국내외 구분
		주저자	교신저자	공동저자			
2011	Commercial Fungi Strains for Converting Ginsenoside Rb <sub>1</sub> to Minor Ginsenoside	Mina Jo	Hyun-Dong Paik	Ji Eun Jung, Hyun Joo Yun, Kyung-Ho on Chang	2011 Annual Meeting of Korean Society of Food Science and Technology	Poster	국내
2011	Characterization of $\beta$ -Glucosidase Producing <i>Saccharomyces servazzii</i> KU244 Isolated From Kimchi	Mina Jo	Hyun-Dong Paik	Eun Jin Han, Kyung-Ho on Chang	FEMS 2011 4 <sup>th</sup> Congress of European Microbiologists	Poster	국외
2012	지방침가량 감소와 숙성기간이 이탈리아 살라미형 발효소시지의 품질에 미치는 영향	장경환	김유진 이동진	정구용	한국축산식품학회, 2012년도 제44차 정기 학술발표대회	Proceeding	국내
2012	Degradation and utilization of capsaicin for cell growth in <i>Bacillus licheniformis</i> SK1230.	Sang Buem Cho	Soo-Ki Kim	Hyeong-In Moon, Jeong-Mee Kim, Chi-Ho Lee	The Journal of Microbiology	Poster	국제
2012	<i>B. licheniformis</i> SK1230 이용 고추 발효 및 고춧가루 첨가 요구르트 제조	유미상	김수기	김지호, 이준형, 손윤정, 연수정, 김정미, 이치호	한국축산식품학회, 2012년도 제44차 정기 학술발표대회	Proceeding	국내

게재연도	논문명	저자			학술지명	Vol.(No.)	국내외 구분
		주저자	교신저자	공동저자			
2012	Changes in Physicochemical Properties of Milk Fortified with Red Ginseng Extract and Commercial Enzyme – treated Red Ginseng Extract	Ji Eun Jung	Hyun-Dong Paik	Hyun Joo Yoon, Mina Jo	2012 Annual Meeting of Korean Society of Food Science and Technology	Poster	국내
2012	Cytotoxic Activity of Red Ginseng Extract and Commercial Enzyme-treated Red Ginseng Extract against Human Colon Adenocarcinoma	Ji Eun Jung	Hyun-Dong Paik	Jang-Hyun Lee, Hyun Joo Yoon	2012 Annual Meeting of Korean Society of Food Science and Technology	Poster	국내
2012	Changes in Physiochemical Properties of Milk Fortified with Red Ginseng Extract	Ji Eun Jung	Hyun-Dong Paik	Mina Jo, Hyun Joo Yoon, Na-Kyoung Lee	IFT12 Annual Meeting Food Expo	Poster	국외
2011	Effects of Goldenrod ( <i>Solidago virgaurea</i> ) leaf and stem extracts on oxidative stability in cooked ground pork during chilled storage	Choe, J. H.	Kim, C. J.	Kim, H. Y., Choi, Y. S., Han, D. J., Kim, H.W., Kim, Y.J, Park, J.H., Chung, H.K.	Icomst	Poster	국외



게재연도	논문명	저자			학술지명	Vol.(No.)	국내외 구분
		주저자	교신저자	공동저자			
2012	Effect of Pork Skin and Wheat Fiber Mixture as a Fat Replacer on Frankfurter-type Sausages	Choe, J. H.	Kim, C. J.	Kim, H. Y., Kim, H. W., Hwang, K. E., Park, J. H., Kim, Y. J.	한국축산식품학회, 2012년도 제44차 정기 학술발표 대회	Poster	국내
2012	Quality Change in Boiled and Smoked Chicken breast meat by Smoking Time	Kim, Y. J.	Kim, C. J.	Choe, J. H., Kim, H. W., Hwang, K. E., Ham, Y. K., Yeo, E. J.	한국축산식품학회, 2012년도 제44차 정기 학술발표 대회	Poster	국내
2012	Effects of Collagen Powder and Wheat Dietary Fiber Mixture as Fat Replacer on Low Fat Sausages	Ham, Y. K.	Kim, C. J.	Choe, J. H., Kim, H. W., Hwang, K. E., Kim, Y. J., Yeo, E. J.	한국축산식품학회, 2012년도 제44차 정기 학술발표 대회	Poster	국내
2012	천일염 및 GdL 첨가량에 따른 살라미의 품질에 관한 연구	이동진		정구용	한국축산식품학회	poster	국내
2013	Effects of pork collagen and dietary fiber on physico-chemical and sensory properties of reduced-fat fermented sausage	Youn-Kyung Ham	Cheon-Jei Kim	Dong-Heon Song, Chung-Hee Lee	한국축산식품학회, 2012년도 제45차 정기 학술발표대회	Poster	국내
2013	Physicochemical and sensory characteristics of fermented sausage with addition level of collagen powder	Yong-Jae Kim	Cheon-Jei Kim	Hyun-Wook Kim, Youn-Kyung Ham, Hack-Youn Kim	한국축산식품학회, 2012년도 제45차 정기 학술발표대회	Poster	국내

게재연도	논문명	저자			학술지명	Vol.(No.)	국내외 구분
		주저자	교신저자	공동저자			
2013	Effect of MCG and Collagen Powder Mixture on the Qualities of Low Fat Pork Sausage as Fat Replacer	Fu-Yi He	Cheon-Jei Kim	Eui-Joo Yeo, Min-Sung Choi	한국축산식품학회, 2012년도 제45차 정기 학술발표대회	Poster	국내
2013	Effects of pork collagen and wheat fiber on quality properties of reduced-fat sausage as a fat replacer	Youn-Kyung Ham	Cheon-Jei Kim	Yong-Jae Kim, Eui-Joo Yeo, Yun-Bin Lim	ICoMST, 2013년도 59 <sup>th</sup> 학술대회	Poster 발표 예정	국외
2013	Physicochemical Properties of Functional Yogurt Added with Red Ginseng Extract	Ji Eun Jung	Hyun-Dong Paik	Hyun Joo Yoon, Hye Ji Jang, Renda Kankanamge Chaturika Jeewanthi	제 45차 정기 학술발표 대회 한국축산식품의 세계화	Poster	국내
2013	Changes in the Physicochemical and Biological Properties of Dairy Products Fortified with Red Ginseng Extract During Storage	Hyung Joo Yoon	Hyun-Dong Paik	Ji Eun Jung, Yoh-Chang Yoon	IFT 13 Annual Meeting Food Expo	Poster	국외
2013	<i>Bacillus licheniformis</i> SK1230을 이용한 고추즙 발효 특성	유미상	김수기	연수정 이치호	한국축산식품학회, 2013년도 제45차 정기 학술발표 대회	Poster	국내
2013	발효 고추즙을 첨가한 호상 요구르트의 제조 및 품질 특성	유미상	김수기	이치호	한국축산식품학회, 2013년도 제45차 정기 학술발표 대회	Poster	국내

계재연도	논문명	저자			학술지명	Vol.(No.)	국내외 구분
		주저자	교신저자	공동저자			
2013	Antioxidant Activity of Functional Yogurt Fortified with Red Ginseng Extract	Ji Eun Jung	Hyung-Dong Paik	Hye Ji Jang, Hyung Joo Yoon	2013 Annual Meeting Korean Society of Food Science and Technology	Postesr	국내

### 3. 특허성과

#### 가. 출원된 특허

출원된 특허의 경우				
출원연도	특허명	출원인	출원국	출원번호
2010	커큐민 마요네즈	이치호	대한민국	10-2010-0123427
2011	김치유래 베타 글루코시다아제 생산 신규한 효모 사카로마이세스 서바지 KC244 균주	백현동 조미나 한은진 이나경 장경훈	대한민국	10-2011-0007063
2010	DHA생산성을 향상시킨 스키토트리움속 JBF 06균주와 이를 이용한 DHA 생산방법	지니스	대한민국	10-2010-0012570
2011	취 추출물을 유효성분으로 함유하는 육제품 및 그의 제조방법	김천제, 김학연, 최주희, 최지훈, 최윤상, 한두정, 김현욱, 박재현, 김용재, 함윤경, 김범주	대한민국	10-2011-0078458
2011	감 과피 유래 식이섬유를 활용한 유효형 소시지 및 그의 제조방법	김천제, 김학연, 최주희, 김현욱, 박재현, 김용재, 이수연, 함윤경, 여의주, 김범주	대한민국	10-2011-0137514
2012	돈피와 식이섬유를 혼합하여 제조한 지방대체재가 함유된 저지방 소시지 및 그의 제조방법	김천제, 김학연, 최주희, 김현욱, 황고은, 박재현, 김용재, 함윤경, 여의주	대한민국	10-2012-0014967

출원된 특허의 경우				
출원연도	특허명	출원인	출원국	출원번호
2011	아스퍼질러스 우사미 케이씨티씨 6954균주가 생산하는 효소를 이용한 진세노사이드 알비 1의 효율적인 전환방법 및 그 산물	백현동, 조미나, 정지은 윤현주, 장경훈	대한민국	10-2011-0130604
2012	Rg3 분해능이 없는 인변유래 신규한 락토바실러스 파라카제이 균주 및 이를 이용한 진세노사이드 Rb1 또는 F2로의 전환 방법	백현동, 김근배, 조미나, 정지은, 윤현주, 김관후, 임예슬	대한민국	10-2012-0044337
2012	캡사이신 유도체 함유 요구르트 제조 기술	김수기, 이치호, 김지호, 손연정, 유미상, 이준형, 김정미, 연수정, 조상범	대한민국	10-2012-0045422
2012	DHA생산성을 향상시킨 스키토트리움속 JBF 06균주와 이를 이용한 DHA 생산방법	지니스	대한민국	10-1185596
2012	커큐민 소세지	이치호	대한민국	10-2012-0100910
2013	젤라틴과 식이섬유가 함유된 지방대체제를 이용한 저지방 소시지 및 그 제조방법	김천제, 최주희, 황고은, 김현욱, 함윤경, 김용재, 여의주, 박재현, 송동현	대한민국	10-2013-0067633
2013	홍삼 농축액이 첨가된 우유 혼합물로부터 면역 활성이 증강된 요구르트 및 그 제조방법	백현동, 정지은 윤현주, 장혜지, 지희숙, 박은주, 이민희	대한민국	10-2013-0050956
2013	홍삼 농축액 함유 우유 및 그 제조방법	백현동, 정지은, 윤현주, 조미나, 지희숙, 박은주, 이민희	대한민국	10-2013-0063121
2013	발효 고추즙 제조방법 및 그 발효 고추즙의 용도	김수기 이치호 유미상 연수정 손윤정	대한민국	10-2013-0030502

나. 등록된 특허

등록된 특허의 경우				
등록연도	특허명	등록인	등록국	등록번호
2011	Cholesterol lowering supplement and low cholesterol egg produced by using the same	JINIS	China	CN1993122B
2012	Antimicrobial composition for pathogenic microorganism comprising plant or extract thereof	건국대학교 산학협력단	한국	1011060560000
2012	Antimicrobial composition for pathogenic microorganism comprising plant or extract thereof	건국대학교 산학협력단	한국	1011060520000
2012	부추즙 동결건조물 및 법제유황을 포함하는 것을 특징으로 하는 비만 예방 및 개선용 조성물	건국대학교 산학협력단	대한민국	10-1173230
2012	유황돈육 생햄 제조방법	건국대학교 산학협력단	대한민국	10-1195411
2012	머리고기 스킨과 발효식초를 함유하는 저지방 고기순대 및 그의 제조방법	건국대학교 산학협력단	대한민국	10-1189661
2013	머리고기스킨 젤라틴과 식이섬유를 함유하는 저지방 혈액소시지 및 그의 제조방법	건국대학교 산학협력단	대한민국	10-1245187
2012	진세노사이드 알비1의 효율적인 생물전환 방법 및 그 산물	건국대학교 산학협력단	대한민국	10-1182741
2013	김치유래의 베타 글루코시다아제 생산 신규한 효모 사카로마이세스 서바지 KU 244 균주	건국대학교 산학협력단	대한민국	10-1235289

#### 4. 산업기술인력 양성 성과

프로그램명	프로그램 내용	교육기관	교육 개최회수	총 교육시간	총 교육인원
육가공 기술 교육	육가공 기술 교육	건국대학교 기능성 축산식품사업단	1	20	40
유가공 기술 교육	유가공 기술 교육	건국대학교 유가공학회 및 기능성 축산식품 사업단	1	27	20
즉석식육가공유통 전문가 양성과정 (2010)	혈액 소시지 제조	건국대학교	1	64	35
즉석식육가공유통 전문가 양성과정 (2011)	저지방 유화형 및 구이형 소시지 제조	건국대학교	1	4시간	35명
즉석식육가공유통 전문가 양성과정 (2012)	반건조 소시지 제조	건국대학교	1	4시간(16주)	35명
식육가공·유통 전문가 양성과정	발효건조 소시지 제조 및 실습	상지대학교	1	4시간	35명
강원농업마이스터한우가공유통	발효생햄 제조	상지대학교	1	3시간	12명
낙농유가공실무 기초과정	유가공 기술의 실무 기초 교육	(사)한국낙농유가공기술원	1	30시간(5일)	50명
낙농유가공실무 교육	유가공 기술의 실무 기초 교육	(사)한국낙농유가공기술원	1	30시간	50명

## 5. 기타 (세부과제별 성과)

가. 1핵심 1세부 (이치호)

### (1) 홍보성과

- 2010.07.26 Food Today 신문 “건국대 기능성 축산식품 연구사업단 - 21세기 축산식품산업의 패러다임을 바꾼다” :사업단 소개 및 축산식품산업 분야 발전 방향 모색
- 2010.12.09 농기평 I-Webzine 뉴스레터 칼럼 “기능성 발효 축산식품 개발의 필요성” : 기능성 발효 축산식품의 필요성
- 월간저널 제12호 R&D 브리프 <기능성 발효 축산식품 개발의 필요성>
- 농민신문 - 월간축산 6월 제 397호 기능성 축산식품 특집호 게재
- 축산신문 2011년 9월 27일자 기사 <건강 지켜주는 영양 밸런스, 채식만 먹다 무너지기 십상> - “축산식품 학자가 본 육식과 건강”
- 축산신문 2011년 12월 12일자 <기능성 물질 첨가, 최고급 식품으로 재탄생> - “FTA 시대 양돈 돌파구 발효 숙성 육제품에서 찾는다”
- 월간와인 2012년 4월호 (vol. 27) <메이드 인 코리아의 ‘하몽’ 으로 와인과 마리아쥬를 꿈꾼다> - “국산 하몽개발에 앞장선 이치호 건국대 동물생명과학대학 교수”

나. 1핵심 2세부 (김천제)

### (1) 교육 및 지도 활용

(가) 박사학위 취득 - 4인

- Effects of Addition Types and Levels of Kimchi on Quality Properties in Functional Meat Products (2011년 2월 졸업)
- Utilization of Wheat Fiber, Chicken Skin and Feet Hydrolyzates as a Binder or Extender in Chicken Meat Products (2011년 2월 졸업)
- Effects of hot-boning, tumbling, meat composition, and non-meat ingredients on the quality properties of jerky (2011년 8월 졸업)
- Application of Persimmon Peel as a Natural Antioxidant and Dietary Fiber in the Pork Meat Products (2012년 8월 졸업)

(나) 석사학위 취득 - 4인

- Effects of Gamma-Irradiation and Kimchi Powder on the Quality Properties and Shelf Stability of Emulsion Sausage (2012년 2월 졸업)
- Effect of Goldenrod Powder on Quality Characteristics and Oxidation Stability of Raw Ground Pork during Chilled Storage (2013년 2월 졸업)
- Functional Characterization of Gelatin Extracted from Duck Feet and Its Utilization (2013년 8월 졸업예정)
- Effect of *Buchu* (Chinese chive) on Shelf Stability of Pork Sausages during Refrigerated Storage (2013년 8월 졸업예정)

(다) 학사학위 취득 - 1인

- 취 익 및 줄기 분말 첨가가 유화형 소시지의 품질특성에 미치는 영향 (2012년 2월 졸업)

다. 1핵심 3세부 (정구용)

- 강원농업마이스터대학 한우 가공유통과정 학생들을 대상으로 한 발효육제품 생산기술 이전
- 농가 기술이전 추진(무안, 평창, 태백)
- 식육가공·유통과정 학생 및 대학생을 대상으로 기호도 조사 및 품평회 실시
- 2013 독일(뉴른베르그)에서 개최된 BIOFACH 2013에 참여하여 Bio-Salami, Bio-Schwarzwälder Schinken, I Crudi (raw hams) 등 발효육제품에 대해 조사하였고, 육가공선진국인 독일에서 생산되는 친환경 육제품의 종류 및 가공방법(발효육제품의 발효 조건 등)에 대해 조사하였으며, 유럽시장에서의 국내 육가공 제품 인지도에 대해 조사
- 한돈자조금협회와 공조하여 국내 각 시도에서 기업양돈을 추구하는 양돈인에게 고부가가치에 대한 가치를 인식하기위하여 독일(메쯔거라이), 스페인(하몽, 초리조) 등의 산업시찰을 9박10일동안 22명을 인솔하였음

라. 2핵심 1세부(김현진)

(1) 기술 및 제품 홍보를 위한 국제전시

- BIO 2010, 2010. 05. 02 ~ 08, 미국 시카고, Exhibition Booth
- BIO 2010 기술발표 및 파트너링 (Chicago, USA)
- 2010 Bio Forum 참가 및 기술상담 (San Francisco, USA)
- 2011 Natural Product EXPO 참가 및 기술소개 (Anaheim, USA)
- Bio 2012 참가 및 기술이전상담 (Boston, USA)
- Global Development Project 2012 참가 (Seoul, Korea)
- Bio 2013 참가 및 기술이전상담 (Chicago, USA)

(2) 기술사업화업무협력협약 및 농가 지도

- 임실치즈연구소와 기술사업화업무협력협약 체결
- 기술 및 제품 홍보를 위한 농가기술지도
- 기술 및 제품 홍보를 위한 언론 활동 및 강연

마. 2핵심 2세부(백현동)

(1) 균주 기탁

- 균주명 : *Saccharomyces servazzii* KU244 (기탁일자 : 2010. 12. 29)  
균주 기탁번호 : KCCM 11158P
- 균주명 : *Lactobacillus paracasei* CAU 9253 (기탁일자 : 2012. 04. 17)  
균주 기탁번호 : KCCM 11274P

(2) 기술지도



- (주) 삼익유가공 효소 활성 분석 및 신규 유산균 정보 제공과 인삼 성분 분석에 대한 기술지도

(3) 홍보

- 시사뉴스저널 2012년 5월호 기사 (제목 : i-SMART 건국 2020 실현하는 핵심동력 산학협력단)

바. 2핵심 3세부(김수기)

- 석사학위 취득 - 2인 (유미상, 손윤정)
- 기술이전 설명회 참가 1회

## 제 2 절 성과활용 계획

### 1. 1핵심 1세부 (이치호)

가. 특허, 품종, 논문 등 지식재산권 확보계획 등

현재 유황돈육 및 유황돈육 생햄 제조방법과 관련되어 기 보유한 특허를 바탕으로 추가적인 연구를 통해 유청유황돈육 및 생산, 저장 및 유통 과정상의 표준화를 통해 특허 및 우수 SCI 논문을 확보할 계획임

나. 추가연구, 타연구에 활용 계획 등

유황돈육 및 유황돈육하몽을 생산하는 과정에서 제기된 문제점과 그 과정에서 얻어진 노하우를 바탕으로 기술이전 실시 기업과 연계하여 유황돈육 생산 저 비용화 및 꼬레몽 사업화를 위한 생산, 저장 및 유통상의 표준화 연구를 실시할 예정임

다. 실용화·산업화 계획(기술실시 등)

목 표	내 용	연 구 범 위
유황 돈육을 이용한 발효 육제품 산업화	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ 발효 육제품 생산 표준 모델 확립</li> <li>▪ 기술이전 실시 기업과 연계하여 제품화 및 산업화 추진</li> <li>▪ 관련 기술의 농가 지도 및 기술이전</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ 발효 육제품 제조 표준화 및 숙성 시설의 모델 확립 및 규격화</li> <li>▪ 산업화를 위해 기 출원된 특허와 차별화 된 신규 특허 확보</li> <li>▪ Pilot 수준의 제품 생산 및 산업화 모델 제시</li> <li>▪ 관련 기술에 대한 지역자치단체 통한 기술 지도 실시 예정</li> </ul>

### 2. 1핵심 2세부 (김천제)

가. 기대성과

(1) 기술적 측면

(가) 콜라겐에 대한 상당수의 연구들은 콜라겐 자체의 생리학적 이로운 또는 기능적 특성에 대한 연구가 대부분임. 따라서, 본 연구를 수행한 결과 기능성 식육가공품의 개발에 있어 콜라겐의 활용가능성 및 방안에 대한 기술적 토대를 마련하였음.

(나) 콜라겐은 생리학적 특성이 우수한 단백질의 일종으로, 콜라겐을 함유하는 기능성 식육가공품의 개발기술은 최근 건강에 관심에 많은 소비자들의 요구를 충족시킬 수 있는 고부가가치 기술임.

- (다) 현재 대부분의 순대는 당면을 이용한 당면순대가 대부분으로, 고기 및 돈피에 함유된 콜라겐을 활용한 기능성 고기순대를 개발함으로써 우리나라 전통육제품과 식품가공기술을 접목한 퓨전식품의 개발이 가능함.
- (라) 저지방 식육가공품 개발기술은 현재 육가공산업에서 가장 주목받는 기술 중 하나로서, 특히 단백질 소재인 콜라겐을 활용할 경우 지방함량이 낮으면서도 단백질 함량이 높은 영양적으로 우수한 식육가공품의 제조가 가능함.
- (마) 대부분의 발효소시지 제조기술은 유럽 등지에서 개발된 기술로서 콜라겐을 활용한 저지방 발효소시지 제조기술은 해외기술력과 기술적 우수성에 있어 우위를 차지할 수 있는 우수한 제조기술임.

(2) 경제·산업적 측면

- (가) 부산자원으로서 활용도가 낮던 돈피의 효과적인 활용방안을 제시함으로써 부산자원의 부가가치 향상이 가능함.
- (나) 우리나라 전통육제품인 순대의 영양적 가치와 기능적 특성을 향상시킴으로써 순대에 대한 소비활성 및 관심증대에 따른 관련 산업체의 이익창출이 기대됨.
- (다) 최근 육가공 업체에서 화두가 되고 있는 저지방 식육가공품을 개발함으로써 소비자들의 요구를 만족시키고 육가공 산업 활성화에 기여함.
- (라) 한국형 단기숙성 발효소시지를 개발하여 현재 국내 기술개발이 미진한 분야의 산업적 우위를 차지하고, 이를 상품화하여 새로운 시장형성이 가능하다고 기대됨.
- (마) 현재 대부분을 수입에 의존하고 있는 육가공 부재료 시장에 있어 돈피를 이용한 가공기술을 개발함으로써 증점제, 증량제 등에 대한 수입대체 효과 및 독자적 기술 확보를 통한 산업화가 기대됨.

나. 타 연구에의 응용 및 산업체 활용 방안

- (1) 한국의 대표적인 전통육제품 중 하나인 순대의 기능성 향상을 통한 기술개발 자료를 제시함으로써 기타 전통육제품의 가치향상 및 품질향상에 대한 연구에 있어 응용기술 기초자료로 활용할 수 있음.
- (2) 돈피를 활용한 식육가공제품 제조기술에 대한 지적재산권(특허, 상표 출원) 확보 및 관련 기업들에 대한 기술이전 설명회를 실시하였음. 이에 향후 기술이전 및 개발기술을 기초로 하여 상품화가 기대됨.
- (3) 발효소시지의 개발에 대하여 관심을 갖는 관련기업 및 육제품 관련 중소기업과 연계하여 돈피 콜라겐을 활용한 발효소시지 제조기술을 이용한 새로운 신상품을 개발하고 기술지도할 계획임.

- (4) 현재 6년째 본 연구과제 세부책임자(김천제 교수)가 운영하는 ‘즉석 식육유통 전문가 양성과정’(한국농수산식품유통공사 지원)을 통하여 즉석 식육가공품 제조 및 판매를 희망하는 관련 업체에 돈피 콜라겐을 활용한 식육가공품 제조기술에 대하여 기술지도를 실시할 예정이다.
- (5) 본 연구 결과를 국내학술대회(한국식품과학회, 한국축산식품학회 등) 및 해외학술대회(International Congress of Meat Science and Technology)에 발표하였음.
- (6) 한국식품과학회지, 한국식품조리과학회지 등의 학술진흥재단등재지와 Meat Science, Food Science and Biotechnology, 한국축산식품학회지 등 SCI 및 SCIE 논문에 게재할 예정이다.

### 3. 1핵심 3세부 (정구용)

#### 가. 기술이전을 통한 산업화 및 실용화 전략

- (1) 강원농업마이스터대학 과정 식육가공·유통과정 등 축산업 관련분야 종사자들에게 지속적인 발효육제품 생산 기술을 이전하여 살라미, 하몽 등과 같은 제품들을 실용화할 계획임
- (2) 태백과 무안 및 평창 등의 영농조합법인에 기술이전을 실시중에 있으나, 제품을 만들기 위한 기자재 및 시설 구입이 국내에서는 보편화 되지 않아(항온항습기, 유속조절장치 등) 시일이 지연되고 있으므로, 작업장 및 제품생산용 발효실 등의 컨설팅부터 실시할 계획

#### 나. 학교기업 ‘상지종합축산식품’을 통한 발효육제품 홍보 및 판매



<그림 19> 교육부 지원사업 ‘상지종합축산식품’ 공장 사진(2013년 7월 중 공장가동예정)

- (1) 상지대학교 내에 학교기업 ‘상지종합축산식품’을 창업(총 10억 : 교육부 지원 : 7억5천, 교비 2억5천)하여 학생들로 하여금 전문 기술을 숙달하여 전문인으로 양성하여, 취업을 쉽

게 할수있도록 기술교육을 시키며, 또한 창의력있는 학생으로 하여금 창업을 유도하여 일자리 창출을 향상시키는데 있음

- (2) 교육부 지원사업 학교기업 '상지종합축산식품'을 통해 대학생 및 일반인들에게 발효육제품에 대한 홍보 및 판매실시
- (3) 교내 직원 및 대학생들을 대상으로 시식회 및 품평회를 실시해 발효육제품에 대한 인지도 제고

#### 4. 2핵심 2세부 (백현동)

- 가. *Aspergillus usamii* KCTC 6954 균주에 의해 생산되는 Rg<sub>3</sub> 생산효소를 정제하는 기술이 아직 미미하여 이 균주를 이용하여 효소를 대량 생산하고 산업화하기에는 불리한 점이 있음. *A. usamii* KCTC 6954 균주의 대량 생산을 위한 실험방법 연구 및 정제 기술을 좀 더 체계화시킨다면 대량화를 통한 저렴한 비용으로 효소를 산업화시킬 수 있다고 판단됨
- 나. 인변으로부터 분리한 10 종의 유산균주에 대한 항산화 및 항암 효과와 같은 기능적인 면과 혼합 균주에 대한 특성 연구는 경제적인 가치가 있다고 생각이 들며 좀 더 지속적인 연구가 필요하다고 판단됨
- 다. 유산균주의 특성 연구를 바탕으로 새로운 starter culture를 생산할 수 있으며 유제품업체에서 새로운 발효유를 개발할 수 있었음
- 라. Rg<sub>3</sub> 대량 생산 기술이 확보되어 인삼을 원료로 하는 기업으로 기술 이전한다면 Rg<sub>3</sub> 및 minor 진세노사이드 함량이 다량 함유된 건강 기능성 식품, 신소재 인삼 제품 등을 생산할 수 있었음
- 마. 본 연구에서 개발한 홍삼 유제품에 대해 항염, 항암, 항고혈압 등 각종 약리활성에 대한 연구가 다양하게 이루어질 것으로 사료됨
- 바. 본 연구에서 개발한 홍삼유제품에 대추농축액과 배즙과 같은 농축액 및 과즙을 첨가하여 기호성을 향상시켜 판매할 수 있으며 기능성을 향상시킬 수 있는 소재를 첨가하여 새로운 기능성 유제품을 개발할 수 있다고 판단됨

#### 5. 2핵심 3세부 (김수기)

- 가. 본 연구에서 제작한 캡사이신 (고추) 요구르트의 시작품이 항비만 효과가 확실히 검증되면 앞으로 성과 활용을 적극적으로 추진할 것임
- 나. SCI(E) 논문 제출: 캡사이신 요구르트 제조 등
- 다. 기술이전 노력  
2013년 5월 14일 본 사업단 추진(건국대 산학협력단 후원) 기술이전 설명회에서 유업회사에 아래와 같은 내용을 설명하여 상호 의견을 교환함. 현재 계속 기술이전을 위하여 준비와 노력을 하고 있음.

# 기 술 개 요 서

## ■ 발명자 정보

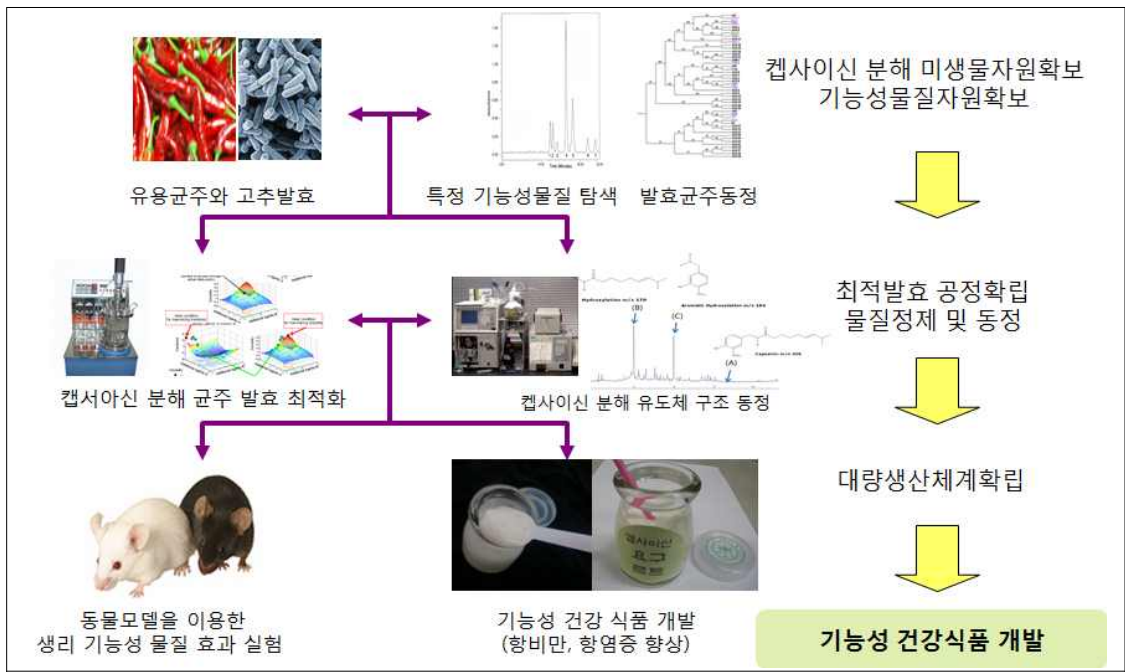
연구책임자	성명	김 수 기	소속	동물생명과학대학 동물자원과학과
	연락처	연구실: 02-450-3728 Email: sookikim@kokkuk.ac.kr		

담당연구원	성명	국 민	소속	동물생명과학 대학 동물영양자원과학 전공
	연락처	연구실: 02 - 450 - 3728 Email: kukmini5075@gmail.com		

## ■ 기술 정보

<b>1. 기술명</b>
<p>국문: 생물학적 기술을 이용한 맵지 않은 캡사이신 유도체의 개발 및 축산 식품에 대한 적용 (호상요구르트 제조)</p> <p>영문: Development of non-spicy capsaicin derivatives by biological method and their application in animal products (Stirred yogurt preparation)</p>
<b>2. 기술개요</b>
<p>고추는 가지과에 속하며 온대지방에서는 일년생, 열대지방에서는 다년생으로 재배됨. 고추의 매운맛 성분인 캡사이신[capaicin](<math>C_{18}H_{27}NO_3</math>)은 지용성의 무색 화합물로 화학 구조상 방향족 고리와 아마이드 쌍극자 결합 그리고 소수성의 사슬구조로 이루어진 vanillin유도체임.</p> <p>캡사이신은 식염섭취 저하, 위산분비 항진, 타액분비 촉진, 식욕증진, 혈관 확장 및 수축, 장관운동 항진 등의 효과가 있고, 캡사이신의 약리학적 효과로는 당뇨병성 신경 장애와 만성근육통, 군발성 두통, 류마티스 관절염 및 골관절염에 대해 통증 등에 대한 완화 작용을 하는 것으로 알려져 있음. 또한 수술 후 오심과 구토증상의 완화에도 그 효과가 보고 되었고, 위염을 일으키는 헬리코박터파일로리 균의 성장을 억제하는 효과가 있는 것으로 알려져 있음. 캡사이신은 부교감신경계의 원심성 활동을 항진시켜 카테콜아민류의 분비를 촉진시키고, 카테콜아민은 간장이나 지방조직 내에 존재하는 베타아드레날린 수용체에 작용하고 결과적으로 혈중 글루코스나 유리지방산을 이용하는 에너지 대사 효율을 향상시킴으로서 체중 감량효과를 나타내게 됨. 이 외의 캡사이신의 다른 효과들로는 항돌연변이 효과, 항산화 작용, 항암효과, 항균활성, 항염증작용 등이 있는 것으로 알려져 있음.</p> <p>캡사이신의 다양한 기능성에도 불구하고 고추 캡사이신의 강한 매운맛은 그 사용 범위 및 정도를 제한해 왔음. 따라서 캡사이신 분해 균주를 이용하여 매운맛을 저감시키는 <i>Bacillus</i> 종을 분리하여 이를 특허등록 하였음. 항비만 외 항산화, 항균 등 다양한 생리 기능을 보유하고 있는 청양고추즙을 발효시킨 후, 캡사이신 유도체가 첨가된 호상 요구르트를 제조하여 물리 화학적 및 관능적 특성을 규명하여 고추를 첨가한 기능성이 부여된 요구르트를 개발하였음 (특허출원)</p>

<b>3. 기술의 우수성(종래기술과의 차별성)</b>
<p>항비만 효과가 있는 것으로 알려진 캡사이신 유도체를 이용하여 기존 캡사이신의 강한 매운맛으로 제한된 사용범위를 더욱 다양하게 넓힐 수 있게 되었음. 또한 well-being 음식으로 잘 알려진 요구르트와의 조화를 통하여 보다 훌륭한 기능성 식품으로써 적용 가능할 것임.</p>
<b>4. 국내외 시장성 및 기술동향</b>
<p>(1) 캡사이신의 다양한 생리활성</p> <p>캡사이신은 다양한 병원균의 성장을 억제하는 기능이 있는 것으로 알려져 있고, 캡사이신은 위염을 일으키는 <i>Helicobacter pylori</i>를 직접적으로 성장을 억제하는 기능을 가지고 있으며, 또한 <i>H. pylori</i>의 감염시에 나타나는 위점막상의 염증반응 중, Interlukin-8(IL-8)의 생성을 억제하여 염증반응을 완화시키는 효과가 있는 것으로 알려져 있음. 또 비만이 유도된 마우스를 이용한 실험에서 캡사이신의 섭취는 지방세포와 지방조직에서 IL-6 와 MCP-1의 mRNA 발현을 억제하였고, adiponectin의 발현량을 증가시켜 궁극적으로 비만으로 야기되는 당뇨와 동맥경화를 억제할 수 있는 가능성이 확인된 바 있음. Rosa 등 (2002)의 연구에서는 맵지 않도록 재배된 고추 (<i>Capsicum annum L</i>)에서 캡사이신ester 유도체인 capsiate, dihydrocapsiate 그리고 Vanilly nonoate에서 우수한 항산화 능력을 확인한 바 있음.</p> <p>(2) 생리활성이 강화된 기능성 요구르트의 관한 연구</p> <p>면역증강을 기대하는 클로렐라추출물 첨가 요구르트, 향암기능 및 두뇌 활동 촉진을 위한 인삼요구르트, 비장 기능 향상을 위한 단호박 가루 첨가요구르트, 항염효과를 기대하는 흑마늘 첨가 요구르트, 산수유의 약리학적인 효과를 기대하는 산수유 추출물 첨가 요구르트, 충치균 증식 억제 효과를 가지는 가루녹차 첨가 요구르트 등이 있음.</p>
<b>5. 응용가능분야</b>
<p>캡사이신 분해 미생물을 이용하면 매운맛이 감소된 가운데 캡사이신 유도체들을 이용하면서 항비만, 항염증, 항신경통 등 생리활성을 보유하고 있어 유제품 외에 다양한 식품분야에 첨가하여 다용도로 적용 할 수 있음.</p>
<b>6. 개발상태</b>
<p>발효 고춧가루 및 발효 고추즙 첨가 호상 요구르트 시작품 제작 완료 (시음 가능) 현재 Rat 실험 중</p>
<b>7. 지적재산권</b>
<p>특허등록번호 : 제 10-0930291호, 특허출원번호 : 제 10-2012-0045422</p>
<b>8. 관련사진</b>



**9. 키워드**

Stirred yogurt, fermented-hot pepper juice, *Bacillus licheniformis* SK1230, capsaicin

**10. 마케팅 희망기업 (잠재적 수요기업 등)**

유업회사, 식품첨가물 회사, 기능성 식품 제조업체



(기술이전 설명회 전시 및 홍보용으로 제작된 캡사이신 요구르트 시작품)



## 제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보

### 제 1 절 세부과제별 수집 해외과학기술정보

#### 1. 1핵심 1세부 (이치호)

가. 유럽형 고급 제품들의 수입 증가로 인해 본 사업단에서 목표로 하고 있는 고급 원료육인 유허돈육생산 및 고급 유허돈육 발효 육제품의 산업화를 활성화시키기 위한 기술 연구를 위해 축산 선진국 탐방 및 제조법 수집

나 2010년 10월 15일 - 20일 (일본)

일본 육가공 회사인 스타젠 방문 및 오비히로 대학과 연구 교류를 위한 방문

우수 생햄 제조 시설 방문 답사하여 전문적인 발효 생햄 기술 교육 및 생햄 숙성에 필요한 환경 조건에 대한 견학, 기술 교류 및 업무상 협조 요청 등

다. 2011년 6월 28일 - 30일 (일본)

스타젠 육가공회사 일본 생햄 제조법

일본 현장 답사 사진 - 2년간 숙성 시킨 생햄의 제조 과정 및 완성품



라. 2011년 10월 21일 - 23일 (중국 내몽고자치구)

후허하오터 농업대학 방문, 발효 유육제품 관련 사업 교류 추진  
한국 유육제품의 현황, 본 사업단 소개 및 연구, 제품 관련 강연  
내몽고 식품과학대학과 본 사업단 간의 교류 및 연계 추진

마. 2012년 4월 17일 - 19일 (스페인 마드리드)

발효 생햄 연구동향 및 산업시찰

유럽 선진국 발효축산식품 산업 동향 및 산업화 롤 모델 도입을 위한 방문  
스페인 하몽 제조 시설을 방문하여 제품 품질에 관한 비교 및 자문



바. 2013년 1월 4일 - 7일 (뉴질랜드 오클랜드)  
 발효 생햄 관련 우수 육가공 기술 교류 및 산업화 모델 확립  
 뉴질랜드의 양고기를 이용한 생햄 제조법  
 뉴질랜드 현장 답사 사진



사. 2013년 2월 1일 - 4일 (일본)  
 일본 육가공 회사인 스타젠을 방문하여 발효 생햄의 육질 개선을 위한 기술교류 실시  
 사탕수수에서 추출한 베타인을 이용한 육질 개선 기술 교류

## 2. 1핵심 2세부 (김천제)

가. 해외 기술 동향

(1) 항생물질이 젖산균의 항병원성균 효과를 억제(2011년 8월 17일)

(가) 출처: <http://www.foodqualitynews.com>

(나) 키워드 : 항생제, pathogen-killing, *E.coli*, fermented sausage

(다) 내용

- 덴마크와 아일랜드 연구원들에 의해 잔류 항생물질이 젖산균의 발효 과정을 억제하여 병원성균을 억제하는 효과를 낮춘다는 사실이 보고되었음
- 사육과정에서 사용되는 항생물질이 잔류하여 원료육에 남아있게 됨. 이러한 잔류 항생물질을 젖산균의 생육을 억제하고 젖산 생성을 저해시킴. 이러한 환경은 젖산균이 *E.coli* O157:H7과 같은 병원성균을 죽이는 능력을 상실하게 됨. 하지만 잔류 항생제는 병원성균의 억제에는 아무런 도움을 주지 못함.

(2) 슬라이스 건조 발효 소시지의 저장기간(2013년 3월 15일)

(가) 출처: <http://www.thepoultrysite.com>

(나) 키워드 : 질소 가스 포장, 슬라이스 건조 발효소시지, 진공 포장

(다) 내용

- 크로아티아 연구진들은 포장조건이 슬라이스 건조 발효 소시지의 저장조건에 따른 저장 기간에 대한 연구를 진행하였음.
- 연구진들은 슬라이스 건조 발효소시지의 저장기간의 경우 미생물에 의한 저장기간의 제한보다 관능적 특성에 의한 제한이 더 먼저 일어남을 확인하였음. 또한 질소 가스 포장 이 진공 포장(95일)보다 더 긴 저장기간 동안(120일) 보관이 가능함을 발견.

나. 국제 특허 동향

(1) BEEF JERKY STICKS OR BAR OR SALAMI WITH A LONG SHELFTIME WITHOUT REFRIGERATION

(가) 발명자: Buga Roman

(나) 공개번호: 20110212251

(다) 공개일자: 2011. 9 . 1.

(라) 내용

- 본 발명은 Beef jerky stick/bar와 salami에 사용되는 stuffing/batter의 분쇄공정의 조절을 통해 단백질의 higher energy surface와 open protein structure를 생성해 저장기간을 향상시킴.

(2) PROCESSED MEAT PRODUCT WITHOUT ADDED PHOSPHATE, AND METHOD OF PRODUCING SAME

(가) 발명자: Baek, Hyon Ho

(나) 공개번호: 2013042872

(다) 공개일자: 2013. 3. 28

(라) 내용

- 본 발명은 육가공 제품의 제조과정에서 사용되는 인산염을 사용하지 않는 무첨가 육가공 제품의 제조방법을 제공함. 분쇄된 원료육의 pH를 상승시켜 보수력을 향상시키고, 이 수율 및 조직감을 개선하는 pH 조절제 또는 이와 함께 하이드로콜로이드를 인산염 대체 수단으로 사용.

다. 국외논문

(1) Amorphous cellulose gel as a fat substitute in fermented sausages

(가) 저자: Paulo Cezar Bastianello Campagnola, Bibiana Alves dos Santos, Roger Wagnerb, Nelcindo Nascimento Terrab, Marise Aparecida Rodrigues Pollonioa

(나) 저널: Meat Science, 90, 36-42

(다) 발행년도: 2012년

(라) 요약

- 발효 소시지의 경우 건조가 일어나면서 최종제품의 지방함량이 30%를 초과하는 경우가 많음.
- 지방의 경우 제품의 수분 증발을 조절하는데 도움을 주어 효과적인 발효가 일어날 수 있도록 도와주며 풍미 형성에 기여함. 하지만 과도한 지방의 섭취는 건강에 악영향을 미침.
- 본 연구에서는 비결정성 셀룰로오스를 이용 지방을 대체하여 발효소시지를 제조하여 그 특성을 연구함. 지방함량의 50%를 비결정성 셀룰로오스로 대체할 경우 품질적 특성의 저하없이 발효소시지의 제조가 가능.

(2) Biogenic Amines in Low- and Reduced-Fat Dry Fermented Sausages Formulated with Konjac Gel

(가) 저자: Claudia Ruiz-Capillas, Mehdi Triki, Ana M. Herrero, and Francisco Jiménez-Colmenero

(나) 저널: Journal of Agricultural and food chemistry, 60, 9242-9248

(다) 발행년도: 2012년

(라) 요약

- Biogenic amines 은 발효 육제품에서 많은 양이 생성. Biogenic amines은 발효 육제품의 건강과 품질면에서 문제가 되고 있어 그 조절과 감소방법에 대한 연구가 진행중에 있음.
- 본 연구는 발효소시지에서 지방을 대체하는 배합비의 변화에 따른 품질을 측정함으로써 더 건강한 발효소시지의 배합을 찾아내는 것에 있음.
- 또한 지방을 효과적으로 대체하기 위해서 곤약젤을 사용하고, 곤약젤이 biogenic amines의 생성에 미치는 영향과 발효 중 미생물에 미치는 영향을 조사하고자 함.

(3) Effect of modified atmosphere and vacuum packaging on some quality characteristics and the shelf-life of “morcilla”, a typical cooked blood sausage

(가) 저자: Aida Cachaldora, Gloria García, José M. Lorenzo, M. Camino García-Fontán.

(나) 저널: Meat science, 93, 220-225

(다) 발행년도: 2013년

(라) 요약

- 스페인의 blood sausage인 “morcilla”의 경우 저장기간이 8-10일에 불과하여 유통에 어려움이 있음.
- 변형공기포장법과 진공포장의 경우 저장기간을 향상시키는 방법으로 널리 이용되고 있으며, 이를 이용한 건조 발효 소시지의 저장성 연구는 활발히 진행되어 있지만 morcilla는 충분한 연구가 이루어지지 않은 상황임.
- 본 연구에서는 morcilla를 진공포장과 조성비를 다르게한 변형공기포장법에 의해 저장하여 저장기간을 평가함.

(4) Changes in sensory properties and consumer acceptance of reduced fat pork Lyon-style and liver sausages containing inulin and citrus fiber as fat replacers

(가) 저자: Maja Tomaschunasa, Rebecca Zörba, Jürgen Fischerb, Ehrhard Köhna, Jörg Hinrichsc, Mechthild Busch-Stockfischsa.

(나) 저널: Meat science, 95, 629-640

(다) 발행년도: 2013년

(라) 요약

- Lyon-style sausage와 Liver sausage는 독일과 여러 나라에서 인기있는 소시지의 형태임. 하지만 지방함량이 많아 문제가 될 수 있음. 이러한 지방 문제를 해결하기 위해서 많은 연구가 진행되어 왔지만 지방함량과 식이섬유 첨가에 따른 관능적 특성에 대한 자세한 연구는 이루어지지 않음.
- 따라서 본 연구에서는 Lyon-style sausage와 Liver sausage의 지방을 이눌린과 식이섬유의 혼합물로 대체하여 그 특성에 대한 연구를 진행함.
- 지방 함량을 32-90% 범위내에서 감소한 경우 식이섬유의 경우 1-5.6% 범위내에서 첨가했을 경우 소비자가 수용이 가능한 결과를 나타냄.

### 3. 1핵심 3세부 (정구용)

#### 가. 특허분석 범위

대상국가	국내, 국외(미국, 일본, 유럽)
특허 DB	특허정보원 DB(www.kipris.or.kr)
검색기간	최근 12년간
검색범위	Animal Products, Fermented Meat Products, Fermented Milk Products, Bioactive Materials, Functional Additive

#### 나. 특허분석에 따른 본 연구과제와의 관련성

개발기술명		기술
Keyword		Fermented Meat Products
검색건수		165
핵심특허 및 관련성	특허명	Fermented and pre-fermented protein based meat products
	보유국	EU(유럽)
	등록년도	2002
	관련성(%)	80%
	유사점	- 발효, 사전 발효 과정을 거치며, Starter Culture를 넣고 생산한 육제품을 생산
	차이점	- 사전 발효 과정의 경우 원료육의 단계부터 Starter Culture를 첨가함

- ※ 1) 개발기술명은 본 연구과제 최종 연구개발 목표기술을 의미  
 2) keyword는 검색어를 의미하며, 검색건수는 keyword에 의한 총검색건수  
 3) 핵심특허는 개발기술과의 관련성이 높고 인용도가 높은 특허를 기준으로 분석

4. 2핵심 1세부

Todd R. Callaway • Steven C. Ricke  
Editors

# Direct-Fed Microbials and Prebiotics for Animals

Science and Mechanisms of Action

 Springer

# Chapter 1

## The Commensal Microbiota

John A. Patterson

**Abstract** The commensal microbiota in the intestinal tract are important to the host, not only in relation to food digestion, but also in terms of reducing infection by pathogens (colonization resistance) and it is becoming increasingly apparent that the commensal microbiota are important in developmental programming and function of organ systems in the adult. This is not surprising as there are ten times as many microbial cells as host cells and 100 times as many microbial genes. The commensal microbiota could be considered an additional organ that not only influences function in the adult, but also development in the neonate. The commensal microbiota is an important component of the host animal's genome. During and immediately after birth, the intestinal tract is colonized by a succession of bacteria. The presence of these bacteria is important for functional development of the intestinal tract (angiogenesis, epithelial tissues, mucosal system) and more recent data suggests a role in development and function of the brain and hypothalamic pituitary axis (HPA) that last throughout life.

The commensal microbiota in the intestinal tract are important to the host, not only in relation to food digestion but also in terms of reducing infection by pathogens (colonization resistance). It is also becoming increasingly apparent that the commensal microbiota are important in developmental programming and function of organ systems in the adult. This is not surprising as there are ten times as many microbial cells as host cells and 100 times as many microbial genes (Gill et al. 2006). The commensal microbiota could be considered an additional organ that influences not only function in the adult but also development in the neonate (O'Hara and Shanahan 2006). The commensal microbiota comprise an important component of the host animal's genome.

---

J.A. Patterson (✉)  
Department of Animal Sciences, Purdue University, West Lafayette, IN, USA  
e-mail: jpatters@purdue.edu

T.R. Callaway and S.C. Ricke (eds.), *Direct-Fed Microbials and Prebiotics for Animals: Science and Mechanisms of Action*, DOI 10.1007/978-1-4614-1311-0\_1,  
© Springer Science+Business Media, LLC 2012



## 5. 2핵심 2세부 (백현동)

- 과제 관련 해외 학술 논문 정보

논문제목	저자	저널명	내용
Purification and characterization of piceid- $\beta$ -D-glucosidase from <i>Aspergillus oryzae</i>	Chunzhi Zhang et al.	Process Biochem. 42: 83-88 (2007)	Piceid- $\beta$ -D-glucosidase의 최적 온도는 60°C, 최적 pH는 5.0이며 60°C 이하에서 더 안정적이며 pH 4.0~5.0일 때 안정적이었다. $\text{Cu}^{2+}$ 이온은 효소 활성을 강하게 억제시켰다.
A new ginsenosidase from <i>Aspergillus</i> strain hydrolyzing 20-O-multi-glycoside of PPD ginsenoside	Hongshan Yu et al.	Process Biochem. 44: 772-775 (2009)	<i>Aspergillus</i> sp. g48p 균주로부터 분리한 ginsenosidase type II를 정제한 결과, 효소의 분자량은 60 kDa이며 이 효소는 20-O-glycosides와 20-O- $\beta$ -glucoside, 20-O- $\beta$ -xyloside, 20-O- $\alpha$ -arabinoside(p), $\alpha$ -arabinoside(f)를 가수분해시켰다.
Optimization of the enzymatic production of 20(S)-ginsenoside Rg <sub>3</sub> from white ginseng extract using response surface methodology	Kyung-Hoon Chang et al.	New Biotechnol. 26: 181-186 (2009)	산업적으로 사용되고 있는 식품 첨가용 효소들을 이용하여 인삼추출물로부터 20(R)-ginsenoside Rg <sub>3</sub> 및 기타 인삼 사포닌에 비해 압 전이 억제 효과가 우수한 20(S)-ginsenoside Rg <sub>3</sub> 를 선택적으로 전환하는 효소를 선별하고 반응표면분석법을 이용하여 선별된 효소에 의한 20(S)-ginsenoside Rg <sub>3</sub> 의 생산을 최적화 하고자 하였다. 전환율이 가장 높은 효소의 종류는 cellulase 였으며, 그 중에서 Cellualse-12T가 가장 높은 1.001%의 함량을 나타내었다. 대조구인 백삼추출물은 0.37%의 20(S)-ginsenoside Rg <sub>3</sub> 의 함량을 나타내었는데, 이것은 백삼추출물 제조 시 추출과 농축과정을 거쳐 제조되기 때문에 열에 의한 많은 이차 산물이 생성될 수 있는데, 그 과정에서 ginsenoside Rg <sub>3</sub> 가 함유된 것이다. 20(S)-ginsenoside Rg <sub>3</sub> 함유량에 대한 R <sup>2</sup> 은 0.9460으로 높은 유의성을 보였으며 20(S)-ginsenoside Rg <sub>3</sub> 의 생산이 가장 높은 백삼추출물과 Cellualse-12T의 함유량은 각각 1.67%와 3.67%였으며 반응시간은 72시간으로 실제 1.73%의 20(S)-ginsenoside Rg <sub>3</sub> 함유량을 나타

			내었다.
Purification and characterization of a ginsenoside Rb <sub>1</sub> -hydrolyzing $\beta$ -glucosidase from <i>Aspergillus niger</i> KCCM 11239	Kyung-Hoon Chang et al.	Int. J. Mol. Sci. 13: 12140-12152 (2012)	<i>Aspergillus niger</i> KCCM 11239로부터 유래된 Rb <sub>1</sub> 가수분해 $\beta$ -glucosidase를 minor ginsenoside로의 생물전환의 향상을 위해 검토하였다. 정제된 효소의 비활성은 조효소보다 46.5배 더 높았다. 효소의 분자량은 대략 123 kDa으로 나타났다. 정제된 효소의 최적 pH는 4이며 pH 5-10에서는 높은 안정성을 보였다. 최적 온도는 70°C이며 60°C이상의 온도에서는 불안정하였다. Cu <sup>2+</sup> , Mg <sup>2+</sup> , Co <sup>2+</sup> 와 아세트산은 효소를 억제하였다. 효소는 ginsenoside Rb <sub>1</sub> 에 대해 활성을 지니지만, Rb <sub>2</sub> , Rc, Rd, Re, Rg <sub>1</sub> 에 대해서는 매우 낮은 활성을 보였다. 효소는 ginsenoside Rb <sub>1</sub> 의 20-C, $\beta$ -(1→6)에서 ginsenoside Rd와 Rg <sub>3</sub> 로 가수분해하고 3-C, $\beta$ -(1→2)에서 F <sub>2</sub> 로 가수분해하였다. 이러한 연구결과는 생산된 $\beta$ -glucosidase의 생물 변환능을 토대로 새로운 의약 소재의 개발과 특히, 인삼산업에서 이용할 가능성을 보여준다.
Review article yogurt: The fermented milk	Nathanon Trachoo	Songklanakarin J. Sci. Technol. 24: 727-737 (2002)	FDA에서 정한 yogurt의 정의는 크림과 우유, 탈지유 등 우유 재료를 하나 또는 그 이상을 넣고 <i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> 와 <i>Streptococcus thermophilus</i> 와 같은 젖산균을 접종하여 발효시킨 제품을 뜻한다.
Production and evaluation of milk-sweet potato mixtures fermented with yogurt bacteria	J. L. Collins et al.	J. Food Sci. 56: 685-688 (1991)	고구마와 설탕, 젤라틴을 첨가하여 발효시킨 요구르트의 산도는 0.85%였고 고구마와 설탕의 함량이 증가할 때 산도는 감소하였다. 발효시간은 6.25시간에서 7.25시간 사이며 관능검사 결과 풍미는 7.7점, 질감은 3.9점, 색은 3.8점이 나왔다.

## 5. 2핵심 3세부 (김수기)

캡사이신은 고추에서 유래하는 알칼로이드로써 자연적으로 유도되는 매운맛을 내는 주성분으로, 화학명은 8-methyl-N-vanillyl-6-nonenamide이다. 이는 많은 질병과 관련 있는 염증 및 통증 치료를 위해 주로 사용되어져 왔다. 특히 당뇨병적 신경 장애와 만성 근육통과 관련된 통증을 완화시키는데 효과가 있다. 또한 항돌연변이 효과, 항염증 효과, 항암효과, 지방 감소, 항산화작용, 류마티스성 관절염을 포함하는 여러 가지 기능적 특성을 가지고 있음이 입증된 바 있다. 위염을 일으키는 헬리코박터 파이롤리 균의 성장을 직접적으로 억제하는 기능이 있고, *H. pylori* 감염시 나타나는 위 점막상의 염증 반응에서 Interlukin-8 (IL-8)의 생성을 억제하여 염증 반응을 완화시키는 효과가 있다. 캡사이신의 진통효과를 가장 많이 이용하고 있는 것은 류마티스 관절염, 골관절염, 군발성 두통 등에 쓰이고 있으며 소양증 등 다른 질환에서도 치료제로 사용이 시도되었다(Robbins 2000, Bode & Dong 2011). 또한 캡사이신은 감각 신경절에서 칼시토닌 유전자 관련 펩티드(CGRP) 함유 신경원 수를 저하시키며, 척수 후각에서는 신경 종말의 수를 감소시키고, 또한 통증이 유발될 때 나타나는 척수 후각의 c-fos 단백질 함유 신경원의 수를 감소시킨다. 임상적으로 캡사이신과 그 유도체는 여러 통증 질환에 일종의 진통제로 사용되고 있으며, 앞으로 더욱 가능성이 점차 커지고 있다.

최근에는 지방 대사에 관한 캡사이신 작용에 대하여 관심이 증가하고 있어, 체중 감소와 캡사이신의 지방 분해 효과, 총콜레스테롤 감소 작용과 항비만 물질을 포함한 건강 기능성 성분에 대한 연구가 보고되고 있다. 비만은 서구화된 선진국뿐만 아니라, 전 세계적으로 빠르게 확산되고 있으며, 현재 비만의 급속한 증가는 어린이와 청소년의 경우 더욱 심각한 실정이다. 실제로 세계 보건기구는 전 세계적으로 약 10억 명의 성인이 과체중이고 이 중 3억 이상이 비만이라고 보고하고 있다. 비만은 생체 내 에너지 대사, 내분비 대사와 면역 및 염증 이상을 유발하여 당뇨병과 심장 질환 등 성인병 발생에 직간접적인 병원 인자이다. 비정상적인 지방 세포(adipocytes) 크기와 숫자의 증가가 생체 내 지방 축적의 직접적인 원인이 되며, 이러한 지방 세포는 그 특이적인 adipokine의 생산과 분비를 통해 비만과 그 유사한 대사 질환 발생에 관여한다(Ferranti & Mozaffarian 2008). 비만 시 지방세포에서 분비되는 다양한 아디포카인(adipokines)으로는 tumor necrosis factor alpha (TNF- $\alpha$ ), interleukin-6 (IL-6), monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1)과 adiponectin 등이 있으며 이들은 비만으로 야기되는 질병의 원인으로 밝혀져 있다(Kang et al., 2007). 지방 세포에서 지방형성 과정과 adipokine의 분비를 통한 면역과 에너지 대사 조절에 관여하는 기능은 비만 대사 질환 발병 조절 연구에 중요한 타겟으로 알려져 있다.

식품에서 유래하는 생리활성 물질을 이용하여 지방 세포의 분화와 그 기능을 제어하는 것에 관한 연구가 최근 들어 비교적 활발해지기 시작하였다. 비만이 유도된 마우스를 이용한 실험에서 캡사이신의 섭취는 지방 세포와 지방 조직에서 IL-6와 MCP-1의 mRNA 발현을 억제하였고, adiponectin의 발현량을 증가시켜 궁극적으로 비만으로 야기되는 당뇨와 동맥경화를 억제할 수 있는 가능성이 확인된 바 있다(Kang et al., 2007). 또한 고추 capsaicin의 체지방 감소 효과 (Joo et al., 2010), 항산화작용 (Rosa et al., 2002), 지방 세포 분화 억제 효과(Hwang et al., 2005), adipocytes에서 capsaicin의 지방 분해 작용(Lee 등 2011) 등이 보고되었다.

-기타

논문제목	저자	저널명	내용
Hypocholesterolemic Effect of Capsaicinoids in Rats Fed Diets with or without Cholesterol	Lei Zhang et al.	Journal of Agricultural and Food Chemistry	Capsaicinoid는 쥐 실험에서 지질 단백질에 있어서 영향을 미쳤다. CoA (HMG-CoA)의 발현을 억제하였고, 콜레스테롤-free 식이는 대변에서 -15.97%, 소장에서 -9.64% 담즙산의 양을 감소시켰다. 콜레스테롤-enrich 그룹에서는 각각 13.06, 10.20% 증가시켰다. 콜레스테롤-free 식이에서 콜레스테롤 저하는 간 콜레스테롤 합성 억제에 기인하였다. 콜레스테롤-enrich 그룹에서는 콜레스테롤의 담즙산으로의 전환과 대변을 통한 담즙산 배출 증가에 기인하였다.
Dietary Capsaicin Reduces Obesity-induced Insulin Resistance and Hepatic Steatosis in Obese Mice Fed a High-fat Diet	Ji-Hye Kang et al.	Obesity-journal	지방 조직과 간에서 캡사이신의 효과는 PPAR $\alpha$ 와 TRPV-1의 발현/활성화에 이중 작용과 관련이 있다.
Effect of Synbiotic Yogurt Made with Indigenous Probiotic Lactobacillus plantarum Mut7 and Sweet Potato Fiber (Ipomoea batatas) in Healthy Children.	Lily Arsanti Lestari et al.	International Research Journal of Microbiology	신바이오틱 요거트의 면역반응과 분에서의 미생물 균총에 관한 효과를 실험하였다. 2 그룹(컨트롤 요거트와 신바이오틱 요거트)의 8~12세의 아이들을 20명에 대하여 조사하였고 이중맹검시험으로 디자인하였다. 이들은 14일간 하루에 50g의 요거트를 받았으며 24시간동안 4번 공급받았다. 신바이오틱의 소비에 대한 결과로는 타액과 분에서 대조구와 비교하여 sIgA의 농도가 높았다.
Lentils enhance probiotic growth in yogurt and provide added benefit of antioxidant protection.	Rania Agil et al.	Food Science and Technology 50	편두의 다당류의 항산화 효과가 요구르트의 생균제의 증식 효과에 미치는 효과를 연구하였다. 녹색편두는 발효초기에 미생물을 증가시켰고 28일동안 일정하게 유지하였다.

## 제 7 장 연구시설·장비 현황

해당사항 없음

## 제 8 장 참고문헌

### 제 1 절 세부과제별 참고문헌

#### 1. 1핵심 1세부 (이치호)

- (1) 정해동, 천동원, 최윤상, 고복남 (2010) 국내 건염햄 시장의 시장성 평가. 농업경영·정책연구. **37**(4).
- (2) Toldra, F. (2006) The role of muscle in dry-cured meat products with different drying conditions. *Trends Food Sci. Technol.* **17**, 164-168.
- (3) 정해동, 천동원, 최윤상, 김기현 (2012) 국내 발효 건염햄 시장의 경제적 가치 평가. 농업경영·정책연구. **39**(2).
- (4) Estévez, M., Morcuende, D., Ventanas, J., & Ventanas, S. (2008). Mediterranean products. In F. Toldrá (Ed.), *Handbook of fermented meat and poultry* (pp. 393 - 405). Iowa: Blackwell Publishing
- (5) Sarmiento, F. (2005). Mercado internacional del jamón curado. Proceeding of 3th World Congress of Dry-Cured Ham, May, Teruel (Spain).
- (6) MARM (2010). Panel del consumo alimentario del ministerio de medio Ambiente y Medio Rural y Marino (MARM).
- (7) Cruz, J. (2010). El crecimiento del consumo y las exportaciones hacen augurar cierta recuperación del sector jamonero. *Eurocarne*, 41 - 50.

#### 2. 1핵심 2세부 (김천제)

- (1) AOAC. (1995) Official methods of analysis. 16th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington DC, USA.
- (2) Aoshima, H. and Ooshima, S. (2009) Anti-hydrogen peroxide activity of fish and soy sauce. *Food Chem.* **112**, 339-343.
- (3) Bloukas, J. G., Paneras, E. D., and Fournitzis, G. C. (1997) Effect of replacing pork backfat with olive oil on processing and quality characteristics of fermented sausages. *Meat Sci.* **45**, 133-144.
- (4) Chilling, M. W., Mink, L. E., Gochenour, P. S., Marriott, N. G., and Alvarado, C. Z. (2003) Utilization of pork collagen for functionality improvement of boneless cured ham manufactured from pale, soft, and exudative pork. *Meat Sci.* **65**, 547-553.
- (5) Choe, J. H., Choi, J. H., Choi, Y. S., Han, D. J., Kim, H. Y., Lee, M. A., Kim, S. Y., and Kim, C. J. (2011b) Antioxidant properties of lotus leaf (*Nelumbo nucifera*) powder and barley leaf (*Hordeum vulgare*) powder in raw minced pork during chilled storage. *Korean J. Food Sci. An.* **31**, 9-18.
- (6) Choe, J. H., Jang, A., Lee, E. S., Choi, J. H., Choi, Y. S., Han, D. J., Kim, H. Y., Lee,

- M. A., Shim, S. Y., and Kim, C. J. (2011c) Oxidative and color stability of cooked ground pork containing lotus leaf (*Nelumbo nucifera*) and barley leaf (*Hordeum vulgare*) powder during refrigerated storage. *Meat Sci.* **87**, 12-18.
- (7) Choe, J. H., Kim, H. Y., Han, D. J., Kim, Y. J., Park, J. H., Ham, Y. K., and Kim, C. J. (2011a) Effect of goldenrod (*Solidago virgaurea*) leaf and stem powder on physical and sensory characteristics of emulsion-type sausages. *Korean J. Food Sci. An.* **31**, 668-675.
- (8) Choi, S. H. and Chin, K. B. (2002) Development of low-fat comminuted sausage manufactured with various fat replacers similar textural characteristics to those with regular-fat counterpart. *Korean J. Food Sci. Technol.* **34**, 577-582.
- (9) Choi, Y. S., Choi, J. H., Han, D. J., Kim, H. Y., Lee, M. A., Kim, H. W., Jeong, J. Y., and Kim, C. J. (2009a) Characteristics of low-fat meat emulsion systems with fat replaced by vegetable oils and rice bran fiber. *Meat Sci.* **82**, 266-271.
- (10) Choi, Y. S., Choi, J. H., Han, D. J., Kim, H. Y., Lee, M. A., Kim, H. W., Lee, C. H., Paik, H. D., and Kim, C. J. (2009b) Physicochemical and sensory characterization of Korean blood sausage with added rice bran fiber. *Korean J. Food Sci. An.* **29**, 260-268.
- (11) Choi, Y. S., Choi, J. H., Han, D. J., Kim, H. Y., Lee, M. A., Kim, H. W., Lee, J. W., Chung, H. J., and Kim, C. J. (2010) Optimization of replacing pork back fat with grape seed oil and rice bran fiber for reduced-fat meat emulsion systems. *Meat Sci.* **84**, 212-218.
- (12) Choi, Y. S., Choi, J. H., Kim, H. Y., Kim, H. W., Lee, M. A., Chung, H. J., Lee, S. K., and Kim, C. J. (2011) Effects of lotus (*Nelumbo nucifera*) leaf powder on the quality characteristics of chicken patties in refrigerated storage. *Korean J. Food Sci. An.* **31**, 9-18.
- (13) Choi, Y. S., Jeong, J. Y., Choi, J. H., Han, D. J., Kim, H. Y., Lee, M. A., Kim, H. W., Paik, H. D., and Kim, C. J. (2008) Effects of dietary fiber from rice bran on the quality characteristics of emulsion-type sausages. *Korean J. Food Sci. An.* **28**, 14-20.
- (14) Choi, Y. S., Kim, H. W., Song, D. H., Choi, J. H., Park, J., Kim, M. Y., Lim, C. S., and Kim, C. J. (2011) Quality characteristics and sensory properties of reduced-fat emulsion sausages with brown rice fiber. *Korean J. Food Sci. An.* **31**, 521-529.
- (15) Claus, J. R. and Hunt, M. C. (1991) Low-fat, high added-water bologna formulated with texture-modifying ingredients. *J. Food Sci.* **56**, 643-647.
- (16) Cofrades, S., Guerra, M. A., Carballo, J., Fernández-Martin, F., and Jiménez Colmenero, F. (2000) Plasma protein and soy fiber content effect on bologna sausage properties as influenced by fat level. *J. Food Sci.* **65**, 281-287.
- (17) Fernández-Ginés, J. M., Fernandez-López, J., Sayas-Barberá, E., Sendra, E., and Pérez-Álvarez, J. A. (2004) Lemon albedo as a new source of dietary fiber: Application to bologna sausages. *Meat Sci.* **67**, 7-13.
- (18) Fernández-López, J., Sendra, E., Sayas-Barberá, E., Navarro, C., and Pérez-Alvarez, J.

- A. (2008) Physico-chemical and microbiological profiles of “salchichón” (Spanish dry-fermented sausage) enriched with orange fiber. *Meat Sci.* **80**, 410-417.
- (19) Gandemer, G. (2002) Lipids in muscles and adipose tissues, changes during processing and sensory properties of meat products. *Meat Sci.*, **62**, 309-321.
- (20) Grigelmo-Miguel, N., Abadías-Serós, M. I., and Martín-Belloso, O. (1999) Characterization of low-fat high-dietary fibre frankfurters. *Meat Sci.* **52**, 247-256.
- (21) Hand, C. J. and Kang, S. M. (2008) The effect of collagen supplementation from pork skin on serum collagen, serum sex steroid hormone, serum lipid and skin crack in Korean middle-aged women. *Korean J. Community Nutrition* **13**, 912-921.
- (22) Jeon, M. S., Shon, K. H., Chae, S. H., Park, H. K., and Jeon, H. J. (2002) Color characteristics of Korean traditional soy sauces prepared under different processing condition. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **31**, 32-38.
- (23) Jeong, D. H., Kim, K. B. W. R., Kim, D. H., Sunwoo, C., Jeng, S. A., Kim, H. J., Jeong, H. Y., Kim, J. H., Lee, J. W., Do, S. R., Byun, M. W., and Ahn, D. H. (2012) Shelf-life and quality of gamma irradiated squid *sundae* (a traditional Korean sausage). *Kor. J. Fish Aquat. Sci.* **45**, 438-444.
- (24) Kim, C. J., Kim, K. H., and Choe, B. K. (1988) Effect of pH, swelling temperature, swelling time and various acids on the yields and physicochemical properties of pigskin gelatin gel. *J. Anim. Sci. & Technol.* **30**, 301-306.
- (25) Kim, D. W., Park, K., Ha, G., Jung, J. R., Chang, Q., and Ham, J. S. (2013) Anti-oxidative and neuroprotective activities of pig skin gelatin hydrolysates. *Korean J. Food Sci. An.* **33**, 258-267.
- (26) Kim, H. W., Choi, Y. S., Choi, J. H., Han, D. J., Kim, H. Y., Hwang, K. E., Song, D. H., and Kim, C. J. (2011) Effects of rice bran fiber on changes in the quality characteristics of raw ground pork during chilled storage. *Korean J. Food Sci. An.* **31**, 339-348.
- (27) Kim, T. H., Choi, Y. S., Choi, J. H., Han, D. J., Kim, H. Y., Lee, M. A., Shim, S. Y., Paik, H. D., and Kim, C. J. (2010) Physicochemical properties and sensory characteristics of semi-dried pork jerky with rice bran fiber. *Korean J. Food Sci. An.* **30**, 966-974.
- (28) Kim, Y. J. and Kim, B. K. (2005) Effect of dietary persimmon peel powder on physico-chemical properties of pork. *Korean J. Food Sci. An.* **25**, 39-44.
- (29) Kim, Y. J., Kim, H. Y., Choe, J. H., Park, J. H., Ham, Y. K., Yeo, E. J., Hwang, K. E., and Kim, C. J. Antioxidant activity of goldenrod (*Solidago virgaurea*) leaf and stem powder on raw ground pork during chilled storage. *Korean J. Food Sci. An.* **33**, 1-8.
- (30) Kohsaka, K. (1975) Freshness preservation of food & Measurement(12), Freshness preservation of meat products and its measurement. *The Food Industry* **18**, 105.
- (31) Korea Duck Association. (2013) Available at <http://www.kmia.or.kr/infocenter/infocenter2.html#>. Accessed on June 18, 2013.
- (32) Kramlich, W. E., Pearson, A. M., and Tauber, F. W. (1973) Sausages. In: Processed



Meats, AVI Publishing Co., Westport, CT. p. 122.

- (33) Lim, J., Shin, W. S., Lee, H. G., and Kim, K. O. (2002) Optimizing extraction conditions for chicken feet gelatin. *Korean J. Food Sci. Technol.* **34**, 824–829.
- (34) Lucke, F. K. (1985) Fermented sausages. In: Microbiology of fermented foods. B. J. B. Wood (ed.), Elsevier Applied Science, New York, USA.
- (35) Lurueña-Martínez, M. A., Vivar-Quintana, A. M., and Revilla, I. (2004) Effect of locust bean/xanthan gum addition and replacement of pork fat with olive oil on the quality characteristics of low-fat frankfurters. *Meat Sci.* **68**, 383–389.
- (36) Moon, K. D., Kim, J. K., Kim, J. H., and Oh, S. L. (1995) Studies on valuable components and processing of persimmon flesh and peel. *J. Korean Soc. Food Cult.* **10**, 321–326.
- (37) Muguera, E., Gimeno, O., Ansorena, D., and Astiasarán, I. (2004) New formulation for healthier dry fermented sausages: a review. *Trends Food Sci. Tech.* **15**, 452–457.
- (38) Oh, S. D. (2012) A literature review on the types and cooking methods of *soondae* during the Joseon dynasty. *Korean J. Food Culture* **27**, 340–345.
- (39) Osburn, W. N. and Keeton, J. T. (2004) Evaluation of low-fat sausage containing desinewed lamb and konjac gel. *Meat Sci.* **68**, 221–233.
- (40) Paneras, E. D. and Bloukas, J. G. (1994) Vegetable oils replace pork backfat for low-fat frankfurters. *J. Food Sci.* **59**, 725–728.
- (41) Park, J. E., Ham, J. S., Kim, H. K., Lee, C. H., Kim, D. W., Seol, K. H., Oh, M. H., Kim, D. H., and Jang, A. (2012) Effect of pig skin gelatin hydrolysates on the bone mineral density of ovariectomized rats. *Korean J. Food Sci. An.* **32**, 234–240.
- (42) Park, J. H., Choe, J. H., Kim, H. W., Hwang, K. E., Sond, D. H., Yeo, E. J., Kim, H. Y., Choi, Y. S., Lee, S. H., and Kim, C. J. (2013) Effect of various extraction methods on quality characteristics of duck feet gelatin. *Korean J. Food Sci. An.* **33**, 162–169.
- (43) Park, S. H., Chang, K. H., Byun, G. I., and Kang, W. W. (2009) Quality characteristics of bread made with flour partly substituted by lotus leaf powder. *Korean J. Food Preserv.* **16**, 47–52.
- (44) Pérez-Alvarez, J. A., Sayas-Barberá, M. E., Fernández-López, J., and Aranda-Catalá, V. (1999) Physicochemical characteristics of Spanish-type dry-cured sausage. *Food Res. Int.* **32**, 599–607.
- (45) Prabhu, G. A., Doerschler, D. R., and Hull, D. H. (2004) Utilization of pork collagen protein in emulsified and whole muscle meat product. *J. Food Sci.* **69**, C388–392.
- (46) SAS. (2008) SAS/STAT Software for PC. Release 9.2, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.
- (47) Sohn, J. W., Lee, S. M., and Yum, C. A. (1999b) Effects of binding materials on nutrients of *soondae*. *Korean J. Soc. Food Sci.* **15**, 244–248.
- (48) Sohn, J. W., Yum, C. A., and Kim, C. J. (1999a) Effects of binding materials on sensory and cooking properties of *soondae*. *Korean J. Soc. Food Sci.* **15**, 191–196.
- (49) Soyer, A. and Ertas, A. H. (2007). Effects of fat level and storage time on lipid and

- color stability of naturally fermented Turkish sausages (*Sucuk*). *J. Muscle Food*. **18**, 330-340.
- (50) Tanford, C. (1968) Protein denaturation. *Advan. Prot. Chem.* **23**, 121-282.
- (51) Tarladgis, B. G., Watts, B. M., and Younathan, M. T. (1960) A distillation method for the quantitative determination of malonaldehyde in rancid foods. *J. Am. Oil Soc.* **37**, 44-47.
- (52) Tokusoglu, Ö. and Ünal, M. K. (2003) Fat replacers in meat products. *Pak. J. Nutr.* **2**, 196-203.
- (53) Wainwright, F. W. (1977) Physical tests for gelatin and gelatin product. In: *The Science and Technology of Gelatin*. Ward, A. G., Courts, A. (eds.), Academic Press, New York, pp. 507-534.
- (54) Wirth, F. (1988) Technologies for making fat-reduce meat products. What possibilities are there? *Fleischwirtschaft* **68**, 1153-1156.
- (55) Wirth, F. (1991) Restricting and dispensing with curing agents in meat products. *Fleischwirtschaft* **71**, 1051-1054.
- (56) Yang, A., Keeton, J. T., Beilken, S. L., and Trout, G. R. (2001) Evaluation of some binders and fat substitutes in low-fat frankfurters. *J. Food Sci.* **66**, 1039-1046.
- (57) Yeom, G. W., Andrieu, J., and Min, S. G. (2004) Effect of acid treatment process on the physicochemical properties of gelatin extracted from pork skin. *Korean J. Food Sci. An.* **24**, 266-272.
- (58) Yilmaz, I. (2005) Physicochemical and sensory characteristics of low fat meatballs with added wheat bran. *J. Food Eng.* **69**, 369-373.
- (59) Yilmaz, I. and Daglioglu, O. (2003) The effect of replacing fat with oat bran on fatty acid composition and physicochemical properties of meatballs. *Meat Sci.* **65**, 819-823.
- (60) Zanardi, M., Ghidini, S., Battaglia, A., and Chizzolini, R. (2004) Lipolysis and lipid oxidation in fermented sausages depending on different processing conditions and different antioxidants. *Meat Sci.* **66**, 415-423.

### 3. 1핵심 3세부 (정구용)

- (1) Andres, A. I., Ventanas, S., Ventanas, J. and Cava R., (2005) Physicochemical changes throughout the ripening of dry cured hams with different salt content and processing condition. *Eur. Food Res. Technol.* **221**. 30-35
- (2) Arnau, J., Serra, X., Comaposada, J., Gou, P., and Garrige, M. (2007) Technologies to shorten the drying period of dry-cured meat products. *Meat Sci.* **77**. 81-89
- (3) Andres, A., Cava, R., Ventanas, J., Thovar, V., and Ruiz, J. (2004) Sensory characteristics of Iberian Ham: Influence of salt content and processing conditions. *Meat Sci.* **68**. 45-51
- (4) AOAC. 1998. Official method of analysis of the AOAC. 14th edition.
- (5) Barbut, S., Maurer, A. J., and Lindsay, R. C. (1988) Effects of reduced sodium chloride

- and added phosphates on physical and sensory properties of turkey frankfurters. *J. Food Sci.* **53**, 62
- (6) Bosi, J. A. Cacciavillani, L. Casini, D. P. Lo Fiehe, M. Marchetti, S. and Mattuzzi. (2000) Effects of dietary high-oleic acid sunflower oil, copper and vitamin E levels on the fatty acid composition and the quality of dry cured Parma ham. *Meat Sci.* **54**. 1189-126
  - (7) Bouton, P. E., Carrol, F. D., Fisher, A. L., Haris, P. V. and Shorthose, W. R. (1983) Influence of pH and fiber contraction state upon factors affecting the tenderness of bovine muscle . *J. Food Sci.* **38**, 404-410
  - (8) Bourne, R. H. (1978) Texture profile analysis. *Food Technol.* **37(7)**, 62-66,72.
  - (9) Carrapiso, I. I. and Aust, J. D. (2005) Instrumental colour of Iberoan ham subcutaneous fat and lean (biceps femoris): Influence of crossbreeding and rearing system. *Meat Sci.* **71**. 284-290
  - (10) Christian s. Vestergaard, and Giovanni Parolari (1999) Lipid and cholesterol oxidation products in dry-cured ham. *Meat Sci.* **52**. 397-401
  - (11) Cilla, I., Martinez, L., Beltran, J. A., and Roncale, P. (2005) Factors affection acceptability of dry-cured ham throughout extended maturation under "bodega" conditions. *Meat Sci.* **69**. 789-795
  - (12) Cilla, I., Martinez, L., Beltran, J. A., and Roncale, P. (2006) Effect of low-temperature preservation on the quality of vacuum-packaged dry-cured ham: Refrigerated boneless ham and frozen ham cuts. *Meat Sci.* **73**. 12-21
  - (13) Comaposads, J., Arnau, J., and Gou, P. (2007) Sorption isotherms of salted minced pork and of lean surface of dry-cured hams at the end of the resting period using KCl as substitute for NaCl. *Meat Sci.* **77**. 643-648
  - (14) Demeyer, D., Hoozee, J. and Meadom, H. (1974) Specificity of lipolysis during dry sausage ripening. *J. Food Sci.* **39**. 293
  - (15) Eikelenboom, G. Campion, D. R., Kauffman, R. G. and Cassen, R. G. (1974) Early posmortem methods of detecting altimate porcine muscle quality. *J. Anim. ci.* 39(2): 303
  - (16) Flores, J. (2001) El encostrado del jamon Serrano: Causas de formacion ymaneras de evitarlo. *Revista de la Asociation Industias de Carne de Espana.* **75**, 5-10
  - (17) Grau, R. and Hamm, R. (1953) Eine einfache methode zur bestimmung der Wasserbindung in Muskel. *Naturwissenschaften*, 40, 29
  - (18) Guerrero, L., Gelavert, J., Gou, P., Guardia, D., and Arnau, J. (2000) Efecto de la disminucion del contenido del jamon curado sobre ¼ propiedadde del contenido ne sodio del jamon curado sobre sus propiedades sensoriales y reologicas. In II. Symposium internacional del Jamon curado. Barcelona 94-99
  - (19) Ha JO, Park KY. 1998. Comparison of mineral contents and external structure of various salts. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 27: 413-418.
  - (20) Hamm R., Honikel, G. (1986) Muskelfarbstoff und Fleischfarbe. *Fleischwirtschaft J.*

*Anim Sci.* 55(10), 1415-1420

- (21) Hong, K. C., Kim, B. C., Son, Y. S., and Kom, B. K. (2001) Effects of the mating system on fattening performance and meat quality in commercial pigs. *J. Anim. Sci. Technol.* **43**, 139-148
- (22) Jin, S. K., Kim, I. S., Hur, S. J., Kim, S. L., Jeong, K. J. (2006) The influence of pig breeds on qualities of loin. *J. Anim Sci.* **48**. 747-758
- (23) Jo EJ, Shin DH. (1998) Study on the chemical compositions of sun-dried, refined and processed salt produced in Chonbuk area. *J Fd Hyg safty* 13: 360-364.
- (24) Joo, S. T., Kauffman, R. L. J. M., van Laack, S. and Kim, B. C. (1999) Variation in rate of water loss as related to different types of post-rigor porcine musculature during storage. *J. Food Sci.* **64**. 856-868
- (25) Kauffma, R, Ghiretti, R. and Chizzolini.(1986) Oxidative stability of lipids and cholesterol in salam Milano, coppa and Parma ham:dietary supplementation with vitamin E and oleic acid. *Meat Scie* **55**. 169-175
- (26) Kim, Y. J., Lee, H. C., Park, S. Y., Oh, S. J., Chin, K. B.(2008) Utilization of probiotic starter cultures for the manufacture of low-fat functional fermented sausage. *Korean J. Food Sci. Ani. Resour.* **28**, 51-58
- (27) Kim, J. S. (2004) Changes of food consumption pattern in America. *Korean J. Community Living Sci.* 15. 115-125
- (28) Kim, D. H. (1999) The application method of bamboo salt and health in the pollution period. *J. Food Sci. Technol.* **28**. 137-145
- (29) Kim SJ, Kim HL, Ham KS. 2005. Characterization of Kimchi fermentation prepared with various salts. *Korean J Food Preserv* 12: 395-401
- (30) Kim, S. H., Kim, S. J., Kim, B. H., Kang, S. G., and Jung, S. T. (2000) Fermentation of Doenjang prepared with sea salts. *Kor. J. Food. Sci. Technol.* **32**. 1365-1370
- (31) Ko, M. S. and Yang, J. B. (2001) Effect of wrap and vacuum packaging on shelf life of chilled pork. *Kor. J. Food and Nutr.* **14**. 255-262
- (32) Laak, R. L. J. M. 1994) Spoilage and preservation of muscle foods. in Muscle Food. Kinsman, D. M. Kotula, A. W. and Breidenstein, B. C.(ed) Chapman & Hall, Inc., N. Y. p378~380.
- (33) Larzul, C., Lefaucheur, L., Ecolan, P., Gogue, J., Talmant, A., Sellier, P., Le Roy, P., and Monin, G. (1997) Phenotypic and genetic parameters for mongissimus muscle fiber characteristics in relation growth, carcass, and meat quality traits in Large White pigs. *J. Anim. Sci.* 74:3126.
- (34) Lee, J. G. and Joo, S. T.. (1999) Effects of slaughter weight weight on backfat thickness, intramuscular fat and physical properties of pork loin from barrow. *Kor. J. Anim. Sci.* **41**. 207-214
- (35) Lee KD, Park JW, Choi CR, Song HW, Yun SK, Yang HC, Ham KS. 2007. Salinity and heavy metal contents of solar salts produced in Jeollanamdo province of Korea. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 36: 753-758.

- (36) Lorezo, J. M., Fontan, M. C. G., Franco, I., and Carballo, J. (2008) Biochemical characteristics of dry-cured lacon (a spanish traditional meat product) throughout the manufacture, and sensorial properties of the final product. Effect of some additives, *Food Control*. **19**. 1148-1158
- (37) Matel. J., Minvielle, F., and Poste, L. M. (1988) Effects of crossbreeding and sex on carcass and pork quality traits in duroc and landrace pig : Breed effects. *J. Anim. Sci.* **66**. 41-46.
- (38) Matrens, H(1998) phtsiologie der Muskulature und das MHS-Gen des Schweines : Zur diskussing umeine eliminierung des mutierten ryanodin rezeptors aus der deutschen scweinezucht. *Arch. Tierzucht. Dummerstorf* **41**, 179-192.
- (39) Maribo. J., Minvielle, F., and Poste, L. M. (1988) Effects of crossbreeding and sex on carcass and pork quality traits in duroc and landrace pig : Breed effects. *J. Anim. Sci.* **66**. 41-46.
- (40) Monin, G., Virgilil, R., Cornet, M., Gandemer, G., and Grasso, F. (1995) Composition chimique et caracteristiques de 6 types de jambons d'Europe latine. In *3rd Intemational symposium on mediterranean pig*. Benvento -Italy
- (41) Morales, R., Arnu, J., Serra, X., Guerrero, L., and Goi, P. (2008) Texture changes in dry-cured ham pieces by mild thermal treatments at the end of the drying process. *Meat Sci.* **80**. 231-238.
- (42) Park JW, Kim SJ, Kim SH, Kim BH, Kang SG, Nam SH, Jung ST. (2000) etermination of mineral and heavy metal contents of various salts. *Korean J Food Sci Technol* **32**: 1442-1445.
- (43) Park MW, Park YK. 1998. Change of physicochemical and sensory characteristics of *Oiji* (Korean pickled cucumbers) prepared with different salts. *J Korean Soc Food Sci Nutr* **27**: 419-424.
- (45) Rho, Jeonghae., Kim, Mihyun. and Song, Hyonam. (2007) A study in the quality characteristics of band and non-brand korea beefs. *Korea J. Food cookery Sci.* **27**. 194
- (46) Ruiz-Ramirez, J., Serra, X., Gou, P., and Arnau, J. (2005) Profiles of water content, water activity and texture in crusted dry-cured ham loin and in non-crusted loin. *Meat Sci.* **69**. 519-525
- (47) Seong, P. N.(2008) A study on value-added products of low fat pork cuts
- (48) Serra, X., Ruiz-Ramirez, J., Amau, J., and Gou, P. (2005) Texture parameters of dry-cured ham m. biceps femoris sample dried at different levels as a function of water activity and water content. *Meat Sci.* **69**. 249-254
- (49) Simmhuber, R. O. and Yu, T. C. (1958) Characterization of the red pigment in the 2-thiobarbituric acid determination of oxidative rancidity. *Food Res.* **23**. 626
- (50) Shin, D. H., Kim, M. S., Han, J. S., Lim, D. K. and Bak, W. S. (1996) Changes of chemical composition and microflora in commercial Kimchi. *Kor. J. Food Sci. Technol.*, **28**. 137-145
- (51) Thompson, J. (2002) Managing meat tenderness. *Meat Sci.* **62**. 295-308

- (52) Turner, E. W., Paynter, W. D., Mountie, E. J., Bessert, M. W., Struck, G. M. and Olson, F. C. (1954) Use of the 3-thiobarbituric acid reagent to measure rancidity in frozen pork. *Food Tech.* **8**. 327
- (53) Uttaro, E., Ball, R. O., Dick, P., Rae, W., Vessie, G., and Jeremiah, L. E. (1993) Effect of ractopamine and sex on growth, carcass characteristics, processing yield, and meat quality characteristics of crossbred swine. *J Anim Sci.* **71**. 2439-2449
- (54) van der Wal, P. G., Engel, B., and Hulsegge, B. (1997) Causes for variation in pork quality. *Meat Sci.* **46**, 319-327.
- (55) Virgili, R., Sacconi, G., Gabba, L., Tanzi, E., and Bordini, S. C. (2007) Changes of free amino acids and biogenic amines during extended ageing of Italian dry-cured ham LWT. *Food Sci and Technology.* **40**. 871-878
- (56) Warner, R. D., Kauffman, R. G. and Greaser, M. L. (1997) Muscle Protein changes post mortem in relation to Pork Quality traits, *Meat Sci.* **45**, 339
- (57) Wierbicki, E., Kunkel, L. E. and Deatherage, F. E. (1957) Changes in the water holding capacity and cationic shifts during heating and freezing and thawing of meat as revealed by a simple centrifugal method for measuring shrinkage. *Food Technol.* **11**. 582
- (58) Witte, V. C et al. (1970) A new extraction method for determining 2-thiobarbituric acid values of pork. *Food Technol.* **8**. 326
- (59) Zanardi, E. E., Novelli, G. P., Ghiretti, R. and Chizzolini. (2000) Oxidative stability of lipids and cholesterol in salam Milano, coppa and Parma ham: dietary supplementation with vitamin E and oleic acid. *Meat Sci* **55**. 169-175
- (60) Zhu, L. G. and Brewer, M. S. (1998) Discoloration of fresh pork as related to muscle and display condition. *J. Food Sci.* **63**. 763-767
- (61) 강창기, 박구부, 정상갑, 이무하, 이영현, 정명섭, 최양일 (1994) 포장방식이 냉장 돈육의 저장성에 미치는 영향. 한국축산식품학회지. **14**. 199
- (62) 노정해, 김영봉, 양승용, 김미현, 정나라. (2004) 국내산 고급 축산 자원의 등급화 요소 연구 개발. 한식연보고서. E043006-0358. 성남. 27-53
- (63) 박구부의 29명 (2004) 식육과학, 선진문화사, p196 ,356
- (64) 박범영, 김진형, 조수현, 유영모, 황인호, 김동훈, 채현석, 안종남, 김용곤, 정명옥, 이종문 (2004) 소 · 돼지 도체수율. 농촌진흥청 축산연구소. 86-133
- (65) 정승희 (2009) 발효육제품 개발 동향과 산업화 전략. 농촌진흥청. 23-39
- (66) 정혜경 (2001) 생활양식 변화에 따른 한국 식생활문화의 변천. 한국식품영양과학회. 학술대회 발표집. **49**. 17-24
- (67) 이무하 (1995) 식육품질의 이해. 선진문화사. 서울. 44-50
- (68) 정승희 (2007) 햄 소시지 제조. 한국육가공협회. 198-233
- (69) 高坂和久 (1975) 肉製品の鮮度保持と側定, 食品工業. **18**. 105-111

#### 4. 2핵심 1세부 (김현진)

- (1) Pandeya, Dipendra Raj, et al. Host-microbial interaction in the mammalian intestine and their metabolic role inside. *Biomedical Research*, 2012, 23.1: 9-21.
- (2) Bernardeau, Marion, and J P. Vernoux. Overview of differences between microbial feed additives and probiotics for food regarding regulation, growth promotion effects and health properties and consequences for extrapolation of farm animal results to humans. *Clinical Microbiology and Infection*, 2013.
- (3) Baek, So-Hyeon, et al. Creation of Resveratrol-Enriched Rice for the Treatment of Metabolic Syndrome and Related Diseases. *PloS one*, 2013, 8.3: e57930.
- (4) Morelli L. Probiotics and health claims: hurdles for new applications? In: Kneifel W, Salminen S, eds, *Probiotics and health claims*. Oxford, UK: Wiley-Blackwell, 2011; 283 - 302.
- (5) Roberfroid MB. Global view on functional foods: European perspectives. *Br J Nutr* 2002; 88 (suppl): 133 - 138.
- (6) Bernardeau M, Gueguen M, Vernoux JP. Beneficial lactobacilli in food and feed: long-term use, biodiversity and proposals for specific and realistic safety assessments. *FEMS Microbiol Rev* 2006; 30: 487 - 513.
- (7) Hwang, Buyng Su, et al. Isolation and Structure Determination of Two New Carbazoles from *Streptomyces ehimensis* JB201. *Notes*, 2010, 31.11: 3457.
- (8) Bernardeau M, Vernoux JP. Overview of the use of probiotics in the feed/food chain. In: Perez Guerra N, Pastrana CL, eds, *Probiotics: production, evaluation and uses in animal feed*. Kerala, India: Biotechnology & Applied Biochemistry, 2010; 15 - 45.
- (9) Meierregger A, Mayrhuber E, Lettner HP. Probiotics and health claims: the perspective of the feed industry. In: Kneifel W, Salminen S, eds, *Probiotics and health claims*. Oxford, UK: Wiley-Blackwell, 2011; 223 - 248.
- (10) Imran M, Desmasure N, Vernoux JP. Complex microbial communities as part of fermented food ecosystems and beneficial properties. In: Mehta BM, Kamal-Eldin A, Iwanski RZ, eds, *Fermentation: effects on food properties. Chemical & Functional Properties of Food Components*, New York: CRC Press, Taylor & Francis Group, LLC, 2012; 7 - 49.
- (11) Ohashi Y, Umesaki Y, Ushida K. Transition of the probiotic bacteria, *Lactobacillus casei* strain Shirota, in the gastrointestinal tract of a pig. *Int J Food Microbiol* 2004; 96: 61 - 66.
- (12) Ehrlich SD. Probiotics—little evidence for a link to obesity. *Nat Rev Microbiol* 2009; 7: 901.
- (13) Delzenne N, Reid G. No causal link between obesity and probiotics. *Nat Rev Microbiol* 2009; 7: 901; author reply 901.
- (14) Ley RE, Turnbaugh PJ, Klein S, Gordon JL. Microbial ecology: human gut microbes associated with obesity. *Nature* 2006; 444: 1022 - 1023.
- (15) Delzenne N, Neyrinck AM, Beckhed F, Cani PD. Targeting gut microbiota in obesity: effects of prebiotics and probiotics. *Nat Rev Endocrinol* 2011; 7: 639 - 646.

- (16) Coeuret V, Gueguen M, Vernoux JP. Numbers and strains of lactobacilli in some probiotic products. *Int J Food Microbiol* 2004; 97: 147 - 156. Erratum in: *Int J Food Microbiol* 2005; 105: 273.
- (17) Leuschner RG, Bew J, Domig KJ, Kneifel W. A collaborative study of a method for enumeration of probiotic enterococci in animal feed. *J Appl Microbiol* 2002; 93: 781 - 786.
- (18) Coeuret V, Gueguen M, Vernoux JP. In vitro screening of potential activities of selected lactobacilli isolated from unpasteurized milk products for incorporation into soft cheese. *J Dairy Res* 2004; 71: 451 - 460.
- (19) Chiu CH, Cheng CH, Gua WR, Guu YK, Cheng W. Dietary administration of the probiotic, *Saccharomyces cerevisiae* P13, enhanced the growth, innate immune responses, and disease resistance of the grouper, *Epinephelus coioides*. *Fish Shellfish Immunol* 2010; 29: 1053 - 1059.
- (20) Callaway, Todd Riley, and Steven C. Ricke, eds. *Direct-fed Microbials and Prebiotics for Animals: Science and Mechanisms of Action*. Springer, 2012

## 5. 2핵심 2세부 (백현동)

- (1) AOAC International. 2006. *Official methods of Analysis*. 18th ed. AOAC International Gaithersburg, MD.
- (2) Ashraf, R. N. P. Shah. 2011. Selective and differential enumerations of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, and *Bifidobacterim* spp. in yoghurt - A review. *Int. J. Food Microbiol.* 149: 194-208.
- (3) Bea, E. A., M. J. Han, Y. W. Shin, and D. H. Kim. 2005. Antiallergic and antipsoriatic effects of Korean red ginseng. *J. Ginseng Res.* 29: 80-85.
- (4) Chang, K.-H., H. S. Jee, N.-K. Lee, S.-H. Park, N.-W. Lee, and H.-D. Paik. 2009. Optimization of the enzymatic production of 20(S)-ginsenoside Rg<sub>3</sub> from white ginseng extract using response surface methodology. *New Biotechnol.* 26: 181-186.
- (5) Chi, H., B. H. Lee, H. J. You, M. S. Parik, and G. E. Ji. 2006. Differential transformation of ginsenosides from *Panax ginseng* by lactic acid bacteria. *J. Microbiol. Biotechnol.* 16: 1629-1633.
- (6) Collins, J. L., C. B. Ebah, J. R. Mount, D. J. Demott, and F. A. Draughon. 1991. Production and evaluation of milk-sweet potato mixtures fermented with yogurt bacteria. *Journal of Food Science.* 56: 685-688.
- (7) FDA. 1996. Yogurt. 21 CFR 131,200, Code of Federal Regulations. U.S. Dept. of Health and Human Services, Washington, DC.
- (8) Jang, D. J., M. S. Lee, B. C. Shin, Y. C. Lee and E. Ernst. 2008. Red ginseng for treating erectile dysfunction: a systematic review. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 66: 444-450.
- (9) Jin, H.-S. 1999. Functional properties of milk. *Korean Dairy Techno.* 17: 50-57.



- (10) Kim, B.-G., S.-Y. Choi, M.-R. Kim, H. J. Suh, and H. J. Park. 2010. Changes of ginsenosides in Korean red ginseng (*Panax ginseng*) fermented by *Lactobacillus plantarum* M1. *Process Biochem.* 45: 1319-1324.
- (11) Kwak, Y.-S., J.-D. Park, J.-W. Yang. 2003. Present and its prospect of red ginseng efficacy research. *Food Industry and Nutrition.* 8: 30-37.
- (12) Kwak, Y.-S., J.-S. Kyung, S.-K. Kim, and J.-J. Wee. 2001. An isolation of crude saponin from red-ginseng efflux by Diaion HP-20 resing adsorption method. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 31: 1-5.
- (13) Lee, S.-Y. J. Ahn, and H.-S. Kwak. 2011. Effects of the extract yam powder addition on yogurt properties during storage. *Korean J. Food Scid. Ani. Resour.* 31: 66-73.
- (14) Nam, K. Y, 2005. The comparative understanding between red ginseng and white ginsengs, processed ginsengs (*Panax ginseng* C.A. Meyer). *J. Ginseng Res.* 29: 1-18.
- (15) Rhim, K. H., J. G. Kim, and J. H. Han. 1993. Effects of fermented milk on rats fed by hypercholesterolemic diet. *Korean J Env Hlth Soc.* 19: 77-89.
- (16) Şengül, M., T. Erkaya, M. Şengül, and H. Yildiz. 2012. The effect of adding sour cherry polp into yoghurt on the physicochemical properties, phenolic content and antioxidant activity during storage. *Int. J. Dairy Technol.* 65: 429-436.
- (17) Seo, S.-J., J. Y. Cho, Y. H. Jeong, and T.-S. Choi. 2013. Effect of Korean red ginseng extract on liver damage induced by short-term and long-term ethanol treatment in rats. *J. Ginseng Res.* 37: 194-200.
- (18) Sung, H., Y. S. Jung, and Y. K. Cho. 2009. Beneficial effects of a combination of Korean red ginseng and highly active antiretroviral therapy in human immunodeficiency virus type1-infected patients. *Clin. Vaccine Immunol.* 16: 1127-1131.
- (19) Tetra Pak. 2010. Dairy processing handbook. Korea. Institute of Dairy Technology Korea. Seoul.
- (20) Quan, L.-H., L.-Q. Cheng, H.-B. Kim, J.-H. Kim, N.-R. Son, S.-Y. Kim, H.-O. Jin, and D.-C. Yang. 2010. Bioconversion of ginsenoside Rd into Compound K by *Lactobacillus pentosus* DC101 isolated from Kimchi. *J. Ginseng Res.* 34: 288-295.
- (21) 농수산물 수출입 뉴스. 2010.10.12 제 1187호

## 6. 2핵심 3세부 (김수기)

- (1) Ann M., Bode and Zigang Dong, (2011) The two faces of capsaicin. *Cancer research* 71:2809~2814.
- (2) Bae H.J., Jayaprakasha, G K., Kevin C., (2012) Influence of extraction solvents on antioxidant activity and the content of bioactive compounds in non-pungent peppers. *Plant foods for human nutrition* 67:120~128.
- (3) Bode, A.M. and Dong, Z. 2011. The two faces of capsaicin. *Cancer Res.* 71(8): 2809-34.
- (4) Buck S.H., Burk T.F., (1986) The neuropharmacology of capsaicin. *Pharmacological reviews* 38:179~226
- (5) Chu C.S., Kon K.R., Rhim T.J., Kim D.H., (2008) The effects of hot pepper extract and

- capsaicin on adipocyte metabolism. Korean Pharmacopuncture Institute 11:149~162.
- (6) Degering C., Eggert T., Plus M. Bongaerts J., Evers S., Maurer K.H., Jaeger K.E., (2010) Optimization of protease secretion in *Bacillus subtilis* and *Bacillus licheniformis* by screening of homologous and heterologous signal peptides. Applied and environmental microbiology 76:6370~6376.
  - (7) Ferranti, S.D., Mozaffarian, D. 2008. The perfect storm: obesity, adipocyte dysfunction and metabolic consequences. Clin. Chem. 54: 945-955.
  - (8) Hamalainen M.M, Subieta A., Arpey C. Brennan T.J., (2009) Differential effect of capsaicin treatment on pain-related behaviors after plantar incision. The journal of pain 10:637~645.
  - (9) Haramizu S., Kawabata F., Ohnuki K., Inoue N., Watanabe T., Yazawa S., Fushiki T., (2011) Capsiate, a non-pungent capsaicin analog, reduces body fat without weight rebound like swimming exercise in mice. Biomedical Research. 32: 279-284.
  - (10) Hayman M., Kam P.C.A., (2008) Capsaicin: A review of its pharmacology and clinical applications. Current Anaesthesia & Critical Care 19:338~343.
  - (11) Hwang, J.T., Park, I.J., Shin, J.I., and Park, O.J. 2005. Genistein, EGCG and capsaicin inhibit adipocyte differentiation process via activating AMP-activated protein kinase. Biochem. Biophysic. Res. Comm. 338: 694-699.
  - (12) Joo, J.J., Kim, D.H., Choi, J.W., Yun, J.W. 2010. Proteomic analysis for anti-obesity potential of capsaicin on white adipose tissue in rats fed with a high fat diet. J. Proteome Res. 10: 1021.
  - (13) Kang, J.H., Kim, C.S., Han, I.S., Kawada, T., Yu, R. 2007. Capsaicin, a spicy component of hot peppers, modulates adipokine gene expression and protein release from obese-mouse adipose tissue and isolated adipocytes, and suppresses the inflammatory response. FEBS Letters 581(23): 4389-4396.
  - (14) Kawada T., Hagihara K.I., Iwal K., (1986) Effects of capsaicin on lipid metabolism in rats fed a high fat diet. Journal of Nutrition 116:1272~1278.
  - (15) Kim H.J., Hong C.O., Nam M.H., Ha Y.M., Lee K.W., (2012) Antioxidant and physiological activities of capsicum annum ethanol extracts. The and 41:727~732.
  - (16) Kurian A.L., Starks A.N., (2002) HPLC Analysis of Capsaicinoids Extracted from orange Habanero chili peppers. Food Chemistry and Toxicology 67:956~962.
  - (17) Lee I.O., Lee K.H., Pyo J.H., Kim J.H., Chan Y., (2001) Anti-inflammatory effect of capsaicin in *Helicobacter pylori* infected gastric epithelial cells. Helicobacter 12:510~517.
  - (18) Lee, M.S., Kim, C.T., Kim, I.H., and Kim, Y. 2011. Effects of capsaicin on lipid catabolism in 3T3-L1 adipocytes. Phytotherapy Res. 25: 935-939.
  - (19) Lee S.M., Kom S.Y., Lee J., Yu K.W., Chang I., Suh H.J., (2008) Nonpungent Capsicum fermentation by *Bacillus subtilis* and the addition of Rapidase. Applied microbiology and biotechnology 81:257~262.
  - (20) Mailiard M.N., Giampaoli P., Richard H.N.J., (1997) Analysis of Eleven Capsaicinoids by Reversed-phase High Performance Liquid Chromatography. flavour and Fragrance Journal 12:409~413.
  - (21) Nagy I., Santha P., Jancso G., Urban L., (2004) The role of the vanilloid (capsaicin)

receptor (TRPV1) in physiology and pathology. *European journal of pharmacology* 500:351~369.

- (22) Rosa A., Dejana M., Casu V., Paccagnin S., Appendino G., Dessi M.A.,(2002) Antioxidant activity of capsaicinoids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50:7396~7401
- (23) Singh S., Jarret R., Russo V., Majetetch G., Shimkus J., Bushwat R., Perkins B., (2009) Determination of capsinoids by HPLC-DAD in capsicum species. *Journal of agricultural and food chemistry* 57:3452~3457.
- (24) Watanabe T., Kawada T., Yamamoto M., Iwai K. (1987) Capsaicin, a pungent principle of hot red pepper, evokes catecholamine secretion from the adrenal medulla of anesthetized rats. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 142: 259~264
- (25) Wei X., Luo M., Xu L., Zhang Y., Lin X., Kong P., Liu H., (2011) Production of fibrinolytic enzyme from *Bacillus amyloliquefaciens* by fermentation of chickpeas, with the evaluation of the anticoagulant and antioxidant properties of chickpeas. *Journal of agricultural and food chemistry* 59:3957~3963.

## 주 의

1. 이 보고서는 농림축산식품부에서 시행한 기능성 축산식품 개발기술 산업화 연구사업단의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표할 때에는 반드시 농림축산식품부에서 시행한 기능성 축산식품 개발기술 산업화 연구사업단의 연구결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니 됩니다.