

**R & D
Report
고부가가치 식품 기술 개발 사업**

발간등록번호

11-1543000-002776-01

**저지방 저등급 식육의
부가가치 증진 프로젝트
최종보고서**

2018.12.31.

주관연구기관 / 주식회사 감성고기
협동연구기관 / 서울대학교 산학협력단
위탁연구기관 / 숙명여자대학교 산학협력단

농림축산식품부

제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

본 보고서를 “저 등급·저 지방 식육의 부가가치 증진 프로젝트”
(개발기간 : 2016. 07. 07 - 2018. 12. 31)과제의 최종보고서로 제출합니다.

2019.06.10

주관연구기관명 : (주) 감성고기	정 건 호
협동연구기관명 : 서울대학교 산학협력단	윤 의 준
위탁연구기관명 : 숙명여자대학교 산학협력단	설 원 식



주관연구책임자 :	정 건 호
협동연구책임자 :	조 철 훈
위탁기관책임자 :	윤 요 한

국가연구개발사업의 관리 등에 관한 규정 제18조에 따라 보고서 열람에 동의
합니다.

보고서 요약서

과제고유번호	316048-03	해 당 단 계 연구 기 간	2.5년 (30개월)	단 계 구 분	3/3
연구 사업 명	단 위 사 업	농식품기술개발사업			
	사 업 명	고부가가치식품기술개발사업			
연구 과제 명	대 과 제 명	(해당 없음)			
	세부 과제명	저 등급·저 지방 식육의 부가가치 증진 프로젝트			
연구 책임자	정 건 호	해당단계 참여연구원 수	총: 37명 내부: 37명 외부: 명	해당단계 연구개발비	정부: 190,000천원 민간: 64,000천원 계: 25,4000천원
		총 연구기간 참여연구원 수	총: 37명 내부: 37명 외부: 명	총 연구개발비	정부: 480,000천원 민간: 16,200천원 계: 642,000천원
연구기관명 및 소속부서명	(주)삼성고기			참여기업명: (주)삼성고기	
국제공동연구	상대국명: (해당 없음)			상대국 연구기관명: (해당 없음)	
위탁연구	연구기관명: 숙명여자대학교			연구책임자: 윤 요 한	

※ 국내외의 기술개발 현황은 연구개발계획서에 기재한 내용으로 같음

연구개발성과의 보안등급 및 사유	일반
-------------------------	----

9대 성과 등록·기탁번호

구분	논문	특허	보고서 원문	연구시설 ·장비	기술요약 정보	소프트 웨어	화합물	생명자원		신품종	
								생명 정보	생물 자원	정보	실물
등록·기탁 번호	11	7							2		

<p>요약</p> <ul style="list-style-type: none"> · 건식숙성 미생물 분리·동정(<i>Pilaira anomala</i> 및 <i>Debaryomyces hansenii</i>) 및 공정 적용 가능성 확인 · 시너지스트 적용을 이용한 저 지방 저 등급 식육의 고부가가치화 방안 마련 · 건식숙성 중 위해요소 분석을 통하여 건식숙성육 제조 중 위생관리 가이드 라인 마련 · 건식숙성 후 유통 시 포장방법에 따른 유통기한 제안 · 상기 결과를 활용한 지식재산권 7건, 기술이전 1건, 사업화 7건, 학술성과 28건, 인력양성 4인 등 연구성과 창출 	<p>보고서 면수 213</p>
---	-------------------

< 요약 문 >

연구의 목적 및 내용	<ul style="list-style-type: none"> ○ 연구개발목표 저 등급 저 지방 부위 활용 고부가가치 건식 숙성 우육 생산 및 안전 유통관리 기술 개발 ○ 연구개발내용 <ul style="list-style-type: none"> - 저 등급, 저 지방 식육 부위 활용 우수 품미 숙성 우육 제조를 위한 최적화 전문 공정 개발 · 저 등급, 저 지방 식육의 숙성조건 확립 및 우수 품미 심층 숙성기술 개발 · 기업 보급형 저 등급, 저 지방 식육용 전문 숙성 냉장 설비 및 공정 개발 - 식육 숙성 공정의 과학화 및 안전 유통 관리 기술 개발 <ul style="list-style-type: none"> · 건식 숙성 우육 품질 지표인자 및 유통 중 품질 유지방안 마련 · 숙성 미생물(시너지스트) 활용 신속 심층숙성기술 개발 · 숙성 식육의 위해요소 전문 관리방안 설정 				
연구개발성과	<ul style="list-style-type: none"> ○ 최종성과 <ul style="list-style-type: none"> - 저 등급, 저 지방 부위 이용 건식 숙성육 신제품 3종 이상 - 신속 심층 숙성기술 개발을 통한 혁신적 숙성 시너지스트 2건 개발 - 시너지스트 활용 숙성 우육 제조기간 단축(기존 60일→21일) - 최종 년차(2018) 우수 품미 숙성 비선택 부위 소비량 현재 지육량 12두/월 → 16두/월 - 최종 년차(2018)에 2015년 매출 대비 30% 이상 신장 ○ 정성적 성과 <ul style="list-style-type: none"> - 저 등급, 저 지방 식육 부위를 이용한 최적 숙성조건 확립 - 미생물 활용 신속 심층 숙성기술 개발 - 식육 숙성 품질 지표인자 설정 및 위해요소 관리방안 제시 ○ 정량적 성과 <ul style="list-style-type: none"> - 특허출원 5건, 특허등록 2건, 기술실시 1건, 제품화 3건, 고용창출 4명, SCI논문 8편, 비SCI논문 3편, 학술발표 17건, 인력양성 4명 				
연구개발성과의 활용계획 (기대효과)	<ul style="list-style-type: none"> - 식육 심층 숙성 신기술 개발로 기술사업화 - 대량 생산이 가능한 기업보급형 숙성 냉장 설비, 전문 공정 개발 및 체계 확립 - 최적 숙성육의 품질 및 안전 관리 방안 제시 - 저 등급, 저 지방, 저 이용 우육의 고부가가치화로 생산 및 유통업계 이윤 극대화 - 식육제품 다양화와 품질 보증을 통한 소비자 만족도 및 신뢰 제고 - 기업 매출 신장 및 고용창출 - 신기술 개발로 지적재산권 및 관련 학술논문 생산 				
국문핵심어 (5개 이내)	숙성	식육	저 등급 우육	저 지방 부위	안전유통
영문핵심어 (5개 이내)	Aging	Meat	Low-grade beef	Low-fat portion	Safety

〈 목 차 〉

1. 연구개발과제의 개요	6
1-1. 연구개발의 목적	6
1-2. 연구개발의 필요성	7
1-3. 연구개발 범위	13
2. 연구수행 내용 및 결과	20
2-1. 연구개발 추진전략	20
2-2. 연구개발 추진체계	21
2-3. 연구개발 추진일정	22
2-4. 연구방법 및 결과	23
2-5. 연구개발성과	151
3. 목표 달성도 및 관련 분야 기여도	158
3-1. 목표	158
3-2. 목표 달성여부	158
3-3. 목표 미달성 시 원인(사유) 및 차후대책	160
4. 연구결과의 활용 계획 등	161
4-1. 연구개발결과의 활용방안	161
4-2. 기대성과 및 파급효과	161
붙임. 참고 문헌	163

<별첨1> 연구개발보고서 초록

<별첨2> 주관연구기관의 자체평가의견서

<별첨3> 연구성과 활용계획서

<별첨4> 안전한 건식숙성육 제조를 위한 가이드라인(안)

1. 연구개발과제의 개요

1-1. 연구개발의 목적

- 저 등급, 저 지방 부위 활용 고부가가치 건식 숙성 우유 생산 및 안전 유통 관리기술 개발
 - 저 등급, 저 지방 식육 부위 활용 우수 풍미 숙성 우유 제조를 위한 최적화 전문 공정 개발
 - 식육 숙성 공정의 과학화 및 안전 유통 관리 기술 개발
 - 저 등급, 저 지방 부위 이용 건식 숙성육 신제품 3종 이상
 - 신속 심층 숙성기술 개발을 통한 혁신적 숙성 시너지스트 2건 개발 및 시너지스트 활용 숙성 우유 제조기간 단축(기존 60일→21일)
 - 최종 연차(2018) 우수 풍미 숙성육 제조기술 개발 및 판매로 비선호 부위 소비량을 현재 지육량 월 12두 → 월 16두, 2015년 매출 대비 30% 이상 달성

○ 주요 기능

- 숙성방법, 활용부위 등에 따른 숙성 우유의 관능 및 품질인자 특성 평가를 통한 숙성 조건 분석
- 숙성조건별 미생물 프로파일링(profiling), 시너지스트 및 제어조건 제시
- 저 등급, 저 지방 부위용 미생물 활용 최적 심층 숙성 조건 확립

숙성 우유	숙성 종류	숙성 조건	심층 숙성
품종, 등급, 저지방육 부위	건식, 습식, 혼합숙성	기간, 온도, 통풍, 습도	숙성용 시너지스트

○ 핵심 기술

- 건식 숙성육의 품질 지표인자 개발
- 건식 숙성용 시너지스트(스타터) 적용기술
- 건식 숙성 공정의 위해요인 분석 및 제어 기술
- 전문 숙성용 냉장설비 및 공정기술
- 우수 풍미 우유의 신속 심층 숙성 기술

○ 적용 범위

- 저 등급, 저 지방 식육의 심층 숙성기술 개발
- 대량 생산을 위한 기업보급형 숙성 냉장설비 및 전문 공정 개발
- 최적 숙성육의 품질 및 안전 관리 방안 제시
- 전문 공정 적용, 유통 및 소비자 반응 조사를 통한 산업화

1-2. 연구개발의 필요성

□ 저 등급, 저 지방, 저 이용 우육의 고부가가치화

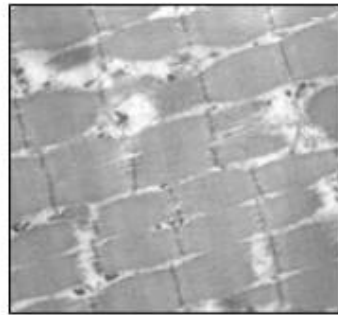
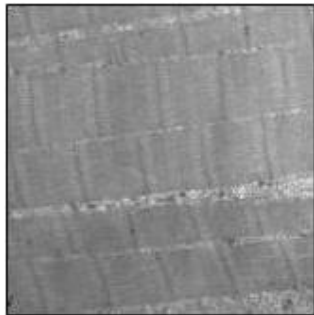
- 우리 축산은 수입개방에 대응하고 대외경쟁력을 확보하기 위해 지속적인 품질증진 노력과 고급화, 그리고 저이용 부위의 부가가치 향상을 통해 차별화된 제품과 서비스를 소비자에 제공해야 함.
 - 축산 선진국들과의 FTA체결 등으로 인해 수입쇠고기와 치열한 경쟁체제에 돌입하게 되었으며, 유통업계에서는 저급 수입육뿐만 아니라 고급 프리미엄 수입육(호주산 와규, 앵거스 등) 유통체계를 완비하여 소비 트렌드 변화에 적극 대응하면서 수입육 판매 다변화를 진행 중임.
 - 전체적인 국내 우육 시장을 위해 고급육 소비와 더불어 저 등급, 저 지방육 및 비선호부위의 소비를 확대할 수 있는 새로운 패러다임이 필요한 시점임.
 - 저 등급, 저 지방, 저 이용 우육은 고 등급 우육에 비해서 지방의 함량이 낮아 풍미와 연도가 낮고 이에 따라 소비자 선호도 또한 낮아지는 한계점이 있어 그 이용성을 높이기 위해선 고부가가치화가 반드시 필요함.
 - 축산선진국에서 주로 유통되는 숙성육에 대한 국내 소비자 관심이 최근 급증하고 있으며, 특히 건식숙성육에 대한 관심은 폭발적으로 증가하고 있음.
 - 5-6년 전부터 일부 스테이크전문점을 중심으로 도입, 점차 대중화하고 있으며, 특히 1등급 이하 저 등급 우육을 숙성하여 새로운 시장을 창출하는 시도가 진행 중임.
 - 그러나, 숙성육 시장 또한 여전히 고 등급, 고 지방 부위가 선호되고 활용되고 있음.
 - 국내산 우육이면서도 한우에 비해 가격이 저렴한 육우는 고부가가치 품질의 숙성육으로 부가가치를 높일 가능성이 큼.
- 따라서, 저 등급, 저 지방, 저 이용 우육의 고부가가치화를 이루어 생산자 및 유통업체의 수익향상과 소비자 품질 만족을 함께 도모할 필요가 있음.
- 고품질의 건식 숙성 우육을 안전하게 생산하고 유통·관리하는 방안에 대한 연구를 수행하여, 우수한 풍미의 숙성 우육 생산 최적화 기술 및 전문 공정을 개발, 과학적으로 표준화한다면 충분히 가능함.

□ 숙성의 과학

- 숙성은 자연적 사후강직 현상으로 딱딱하고 질겨진 근육을 냉장상태에서 연화하고 풍미가 풍부하게 만드는 공정임.
 - 육류는 생화학적인 특성상 생선과 달리 도살 후 근육의 glycogen이 분해되어 혐기상태에서 젖산으로 전환되고 ATP가 소실되면서 보수성이 낮아지며 근육이 단단해지는 사후강직 상태가 발생함(정인철, 1997).

[육류의 사후강직과 숙성]

	도살	초기 사후강직	최대 사후강직	숙성
pH	7.0 - 7.3	6.5	5.5	5.5
특징	<ul style="list-style-type: none"> ⊙ 근육글리코겐 분해 ⊙ 젖산 생성 ⊙ pH 저하 	<ul style="list-style-type: none"> ⊙ ATP 분해 ⊙ 액토미오신 생성 	<ul style="list-style-type: none"> ⊙ 젖산생성 중지 ⊙ 보수성 최소 ⊙ 단백질 분해효소 활성화 	<ul style="list-style-type: none"> ⊙ 연화 ⊙ 보수성 증가



[숙성에 의한 근육조직의 변화]

- 식육의 연도를 증진하기 위한 방법인 숙성은 건식 숙성(dry-aging)과 습식 숙성(wet-aging)으로 구분(Hunt, 2001).



[건식숙성육]



[습식숙성육]

- 건식 숙성은 독특한 풍미와 부드러운 육질을 느낄 수 있는 생화학적인 효소 작용 촉진을 통해 우육 도체의 표면을 공기 중에 그대로 노출한 채로 냉장 조건에서 1-5주간 저장하는 정통 숙성방식임.
- 건식 숙성 시 다양한 풍미물질이 생성되고 농축되어 특유의 풍미를 형성함으로써 기호도 증진에 유리함(이철우 등, 2015).
- 고 등급(1등급) 한우를 건식 숙성한 3등급 한우와 비교하였을 때, 건식 숙성

3주 후부터 1등급 한우와 비슷한 수준으로 풍미와 연도가 증진되는 결과를 보였음(박혜정 등, 2015).

- 반면, 습식 숙성은 절단육을 0-5°C 사이에서 진공포장 상태로 숙성시키는 방법임.

□ 숙성육의 맛 특징

○ 숙성이 진행되면 육질이 부드럽고 풍미가 크게 향상됨.

- 숙성이 완료되면 겉 부분은 제거하고 사용하며, 육류 내 존재하는 효소 작용에 의해 자가 소화 이루어지면서 내부의 아미노산과 지미성분이 증가하여 육질이 부드러워지고 보수성이 증가하고 향미가 풍부해 짐.
- 숙성 기간이 길어질수록 연도가 증가하며 건식 숙성 처리를 거친 후 진공포장을 한 상태에서 연도는 지속적으로 증가하고 다즙성이 높아짐. 고기를 씹을 때 분출되는 육즙이 증가하는데 고기의 수분은 감소하면서 지방이 농축되기 때문임.
- 건식 숙성기간에 따른 향미, 연도, 다즙성 선호도와 구입의사를 조사한 결과, 숙성기간이 길어질수록 연도와 다즙성의 선호도가 증가함.

[건조숙성기간에 따른 선호도(Laster, 2008)]

건조숙성기간	향미	연도	다즙성	구입의사
14일	6.8	7.0	6.4	2.6
21일	6.6	7.0	6.2	2.5
28일	6.6	7.1	6.4	2.4
35일	6.6	7.5	6.6	2.4

(향미, 연도, 다즙성: 10 = 매우 좋음, 1 = 매우 나쁨)

(구입의사: 10 = 매우 높음, 1 = 매우 낮음)

- Li et al. (2014)의 연구에 따르면, 건식 및 습식 숙성육간 관능평가 비교분석 결과 건식 숙성육이 종합적 기호도, 연도, 다즙성에 대해 각각 57.6%, 61.7%, 61.0%의 소비자 선호도를 보였음.

□ 숙성 조건

- 숙성법에 영향을 미치는 주요 인자는 숙성기간, 저장온도, 상대습도임. 이들은 고기의 외관, 풍미, 유통기한, 미생물에 의한 오염과 직결되는 요소임(이춘식, 2011).
- 숙성기간을 14-35일로 각각 달리하여 전반적인 선호도, 풍미, 연도를 조사한 결과 전반적인 선호도와 풍미는 차이가 없었으나 연도는 숙성기간이 길어질수록 개선됨.
- 저장온도가 품질, 맛에 미치는 영향이 과학적으로 입증된 적 없어 냉장보관을 해야 하는 다른 육류와 차이를 둘 필요가 없는 것으로 나타났지만, 높은 온도에서 상하기 쉬우므로 0-4°C의 저장온도가 적당함.

- 상대습도 역시 품질, 맛에 미치는 영향이 과학적으로 입증된 적은 없으나 습도가 저하된다는 것은 전반적인 선호도를 감소시키므로 일반적으로 80-85%의 습도가 적합함.
- 풍속은 과도한 미생물의 성장을 촉진하지 않을 정도인 0.5-2 m/s가 적당함(U.S. Meat Export Federation).

□ 숙성육의 미생물학적 취약점

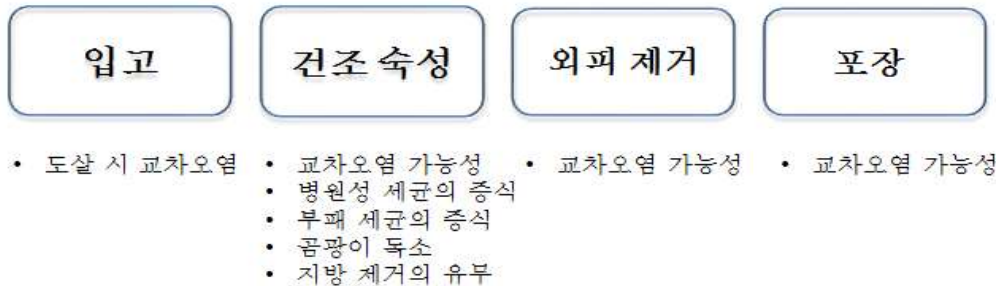
- 저장온도, 상대습도의 변화와 교차오염 가능성으로 인하여 미생물학적 위험성이 제기되고 있음. 가공 단계별로 미생물학적 취약점을 파악해보면, 건조숙성의 첫 단계인 입고 단계에서는 도축 시 교차오염된 분할육을 구입하였을 경우가 대표적임.
- 건조숙성단계에서는 여러 가지 위험요인이 존재함. 숙성 중 사용하는 와이어 선반이나 나무, 고리 등을 철저히 관리하지 않으면 교차오염이 발생할 가능성이 높고, 저장온도가 상승하면 병원성 세균과 부패 세균이 증식하여 산패취, 불쾌취가 나타남.
- 상대습도 또한 지나치게 높아질 경우 병원성 세균과 부패 세균이 증식하고 반대로 상대습도가 낮을 경우에는 고기의 과도한 수축이 일어나 질적인 면이나 경제적인 면에서 부정적인 영향을 미침(김동식, 2014).
- 실제로 약 3주 가량의 숙성과정을 거치면 고기 겉면이 검게 변하면서 곰팡이가 피는 것을 확인 할 수 있음. 곰팡이의 독소는 세균과 달리 내부로 침투하는 특성이 있으며 사람이나 동물에 대해 신경장애, 신장장애, 간 장애를 초래하며 간암, 식도암 등의 암을 유발하는 것으로 알려져 있어 세계보건기구에서는 잔류농약보다 더 큰 위험성을 지니고 있다고 판단함(강길진, 2010).



[숙성된 고기 겉면에 핀 곰팡이, (주)감성고기]

- 현재 전문 건식 숙성육 제조업체의 경우 일부러 곰팡이가 피게 하여 건식 숙성 특유의 독특한 풍미를 주는 방법을 실행하고 있으나, 사용 중인 곰팡이 또는 그 곰팡이가 생산할 수 있는 독소에 대한 위해성 관련 염려가 매우 큼.

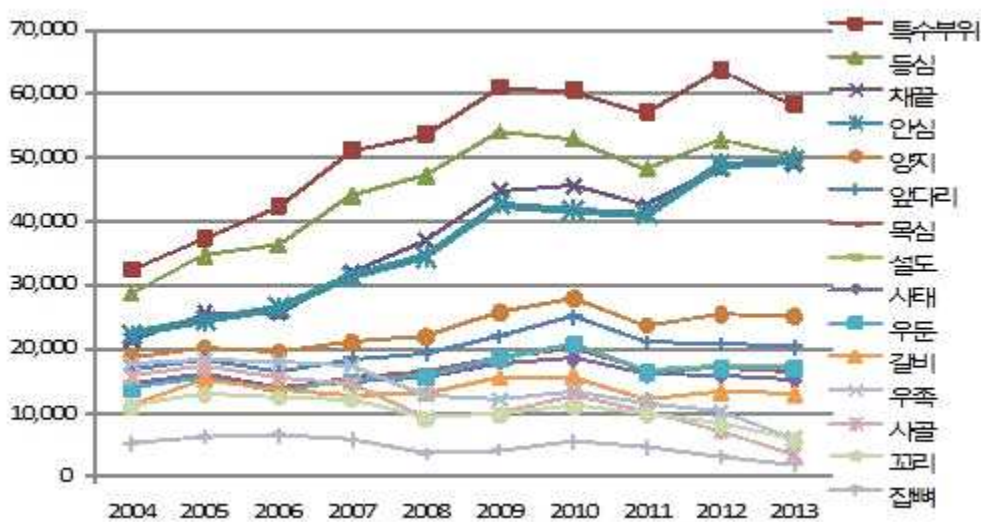
- 외피(Crust) 제거 단계와 포장 단계에서는 사용하는 도구에 의해 교차오염 가능성이 큼. 외피 제거 시에는 사용하는 칼과 작업자의 손에 의해 교차오염이 필연적으로 발생할 것으로 예측되며 포장 단계에서는 포장기구 및 포장재에 의한 교차오염이 발생할 것으로 예측됨.



[가공과정 단계별 미생물학적 위험성]

- 아직까지 국내에서 공식적으로 숙성육으로부터 유래된 식중독 발생에 관하여 보고된 사례는 없지만 건식 숙성육과 유사한 제조 방법을 이용하는 건조 육제품 중 살라미, 육포, 초리조 등에서 식중독이 발생하였으며, 주요 식중독 세균은 *E. coli* O157:H7, *Salmonella* 등이었음.
 - 건식 숙성육의 경우 습식 숙성육에 비해 환경에 노출되어 있고 장기간 보관해야 하기 때문에 식중독 가능성이 지속적으로 제기되고 있으며, 또한 위해요소 확인이나 안전관리 방안과 같은 기본적인 안전공정관리가 이루어지지 않고 있음.
- 숙성육의 안전성 개선 연구에 대한 현황
- 숙성 전 분할육을 물로 세척하는 방법을 이용했을 경우 숙성 기간이 경과하면서 총 세균의 감소량을 확인한 결과, 세척 즉시에는 1.2 log, 2일 숙성 후 0.6 log, 2-6일 숙성 후 0.4 log가 각각 감소하였으며 6일의 숙성 기간을 거치면서 총 2.2 log 감소(Buege and Ingham, 2003).
 - 국외에서는 일찍이 건식 숙성육 및 건조 육제품에 대한 미생물학적 위험성을 인지하여 물리적·화학적 방법을 이용한 연구가 진행되고 있지만 국내에서는 건식 숙성육의 안전성에 대해 진행된 연구가 거의 없는 실정임.
 - 국내 상황에 적용할 수 있는 건식 숙성육 안전성에 관한 연구를 진행하여 체계적이고 과학적으로 관리하여야 함.
 - 곰팡이 등 숙성 중 발생할 수 있는 미생물 및 독소 등에 대한 안전성 관련 연구가 요구됨.
 - 최종 제품의 유통 중 안전성에 관한 염려 및 유통기한의 설정연구가 필요함.

- 저 지방, 저가의 우유를 이용한 고부가가치의 안전한 제품 생산 가능
- 국내 우유 소비문화는 등심 등 부드러운 구이용 부위를 선호함. 이에 따라 부위별 판매 가격의 차이는 날로 심화되고 있으며, 유통시장에서는 부위에 따른 재고량의 차이로 문제를 겪고 있음
 - 앞다리, 설도 및 우둔은 전체 우유 생산량의 50% 이상을 차지함에도 불구하고 소비의 둔화 및 적체현상이 일어나고 있는 실정임.
 - 식육 부위별 소비 불균형은 식육산업 발전에 장애요소로서 작용함.
- 국내 식육산업의 발전과 안정화를 위해 저 지방, 저가의 우유 부위의 소비 촉진을 위한 방법이 요구됨.



[부분육 도매가격 (축산물품질평가원)]

- 국내 우유 부위별 선호도는 등심 43.5%, 갈비 22.9%, 안심 10.5%, 우둔 및 사태 4.7% 순이며, 이는 각 부위별 연도의 차이와 높은 연관성이 있음(황은경 등, 2010).
 - 국내 한우육을 이용하여 관능평가를 실시한 결과 우육 섭취 시 연도를 가장 중요시 하는 것으로 사료됨(김진형 등, 2009).
- 저 등급, 저 지방 식육 부위를 숙성을 통하여 연도 및 관능적 품질을 개선함으로써 소비확대를 이룰 수 있을 것으로 판단됨.

□ 최적화 전문 공정 개발의 필요성

- 근육의 종류 및 부위에 따른 육질 차이가 다르게 나타남. 따라서 부위별로 만족하는 연도에 도달하기 위해서는 도체의 특성과 부위에 따라 숙성기간과 방법을 달리 하여야 함.
- 따라서 저 등급, 저지방 부위에 따른 맞춤형 숙성기술의 개발이 필요함.
 - 숙성 최적화를 위한 시너지스트와 같은 부가적인 요소가 필요함.

- 건식 숙성 고유의 풍미는 숙성과정 중 성장하는 미생물이 영향을 미치는 것으로 사료되며, 해당 미생물을 탐색 후 안전한 적용조건을 확립하여 시너지스트로 활용 할 시 건식 숙성 특유의 풍미를 더욱 더 향상시킬 수 있음.
- 식육의 연화에 영향을 미치는 효소 또한 저 이용 우육의 연도를 개선할 수 있는 시너지스트로서 적용이 가능함.
- 시너지스트 활용 시 목표한 수준의 육질에 보다 빠르게 도달할 수 있어 건식 숙성 육 생산공정의 최적화가 가능할 것으로 사료됨.

1-3. 연구개발 범위

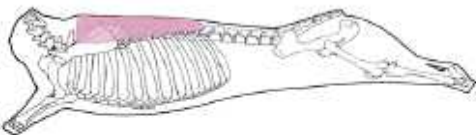
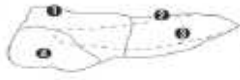
□ 1차년도

① 개발 목표

- 주관연구기관((주)감성고기)
 - 저 등급, 저지방 식육의 숙성방법, 조건 및 기간 설정을 통한 적정 숙성조건 조사
- 자문기관(㈜한국 E&C)
 - 숙성고의 적정 숙성 환경 유지 방안 자문
- 협동연구기관(서울대학교)
 - 식육 숙성 조건에 따른 관능 및 품질인자 및 숙성용 미생물 성장에 의한 육질 특성 분석
- 위탁연구기관(숙명여자대학교)
 - 숙성용 미생물 분리·동정을 통한 시너지스트 탐색

② 개발 내용 및 범위

- 주관연구기관((주)감성고기)
 - 숙성방법, 품종, 성별, 등급, 부위 등에 따른 숙성 기술 조사
- 저 등급, 저 지방 우육인 육우, 수소, 3등급, 보섭 및 우둔 부위를 기본으로 자료 조사

대분할부위명		등심(Loin)	
			
부위위치 : 가슴등뼈를 중심으로 양쪽에 길게 붙어 있는 두채의 살덩이			
소분할 부위명	①윗등심살 ②아래등심살 ③꽃등심살 ④살치살	6번째와 7번째 흉추골 사이를 절단한 등심의 앞부분 6번째 7번째 흉추골 사이를 절단한 등심의 뒷부분 등심 가운데에 길게 형성된 근내지방이 잘 형성된 살코기 앞다리 어깨부위 밑에 있는 삼각형 살	위치도 1. 윗등심살 2. 아래등심살 3. 꽃등심살 4. 살치살
특징 : 근육 내에 지방이 대리석상으로 박혀 있어 부드럽고 풍미가 좋음			

[우육 대분할 및 소분할 부위별 명칭 및 특성 조사 예시]

- 우육의 부위별 특성 조사
 - : 이론과 실제의 비교를 통한 효과적 숙성 조건 탐색을 위하여 식육의 부위별 관능적 특성을 조사하고 시장성 분석
- 등심, 보섭 및 우둔 부위의 특성 조사 및 시장/경제성 확인

- 적정 숙성 조건 설정
 - : 우육의 부위별 적정 숙성 온도, 습도, 풍속 설정을 위하여 선행연구결과, 국내·외 문헌 조사 및 최적 숙성 방법 제시를 위한 숙성 조건 확보
 - : 건식숙성 조건 - 숙성온도 $2\pm 1^{\circ}\text{C}$, 숙성기간을 28일 고정, 풍속(2.5, 5, 7.5 m/s), 습도(자연습도, 80%, 85%)에 따른 숙성도 확인

[건조 숙성육의 숙성 온도 및 습도 조사 예시]

숙성 온도($^{\circ}\text{C}$)	상대 습도(%)	참고문헌
2	76	Campbell et al., 2001
2.6-2.6	87 ± 2.6	Ahnstrom et al., 2006
0-1	80-85	Parrish et al., 1991
3.1-3.6	78 ± 3	Warren & Kastner, 1992
1	83 ± 11	Smith, 2007

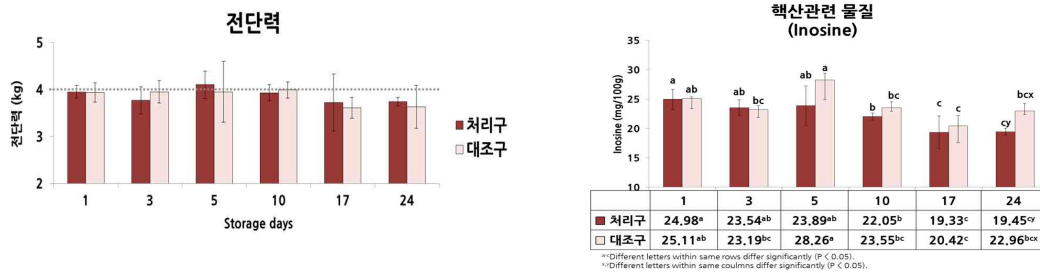
- 자문기관(주)한국 E&C
 - 숙성고의 적정 숙성 환경 유지 방안 자문
 - : 적정 숙성 조건 확보를 위하여 숙성 환경 유지 방안 자문

- 협동연구기관(서울대학교)
 - 숙성 우육의 숙성 조건별[숙성방법(습식/건식), 온도, 습도 및 풍속 등] 관능 및 품질 인자 특성 분석
 - : 숙성 조건에 따른 관능 및 품질인자 특성 분석 - 유리 아미노산, 지방산, 핵산물질, pH, 색, 연도, 조직감, 환원당, 관능평가, 외부적 시너지스트 생장 효과 등 측정
 - : 숙성 조건별 우육 시료는 texture analyzer를 이용하여 생육에서 shear force, 가열육에서 texture profile analysis를 실시함. 육색은 색차계(colorimeter)를 이용하여 L^* -, a^* -, b^* - 및 전체적 색 변화 정도를 δE 값으로 측정. 지방산은 Folch 용액으로 지방을 추출한 후 SPTM 2560 capillary column(100 m \times 0.25 mm \times 0.2 μm film thickness)이 장착된 GC로 분석함. 또한 시료를 균질화한 후 원심분리하고 perchloric acid로 처리한 후 여과한 시료를 HPLC를 활용하여 핵산분해물질(AMP, IMP, inosine, hypoxanthine)을 측정하고, 2% TCA용액으로 균질하여 Waters AccQ-Tag법으로 유도체화한 시료는 HPLC로 유리아미노산 함량을 측

정, 환원당은 80% EtOH로 추출 후 질소 농축하여 발색반응 후 분광광도계로 측정함. 관능특성 분석은 5명의 훈련된 패널을 이용한 묘사분석과 10명 내외의 훈련되지 않은 패널을 활용한 기호도분석을 실시함. 모든 관능검사는 3회 이상 반복시험함.

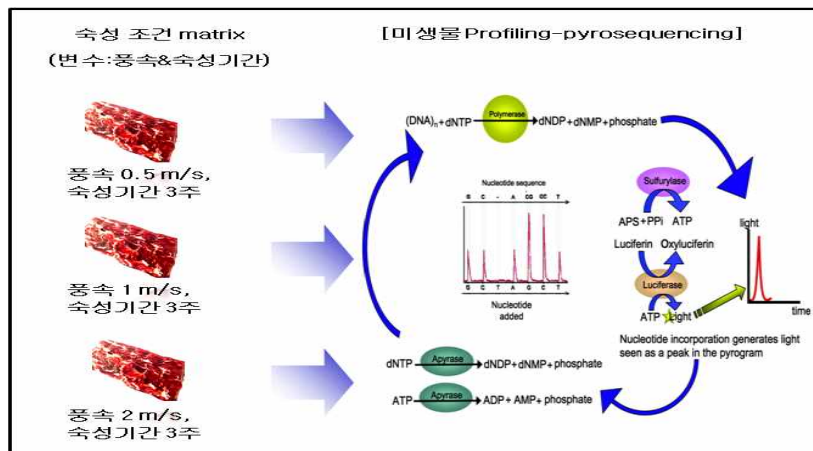
: 관능적, 이화학적 분석 결과와 경제성을 토대로 최적의 숙성 조건 및 부위를 설정하고 적정 숙성 조건 확립

- 시너지스트 성장에 따른 육질 특성 차이 분석 - 물리적, 화학적 및 관능적 특성 평가 후 2차년도 연구에 활용함.



[숙성 중 저장기간에 따른 전단력 및 핵산관련물질 변화 측정 예시]

- 위탁연구기관(숙명여자대학교)



[숙성 조건 matrix별 미생물 프로파일링 예시]

- 숙성용 미생물 분리 및 동정을 통한 시너지스트 탐색
 - : 조건[풍속(2.5-7.5 m/s) × 숙성기간(0-3주)] 별 숙성된 식육으로부터 시료(50건 이상)를 채취하여 0.1% Peptone water가 들어있는 멸균필터백에 넣고 Pummeler를 이용하여 1분 동안 균질화 한 후 1 ml을 취하여 멸균된 BPW 9 ml이 들어있는 test tube를 이용해 10진법으로 희석한 희석액을 취하여 항생제(chloramphenicol, kanamycin, penicillin, streptomycin 등)가 첨가된 고체 배지 또는 상업용 건조배지 (Petrifilm)에 평판도말한 후 배양(30-35°C, 24-48 h)후 배지 표면에 형성된 집락을 취하여 숙성에 관련된 미생물을 분리
 - : 분리된 미생물 시료들에 대해 NGS(Next Generation Sequencing) 분석이 가능한

- Illumina HiSeqTM 또는 PacBioTM를 이용한 Pyrosequencing 방법을 이용해 균집분석을 실시하여 식육 숙성 조건별 미생물 변화 및 분포를 비교하는 프로파일링 실시
 : 분리된 미생물에 대하여 ribosomal DNA ITS(Internal Transcribed Spacer)2 유전자 염기서열을 분석 후 유전자 서열 database와 대조하여 미생물 동정(identification)
- 식육 숙성 시너지스트 선정
 - : 위 실험에서 동정된 미생물들을 일반 액체배지에 배양(30-35°C, 24-48 h)한 후 원심분리(1,912 ×g, 4°C, 15분)하여 균체를 펠렛화한 후 PBS에 현탁하여 식육의 표면에 접종하여 주관연구기관[(주)감성고기]에서 제시하는 최적 숙성조건에 3주간 식육을 저장하면서 협동기관(서울대)과 협력하여 접종 미생물별 품질 특성(유리 아미노산, 지방산, 핵산물질, pH, 색, 연도, 조직감, 환원당, 관능평가 등) 및 미생물 수의 변화를 비교하여 최적의 식육 숙성 시너지스트 1종 이상 선정하여 2차년도 연구에 활용

□ 2차년도

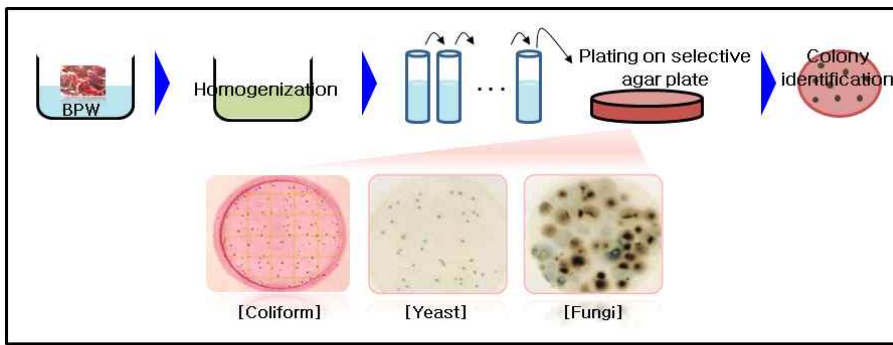
① 개발 목표

- 주관연구기관(감성고기)
 - 저 등급 저 지방 식육의 숙성조건 확립 및 심층 숙성기술 개발
- 자문기관(주)한국 E&C, 에이치비건설
 - 시너지스트 배양을 위한 숙성 환경 조절 자문
- 협동연구기관(서울대학교)
 - 식육 숙성 품질 지표인자 설정 및 시너지스트 활용법 개발
- 위탁연구기관(숙명여자대학교)
 - 숙성 식육의 위해요소 평가 및 적정 품질 유지 기한 설정

② 개발 내용 및 범위

- 주관연구기관(감성고기) :
 - 저 등급, 저 지방 부위를 활용한 최적 숙성조건(온도, 통풍, 습도) 확립
 - 시너지스트 활용을 통한 심층 숙성기술 개발
- 자문기관(주)한국 E&C, 에이치비건설
 - 시너지스트 배양을 위한 숙성 환경 조절 연구자문
- 협동연구기관(서울대학교) :
 - 고 등급(1++)육과 건식 숙성육의 관능 및 품질인자 비교 분석을 통한 건식 숙성 품질 지표인자 설정
 - 우육 숙성도 확인을 위한 품질 지표인자 신속 측정법 개발
 - 시너지스트 활용법 개발
 - : 방치, 분무, 침지 등 시너지스트의 효율적 활용법 조사

- 위탁연구기관(숙명여자대학교)
 - 숙성 식육의 위해요소 평가 및 적정 품질 유지 기한 설정
 - : 시너지스트 활용 조건 확립 및 숙성 공정 중 위해요소 평가
 - : 숙성 우육의 부위별·숙성 단계별 주요 위험원인[식중독세균·부패세균(putrefactive bacteria)·곰팡이 독소(mycotoxin) 등] 탐색을 통한 미생물학적 취약점 결정
 - : 예측 모델 개발을 통한 숙성조건별 식중독 세균의 증식·사멸 카이네틱 특성과약품 제품 내 미생물 위해가능성 분석
 - 숙성 식육의 적정 품질 유지 기한 설정
 - : 선정된 시너지스트를 식육에 다양한 농도로 접종
 - : 온도와 시간에 따른 성장 또는 사멸 패턴 확인을 통하여 적정 품질 유지 기한 설정



[미생물 모니터링 과정 예시]

□ 3차년도

① 개발 목표

- 주관연구기관(감성고기)
 - 저 등급, 저 지방 식육용 기업보급형 신속 숙성 전문 공정 개발 및 적용
- 자문기관(빌더앤빌더스)
 - 기업 보급형 숙성 환경 전문 공정 자문
- 협동연구기관(서울대학교)
 - 숙성 공정 및 유통 중 품질 관리방안 설정
- 위탁연구기관(숙명여자대학교)
 - 숙성 식육의 위해요소 전문 관리방안 설정

② 개발 내용 및 범위

- 주관연구기관(감성고기) :
 - 신속 대량 생산을 위한 숙성 전문 냉장 설비 및 공정 개발
 - 전문공정 적용, 유통 및 소비자 반응 조사를 통한 산업화
- 자문기관(빌더앤빌더스)
 - 기업 보급형 숙성 환경 전문 공정 자문

: 신속 대량 생산을 위한 기업 보급형 숙성 환경 유지 전문 공정 자문



[현재 (주)감성고기에서 시험 중인 숙성고]

- 협동연구기관(서울대학교) :
 - 고품질 건조숙성 우육 보급을 위한 안전생산 및 유통 관리방안 제시
 - : 건조 숙성 우육의 최적 숙성 후 포장 및 유통 조건(포장방법, 유통온도 등) 제시

- 위탁연구기관(숙명여자대학교)
 - 숙성 식육의 위해요소 전문 관리방안 설정
 - : 위해요소 제어 및 관리를 위한 가이드라인 설정
 - : 숙성 과정 중 Critical Control Point (CCP) 제시



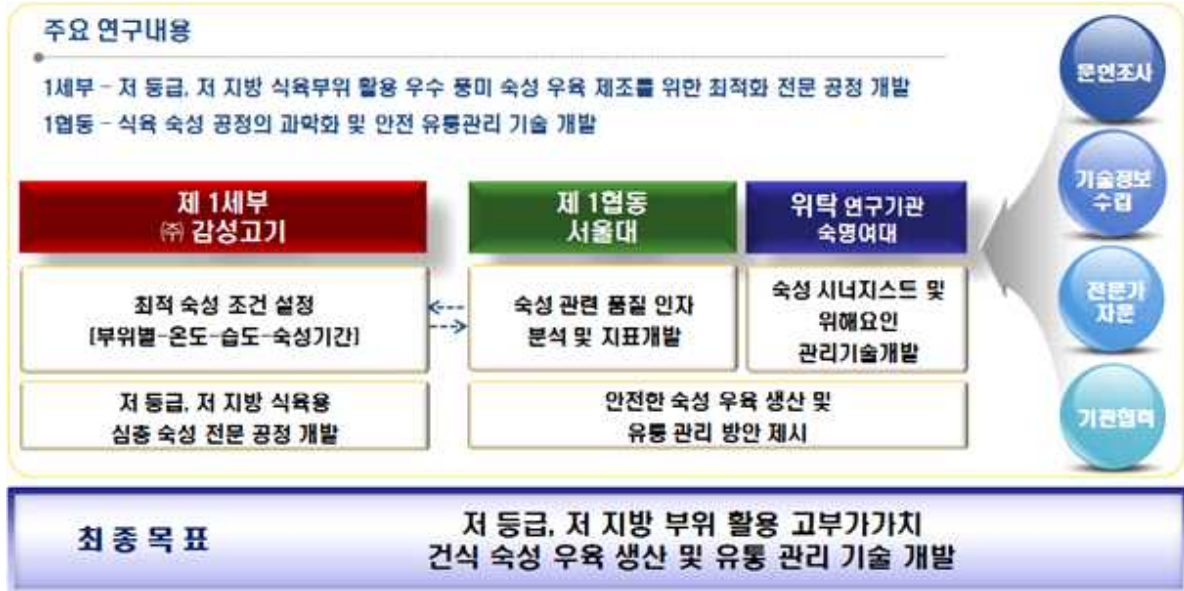
[매뉴얼 책자 예시]

□ 연구개발의 목표 및 내용(요약)

구분		연구개발의 목표	연구개발의 내용
1차년도 (2016)	주관 연구기관 (감성고기)	○ 저 등급, 저 지방 식육의 숙성방법, 조건 및 기간 설정을 통한 적정 숙성 조건 조사	- 숙성법, 품종, 성별, 등급, 부위 등에 따른 숙성 기술 조사 - 우육의 부위별 숙성 특성 조사 - 적정 숙성 조건 조사
	협동 연구기관 (서울대학교)	○ 식육 숙성 조건에 따른 관능 및 품질 인자 분석과 숙성 미생물 분리, 동정	- 숙성 우육의 숙성 조건별[(습식/건식), 온도, 습도, 풍속 등] 관능 및 품질인자 특성 분석 - 숙성 미생물 분리, 동정
	위탁 연구기관 (숙명여대)	○ 숙성 미생물 분리 및 동정을 통한 시너지스트 탐색	- 숙성 시 발생하는 숙성미생물 분리·동정 및 특성 조사를 통한 최적 시너지스트(스타터) 탐색
2차년도 (2017)	주관 연구기관 (감성고기)	○ 저 등급 저 지방 식육의 숙성조건 확립 및 심층 숙성 기술 개발	- 저 등급, 저 지방 부위를 활용한 최적 숙성 조건(온도, 습도, 풍속) 확립 - 시너지스트 접종법 개발을 통한 심층 숙성 기술 개발
	협동 연구기관 (서울대학교)	○ 식육 숙성 품질 지표인자 설정 및 시너지스트 활용법 개발	- 고 등급(1++)육과 건식 숙성육의 품질인자 비교 분석 - 우육 숙성도 확인을 위한 품질 지표인자 개발 - 시너지스트 활용법 개발
	위탁 연구기관 (숙명여대)	○ 숙성 식육의 위해 요소 평가 및 적정 품질 유지 기한 설정	- 시너지스트 활용 조건 확립 및 숙성 공정 중 위해요소 평가 - 적정 품질 유지 기한 설정
3차년도 (2018)	주관 연구기관 (감성고기)	○ 기업보급형 저 등급, 저 지방 식육용 신속 숙성 전문 공정 개발	- 신속 대량 생산을 위한 숙성 냉장 설비 및 전문 공정 개발 - 전문공정 적용, 유통 및 소비자 반응을 통한 산업화
	협동 연구기관 (서울대학교)	○ 숙성 공정 및 유통 중 안전 및 품질 관리방안 개발	- 고품질 건조숙성 우육 보급을 위한 안전 생산 관리방안 제시 - 건조 숙성 우육의 최적 숙성 후 포장 및 유통 조건 (포장방법, 유통온도 등) 제시
	위탁 연구기관 (숙명여대)	○ 숙성 식육의 위해 요소 전문 관리 방안 설정	- 위해요소 제어 및 관리를 위한 가이드라인 설정

2. 연구수행 내용 및 결과

2-1. 연구개발 추진전략



○ 연구개발의 추진 전략

- (주)감성고기: 온도와 습도 및 숙성기간을 고려하여 식육의 부위별 최적 숙성 조건을 설정하고, 최종적으로 저 등급, 저지방 식육용 심층 숙성 전문 공정을 개발함
- 서울대학교: 숙성 관련 품질인자를 분석하고 지표를 개발하여 유통 관리 방안을 제시함
- 숙명여자대학교 : 숙성 시너지스트를 분리 동정하고 위해 요인 관리기술을 개발하여 안전한 숙성 우육 생산 매뉴얼을 제시함
- 본 연구팀은 고품질 숙성 우육 생산을 위하여 제1세부의 건조 숙성 우육 생산 및 유통 기술과 제1협동의 식육품질 및 관리, 위탁연구기관의 미생물 및 안전성 관련 전문성을 유기적으로 결합시켜 1) 저 등급, 저 지방 식육부위 활용 우수 품미 숙성 우육 제조를 위한 최적화 전문공정을 개발하고 2) 식육 숙성 공정의 과학화 및 안전 유통 관리기술을 개발할 것임.

○ 연구 추진방법

- 문헌조사 : 국내외 논문 및 학술발표 자료·타 연구개발 자료들을 이용하여 수집한 후 세부·협동·위탁 연구기관의 기초 연구 자료로 활용함
- 기술정보 : (주)감성고기 및 동종업계에서 실시하고 있는 다양한 숙성 방법들을 활용하여 수집
- 본 과제에 참여하는 기관 뿐만 아니라 기타 산업계 및 학계에서 숙성기술 전문가·식육 품질 전문가·미생물 전문가의 자문을 구할 예정

- 각 기관의 유기적인 협력을 통하여 저 등급, 저지방 부위 활용 고부가가치 건식 숙성 우육 생산 및 유통 관리 기술 개발

2-2. 연구개발 추진체계

- 주관연구기관인 (주)감성고기는 숙성 우육의 제품개발, 제조, 가공, 유통(온라인 및 오프라인) 및 판매(레스토랑, 외식)까지 연구책임자의 의지를 가지고 연구를 진행할 수 있음.
- 주관연구기관의 자문기관인 (주)한국 E&C는 전문 숙성용 냉장설비 개발과 전문 공정 개발에 전문가로 자문하여 연구의 완성도를 높일 수 있음.
- 제1협동기관은 식육 품질 전문으로 고(1++) 등급 우육과 건식 숙성육의 품질인자 비교를 통한 지표인자를 개발하고 공정에 적용함.
- 위탁기관은 전문성을 살려 심층 숙성기술에 중심이 되는 시너지스트 개발과 위해 요인 분석 및 제어 방법을 연구하여 건식 숙성육의 안전관리 방안을 제시할 것임.



2-3. 연구개발 추진일정

1차년도																
일련 번호	연구내용	월별 추진 일정												연구 개발비 (단위: 천원)	책임자 (소속 기관)	
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12			
1	부위별 적정 숙성 조건 조사														79,000	주관-정건호 ((주)감성고기)
2	우육의 부위별 특성 조사															주관-정건호 ((주)감성고기)
3	적정 숙성 조건 설정															주관-정건호 ((주)감성고기)
4	숙성 우육의 숙성 조건별 관능 및 품질인자 특성 분석														33,000	협동-조철훈 (서울대학교)
5	숙성 미생물 분리, 동정 및 안전성 검사														12,000	위탁-윤요한 (숙명여자 대학교)
2차년도																
1	저 이용 우육을 활용한 최적 숙성조건 확립														154,000	주관-정건호 ((주)감성고기)
2	시너지스트를 통한 심층 숙성기술 개발															주관-정건호 ((주)감성고기)
3	고 등급(1++)과 시너지스트 적용 저등급 건식 숙성육의 품질인자 비교 분석														78,000	협동-조철훈 (서울대학교)
4	우육 숙성도 확인을 위한 품질 지표인자 개발															협동-조철훈 (서울대학교)
5	시너지스트 활용 조건 확립														22,000	위탁-윤요한 (숙명여자 대학교)
6	숙성 공정 중 위해요소 평가 및 유통기한 설정															위탁-윤요한 (숙명여자 대학교)
3차년도																
1	숙성 냉장 설비 및 전문 공정 개발														154,000	주관-정건호 ((주)감성고기)
2	전문공정 적용, 유통 및 소비자 반응 조사를 통한 산업화															주관-정건호 ((주)감성고기)
3	고품질 건조숙성 우육 보급을 위한 안전생산 관리방안 제시														78,000	협동-조철훈 (서울대학교)
4	건조 숙성 우육의 최적 숙성 후 포장 및 유통 조건 제시															협동-조철훈 (서울대학교)
5	위해요소 제어 및 관리를 위한 가이드라인 설정														22,000	위탁-윤요한 (숙명여자 대학교)

2-4. 연구방법 및 결과

▶ 주관연구기관((주)감성고기)

< 1차년도 >

(1) 숙성방법, 품종, 성별, 등급, 부위 등에 따른 숙성 기술 조사

○ 숙성방법 조사

- 숙성방법에는 건식숙성 및 습식숙성 두 종류가 있음. 이 중 건식숙성육은 숙성기간 동안 포장 없이(또는 수분의 투과가 가능한 특수 백 이용) 식육을 외부에 노출하여 숙성하는 방법으로 숙성 중 발생하는 수분의 증발과 진한 풍미 등이 특징임. 반면 습식숙성육의 경우 진공포장하여 숙성하는 방법으로 건식숙성육에 비해 간편하고 수율이 높은 게 장점임. 숙성기간동안 식육은 숙성방법에 따라서 다음 표 1과 같은 특징을 가짐(Khan 등, 2016).

표 1. 건식숙성 및 습식숙성 특징 비교

	건식숙성	습식숙성
연도	증진	증진
풍미	증진	거의 변화없음
수율	낮음	높음
비용	높음	약간 높음

(Khan 등, 2016)

- 건식숙성 시 식육의 농축된 풍미는 숙성기간동안 건조됨에 따라 풍미 관련 물질들이 농축되어 나타나며 beefy, buttery rich, nutty 등의 풍미를 가지고 있다고 보고되고 있음(Dashdorj 등, 2016).
- Kim 등(2016)은 습식숙성육 및 건식숙성육 내 물질을 비교한 결과 tryptophan, phenylalanine, valine, tyrosine, glutamate, isoleucine 및 leucine 등이 건식숙성육에 더 풍부하였다고 보고하였으며 이는 숙성 중 건조에 따라서 식육 내 물질이 농축된 것임.
- 축산물품질평가원 연구보고서(2016)에 따르면 보섭, 우둔, 채끝 세 부위를 이용하여 건식숙성 시 valine, tyrosine, isoleucine, leucine, proline, lysine 함량이 세 부위 모두 습식숙성육에 비해 높았던 것으로 보고하고 있음.
- 현재 습식숙성 또는 건식숙성 시 숙성방법간 식육 연도의 차이는 미미한 것으로 보고되고 있음. 단, 건식숙성 중 표면 곰팡이 종류와 곰팡이의 효소의 활성화에 따라서 건식숙성육의 연도 및 풍미가 영향을 받을 수 있음(Dashdorj 등, 2016).
- 곰팡이에 의한 건식숙성육 연도의 변화는 곰팡이의 효소의 proteolytic 또는 collagenolytic activity 때문인 것으로 보고되고 있고 일부 건식숙성전문업체에서 건식숙성 시 곰팡이를 활용하려 하고있음. 단, 이는 곰팡이 독성에 대한 안전확보가 우선되어야 함.
- 건식숙성 시 숙성에 영향을 미치는 주요 요소로는 숙성기간, 온도, 습도, 풍속 등이 있음

(Dashdorj 등, 2016).

- 숙성기간: 숙성기간은 건식숙성에 대한 기호도에 따라서 달라질 수 있음. 일반적으로는 28-55일을 권장하고 있음.
- 온도: 숙성의 속도에 영향을 줄 수 있는 요소로서 0-4도를 권장하고 있음. 숙성기간 중 온도의 안정성(temperature stability)이 굉장히 중요함.
- 습도: 습도는 건식숙성 중 식육의 건조에 가장 많은 영향을 미치는 요소로서 미생물 성장 및 수율에 영향을 줌. 관련 연구가 부족한 편이지만 평균 75-85%를 권장함.
- 풍속: 풍속 또한 식육의 건조에 주요한 역할을 수행함. 0.5-2 m/s를 권장하고 있음.

○ 품종, 성별, 등급, 부위 등에 따른 숙성 기술 조사

- 기존 건식숙성육은 주로 USDA prime, choice 급의 고등급, 고지방 우육에 적용하여 이용되었으나(Dashdorj 등, 2016) 최근 저지방 우육에 적용하는 사례들이 점차 늘고 있음.
- 지방의 함량이 적어 연도가 비교적 낮은 저등급, 저지방 우육(Lepper-Blilie 등, 2016)의 경우 알맞은 숙성방법의 적용이 중요함.
- Lee 등(2015)은 2등급 채끝을 건식숙성하여 1+등급 채끝과 비교하였으며 그 결과, 저등급 우육에 건식숙성 방법을 적용 시 식육 내 단백질 함량이 높아 영양적 품질이 증가했을 뿐 아니라 관능적 품질 또한 개선되어 1+ 채끝과 비슷한 관능적 특성을 가짐을 보고하였음.
- Lepper-Blilie 등(2016)은 저등급, 저지방(IMF 3.5-5%) 우육에 건식숙성법을 적용하여 숙성 후 연도와 풍미(aged-beef flavor)를 개선하였음.
- 최근 건식숙성 시 저지방, 비선호 부위인 우둔 및 보섭의 활용이 권장된 바 있음(축산물 품질평가원, 2016). 우둔 및 보섭을 건식숙성 시 숙성 후 식육의 기호도 개선 뿐 아니라 기존 채끝보다 우수한 수율을 보였음.

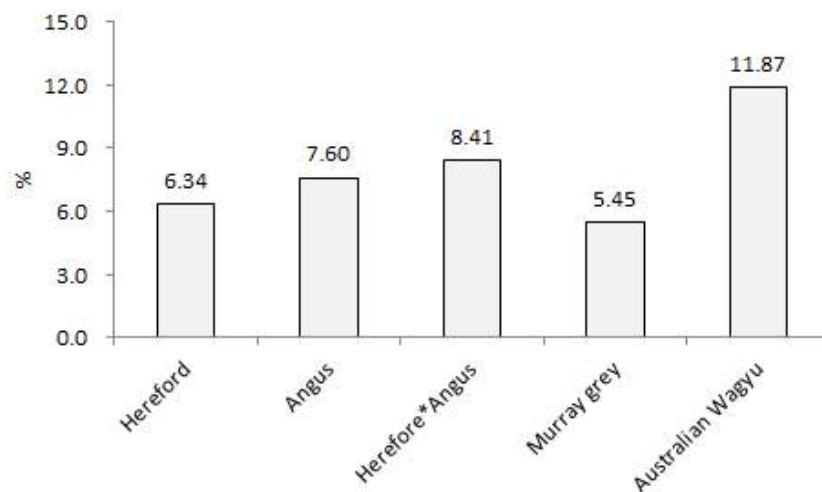


그림 1. 국내에서 비육한 수입 생우 및 호주산 외규 채끝육의 지방 함량(%)

(Lee 등, 2009; Park 등, 2002)

- 근육 내 지방 함량 및 muscle fiber type 등은 품종, 성별 등에 따라 영향을 받으며(Lee 등, 2009; Joo 등, 2013; Park 등, 2002)(그림 1) 이에 따라 식육의 품질이 달라질 수

있으나 이러한 차이는 숙성을 통하여 일부 개선할 수 있음(Monson 등, 2004).

- 각 부위별 특성에 따라서 숙성의 효과가 달라질 수 있으므로(Jung 등, 2016) 부위별로 최적 숙성조건 확립이 필요할 것으로 사료됨.
- 축산물품질평가원(2016)은 건식숙성 시 우육의 부위별 특성에 따라서 적정 숙성기간 등이 다르며 숙성 후 식육 내 풍미, 기호도에 주는 영향 또한 다르다고 보고하고 있음(표 2).

표 2. 부위별, 숙성기간별 품질특성 비교

부위	건식 숙성기간	풍미	기호도	건식 수율	안전성	일반육 대비 가격비율
채끝	21일	○	○	△	○	△
	28일	○	○	△	○	△
	35일	◎	○	△	○	△
보섭	21일	○	△	○	○	○
	28일	○	○	△	○	△
	35일	◎	○	△	○	△
우둔	21일	○	△	○	○	○
	28일	○	△	○	○	○
	35일	○	△	△	○	△

* ◎ 매우 좋음, ○ 좋음, △보통, △ 나쁨

(축산물품질평가원, 2016)

- 그 외 건식숙성육을 부위별로 적용한 연구는 현재까지 제한적인 편이지만 부위별 특성에 따른 숙성 조건의 차이는 기존 습식숙성 연구를 통하여 여러 차례 밝혀진 바 있음.

(2) 우육의 부위별 특성 조사

○ 쇠고기 부위별 명칭 및 용도

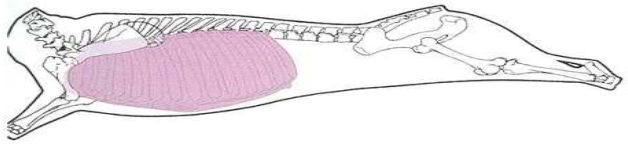
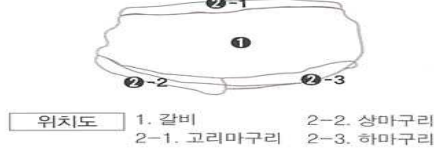
대분할부위명	목심(Neck)		정육율 : 4.13%, 정육량 : 14.5kg
부위위치 : 제1~제7목뼈(경추)부위의 근육들로서 앞다리와 양지부위를 제외함			
소분할 부위명	①목심살 ②제비추리 ③멍에살	목심에서 위 뒤쪽의 멩에살과 아래쪽에 제비추리를 제외한 목심 목심의 하단부위, 경추골의 아래 부분에 위치한 살 멍에를 거는 목덜미살로 매우 질긴 살	불고기 국거리 다짐육
특징 : 운동량이 많은 부위로서 결이 거칠어 고기는 다소 질기며 육색은 짙음			

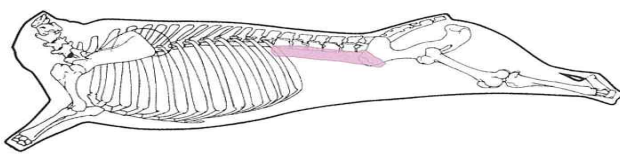
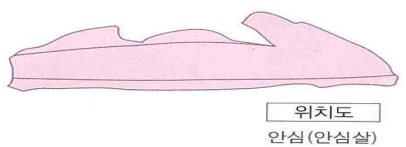
대분할부위명	앞다리(Blade/Cold)	정육율: 7.21%, 정육량 25.2kg
부위위치 : 소의 앞다리를 감싸고 있는 근육으로서 사태를 제외한 부위		
소분할 부위명	①앞다리살 소의 앞다리를 이루는 살 ②꾸리살 견갑골 앞쪽(목방향)을 덮고 있는 살 ③부채살 꾸리살 뒤쪽으로 부채뼈를 덮고 있는 부채 모양의 살 ④갈비덧살 ⑤부채덧개살 앞다리 분리 시 갈비부위와 분리된 살	불고기 국거리 육회 조림 전골
특징 : 운동량이 많은 근육들이 모여 있기 때문에 다른 부위와 비교하여 고기결은 거칠고, 육색은 약간 질고 근내지방 침착도 낮음		

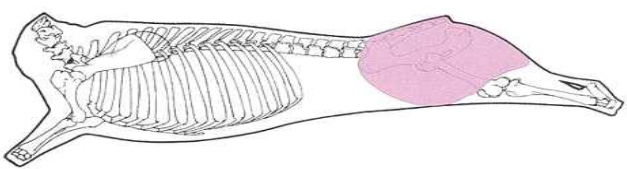

대분할부위명	등심(Loin)	정육율 10.32%, 정육량 36.1kg
부위위치 : 가슴등뼈를 중심으로 양쪽에 길게 붙어 있는 두체의 살덩이		
소분할 부위명	①윗등심살 6번째와 7번째 흉추골 사이를 절단한 등심의 앞부분 ②아래등심살 6번째 7번째 흉추골 사이를 절단한 등심의 뒷부분 ③꽃등심살 등심 가운데에 길게 형성된 근내지방이 잘 형성된 살코기 ④살치살 앞다리 어깨부위 밑에 있는 삼각형 살	구이 스테이크 스키야끼 샤브샤브
특징 : 근육 내에 지방이 대리석상으로 박혀 있어 부드럽고 풍미가 좋음		

대분할부위명	채끝(Strip Loin)	정육율 2.35%, 정육량 8.2kg
부위위치 : 등심의 연장선에 있는, 요추골 양쪽 외측을 감싸고 있는 장방형의 등심살(등심 한 채의 끝 부분)		
소분할 부위명	①채끝살 등심에서 연결된 허리부위로 허리등뼈 양쪽 외측을 감싸고 있음	구이, 스테이크 전골, 샤브샤브

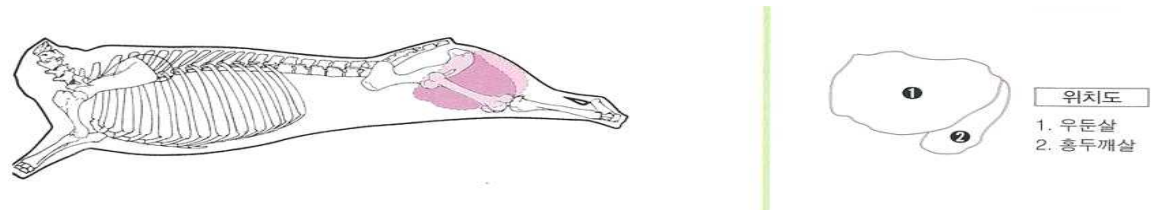
특징 : 동일한 개체 내에서 등심보다는 근내지방 침착이 상대적으로 낮지만 오히려 등심보다 더 연함

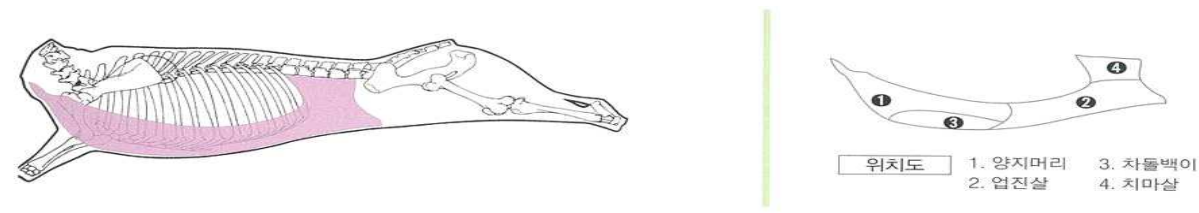
대분할부위명	갈비(Rib)	정육율 13.9%, 정육량 48.7kg	
			
부위위치 : 소의 1번-13번 갈비뼈(늑골)와 이를 덮고 있는 살을 총칭			
소분할 부위명	①본갈비 ②꽃갈비 ③참갈비 ④갈비살 ⑤마구리 ⑥안창살 ⑦토시살 ⑧제비추리	대분할 갈비에서 마구리를 제거한 가운데 살집이 많은 부분의 갈비 대부분 갈비의 상단 및 하단 부위 소의 횡격막(가로막살) 토시 모양의 만화(지라와 이자)에 붙은 고기 갈비 안쪽에 붙은 이 고기를 손으로 자바 추리는 데서 유래	구이 탕 찜갈비
특징 : 근내지방 침착이 뛰어나며, 근육조직과 지방조직이 층을 형성하여 갈비뼈와 함께 요리 시 풍미 높음			

대분할부위명	안심(Tender-Loin)	정육율 1.81%, 정육량 6.3kg	
			
부위위치 : 복강 안쪽 요추골 아래 양쪽에 위치, 치골하부에서 제1요추골까지 이어짐			
소분할 부위명	안심살	요추를 따라 가로돌기 안쪽에 자리잡고 있는 가늘고 긴 원통형의 막대모양	스테이크 구이, 샤브샤브, 전골
특징 : 운동량이 거의 없는 부위로서 결이 비단과 같이 곱고 부드러움			

대분할부위명	설도(Butt&Rump)	정육율 9.63%, 정육량 33.7kg
		

부위위치 : 소의 뒷다리 중 넓적다리 바깥쪽 궁둥이 살			
소분할 부위명	①보섭살 ②설깃살 ③설깃머리살 ④도가니살 ⑤삼각살	농기구 보습의 형태를 가진 살 소의 뒤 바깥쪽 엉덩이를 이루는 살 도가니 모양의 살	산적, 불고기 장조림, 육회 육포, 국거리 전골, 잡채
특징 : 부위에 따른 육질차가 크지만 고기질은 우둔과 유사하며 풍미가 좋아 스테이크로도 이용			

대분할부위명	우둔(Topside/Inside)	정육율 6.09%, 정육량 21.3kg	
			
부위위치 : 소의 뒷다리에서 넓적다리 안쪽으로 위치하며, 외측면에 지방으로 덮여있고, 근육내에 지방 침착이 적으며 고기의 결이 약간 굵은 편이나 근육막이 적고 연한 편이다.			
소분할 부위명	①우둔살 ②홍두깨살	소의 뒷다리 안쪽(엉덩이 안쪽)살 소의 불기에 붙어 있는 홍두깨 방망이 모양의 살	산적, 장조림 육회, 불고기 국거리
특징 : 육질은 부드러운 부분과 질긴 부분으로 나누어지며 연하고 맛이 좋음			

대분할부위명	양지(Brisket&Flank)	정육율 10.62%, 정육량 37.2kg	
			
부위위치 : 목심 아래와 앞가슴부터 허리아래 배부위 뺏살			
소분할 부위명	①양지머리살 ②차돌박이 ③엽진이살 ④치마양지 ⑤치마살	목심의 아래와 갈비 아래 가슴살로 차돌박이를 분리한 살 양지머리뼈의 복판에 붙은 회고 단단한 기름진 고기 양지머리에서 배 쪽으로 이어지는 복부 양지 채끝 아래에 타원형의 얇은 근육으로 정형 후 주름치마 모양의 살	국거리 구이 육개장 탕

⑥앞치마살
특징 : 겉과 속면 사이에 지방과 근막이 풍부하게 끼어 있으며, 결합조직이 많아 질기지만 구수한 육수 맛을 냄

대분할부위명	사태(Shin/Shank)	정육율 4.44%, 정육량 15.5kg
부위위치 : 앞다리의 전완골과 뒷다리의 하퇴골을 감싸고 있는 작은 근육들로 근막이 잘 발달된 다발모양의 고기		
소분할부위명	①앞사태 앞다리 전완골을 감싸는 살 ②뒷사태 뒷다리 하퇴골을 감싸는 살 ③멩치사태 무릎관절을 감싸는 근육 ④아롱사태 멩치사태 안쪽 가운데 있음 ⑤상박살 상완근을 앞사태에서 분리 정형한것	장조림 찜 탕
특징 : 운동량이 많고 결합조직이 많아 질기나 장시간 조리하는 요리에 적합하다		

그림 2. 쇠고기 부위별 명칭 및 용도

(축산물품질평가원)

- 쇠고기 부위 중 대표적인 저지방, 비선호 부위로는 설도/보섭, 우둔 등이 있다. 단, 우둔은 스테이크 용도보다 산적, 장조림 등의 용도로서 주로 이용되고 있고 등심 및 설도/보섭 등이 주로 스테이크 용도로서 이용되고 있다(그림 2).
- 등심 및 설도/보섭 등은 식육의 풍미가 좋아 스테이크 용도로 적합함.

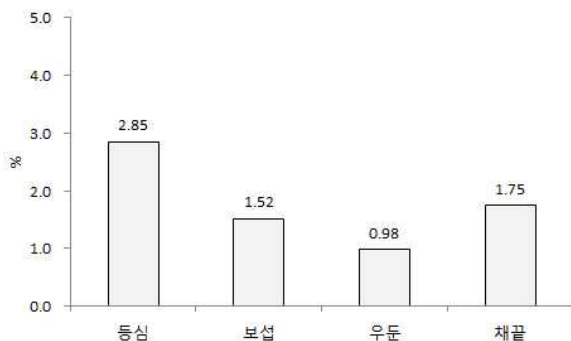


그림 3. 한우수소의 부위별 지방 함량(%)

(Cho 등, 2007)

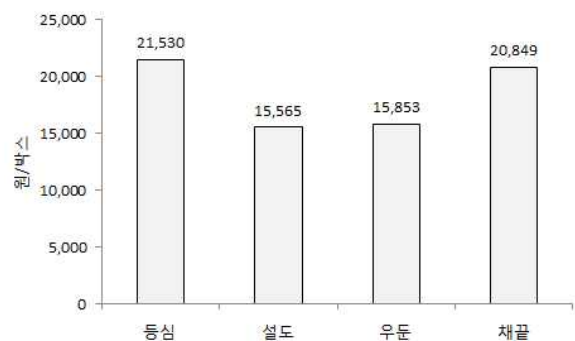


그림 4. 3등급 우육의 부위별 가격 비교

(축산종합정보유통센터)

- 3등급 우육을 기준으로 볼 때 등심의 가격은 설도에 비해서 약 1.38배 더 높음. 지방 함량 또한 설도보다 약 1.88배 가량 높은 고지방 부위임(그림 3-4).

- 보섭을 건식숙성에 적용 시 수율이 다른 부위에 비해서 비교적 높은 것으로 보고된 바 있어(축산물품질평가원, 2016) 실제 활용 시 다른 부위보다 경제성이 좀 더 클 것으로 예상됨.

(3) 적정 숙성 조건 설정

- 숙성기간 28일, 온도 0-4°C, 습도 75% 수준의 환경을 권장함.
- 건식숙성 시 풍속의 적용을 권장함.
- 본 실험 결과, 풍속의 유무도 건식숙성육 풍미에 영향을 미치는데 풍속을 제한한 0 m/s 처리군의 경우 건식숙성 향 및 풍미, 소비자 기호도 등이 다른 풍속 처리군에 비해 낮은 경향을 보였음.
- 이는 숙성과정 중 성장한 곰팡이 및 효모, 세균 분포 차이에 기인한 것으로 사료됨. 0 m/s의 경우 건식숙성 중 성장한 세균의 종류가 2.5, 5 m/s 처리군과 달랐으며, 효모의 생장은 발견되지 않음.
- 건식숙성 5 m/s 처리군이 건식숙성육 향 및 풍미의 발현에 가장 효과적일 것으로 사료됨.
- 관능평가 및 풍미 관련 물질의 함량을 고려 시 건식숙성 5 m/s 처리군이 가장 강한 건식숙성육 향과 풍미를 가지는 것으로 확인되었음.
- 소비자 기호도 또한 5 m/s에서 가장 높은 결과를 보였음.
- 시너지스트 활용을 권장함.
- 본 연구를 통하여 발견한 *Pilaira anomala* (KCTC 18517P) 및 *Debaryomyces* 등이 건식숙성 시 시너지스트로 활용이 가능함.

표 3. 건식숙성 시 풍속별 미생물 분포 및 육질 특성(요약)*

	Dry 0 m/s	Dry 2.5 m/s	Dry 5 m/s
곰팡이	99.8%	81.0%	86.0%
효모	0.2%	18.6%	14.0%
<i>Lactobacillus</i>	0.9%	4.3%	6.5%
<i>Pseudomonas</i>	91.4%	69.5%	70.1%
Enterobacterium	6.1%	5.0%	1.8%
Flavobacterium	0.2%	1.7%	4.9%
건식숙성 향	△	○	◎
건식숙성 풍미	△	○	◎
소비자 기호도	○	◎	◎
환원당	○	○	◎
유리아미노산	△	○	◎
Inosine monophosphate	△	○	△
연도	◎	○	○

* 위 결과는 대략적 요약으로 이 외 부위별 차이가 추가로 존재함.

< 2차년도 >

① 연구내용 및 방법

(1) 저 등급, 저 지방 부위를 활용한 최적 숙성조건(온도, 습도, 풍속) 확립

- 조사방법

- 기존 문헌들을 이용하여 건식숙성 시 최적 숙성조건을 조사하였음.

- 립프 스테이크 제조

- 도축 후 3등급 육우를 구매하여 저 지방 부위인 립프 스테이크를 제조하였음. 건식숙성 시 환경조건은 온도 $2\pm 1^{\circ}\text{C}$, 습도 $80\pm 5\%$, 풍속 2.5-5 m/s으로 유지되었음.

- 관능평가

- 소비자 기호도법을 이용해 건식숙성 전·후 관능적 차이를 평가하였다. 식육 관능검사에 경험이 있는 패널 10명을 선발하였으며, 일정한 크기 ($2 \times 4 \text{ cm}^2$)로 세절하여 준비한 시료를 육 내 심부 온도가 72°C 에 도달될 때까지 조리한 다음 각 패널에게 제시하였음. 관능평가는 총 3회 실시되었으며, 9점 척도법을 이용하여 연도 및 풍미를 평가하였음.

(2) 시너지스트 접종법 개발을 통한 심층 숙성 기술 개발

○ 시너지스트 선정

- 미생물 시너지스트 분리 및 선정

- 세균의 성장을 억제하기 위해 10% tartaric acid를 첨가한 PDA배지를 제조하여 곰팡이 분리 시험에 사용하였음.
- 무균상태에서 해부현미경을 이용하여 크러스트 표면의 곰팡이 균사체를 관찰하였고, 바늘을 이용하여 균사체의 일부를 각각 PDA배지에 접종하여 20°C 에서 7일 배양한 후 성장한 곰팡이를 분리하였음.
- 1차적으로 분리된 곰팡이를 순수분리하기 위하여 새로운 PDA배지 중심부에 바늘을 이용하여 단포자를 접종하여 곰팡이를 분리 배양하였음.
- 순수 분리된 미생물에 대하여 육안을 통해 형태학 특성을 확인하여 분리하였고, 미생물 동정은 18S rDNA ITS(Internal Transcribed Space)의 염기서열 분석으로 하였으며 분석은 (주)마크로젠(Daejeon, Korea)에 의뢰하였음.
- PCR 분석을 위한 primer는 진균의 염기보존 서열인 18s rDNA를 증폭하기 위하여 NS1 5' (GTA GTC ATA TGC TTG TCT C) 3'와 NS24 5' (AAA CCT TGT TAC GAC TTT TA) 3'를 사용하였음.
- PCR 반응물의 조성은 $10\times$ reaction buffer 3 μl , 10 mM dNTP 1 μl , $5\times$ Band doctor 1 μl , 10 pmol primer 각 1 μl , template DNA 1 μl (fungal genomic DNA 25 ng/ μl), 3차 멸균 증류수 21.5 μl , 25 U EF-Taq Polymerase 0.2 μl (Solgent, Seoul, Korea)를 첨가하여 총 30 μl 의 반응물을 만든 후 반응시켰음.
- 반응 조건은 초기 변성(initial denaturation)은 95°C 에서 2분 실시하였고, 변성(denaturation)은 95°C 에서 1분, 가열냉각(annealing)은 55°C 에서 1분, 증폭(extention)은 72°C 에서 1분으로 35회 반복하였으며, 마지막으로 72°C 에서 10분 동안 증폭 한 후 4°C 에서 보관하였음.
- 증폭된 PCR 반응 산물은 1% agarose gel 상에서 전기영동으로 확인하였고 multiscreeen filter plate를 이용하여 PCR 반응 산물을 정제하였음(Millipore Corp, Burlington, Massachusetts, USA). 정제된 PCR산물을 대상으로 PRISM BigDye Terminator v3.1 Cycle sequencing Kit을

이용하여 Direct PCR sequencing reaction을 행하였음.

- 증폭된 DNA sample에 Hi-Di formamide (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA)를 첨가하였으며, 첨가된 산물은 95°C에서 5분 간 반응시킨 후 다시 얼음에서 5분 간 반응시켜 ABI Prism 3730XL DNA analyzer(Applied Biosystems, Foster City, CA, USA)를 이용하여 분석하였음.

○ 방치, 분무, 침지 등 시너지스트의 효율적 활용법 조사

- 조사방법

- 기존 문헌들을 이용하여 건조발효육제품 제조 사례를 조사한 후 해당 제품 제조 시 이용한 start culture 접종방법을 알아보았음.

② 연구결과

(1) 저 등급, 저 지방 부위를 활용한 최적 숙성조건(온도, 습도, 풍속) 확립

표 4. 건식숙성 시 적정 숙성 조건(권장)

숙성기간	28일
온도	0-4도
습도	75%
풍속	5 m/s
시너지스트	<i>Pilaira anomala</i> 및 <i>Debaryomyces</i>

- 숙성기간 28일, 온도 0-4도, 습도 75% 수준의 환경을 권장함(표4).

- 숙성기간: 숙성기간은 건식숙성에 대한 기호도에 따라서 달라질 수 있음. 일반적으로는 28-55일을 권장하고 있음.
- 온도: 숙성의 속도에 영향을 줄 수 있는 요소로서 0-4도를 권장하고 있음. 숙성기간 중 온도의 안정성(temperature stability)이 굉장히 중요함.
- 습도: 습도는 건식숙성 중 식육의 건조에 가장 많은 영향을 미치는 요소로서 미생물 성장 및 수율에 영향을 줌. 관련 연구가 부족한 편이지만 평균 75-85%를 권장함.
- 풍속: 풍속 또한 식육의 건조에 주요한 역할을 수행함. 0.5-2 m/s를 권장하고 있음.

- 상기 조건을 통하여 림프 스테이크를 제조하였음.

• 0일차

: 도축 후 신선한 정육 상태이며, 냉장상태에서 숙성을 시작함. 냉동상태의 정육을 숙성 시 수분의 감소가 심해 숙성에 실패할 수 있음. 보섭살을 건식숙성을 위해 S고리에 걸어서 현수 숙성을 함. 수시로 숙성육이 골고루 바람에 노출 될 수 있도록 좌우앞뒤 위치를 바꿔줌.

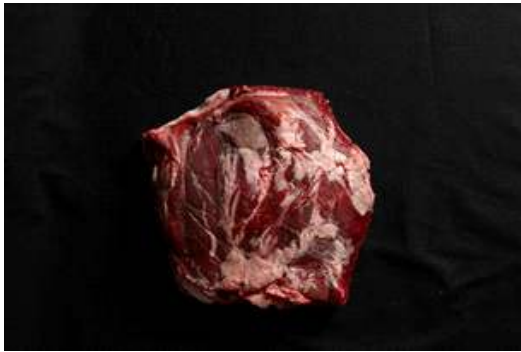


건식숙성 전 보섭살 앞면

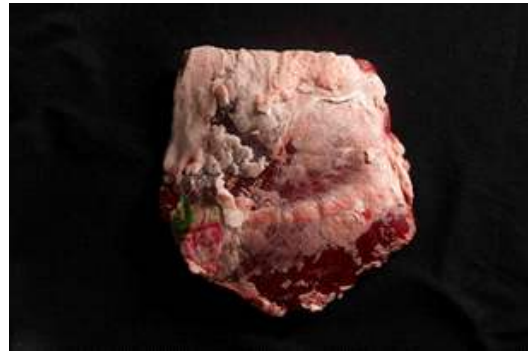


건식숙성 전 보섭살 뒷면

- 7일차(부위별 중량 및 중량 감소율 - 3.48 kg, 전주 대비 4.9% 감소)
: 질은 적갈색으로 변하기 시작하나 겉표면의 건조상태는 큰 차이가 없었음. 숙성은 첫 주가 가장 중요하니 이때 많은 관찰로 숙성육과 숙성실의 상태를 점검 및 조절해야함. 이 기간 중 정육 표면이 너무 건조하다면 습도는 높이고 바람의 세기는 줄여주어야 함. 겉표면이 검붉게 변하거나 짓무르는 현상이 있다면 너무 습한 상태이므로 숙성실을 건조하게 유지하여야 함. 육향을 맡아보면 다른 부위에 비해 강한 블루치즈향이 남.



건식숙성 7일 후 보섭살 앞면



건식숙성 7일 후 보섭살 뒷면

- 14일차(부위별 중량 및 중량 감소율 - 3.27 kg, 전주 대비 5.8% 감소, 총 10.4% 감소) 하얀 효모가 발생하기 시작함.



건식숙성 14일 후 보섭살 앞면



건식숙성 14일 후 보섭살 뒷면

- 21일차(부위별 중량 및 중량 감소율 - 3.06 kg, 전주 대비 6.6%, 총 16.1% 감소)
: 수율보다는 보섭살 특유의 풍미가 질을수록 좋기 때문에 풍속을 줄이지 않고 기간을 28일
까지로 함. 하얀 효모가 많이 자라서 정육의 겉면을 전체적으로 감싸고 있음. 풍미가 시작
되는 시점으로 보면 됨. 전 주 대비 많이 건조된 상태이며 손으로 눌렀을 때 겉면은 건조
하나 안쪽은 탱탱한 느낌이 있음.



건식숙성 21일 후 보섭살 앞면



건식숙성 21일 후 보섭살 뒷면

- 28일차(부위별 중량 및 중량 감소율 - 2.89kg, 전주 대비 5.5%, 총 20.8% 감소)
: 28일의 건식숙성 결과, 맛과 연도의 완성도가 매우 높은 보섭살은 숙성취(향)가 가장 강
하며, 육색도 가장 짙음. 수분의 손실이 많아 중량 감소량이 큼. 대부분할 설도 부위의 소분할
부위 중 설깃살, 설깃머리살, 도가니살, 삼각살도 있으나 설깃머리살의 경우 건식숙성을 하면
깊은 맛이 나는 반면 손실율이 50% 가까이 발생하여 사실상 효율적이지 못하고 다른 부위는
다소 식감이 강해서 스테이크 용보다는 습식숙성 후 불고기 용도가 적합함. 보섭살의 경우
호주나 유럽에서는 림프스테이크라고 불리우며 저지방을 선호하는 소비자들에게 요즘
평장한 인기를 얻고 있음. 국내의 저지방 소고기에 대한 해외사례 방송을 볼 때마다
빠짐없이 등장하는 부위이기도 함. 건식숙성을 한 보섭살은 숙성취가 가장 고소하고
짙으며, 식감 또한 좋음. 다이어트 또는 식이요법이 필요한 분들에게 인기가 많을 것으로
사료됨.



건식숙성 28일 후 보섭살 앞면



건식숙성 28일 후 보섭살 뒷면

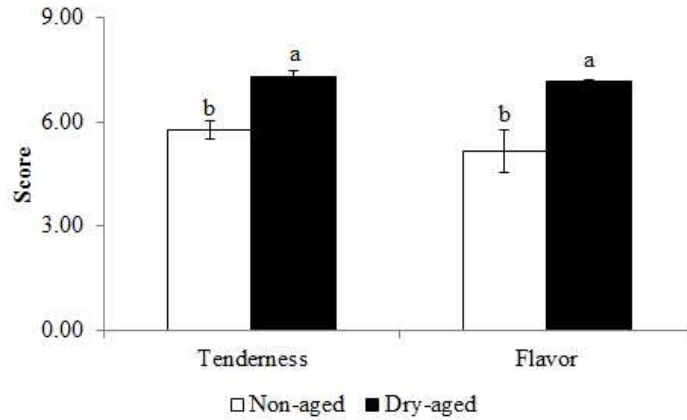


그림 5. 건식숙성 전·후 3등급 육우 보섭의 연도 및 풍미 비교

- 관능평가

- 소비자 관능평가 결과, 상기 조건으로 28일동안 건식숙성하여 림프 스테이크를 제조하였을 때 건식숙성 전 대조군에 비해 연도 및 풍미 등 관능적 품질이 유의적으로 향상되었음(그림5). 적정 조건에서 건식숙성 시 저 지방, 저 등급 부위의 관능적 품질을 개선할 수 있음이 확인됨.
- 건식숙성 후 보섭은 고소하고 짙은 숙성취가 있고 식감 또한 좋음. 단, 웰던으로 조리 시 다소 딱딱한 단점이 있어 미디움레어 정도의 조리방법이 어울림.

○ 제품화(1건)

- 제품명

림프 스테이크

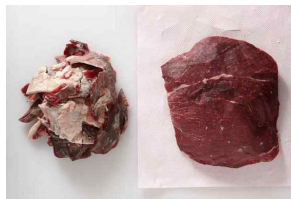
(a) 건식숙성 전



(b) 건식숙성 후



(c) 트리밍 후



(d) 제품화



그림 6. 림프 스테이크 제조

- 세부설명

채끝에 이어지는 허리아래 뒷다리 부위로 살코기만으로 이루어져 있으며 풍미가 뛰어나며 지방이 적어 뒷다리 중 최고부위로 알려짐. 현재 1등급 이상 소고기에서는 구이용으로 판매가 되고는 있으나 3등급 소고기에서는 대개 불고기용으로 쓰이며 낮은 가격에 판매되고 있음. 외국에서는 영어의 D자 형태를 하고있어 D림프로 불리우며 건식숙성을 이용하여 3등급의 보섭살을 풍미가 진하고 부드러운 스테이크로 이용할 수 있음.

- 숙성조건

품종	국내산 육우
육질등급	3등급
숙성온도	1-3도
상대습도	75-85%
풍속	2-5 m/s

(2) 시너지스트 접종법 개발을 통한 심층 숙성 기술 개발

○ 시너지스트 선정

- 곰팡이

- 사태에 배양되고 있는 곰팡이를 수집하여 PDA 배지에서 단포자를 분리하였음. 단포자 18s rRNA 분석을 통하여 *Pilaira anomala* 로 확인되었고, NCBI 검색을 통하여 IUE 573 18s ribosomal RNA gene의 partial sequence와 비교하였을 때, 96%의 일치, 2% 차이를 확인(표 5)하였음.

표 5. 사태분리 곰팡이 단포자에 대한 18s rRNA 염기순서 분석결과

Day 28_Fungi_NS1	Day 28_Fungi_NS8
AAAGCGCTACATGTAATAGTATAAAATAAATTTATATTGTGAAACTGCGAA TGGCTCATTAAATCAGTTATGATCTACGTGACATAATTTCTTTACTACTTTG GATAACCGTGGTAATTTCTAGAGCTAATACATGCAAAAAGCCCTGACTTC GGAAGGGTGCCTTATTAGATAAAGCCAACCGTGGGTAAAACAGTTTTT CCTTGGTGATTCATAATAATTTAGCGGATGCGATGGCTTGTGCTAGCGA CGGTCCACTCGATTTTCTGCCCTATCATGGTTGAGATTGTAAGATAGAGG CTTACAATGCCCTACAACGGGTAAACGGGAATTAGGGTTGATTCGGGAGA GGGAGCCTGAGAAAACGGCTACCACATCCAAGGAAGGCAGCAGCGCGCAA ATTACCAATCCCGACACGGGAGGTAGTGACAATAAATAACAATGCAGG GCCTTTAAGGCTTTCGAATTTGGAATGAGTACAATTTAAATCCCTTAACGA GGATCAATTTGGAGGCAAGTCTGGTCCAGCAGCGCCGGTAATTCAGCT CCAATAGCGTATAITAAAGTTGTTGCAGTTAAAACGTCGGTAGTCAAAT TTAGTCTTTAGCCGAAGTGGCCCTGGTCTTCATTGATCAAGCTCGTTTCTG CCGAGACTTTTTTTTGGTTATGCTATGAGTGGCTTCGGTCAATTTGTAGT CTCTAGCCAAATAATTACCATGAGCAAAATCAGAGTGTTTAAAGCAGGCTT TTAAGCTTGAATGTGTTAGCATGGAATAATGAAATATGACTTCAGTCCCT ATTTGTTGGTTTCAAGAACTAGAGTAATGATGAATAGAAAACGGTTGGGG CATTTGTATTTGGTTCGCTAGAGGTGAAATTTCTTGGATTGACCGAAGACAA ACTACTGCGAAAGCATTGACCCAGGACGTTTTCAITGATCAAGGTCTAA AGTTAAGGGATCGAAGACGATTAGATACCGTTCGTAGTCTTAAACCAAAAC TATGCCGACTAGAGATTGGCCCTGTTTATTTATGACTGGGCTCAGCATCTT AACGAAAGTAAAGTTTTTGGGTTCTGGGGGAAATATGGGAACCAAGGC TGAACCTTTAAAGGAATTTGACGGAAGGGCACCCCGGGAGTGGAGCC TGGCGCTTAATTTGGACTCAACCCAGGGGAACTCACCCAGGTCCCGAA CTTAGTTAAGGATTGGCCGAATTTGAAAGCCTCTTTCCAAAATTTCTAAGG GGGGGGGGCCATGGCCGTTCCCTTAATTCGGGGAGGGAAATTTGGTTC TGGGTTAATTTCCGAATAACAAAACGAAACCTTTATTTCTTGTCAAATTA GCCAGTTCTAAA	CAGACGAATGACCTTAGATTTGGCATAGTTCTCTGCAGGAAAGACTGTT GCCAGTCTAATCTACTGATCCCATATGCTCACTATAACCAATTCGAATCGG TAGTAGCGACCGGGGGTGTGTACAAAGGCAGGGACGTAATCAACGCAAG CTGATGACTTTGGCTTACTAGGAATTTCTCGTTGAAGACCAATAATTACA ATGCTCTATCCCGACGATGAAATTTCAAAGTTTACCCAGACCTTCC GGCAAGGTTATAAACTCGCTGATTTTCATCAGTGTAGCGCGGTTGGGCC CAGAACATCTAAGGGCATCACAGACCTGTTATTTGCCATAAACTTCCCTCG GCTTGAAGCCGATAGTCTCTCTAAGAAGCCAGATTTATAAATAAATTAAT CAACTAAAAAGTTGACCTGCCTATTTAGCAGAATAAGGTTCTGTTTGGTTA TGGGAATTAACCAGACAAATCACTCCAGAACTAAGAACGGCCATGCACC ACCACCCATAGAATCTAGAAAGAGCTTTCAATCTGTCAATCTTACTATG TCTGGACCTGGTGGTTCGCCCTTCGGTCAATTCCTTTAAGTTTCAGCCCTGCGT CCCATACTCCCCCAGAACCCAAAACCTTTACTTTCCGCTAAGATGCTGAG CCAGTCATAATAAACAGGCCAATCTCTAGTCCGGCATAGTTTGTGGTTAA GACTACGACGGTATCTAATCGTCTTCGATCCCTTAACTTTAGACCTTGAT CAATGAAAACGTTCTGGGTCAAATGCTTTTCGAGTAGTTTGTCTTGGTTC AATCCAAGAATTTCACTCTAGCGACCAAAATACAAATGCCCCAACCGTT TCTATTTCAATTTACTCTAGTTTCTGAAACCAACGAAATAGGGACTGAAGT CATATTTCAATTTCCATGCTAACACATTTCAAGCTTAAAAGCCTGCTTTA AACACTCTGATTTGCTCATGGTAATTTATTTGGCTAGAGACTACAATGAC CGAAGCCACTCATAGCATAAACAAAAAAGTCTCGGCAGAAACAGGCT TGATCAATGAAGACAGGCCACTTCCGCTAAAGACTAAAATTTGACTACG GACGTTTTAACTGCAACAACCTTTAATATACGCTATTGGAAGTGAATTTAC CGCGCTGCTGGCACAGACTTTGCCCTCAATTTGATCTCGTTAAGGGAT TTAAATTTGGACCTTTTCAATTTGAAAAACCTTAAAGGCCCTGCATTTGTTA TTTATTTGGCCCAACTTCCCGGTGCCGAATGGGGAATTTGGCGCCC GGCGCCCTTCTTGGAAATTTGGAAACCGTTTTTTCAGGGCCTCTTCCGGA

Range 1: 25 to 1331 GenBank Graphics					ATAGAACCTCATTCG				
Score	Expect	Identities	Gaps	Strand	Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
2139 bits(1158)	0.0	1285/1340(96%)	33/1340(2%)	Plus/Plus	2388 bits(1293)	0.0	1368/1403(98%)	9/1403(0%)	Plus/Minus

(EU595658.1)
Pilaira anomala strain IUE 573 18S ribosomal RNA gene, partial sequence와 비교하였을 때, 96% 일치하고 2%의 차이를 나타내었음.

Range 1: 335 to 1731 GenBank Graphics				
Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
2388 bits(1293)	0.0	1368/1403(98%)	9/1403(0%)	Plus/Minus

(EU595658.1)
Pilaira anomala strain IUE 573 18S ribosomal RNA gene, partial sequence와 비교하였을 때, 98% 일치하였음.

- *Pilaira anomala*는 단일 또는 가지가 있는 포자낭병(sporangiophore)을 형성함. 접합균류의 균사는 세포를 구분하고 있는 격벽(septa)이 없는 것이 특징임. 수직으로 솟아있는 포자낭병 끝에는 포자낭이 달려 있으며, 성숙한 포자는 포자낭 밖으로 나와 퍼지게 됨(그림 6).

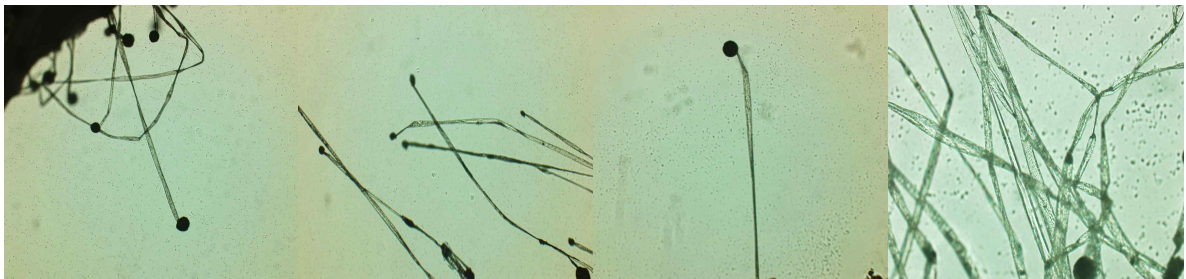


그림 6. *Pilaira anomala*의 형태학적 특성

- 효소 활성 확인을 위하여 skim milk를 혼합한 PDA 배지에 *Pilaira anomala*를 배양하였음. 배양 결과, 배양액을 접종한 부위 주변에 투명한 환을 형성하여 skim milk로 인한 단백질을 분해하는 단백질 분해능(protease)을 확인하였음. 이 단백질 분해능에 의해 숙성기간 동안 건식숙성육 특유의 관능상의 특성이 나타나는 것으로 사료됨.

- 효모

- 숙성 조건별 시료를 PDA에 도말하여 형성된 집락에서 막걸리와 같은 발효과정에서 형성되는 냄새가 확인되었으며, 26s rRNA 분석을 통하여 *Debaryomyces hansenii* NRRL Y-7426 strain과 95% 일치하며, 2%의 차이를 확인하였다(표 6). *Debaryomyces*는 치즈와 소시지 등의 발효를 유도하는 효모로 단백질 분해능이 있는 세균(proteolytic bacteria)의 성장을 촉진하고, 지방의 분해로 인한 향미 증진을 유도함(Martorell 등, 2005).

표 6. 건식숙성육우 분리 효모에 대한 26s rRNA 염기순서 분석결과

Yeast _ LR7
AAGAGATCAACAGCTTTAAGCAAGGCTTCGTCACTGACCTCCAGCCTGC CTACTCGTCAGGGCATCATATCAACCCTGACGGTGAAGTATAAGTAACAC GCTTGAGGGCCATCCATTTTCAGGGCTAGTTTCATTTCGGCCGGTGAGTTGT TACACACTCCTTAGGGGATTCCGACTTCCATGGCCACCGTCCGGCTGTCT AGATGAACTAACACCTTTTGTGGTGTCTGATGAGCGTGTATTCGGGCACT TTAACCTCACGTTTCGGTTCATCCCGCATGCCAGTTCTGCTTACCAAAAA TGGCCCACTAAAAGCTCTTCATTCATATGTCCAGTTCAATTAAGCAACA AGGACTTCTTACATATTTAAAGTTTGAGAATAGGTTAAGGTCAATTTCAAC

CCCAATACCTCTAATCATTTCGCTTTACCTCATAAAACTGATACGAGCTTC TGCTATCTGAGGGAACTTCGGCAGGAACCAGCTACTAGATGGTTGAT
TAGTCTTTGCCCCATACCCAAATTCGACGATCGATTTGCACGTGAGAA CCGCTACGAGCCTCCACCAGAGTTTCTCTGGCTTCACCCTATTTCAGGCA
TAGTTCACCATCTTTTCGGGTCCCAACAGCTATGCTCTTACTCAAATCCAT CCGAAGACATCAGGATCGGTGATGATGCACCTAAAAGGCTCTCACCTAC
GTTCACTTTTCATTACCGGTACGGGTTTTACACCCAAACACTTGCATAGAC GTTAGACTCCTTGGTCCGTGTTTTCAAGACGGGGGGCTTAAGATCATTACG
CCAGCATCTAGTCAAAGACCGAGTCTCGGTCTAGATAGGCAGTATCAA CAAAGTCTATAACACTTCACCGAAGTAAAGCTACATTCCAATGTCATTAT
CCTACCATCCAAACCGATGCTGGCCAGTAAACTGCGAGGAACCCAAACA AAAAGGAAGGGAAACGCAAATACCAAGTCTGATCTCAAGCCCTTCCCTTT
CAACAATTTACGTAATTTTCACTCTCTTTTCAAAGTCTTTTTCATCTT TCCATCACTGTACTTGTTCGCTATCGGTCTCTCGCCAATATTTAGCTTTA
GATGGAATTTACCACCCACTTAAAGTGCATTTCCAAACAACCTGACTCT TCGAAAGCCTTTTACAGGAATTTGGCATCTCATCGCACGGGATTCTCAC
CCTCTGTGAAGTCCGGTCCAGGAAATTAACAAGAACCAAAACCAAG TTACCTCTTTCAATTTCAATCGAAACCGAAGGGGGAAATTTCAATTT
GAACTTTGGCCCTCACCCCGGTTCCGAGGAATCCCGGGGTTTTTTCCT TAGGTGAAATTTAACTTTAAGGGAGGGTAAGAAGAGAAAAAAGGGGG
GGGGGGGGGGGGCAACAAGACAGGGGGAGAAAAAATAAAAAAAAAA AAGTTACAAGGTATCTTTACAATTACAAATTCATAACCCCTTTTATA

Range 1: 9 to 1344 [GenBank](#) [Graphics](#) ▼ Next Match ▲ Previous h

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
2121 bits(1148)	0.0	1276/1337(95%)	12/1337(0%)	Plus/Minus

(NG_042634.1) *Debaryomyces hansenii* NRRL Y-7426 28s rRNA strain과 1337-bp를 비교한 결과 95%의 일치율을 나타내었음.

- pH에 따른 분리 효모의 생장을 확인한 결과, PDA 배지 조건인 pH 3.5에서 가장 잘 자랐고 pH 4와 5는 크게 차이가 있지 않았으나 pH 3과 7에서는 집락의 수가 감소하였음.

○ 방치, 분무, 침지 등 시너지스트의 효율적 활용법 조사

표 7. 기존 starter culture 접종방법

접종방법	세부내용	적용범위	적용가능여부
건염	분말형태로 적용	염지육	×
분무	접종액을 분무 (소량) 분무-type (다량) 샤워-type	생육/염지육	○
주입	접종액을 주입	생육/염지육	○
침지	접종액에 침지	생육/염지육	△

- 조사 결과, 소량 type-분무가 적당할 것으로 예상하고 본 실험에 적용함. 다량-type 분무 (샤워)나 주입, 침지 등의 방법 이용 시 생육의 품질에 영향을 미칠 가능성이 있음.
- 시너지스트 활용을 권장함.
- 본 연구를 통하여 발견한 *Pilaira anomala* (KCTC 18517P) 및 *Debaryomyces hansenii* (KCTC 18601P) 등이 건식숙성 시 시너지스트로 활용이 가능함.
- 시너지스트 활용 시 건식숙성 고유의 풍미는 유지한 채 풍속 없이 숙성이 가능할 것으로 사료됨.
- 시너지스트를 활용하여 건식숙성 기간을 단축할 수 있을 것으로 예상됨.

※ 시너지스트를 활용하여 건식숙성 기간 단축 시 예상되는 비용 절감효과

표 8. 건식숙성 기간별 평균 부위 감소율(%)

	0일	7일	14일	21일	28일	총 감소율
엘본	8.7 kg	8.51 kg	8.25 kg	8.04 kg	7.9 kg	-0.8 kg
	0%	2.2%	3.0%	2.5%	1.7%	9.1%
티본	8.48 kg	8.22 kg	7.94 kg	7.58 kg	7.38 kg	-1.1 kg
	0%	3%	3.3%	4.5%	2.6%	12.9%
윗등심	8.24 kg	7.87 kg	7.49 kg	7.13 kg	6.76 kg	-1.45 kg
	0%	4.4%	4.8%	4.8%	5.1%	17.6%
등심	8.33 kg	7.94 kg	7.53 kg	7.21 kg	6.88 kg	-1.45 kg
	0%	4.6%	5.1%	4.2%	4.5%	17.4%
채끝	4.38 kg	4.13 kg	3.90 kg	3.69 kg	3.47 kg	-0.91 kg
	0%	5.7%	5.5%	5.3%	5.9%	20.7%
보섭살	3.64 kg	3.48	3.27 kg	3.06 kg	2.89 kg	-0.75 kg
	0%	4.9%	5.8%	6.6%	5.5%	20.6%

표 9. 부위별 매입/판매가격 비교

3등급 육우 기준	1 kg당 평균 매입가격	1 kg당 판매가격
엘본	22,000원	88,000원
티본	22,000원	83,000원
윗등심	23,000원	70,000원
등심	23,000원	70,000원
채끝	23,000원	75,000원
보섭살	16,000원	70,000원

표 10. 건식숙성 기간 단축(28일→21일) 단축 시 부위별 손실액 감소

	28일차 감소율	28일차 감소중량	매입가 대비 손실액	판매가 대비 손실액
엘본	1.7%	0.14 kg	3,080원	12,320원
티본	2.6%	0.2 kg	4,400원	16,600원
윗등심	5.1%	0.37 kg	8,510원	25,900원
등심	4.5%	0.33 kg	7,590원	23,100원
채끝	5.9%	0.22 kg	5,060원	16,500원
보섭살	5.5%	0.17 kg	2,720원	11,900원

표 11. 월 판매량 기준 부위별 손실액 감소

	월 평균 판매량	28일차 감소중량	매입가 대비 손실액	판매가 대비 손실액
엘본	100 kg	1.7%	37,400원	149,600원

티본	120 kg	2.6%	68,640원	258,960원
윗등심	250 kg	5.1%	293,250원	892,500원
등심	250 kg	4.5%	258,750원	787,500원
채끝	250 kg	5.9%	339,250원	1,106,250원
보섭살	100 kg	5.5%	88,000원	385,000원
총 계			1,085,290원	3,579,810원

- 건식숙성 기간 단축(28일→21일) 시 엘본 1.7%, 티본 2.6%, 윗등심 5.1%, 등심 4.5%, 채끝 5.9%, 보섭살 5.5% 정도 수율의 감소를 줄일 수 있음.
- 표 8-9의 데이터를 기준으로 계산 시 매입가/판매가 대비 손실액은 엘본 3,080원/12,320원, 티본 4,400원/16,600원, 윗등심 8,510원/25,900원, 등심 7,590원/23,100원, 채끝 5,060원/16,500원, 보섭살 2,720원/11,900원(표 10)으로 월 평균 판매량을 기준으로 한 월 손실액은 매입가 대비 1,085,290원, 판매가 대비 3,579,810원 감소시킬 수 있음(표 11).

< 3차년도 >

(1) 신속 대량 생산을 위한 숙성 냉장 설비 및 전문 공정 개발

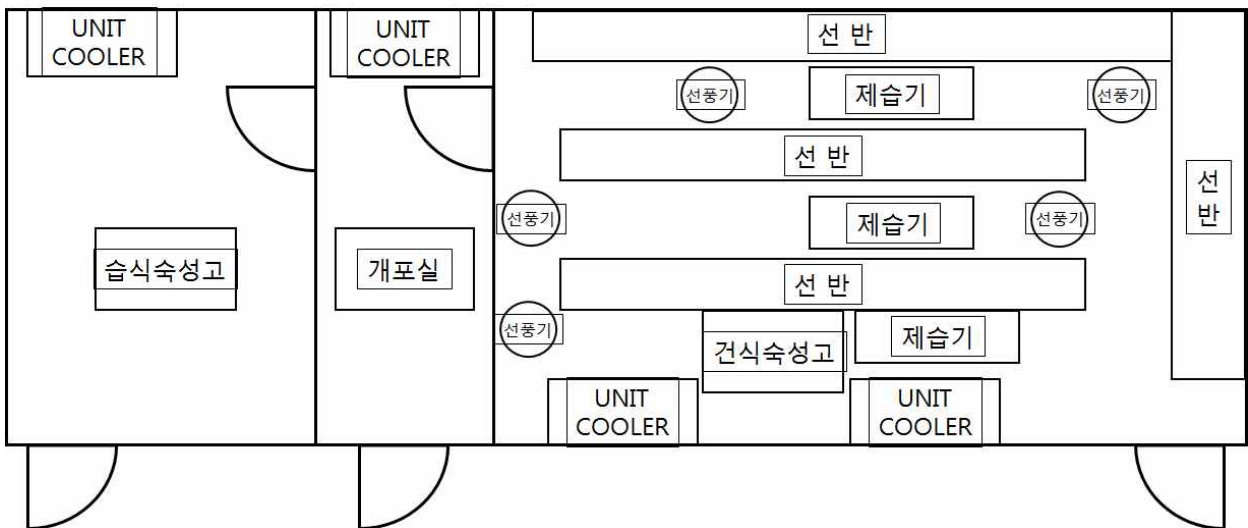


그림 7. 숙성 냉장 설비(안)

- 신속 대량 생산을 위한 숙성 냉장 설비 및 전문 공정

1. 도축 후 발골되어 각 부위별로 진공포장되어진 부분육은 ①을 통해 습식 숙성고에 입고 (습식숙성고의 온도는 1-4°C를 유지해야함)
2. 습식 숙성고에서 습식숙성이 필요한 부위는 습식 숙성 후 ①을 통해 출고
3. 습식숙성고에 1차 보관후 건조숙성이 필요한 부위는 개포실에서 개포 후 건식 숙성고로 입고 (이때 개포실의 온도는 1-4°C를 유지해야함)
4. 건식 숙성고는 습도와 일정한 풍속을 위하여 제습기와 선풍기를 배치 (이때 건식숙성고의 온도는 1-4°C를 유지해야 한다.)
5. 건식 숙성고의 숙성육 관리는 되도록 부위별로 구분하여 선반에 진열

6. 개포실에서 입고된 순서대로 선반에 진열하여 시간에 따라 점차 건식숙성고 출구방향으로 위치 조정
7. 개포실에서 입고된 숙성육은 습기를 많이 포함하고 있으므로 바람에 많이 노출될 수 있도록 관리
8. 아울러 개포실에서 입고된 순서대로 제습기를 가동하여 습도를 80% 수준으로 유지
9. 건식숙성육 출고에 가까울수록 수율의 감소를 줄이기 위하여 바람의 영향을 많이 받지 않도록 관리

<건식숙성 제조공정 중 미생물관리 방안>

1. 면장갑 사용금지

숙성육 관리시 고무장갑(라텍스장갑)을 이용하여 숙성육을 처리함.

면장갑의 사용은 병원성 대장균과 같은 세균이 존재할 수 있으며 교차오염을 유발시킬 수 있음.

2. 도체 세정 및 오염물질 제거

습식숙성고에 입고되는 식육은 종이박스를 개포 한 후 입고시킴.

습식숙성고에서 건식숙성고로 이동 시 개포실에서 진공포장지를 개포 후 입고시킴.

개포실에서 에탄올과 물을 7:3으로 혼합하여 식육에 분사하여 세정함.

3. 건식숙성실 미생물 오염 최소화

건식숙성실에서 작업시 마스크와 고무장갑을 착용하여 교차오염을 최소화함.

건식숙성실에는 곰팡이/효모가 공기 중에 분포되어 있으므로 건식숙성실 출입구에 에어 커튼을 설치하여 식육의 출입고시 교차오염을 최소화함.

건식숙성실 선반에는 미생물의 오염이 있으니 식육의 이동 시 선반을 철저히 청소함.

<숙성공정을 위한 유의사항>

1. 습식숙성실과 건식숙성실의 온도는 2°C를 유지하도록 함.
2. 건식숙성실의 습도는 70-85%를 유지하도록 함.
3. 건식숙성실의 경우 UnitCooler가 제상으로 동작하지 않을 때 보조 UnitCooler가 작동하여 온도의 변화가 없도록 함.
4. 모든 숙성실에는 자동 온도장치와 습도조절기를 설치하고 수시로 확인함.

(2) 전문공정 적용, 유통 및 소비자 반응 조사를 통한 산업화

- 건식숙성 완료 후 숙성육의 경화된 표면인 크러스터와 지방을 제거하고 상품화에 맞게 절단
- 건식숙성육의 주요 사용용도는 스테이크이므로 2-4 cm로 절단하는 것을 권장
(너무 얇을 경우 건식숙성육의 다즙성을 느끼기에 적당치 않으며, 너무 두꺼워도 숙성육의 안정성에 대한 소비자들의 인식이 자리잡고 있지 않아 요리에 어려움을 겪을수 있음)
- 건식숙성육은 소비지역별로 성향이 다르므로 유통지역별로 소비성향을 파악하여 판매하는 것이 중요
- 티본, 엘본, 등심은 특정지역과 상관없이 선호도가 높아 스테이크용으로 판매가 가능함
- 채끝의 경우 부위가 얇아 건조숙성을 하였을 때 손실이 많고 표면을 제거하였을 때 크기가 작아져 건조숙성보다는 습식숙성을 권장

- 보섭살, 사태,부채살등 비선호 부위를 건조숙성하여 스테이크용으로 판매 시 다이어트식을 찾는 소비자층에게 알맞음

▶ **협동연구기관(서울대학교)**

< 1차년도 >

① 연구내용 및 방법

(1) 숙성 우육의 숙성 조건별[습식/건식), 온도, 습도, 풍속 등] 관능 및 품질인자 특성 분석

○ 시료 준비

- 3등급 우육의 윗등심, 아랫등심, 보섭을 구입 후 각각 습식숙성군(온도 0-4°C), 건식숙성군(온도 0-4°C, 습도75%, 풍속 0, 2.5, 5 m/s) 등으로 나누어 0, 7, 14, 21, 28일동안 숙성(n=3 for each treatment/day)하여 관능 및 품질 특성을 분석함.

○ 육질 관련 품질인자 분석

- 수분 함량

- 미리 건조한 알루미늄 접시의 무게를 측정하고 약 2 g의 시료를 접시에 담아 105°C의 건조기에서 16시간동안 건조하였음. 건조한 시료는 데시케이터에서 방냉한 후 무게를 측정하여 아래의 계산식을 이용하여 수분의 함량을 계산하였음.

$$\text{수분(\%)} = \frac{\text{건조 전 시료 무게} - \text{건조 후 시료 무게}}{\text{건조 전 시료 무게}} \times 100$$

- pH

- pH 측정은 1 g의 시료에 9 mL의 증류수를 첨가한 후 균질기(T10 basic, Ika Works, Germany)를 이용하여 1,130 ×g로 1분간 균질을 한 후 여과한 액을 pH meter(SevenGo, Mettler-Toledo international Inc. Seitzerland)를 이용하여 측정하였음.

- 육색 변화

- 육색은 색차계(CM-5, Konica Minolta Sensing, Inc., Japan)를 이용하여 명도(L^* , lightness), 적색도(a^* , redness), 황색도(b^* , yellowness), chroma 및 hue-angle 등을 측정하였음.

- 전단력

- 전단력은 육 내 심부온도가 72°C에 도달할 때까지 중탕 가열한 다음 상온에서 방냉 후, 코어(1.54 × 4.0 cm²)로 정형하여 사용하였음. Warner-Bratzler shear를 장착한 texture analyzer(CT3 10K, Brookfield Engineering Laboratories, USA)를 사용하여 근섬유방향과 수직이 되게 하여 시료가 완전히 절단될 때까지 측정하였으며, 측정조건은 maximum cell load, 10 kg; probe test speed, 2.0 mm/s; distance, 30 mm; trigger load, 0.1 N이었음.

- 조직감

- 조직감은 $3.5 \times 1 \text{ cm}^2$ (지름 \times 높이)로 준비된 시료를 심부온도가 72°C 에 도달할 때까지 중탕 가열한 다음 상온에서 방냉하였음. 방냉한 시료는 stainless steel cylinder probe를 장착한 조직감 측정기(TA1, Lloyd Instruments Ltd., UK)를 사용하여 경도, 탄력성, 씹힘성, 응집성 등을 측정하였음.

- 지방산

- 시료 10 g에 Folch 용액(chloroform:methanol, 2:1) 100 mL을 첨가 후 균질하고 shaking incubator에서 1시간동안 진탕하였음. 추출한 용액은 0.88% NaCl을 첨가하여 층을 분리하고 상층액을 제거 후 질소를 이용해 농축하였음. 농축한 지방 중 0.5 g을 칭량하고 내부표준물질 pyrogallol solution(50 mg/ mL in ethanol) 및 0.5 N NaOH in MeOH을 첨가한 후 85°C 항온수조에서 10분 동안 가열 후 냉각하였음. 이후 BF_3 -methanol(Sigma-Aldrich, USA) 2 mL을 첨가하고 85°C 항온수조에서 10분 동안 가열하였음. 냉각 후 iso-octan(2 mL) 및 포화 NaCl 용액(1 mL)을 첨가하고 vortexing 후 원심분리하여 sodium sulfate-anhydrous으로 수분을 제거한 후 gas chromatograph(HP 7890, Agilent Technologies, USA)를 이용하여 분석하였음. 지방산 분석을 위해 split ratio는 200:1로 유지되었으며 컬럼은 SPTM-2560(100 m \times 0.25 mm \times 0.25 μm , Supelco, Bellefonte, PA)을 사용하였음. 컬럼의 온도는 100°C 에서 4분간 유지하고 240°C 까지 분당 3°C 씩 승온한 후 35분간 유지하였으며, 주입구의 온도는 225°C 로 유지하였음. 운반기체는 질소가스(20 mL/min)를 사용하였음. 각각의 지방산은 표준물질(37 FAME mix, CLA mix; Sigma Aldrich, USA)를 이용하여 확인하였음.

○ 품미 관련 품질인자 분석

- 환원당

- 시료 1 g에 80% EtOH(50°C) 5 mL을 첨가하고 균질(1130 \times g) 후 원심분리(2,265 \times g for 10 min; Continent 512R, Hanil Co. Ltd., Korea)하고 Whatman No. 1 여과지로 여과하였음. 80% EtOH(50°C) 재첨가한 후 원심분리(2,265 \times g for 10 min; Continent 512R, Hanil Co. Ltd. Korea)하고 여과 후 질소 농축하였음. 농축된 시료에 증류수 2 mL을 첨가하여 원심분리(10,000 \times g for 10 min; HM-150IV, Hanil Co. Ltd., Korea)해서 육 내 당 성분을 추출하였음. 추출시료 1 mL에 DNS 시약 2 mL 첨가 후 90°C 항온수조에서 15분간 가열 후 냉각한 다음 분광광도계를 이용하여 550 nm에서 흡광도를 측정하였음. 표준물질로 glucose(Sigma Aldrich, USA)를 이용하여 표준곡선 작성 후 환산하여 환원당 함량을 정량하였음.

- 유리아미노산

- 유리아미노산 함량의 측정은 Kim 등(2018)의 방법을 이용하였음. 시료 5 g에 0.6 M perchloric acid 20 mL을 첨가하여 균질 후 원심분리(3,500 g, 20 min; Combi 514R, Hanil Co. Ltd.)하였음. 원심분리 후 Whatman No. 1 여과지로 상층액을 여과하여 6 N sodium hydroxide를 이용하여 pH를 7.0으로 조정함. 준비된 시료는 동결건조 후 20 mM phosphate buffer로 reconstitution하여 NMR 분석에 이용하였음.

- IMP

- 시료 5 g에 0.7 M perchloric acid 20 mL 첨가한 다음 균질(T10 basic, Ika Works)하였음. 2,265 ×g로 4°C에서 15분간 2회 반복하여 원심분리(Continent 512R, Hanil Co. Ltd., Korea)한 다음 상등액을 7 N potassium hydroxide를 이용하여 pH 5로 조정한 후 메스플라스크에 넣고 0.7 M perchloric acid(pH 5)로 50 mL가 되도록 정용한 후 1.5 mL를 취해 membrane filter(0.2 μm, Whatman Ltd, UK)를 이용하여 여과한 시료를 high performance liquid chromatography(HPLC, Ultimate 3000, Dionex, USA)를 이용하여 분석하였으며, 분석한 결과는 IMP 표준물질(Sigma Aldrich, USA)로 검량선을 작성하여 정량하였음.

○ 관능 특성 분석

- 관능평가

- 소비자 기호도법을 이용해 시료간 관능적 차이를 평가하였음. 식육 관능검사에 경험이 있는 패널 8명을 선발하였으며, 일정한 크기 (2 × 4 cm²)로 세절하여 준비한 시료를 육 내 심부 온도가 72°C에 도달될 때까지 조리한 다음 각 패널에게 제시하였음. 관능평가는 총 3회 실시되었으며, 9점 척도법을 이용하여 외관, 향, 맛, 풍미, 연도, 다즙성 및 종합적 기호도를 평가하였음.

- 전자코 분석

- 준비된 시료(5 g)를 바이알에 담아 전자코(Heraclas II, Alpha MOS, France) 분석을 하기 표5와 동일한 조건을 이용해 수행하였으며 분석한 결과는 AroChemBase(Alpha MOS, France)를 이용하여 처리하였음.

표 12. 전자코 분석조건

Parameters	Headspace analysis	Parameters	Headspace analysis
[Headspace generation]		[Trap]	
Vial	20 mL	Trap initial temperature	25°C
Sample volume	5 g	Spilt	10 mL/min
Incubation temperature	80°C	Trapping duration	30 s
Incubation time	600 s	Trap final temperature	240°C
[Injector]		[Column]	
Injected volume	1,500 μL	Initial isotherm	40°C (5 s)
Injected speed	250 μL/s	Temperature program	Up to 150°C (0.5°C/s, 5 s)
Injector temperature	200°C		Up to 260°C (5°C/s 30 s)

- 전자혀 분석

- 시료 100 g에 1차 증류수 200 mL를 첨가하여 균질 후 원심분리함. 원심분리 후 상층액을 전자혀(Astree, Alpha MOS, Toulouse, France 분석에 이용하였음).

② 연구결과

(1) 숙성 우유의 숙성 조건별[(습식/건식), 온도, 습도, 풍속 등] 관능 및 품질인자 특성 분석

○ 육질 관련 품질인자 분석

- 수분 함량

- 실험 결과, 윗등심 및 아랫등심에서 0일차 대조군, 습식숙성육 및 건식숙성육(0, 2.5, 5 m/s) 간 수분 함량의 유의적 차이는 보이지 않았음(표 12). 보섭 내 수분의 함량은 건식숙성 5 m/s에서 다른 처리군에 비해 낮은 값을 보였으며($P < 0.05$) 이는 보섭의 크기가 다른 부위에 비해서 부위의 크기가 작아 숙성기간 중 식육 표면에서 수분의 증발이 빠르게 일어난 것으로 사료되나 동 처리군(건식숙성 5 m/s) 내 다른 부위와 비교 시 유의적 차이는 없었음.

표 12. 숙성방법별 3등급 우유의 부위별 수분 함량(%) 비교

	Con	Dry 0 m/s	Dry 2.5 m/s	Dry 5 m/s	Wet	SEM ¹
윗등심	72.76	70.94 ^{xy}	69.22	70.63	72.37	1.038
아랫등심	73.02	68.69 ^y	66.80	70.17	71.25	1.680
보섭	71.67 ^a	72.44 ^{ax}	70.72 ^a	66.32 ^b	74.65 ^a	1.223
SEM ²	0.706	0.811	2.357	1.160	0.967	

¹Standard errors of means (n=15), ²(n=9).

^{a,b}Mean with different letters within the same row differ significantly ($P < 0.05$).

^{x,y}Mean with different letters within the same column differ significantly ($P < 0.05$).

- pH

- 아랫등심, 보섭의 pH 값은 0일차 대조군 및 습식숙성육에 비해 건식숙성 시 유의하게 증가하는 경향을 보였음(표 13). 건식숙성 후 pH의 증가는 숙성 중 곰팡이 생장에 따른 결과로 보임. 특히, 보섭의 경우는 0 m/s에서 건식숙성 시 다른 건식숙성 처리군(2.5, 5 m/s)에 비해 유의적으로 높은 값을 나타내었음. 또한, 세 부위간 차이를 식별하기 위해 pH 값을 비교해 본 결과 윗등심, 아랫등심, 보섭의 순으로 높은 pH 결과를 보였음.

표 13. 숙성방법별 3등급 우유의 부위별 pH 비교

	Con	Dry 0 m/s	Dry 2.5 m/s	Dry 5 m/s	Wet	SEM ¹
윗등심	5.89 ^x	6.17 ^x	5.93 ^x	5.93 ^x	6.00 ^x	0.064
아랫등심	5.57 ^{by}	5.83 ^{ay}	5.79 ^{ax}	5.90 ^{ax}	5.64 ^{by}	0.033
보섭	5.63 ^{by}	5.96 ^{axy}	5.60 ^{by}	5.63 ^{by}	5.45 ^{cz}	0.030

SEM ²	0.039	0.063	0.043	0.036	0.038
------------------	-------	-------	-------	-------	-------

¹Standard errors of means (n=15), ²(n=9).

^{a-c}Mean with different letters within the same row differ significantly (P<0.05).

^{x-z}Mean with different letters within the same column differ significantly (P<0.05).

- 육색 변화

- 세 부위 모두 0일차 대조구 및 습식숙성육에 비해 건식숙성 시 풍속의 증가에 따라서 명도, 적색도 및 황색도가 감소하는 결과를 보였음(표 14). 윗등심의 경우 숙성방법 상관없이 다른 부위에 비해서 유의적으로 높은 명도, 적색도, 황색도 수치를 보였음.

표 14. 숙성방법별 3등급 육우의 부위별 육색(CIE color) 비교

	Con	Dry 0 m/s	Dry 2.5 m/s	Dry 5 m/s	Wet	SEM ¹	
CIE L*	윗등심	40.71 ^{ax}	41.30 ^{ax}	36.77 ^{bx}	37.70 ^{bx}	41.66 ^{ax}	0.545
	아랫등심	38.41 ^{ax}	35.62 ^{by}	34.89 ^{bcy}	33.45 ^{cy}	38.18 ^{ay}	0.496
	보섭	35.57 ^{aby}	33.31 ^{bcy}	32.35 ^{cz}	31.49 ^{cy}	37.93 ^{ay}	0.776
	SEM ²	0.699	0.802	0.432	0.679	0.359	
CIE a*	윗등심	18.23 ^{abx}	17.15 ^{bcx}	17.23 ^{bcx}	16.52 ^c	18.98 ^{ay}	0.340
	아랫등심	15.08 ^{cdy}	13.54 ^{dy}	17.40 ^{bx}	15.53 ^c	23.03 ^{ax}	0.491
	보섭	15.49 ^{by}	13.26 ^{by}	12.93 ^{by}	15.58 ^b	21.35 ^{axy}	0.746
	SEM ²	0.283	0.500	0.372	0.749	0.702	
CIE b*	윗등심	14.87 ^{bx}	14.27 ^{bx}	12.65 ^{cx}	12.87 ^{cx}	15.88 ^a	0.306
	아랫등심	13.26 ^{by}	10.60 ^{cy}	12.17 ^{bcx}	11.35 ^{cx}	16.24 ^a	0.489
	보섭	11.84 ^{bz}	10.69 ^{bcy}	8.47 ^{dy}	9.36 ^{cdy}	16.19 ^a	0.493
	SEM ²	0.220	0.545	0.315	0.528	0.486	

¹Standard errors of means (n=15), ²(n=9).

^{a-d}Mean with different letters within the same row differ significantly (P<0.05).

^{x-z}Mean with different letters within the same column differ significantly (P<0.05).

- 전단력

- 28일동안 숙성 후 세 부위 모두에서 전단력 수치는 유의적으로 감소하였음(표 15). 윗등심에서 건식숙성(0, 5 m/s) 시 0일차 대조구에 비해 유의적으로 가장 낮은 전단력 결과를 보인 반면 아랫등심은 건식숙성(0, 2.5 m/s) 및 습식숙성 처리군에서 가장 낮은 전단력 수치를 나타내었음(P<0.05). 보섭의 경우는 숙성 전 유의적으로 가장 높은 전단력 결과를 보였으나 숙성 후 평균 40.4% 감소하여 다른 두 부위에 비해서 가장 큰 감소율을 보였으며 건식숙성 0 m/s 및 습식숙성 시 각 50.8%, 43.0% 감소하여 가장 낮은 전단력 수치를 보였음(P<0.05). 본 실험 결과, 부위별 특성에 따라 전단력 감소의 차이는 존재하지만 전체적으로 건식숙성 0 m/s 및 습식숙성 처리군에서 유의적으로 가장 낮은 값을 보인 것

을 관찰할 수 있었음.

표 15. 숙성방법별 3등급 유우의 부위별 전단력(N) 비교

	Con	Dry 0 m/s	Dry 2.5 m/s	Dry 5 m/s	Wet	SEM ¹
윗등심	70.03 ^{ay}	52.03 ^{bcx}	57.79 ^{abcx}	45.91 ^{cx}	61.83 ^{abx}	3.271
아랫등심	47.60 ^{az}	35.24 ^{by}	29.50 ^{by}	38.80 ^{aby}	32.66 ^{bz}	2.953
보섭	84.84 ^{ax}	41.74 ^{cy}	58.86 ^{bx}	53.34 ^{bx}	48.36 ^{bcy}	2.913
SEM ²	3.522	1.881	4.272	3.052	1.733	

¹Standard errors of means (n=15), ²(n=9).

^{a-c}Mean with different letters within the same row differ significantly (P<0.05).

^{x-z}Mean with different letters within the same column differ significantly (P<0.05).

- 조직감

- 조직감은 전단력과 비슷한 경향을 보였음(그림 7). 건식숙성(0 m/s) 및 습식숙성 시 다른 건식숙성(2.5, 5 m/s) 처리군에 비해 경도(hardness), 씹힘성(chewiness), 점착성(gumminess) 값이 유의적으로 낮은 수치를 보였음. 응집성(cohesiveness) 및 탄력성(springiness) 값은 숙성방법별 유의적 차이는 보이지 않았음. 건식숙성 0 m/s 처리군이 2.5, 5 m/s 처리군에 비해 전단력 및 경도, 씹힘성, 점착성 등이 낮은 것은 곰팡이 및 세균의 분포(Mucoraceae family 및 *Pseudomonas*) 차이 때문인 것으로 생각됨.

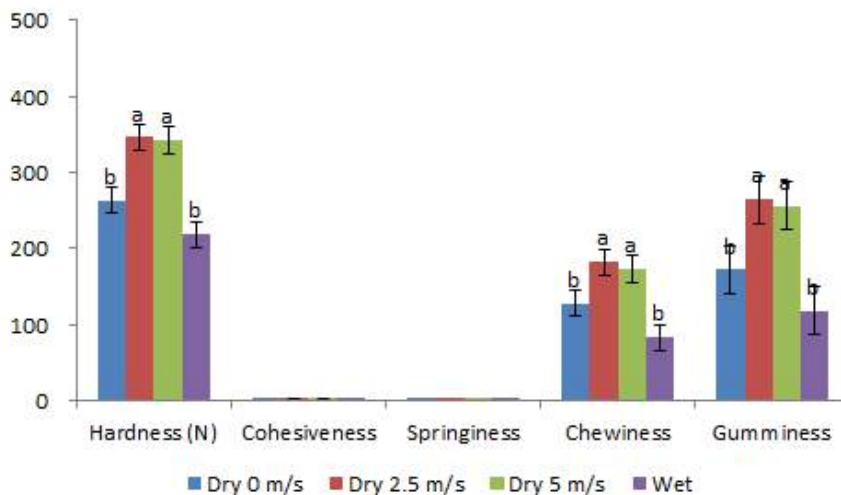


그림 7. 숙성 28일 후 3등급 유우의 숙성방법별 조직감 특성 비교

- 지방산

- 세 부위 모두 건식숙성 시 다가불포화지방산(MUFA) 함량이 습식에 비해서 유의적으로 높은 값을 나타내었으며 이는 주로 올레산(oleic acid) 함량의 변화에 기인한 것으로 보임(표 9). 올레산에 대한 숙성방법 및 풍속의 P-value는 각 <.0001, 0.0251로서 본 연구에서는 건식숙성 시 풍속의 조건이 올레산 함량의 변화에 영향을 주었을 것으로 사료됨(표 17). 다가불포화지방산(PUFA) 및 포화지방산(SFA) 함량은 일정한 경향은 없었으나(표 16)

숙성방법 및 풍속의 조건에 따라서 유의한 영향을 받는 것으로 보이며(표 17), 이는 건식 숙성 처리군간 곱팡이 및 효모의 분포 차이에 기인한 것으로 사료됨.

표 16. 숙성 28일 후 3등급 육우의 숙성방법 및 부위별 지방산 함량(fatty acid g/100 g fat) 비교

		Dry 0 m/s	Dry 2.5 m/s	Dry 5 m/s	Wet	SEM ¹
Oleic acid	윗등심	24.92 ^{ay}	21.87 ^{ab}	25.93 ^a	18.09 ^b	1.540
	아랫등심	27.37 ^{ax}	23.06 ^{ab}	25.58 ^{ab}	21.15 ^b	1.305
	보섭	22.59 ^{abz}	22.54 ^b	24.39 ^a	20.16 ^c	0.401
	SEM ²	0.489	1.780	0.687	1.187	
SFA	윗등심	32.73 ^{aby}	30.25 ^{by}	37.61 ^{ax}	28.09 ^b	1.768
	아랫등심	35.79 ^{abx}	32.86 ^{bxy}	37.77 ^{ax}	32.80 ^b	0.922
	보섭	29.93 ^{bz}	34.11 ^{ax}	33.00 ^{ay}	30.76 ^b	0.655
	SEM ²	0.781	0.866	0.473	2.027	
UFA	윗등심	40.25	43.43	48.34	40.32	4.297
	아랫등심	42.54	40.71	47.94	43.41	2.412
	보섭	38.31 ^b	46.75 ^a	42.07 ^{ab}	44.90 ^a	1.277
	SEM ²	1.432	2.653	1.440	4.722	
MUFA	윗등심	28.84 ^{ay}	25.20 ^{ab}	29.76 ^a	20.68 ^b	1.731
	아랫등심	32.61 ^{ax}	27.18 ^{ab}	29.59 ^{ab}	24.22 ^b	1.341
	보섭	25.22 ^{bz}	25.45 ^b	27.09 ^a	22.71 ^c	0.439
	SEM ²	0.546	1.938	0.827	1.259	
PUFA	윗등심	11.41	18.23	18.58 ^x	19.65	3.374
	아랫등심	9.94 ^b	13.53 ^{ab}	18.36 ^{ax}	19.18 ^a	1.514
	보섭	13.08 ^b	21.31 ^a	14.98 ^{by}	22.19 ^a	1.087
	SEM ²	1.492	2.033	0.687	3.528	

¹Standard errors of means (n=12), ²(n=9).

^{a-c}Mean with different letters within the same row differ significantly (P<0.05).

^{x-z}Mean with different letters within the same column differ significantly (P<0.05).

표 17. 숙성방법 및 풍속이 지방산 함량에 미치는 영향(P-value) 분석

	Aging method	Air flow
Oleic acid	<.0001	0.0251
SFA	0.0142	0.0165
UFA	0.8769	0.0236
MUFA	<.0001	0.0674
PUFA	0.0088	0.0009

○ 풍미 관련 품질인자 분석

- 환원당

- 윗등심은 세 부위 중 환원당 함량이 가장 적었으며 숙성 후 수치가 증가한 경향을 보였으나 건식숙성 5 m/s 처리군을 제외하고 유의적 차이는 보이지 않았음(표 18). 아랫등심의 경우 숙성방법에 따른 환원당 함량의 차이는 없었으며(P<0.05) 보섭은 0일차 대조구 및 습식숙성육에 비해 건식숙성(2.5, 5 m/s) 시 환원당 함량이 유의적으로 증가하였음. 부위별 비교 시 건식숙성 0 m/s 처리군을 제외하고 보섭의 환원당 함량이 가장 높은 경향을 보였음(P<0.05). 본 실험을 통하여 윗등심 및 보섭 두 부위에서 건식숙성 5 m/s 적용 시 환원당 함량이 증가하는 경향을 보이는 것을 관찰할 수 있었음.

표 18. 숙성방법별 3등급 육우의 부위별 환원당 함량(mM) 비교

	Con	Dry 0 m/s	Dry 2.5 m/s	Dry 5 m/s	Wet	SEM ¹
윗등심	6.67 ^{bz}	9.15 ^{ab}	11.48 ^{abz}	13.61 ^{ay}	9.22 ^{aby}	1.269
아랫등심	11.99 ^y	12.38	16.07 ^y	14.11 ^y	16.27 ^x	1.063
보섭	15.84 ^{bx}	12.76 ^c	23.39 ^{ax}	22.89 ^{ax}	14.49 ^{bcx}	0.785
SEM ²	1.086	0.879	0.756	1.642	0.614	

¹Standard errors of means (n=15), ²(n=9).

^{a-c}Mean with different letters within the same row differ significantly (P<0.05).

^{x-z}Mean with different letters within the same column differ significantly (P<0.05).

- 유리아미노산

- 숙성방법별 유리아미노산 함량을 비교해본 결과, Ile, Leu 함량은 건식숙성 시 0일차 대조구 및 습식숙성육에 비해 유의적으로 높은 값을 나타내었으나 Asp, Glu, Tau 함량은 유의적 변화가 없었음(P<0.05, 그림 8). 건식숙성 시 Ile, Leu 함량의 증가는 Kim 등(2016) 및 축산물 품질평가원 연구보고서(2016) 결과와도 일치하며 숙성기간 중 식육의 건조에 따라서 물질이 농축된 것으로 사료됨.
- 건식숙성 시 풍속별 유리아미노산 함량의 변화는 그림 9에 나타내었음. Ile 및 Glu 를 제외한 유리아미노산 모두(Asp, Leu, Tau)의 함량이 풍속 5 m/s 적용 시 유의적으로 가장 높은 경향을 보였음. Ile 함량은 풍속별 차이가 없었고(P<0.05) Glu의 경우 2.5, 5 m/s 풍속을 적용 시 유의적으로 높은 값을 나타내었음. 건식숙성 중 성장한 곰팡이 및 효모는 단백질 분해능 또는 관련 세균의 성장을 촉진하므로, 풍속별 유리아미노산 함량의 차이는 각 처리군 내 곰팡이 및 효모 분포의 차이에 의한 것으로 보임.

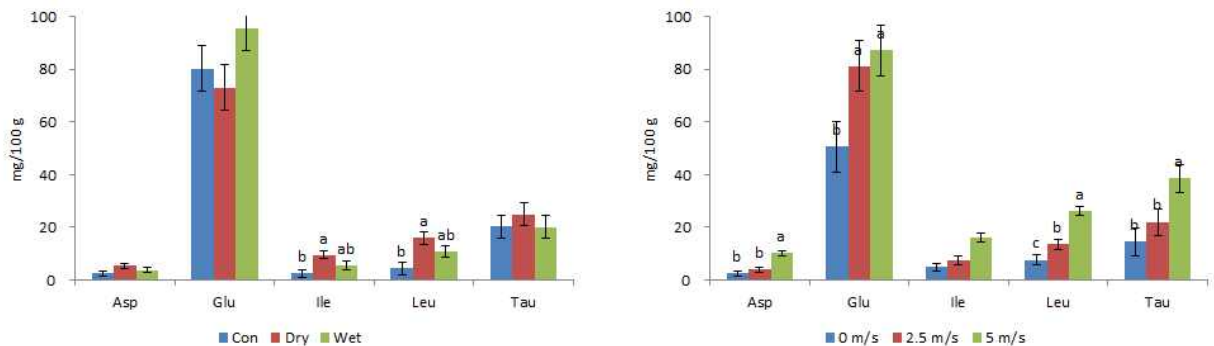


그림 8. 숙성 28일 후 3등급 육우의 숙성방법별 유리 아미노산 함량(mg/100 g) 비교

그림 9. 숙성 28일 후 3등급 육우의 건식숙성 시 풍속별 유리아미노산 함량(mg/100 g) 비교

- IMP

· IMP 함량은 숙성 전 0일차 대조구에서 유의적으로 가장 높은 값을 나타내었음(표 19). 윗등심 및 보섭은 건식숙성(2.5 m/s)에서 IMP 함량이 각 23.60, 37.73 mg/100 g으로 0일차 대조구 다음 높았고 아랫등심의 경우 숙성방법별 차이가 없었음(P<0.05). 실험 결과, 부위별 특성에 따른 영향이 있지만 건식숙성 2.5 m/s 처리군이 다른 풍속 및 습식숙성육에 비해 높은 IMP 함량을 보이는 것을 관찰할 수 있었음.

표 19. 3등급 육우의 숙성방법별 IMP 함량(mg/ 100 g) 비교

	Con	Dry 0 m/s	Dry 2.5 m/s	Dry 5 m/s	Wet	SEM ¹
윗등심	98.99 ^{az}	11.63 ^c	23.60 ^b	19.18 ^{bc}	12.16 ^{cy}	2.265
아랫등심	184.95 ^{ax}	29.95 ^b	23.07 ^b	22.30 ^b	45.30 ^{bx}	5.577
보섭	137.97 ^{ay}	12.83 ^c	34.73 ^b	18.44 ^c	13.96 ^{cy}	4.275
SEM ²	6.393	5.159	2.967	2.089	4.482	

¹Standard errors of means (n=15), ²(n=9).

^{a-c}Mean with different letters within the same row differ significantly (P<0.05).

^{x-z}Mean with different letters within the same column differ significantly (P<0.05).

○ 관능 특성 분석

- 관능평가

· 건식숙성육을 선호하는 소비자 패널을 중심으로 관능평가 결과를 분석한 결과, 세 부위 모두 건식숙성 0, 2.5 m/s 처리군에 비해 5 m/s에서 강한 건식숙성 향 및 풍미를 보였고 2.5 m/s 처리군은 0 m/s 처리군에 비해 높거나 동일한 수준의 강도를 나타내었음(표 20). 세 부위 중 보섭은 풍속간 차이는 없었으나 습식숙성 처리군에 비해 건식숙성 시 유의적으로 높은 기호도를 보였으며, 다른 두 부위에서 건식숙성을 적용하였을 때 적용한 풍속이 강할 수록 높은 기호도 수치를 나타내었으나 건식숙성 0 m/s 및 습식숙성 처리군간 유의적 차이는 보이지 않았음.

표 20. 숙성방법별 3등급 육우의 부위별 관능평가 결과 분석

			Dry 0 m/s	Dry 2.5 m/s	Dry 5 m/s	Wet	SEM
윗등심	순위법 (표사분석)	건식숙성 향	2	2	1	4	-
		건식숙성 풍미	3	2	1	4	-
	소비자 기호도	종합적 기호도	5.9 ^b	6.1 ^b	7.2 ^a	5.4 ^b	0.341
아랫등심	순위법 (표사분석)	건식숙성 향	3	2	1	4	-
		건식숙성 풍미	2	2	1	4	-

	소비자 기호도	종합적 기호도	5.6 ^b	6.3 ^{ab}	6.9 ^a	5.5 ^b	0.333
보섭	순위법 (묘사분석)	건식숙성 향	3	2	1	4	-
		건식숙성 풍미	3	2	1	4	-
	소비자 기호도	종합적 기호도	6.1 ^a	6.4 ^a	6.6 ^a	5.1 ^b	0.344

[†]Standard errors of means (n=32).

^{a,b}Mean with different letters within the same row differ significantly (P<0.05).

- 전자코 분석결과

- 대조구(숙성 전)에 비교 시 건식숙성 향의 변화는 보섭에 비해 윗등심에서 비교적 큰 차이를 보이는 것을 관찰하였음(data not shown). 주목할 부분은 건식숙성 시 차이를 보였던 주요 피크(표 21 및 22)들이 윗등심과 보섭에서 서로 다른 결과를 보였던 점으로서 기존 숙성 관련 연구 및 본 실험의 결과를 통해 살펴보면 부위에 따라서 서로 다른 숙성조건의 확립이 필요할 것으로 사료됨. 건식숙성 시 풍속별 향을 분석해본 결과, 주요 피크(표 21 및 22)들의 peak area 대부분이 2.5 m/s에서 높게 나타나는 경향을 보였으며(향은 복합적인 영향을 받으므로 peak area가 높다는 것이 건식숙성 향 자체가 높다는 뜻은 아님), 윗등심과 보섭 모두 2.5 m/s의 전자코 분석결과가 0 m/s 처리군과 가장 큰 차이를 보였음(그림 10 및 11).

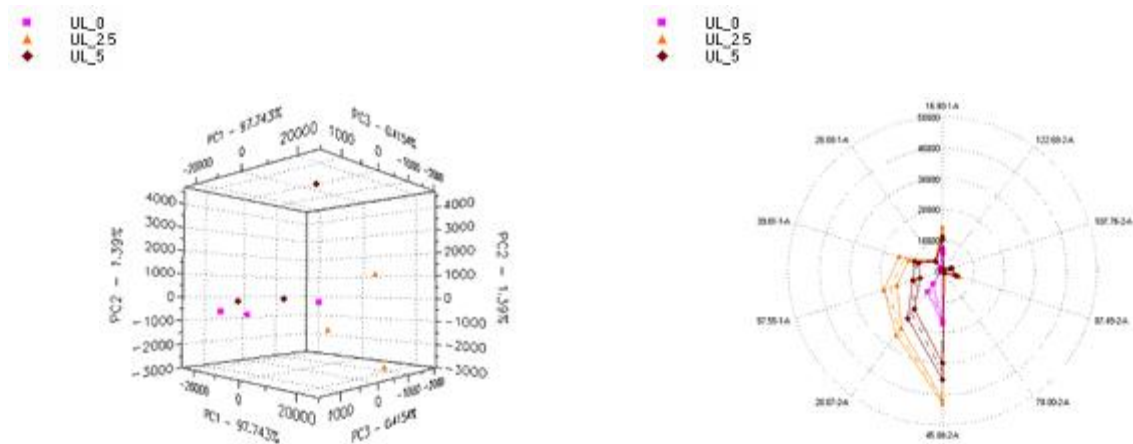


그림 10. 윗등심 전자코 분석결과

표 21. 윗등심 전자코 분석 시 주요 피크 분석

RT-Coulmn	Compound	Sensory description
16.80-1	1-Propanol	Alcoholic, Musty, Pungent
28.00-1	Pentan-2-ol	Pungent
39.81-1	2-methylthiophene	Sulfurous
57.55-1	3-Furanthiol, 2-methyl-	Barbeque, Broth, Cured ham, Meaty
28.07-2	1-Propanol, 2-methyl-	Alcoholic, Bitter, Winey
45.08-2	Acetoin	Butter, coffee, Creamy

78.00-2	Psi-Cumene	Herbaceous
87.49-2	2-Ethyl-3-methylpyrazine	Balsamic, Roast
107.76-2	3-Noanol	Herbaceous
122.69-2	2-Decanol	-

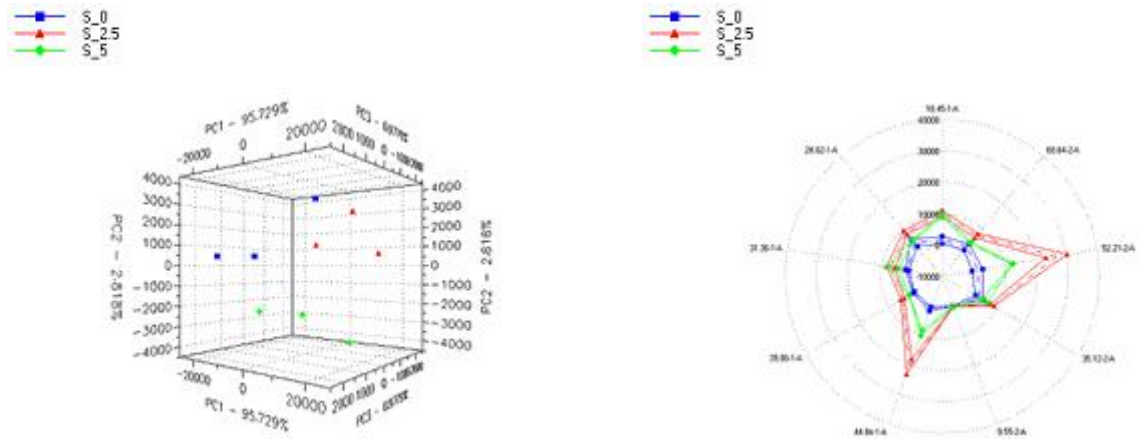


그림 11. 보섭 전자코 분석결과

표 22. 보섭 전자코 분석 시 주요 피크 분석

RT-Coulmn	Compound	Sensory description
18.45-1	Butane-2, 3-dione	Butter, Caramelized, Creamy
28.62-1	Pentan-2-ol	Pungent
31.36-1	Methylbutanoate	Ester, Etheral
39.86-1	2-methylpropanoic acid	Acidic, Butter, Cheese, Fatty
44.84-1	Hexanal	Fatty, fishy
9.55-2	perfluorononane	-
35.12-2	1-Octene	-
52.21-2	Hexanal	Fatty, Fishy
69.64-2	Heptan-2-ol	Acrid, Mushroom

- 전자혀 분석결과

- 전자혀 분석결과, 윗등심과 보섭 모두에서 0 m/s 처리군이 2.5, 5 m/s 처리군과 차이가 있음을 보였으며 2.5, 5 m/s 처리군은 서로 비교적 비슷한 맛을 가지는 경향을 보였다(그림 12 및 13). 전자혀 분석 시 0 m/s에서 다른 처리군에 비해 높은 sourness 값을 나타내었음.



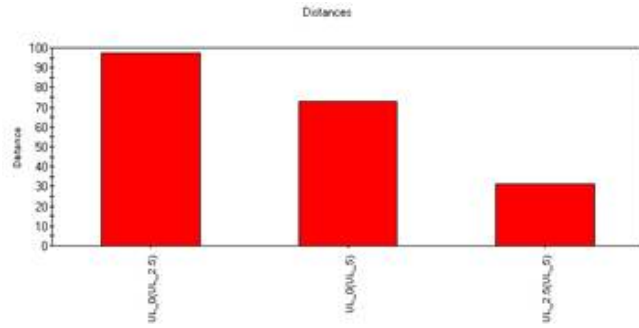
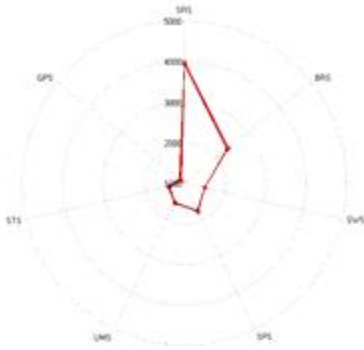


그림 12. 윗등심 전자혀 분석결과

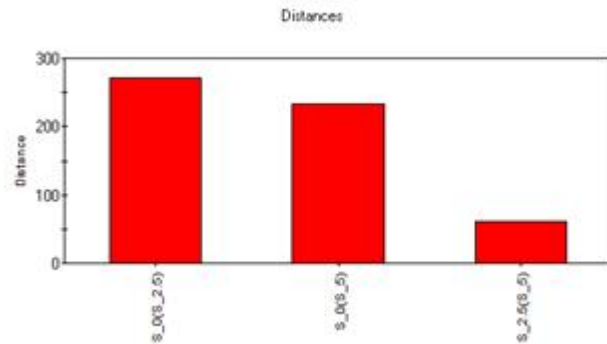
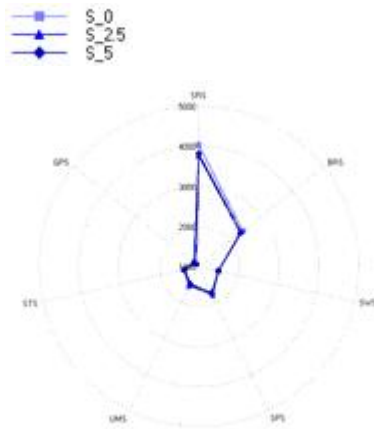


그림 13. 보섭 전자혀 분석결과

(2) 숙성 미생물 분리, 동정

- 숙성 후 *Burkholderia lata*, *Leclercia adecarboxylate*, *Serratia grimesii*, *Carnobacterium divergens*, *Cutaneotrichosporon curvatus*, *Candida zeylanoides*, *Rhodotorula mucilaginosa* 등이 미생물이 발견되었으며 주요 병원성 균들은 보이지 않았음. 건식숙성 전·후 미생물과 관련한 연구는 최근 증가하고 있는 추세로서 Ryu 등(2018)의 연구에 의하면 *Penicillium camemberti* 및 *Debaryomyces hansenii* 등 곰팡이 및 효모를 발견한 사례도 존재함.

표 23. 건식숙성 후 크러스트 내 미생물 분리·동정 결과

Microorganisms
<i>Burkholderia lata</i> , <i>Leclercia adecarboxylate</i> , <i>Serratia grimesii</i> , <i>Carnobacterium divergens</i> , <i>Cutaneotrichosporon curvatus</i> , <i>Candida zeylanoides</i> , <i>Rhodotorula mucilaginosa</i>

< 2차년도 >

① 연구내용 및 방법

(1) 우육 숙성도 확인을 위한 품질 지표인자 개발

○ 품질 지표인자 후보 탐색

(a) 건식숙성육



(b) 습식숙성육



그림 14. 숙성 28일 후 외관 비교

- 시료 준비

- 3등급 우육 채끝을 구입 후 각각 대조군, 습식숙성군, 건식숙성군 등으로 나누어 0, 7, 14, 21, 28일동안 숙성(n=3 for each treatment/day)하였으며 숙성 후 건식 크러스트 및 습식숙성육의 표면 등을 트리밍하여 품질 지표인자 후보들의 품질특성을 분석하였음(그림 14). 건식숙성 시 환경조건은 온도 0-4°C, 습도75%, 풍속 2.5 m/s으로 유지되었음.

- 수분

- 상기 42쪽과 동일한 방법으로 계산하였음.

- pH

- 상기 42쪽과 동일한 방법으로 측정하였음.

- 토리미터

- 토리미터를 이용하였음. 지방 또는 결체조직을 제외한 근육에 기기를 위치한 후 세포의 임피던스 변화에 의한 전류의 차이를 이용하여 해당 값을 측정하였음.

- 전기저항도

- 전기저항도 측정기(SH-3234, Saehan, Korea)를 이용하였음. 지방 또는 결체조직을 제외한 근육에 양 전극을 위치한 후 전기저항도를 측정함.

- 곱팡이 분포도

- 일정하게 유지된 조도의 박스에 시료를 넣고 사진을 촬영 후 이미지 분석툴(Adobe Photoshop CC, Adobe Systems, USA)을 이용하여 식육 표면의 곱팡이가 분포한 비율을 분석하였음. 곱팡이 비율은 식육 내 지방을 제거한 뒤 blue 채널에서 128 이상의 픽셀을 구하여

백분율로 표시하였음(그림 14).



그림 15. 곰팡이 분포도 측정과정

- 전자코

- 상기 44쪽과 동일한 방법으로 분석하였음.

○ 품질 지표인자 및 내부 품질간의 상관관계 분석

- 시료 준비

- 3등급 우육 채끝을 0, 7, 14, 21, 28, 35일 동안 건식숙성(n=3 for each treatment/day)하여 크러스트 및 내부 숙성육을 채취하여 각 특성들을 분석하였음. 건식숙성 시 환경조건은 온도 0-4°C, 습도75%, 풍속 2.5 m/s으로 유지되었음.

- 수분

- 건식숙성 전·후 크러스트 및 내부 숙성육의 수분을 상기 42쪽과 동일한 방법으로 수행하였음.

- pH

- 상기 42쪽과 동일한 방법으로 건식숙성 전·후 크러스트 및 내부 숙성육의 pH를 측정하였음.

- 전기저항도 및 곰팡이 분포도

- 건식숙성 전·후 크러스트를 일차별로 채취하여 전기저항도 및 곰팡이 분포도를 상기 54쪽과 동일한 방법으로 수행하였음.

- 육색

- 상기 42쪽과 동일한 방법으로 측정하였음.

- 전단력

- 전단력 측정은 상기 42쪽과 동일한 방법으로 수행하였음.

- 관능평가

- 소비자 기호도법을 이용해 시료간 관능적 차이를 평가하였음. 식육 관능검사에 경험이 있는 패널 8명을 선발하였으며, 상기 44쪽과 동일한 방법으로 준비한 시료를 다음 각 패널에게 제시하였음. 관능평가는 총 3회 실시되었으며, 9점 척도법을 이용하여 외관, 향, 맛, 풍미, 연도, 다즙성 및 종합적 기호도를 평가하였음.

(2) 시너지스트 활용법 개발

○ 시너지스트 개별 접종 육질 변화 분석

- 시료 준비

- 3등급 우육 채끝을 구입 후 각각 대조군, 곰팡이 접종군, 효모 접종군 등으로 나누어 0, 14, 21, 28일동안 건식숙성(n=3 for each treatment/day)하여 각 특성들을 분석하였음. 접종 시 각 10^6 CFU/mL 수준의 곰팡이(*Pilaira anomala*) 및 효모(*Debaryomyces hansenii*)를 식육에 접종하였으며 대조군은 동량의 버퍼(phosphate buffer solution, pH 7.4; KH_2PO_4 0.2 g, Na_2HPO_4 1.5 g, NaCl 8.0 g, KCl 0.2 g, 증류수 1 L)를 접종 후 이용하였음. 접종한 식육은 0, 14, 21, 28일동안 온도 0-4°C, 습도75%, 풍속 2.5 m/s으로 건식숙성한 후 본 실험에 이용함(그림 15).

(a) 곰팡이 접종 후 14일 경과



(b) 효모 접종 후 14일 경과



(c) 곰팡이 접종 후 21일 경과



(d) 효모 접종 후 21일 경과



(e) 곰팡이 접종 후 28일 경과



(f) 효모 접종 후 28일 경과



그림 16. 시너지스트 접종 후 건식숙성 시 식육의 외관 변화

- pH

- 시너지스트 접종 후 건식숙성한 식육의 내부를 채취하여 상기 42쪽의 방법과 동일하게 pH 값을 측정하였음.

- 전단력

- 전단력은 상기 42쪽과 동일한 방법으로 측정하였음.

- 환원당

- 환원당 함량을 상기 4쪽과 동일한 방법으로 정량하였음.

- 유리지방산

- 상기 43쪽과 동일한 방법으로 시료 내 지방을 추출 후 농축하였음. 농축한 지방 중 0.1 g을 칭량하고 내부표준물질 pyrogallol solution(50 mg/ mL in ethanol)을 첨가한 후 SPE kit에 chloroform/2-propanol 및 acetic acid/diethyl ether을 이용하여 유리지방산을 추출하여 다시 농축하였음. 이후 농축한 유리지방산에 BF₃-methanol(Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) 2 mL을 첨가하고 85°C 항온수조에서 10분 동안 가열하였음. 냉각 후 iso-octan(2 mL) 및 포화 NaCl 용액(1 mL)을 첨가하고 vortexing 후 원심분리하여 sodium sulfate-anhydrous으로 수분을 제거한 후 gas chromatograph(HP 7890, Agilent Technologies, USA)를 이용하여 분석하였음. 지방산 분석을 위해 split ratio는 200:1로 유지되었으며 컬럼은 SPTM-2560(100 m × 0.25 mm × 0.25 μm, Supelco, Bellefonte, PA)을 사용하였음. 컬럼의 온도는 100°C에서 4분간 유지하고 240°C까지 분당 3°C씩 승온한 후 35분간 유지하였으며, 주입구의 온도는 225°C로 유지하였음. 운반기체는 질소가스(20 mL/min)를 사용하였음. 각각의 유리지방산은 표준물질(37 FAME mix, CLA mix; Sigma Aldrich, USA)를 이용하여 확인하였음.

(3) 고등급육과 건식 숙성육의 품질인자 비교 분석

- 시료 준비

- 상기 56쪽과 동일한 방법으로 곰팡이 및 효모 접종액을 준비하였음. 3등급 우육 채끝 12수를 각각 대조군, 곰팡이/효모 1:1 접종군, 곰팡이/효모(4:1) 접종군 등으로 나누어 배합한 접종액을 접종한 후 0, 5, 10, 15일동안 건식숙성(n=3 for each treatment/day)하여 각 특성들을 분석하였음. 숙성이 완료된 건식숙성육은 트리밍한 후 1⁺⁺등급 한우육 채끝과 비교하여 각 품질특성들을 분석하였음.

- pH

- pH 측정은 상기 42쪽과 동일한 방법으로 수행하였음.

- 전단력

- 상기 42쪽과 동일한 방법으로 측정하였음.

- 환원당, 유리지방산 및 핵산관련물질

- 환원당, 유리지방산 및 핵산관련물질은 상기 44쪽에 기재된 방법으로 분석하였음.

- 관능평가

- 묘사분석 및 소비자 기호도법을 이용해 고등급 한우 및 건식숙성한 저등급 육우간 관능적 차이를 평가하였음. 식육 관능검사에 경험이 있는 패널 8명을 선발하였으며, 상기 44 쪽과 동일한 방법으로 준비한 시료를 다음 각 패널에게 제시하였음. 관능평가는 총 3회 실시되었으며, 9점 척도법을 이용하여 건식숙성 향(1, 아주 약함; 9, 아주 강함), 풍미, 연도 및 종합적 기호도를 평가하였음.

② 연구결과

(1) 우육 숙성도 확인을 위한 품질 지표인자 개발

○ 크러스트 품질 지표인자 후보 탐색

표 24. 건식숙성 시 크러스트 품질 지표인자 후보 탐색

	숙성 방법	건식숙성 기간(일)					SEM ¹	R ²
		0	7	14	21	28		
수분 (%)	건식	72.80 ^a	52.38 ^{by}	51.03 ^{by}	46.06 ^{cy}	45.85 ^{cy}	0.385	0.7346
	습식	72.80 ^a	70.14 ^{bx}	68.35 ^{cx}	67.63 ^{cx}	72.52 ^{ax}	0.296	0.0426
	SEM ²	0.159	0.351	0.288	0.494	0.339		
pH	건식	5.52 ^{ab}	5.50 ^{by}	5.58 ^a	5.53 ^{ab}	5.55 ^{abx}	0.015	0.2177
	습식	5.52 ^c	5.58 ^{bx}	5.61 ^a	5.51 ^c	5.44 ^{dy}	0.003	0.3026
	SEM ²	0.003	0.008	0.017	0.014	0.005		
토리미터	건식	11.50 ^a	6.38 ^b	5.45 ^b	5.00 ^b	5.92 ^b	0.372	0.5598
	습식	11.50 ^a	6.45 ^b	5.07 ^c	4.83 ^c	5.00 ^c	0.201	0.6667
	SEM ²	0.062	0.571	0.210	0.067	0.251		

¹Standard error of means (n= 15), ²(n=6).

^{a-d}The letters within the same row were significantly different (P<0.05).

^{x,y}The letters within the same column were significantly different (P<0.05).

- 수분

- 건식숙성 시 크러스트(crust) 수분의 함량은 숙성기간 중 약 37%까지 감소하는 결과를 보인 반면(R²=0.7346), 습식숙성은 숙성기간에 따른 수분 함량의 차이는 있었으나 큰 폭의 변화는 보이지 않았음(R²=0.0426, 표 24). 숙성 후 7일부터 건식숙성의 크러스트의 수분함량이 습식숙성에 비해 유의적으로 높아 크러스트 수분의 함량을 건식숙성 시 품질 지표인자로서 활용할 수 있을 것으로 사료되나 현장 적용 시 핸디형 수분측정기의 감도가 중요할 것으로 생각됨. 본 실험에서 시중에 판매된 목재 수분측정기(HM520, Kett, Japan 및 J-2000, Delmhorst, USA)을 활용해본 결과 해당 측정기의 현장 적용은 어렵고(data not shown) 향후 식육에 적합한 가능한 기기를 찾거나 새로운 기기의 개발이 필요할 것으로 사료됨.

- pH

- 숙성방법과 상관없이 숙성 시 식육의 pH는 숙성 후 21일에서 유의적으로 가장 높은 수치를 보인 후 다시 감소하는 경향을 보였음(표 24). 본 실험 결과, 건식 및 습식에서 숙성기간에 따른 pH의 R²는 각각 0.2177, 0.3026으로 낮은 값을 보여 품질 지표인자로서 활용은 어려울 것으로 생각됨.

- 토리미터

- 토리미터는 식육 내 세포의 임피던스 변화에 의한 전류의 차이를 측정하는 방법(Jang 등, 2014)으로 주로 식육의 신선도 측정에 쓰이는 방법이지만 본 실험에서는 숙성의 척도를 측정하는 표지인자로서 가능성을 알아보고자 이용되었음. 실험 결과, 숙성기간에 따른 토리미터의 R²는 건식 0.5598, 습식 0.6667이나 숙성 초기 차이만 인지할 뿐 숙성기간이 지남에 따른 변화는 인지하지 못하는 경향을 보였음(표 25). 또한 건식 및 습식간 유의적 차이가 없어 건식숙성만의 고유 지표인자로서 활용은 어려울 것으로 사료됨.

- 곰팡이 분포도

- 기존 건염 육제품들에서 표면 위 곰팡이 분포를 품질 지표인자로서 활용(Garcia, 등, 2001)하고 있는 점에 착안하여 건식숙성 시 크러스트 표면에 생기는 곰팡이 분포를 측정해보았음.
- 실험 결과, 곰팡이 분포는 건식숙성 기간 동안 0.6064 수준의 R² 값을 보였으며 숙성 28일 후 다른 일차들보다 유의적으로 높은 값을 나타내었음(그림 17). 습식숙성육의 경우 숙성 전 식육에 비슷한 수준의 값(P=0.1247, data not shown)을 보여 숙성기간 동안 큰 변화를 보이지 않음을 확인하였으며 숙성 완료 후 건식숙성육에 비해 낮은 값을 나타내어(P<0.05, 그림 18) 건식숙성 시 고유 지표인자로서 곰팡이 분포도 측정을 활용할 수 있음을 확인하였음.

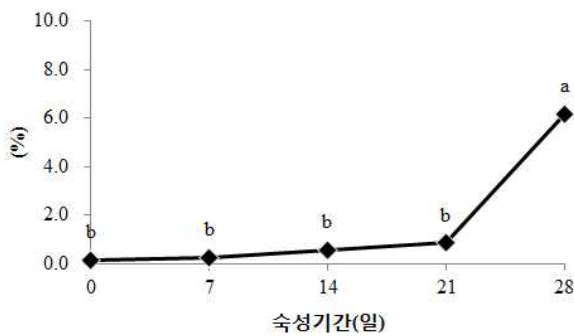


그림 17. 건식숙성 기간 중 크러스트 표면 곰팡이 분포도(%) 변화

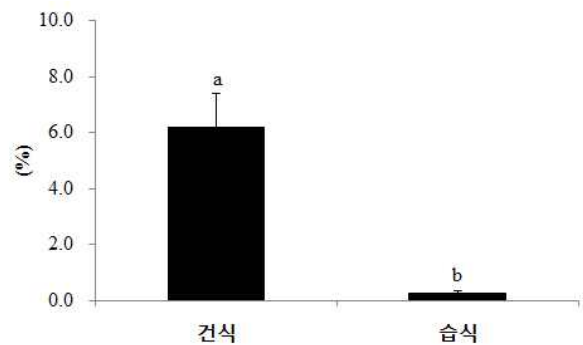


그림 18. 숙성 28일 후 표면 곰팡이 분포도(%) 비교분석

- 전자코

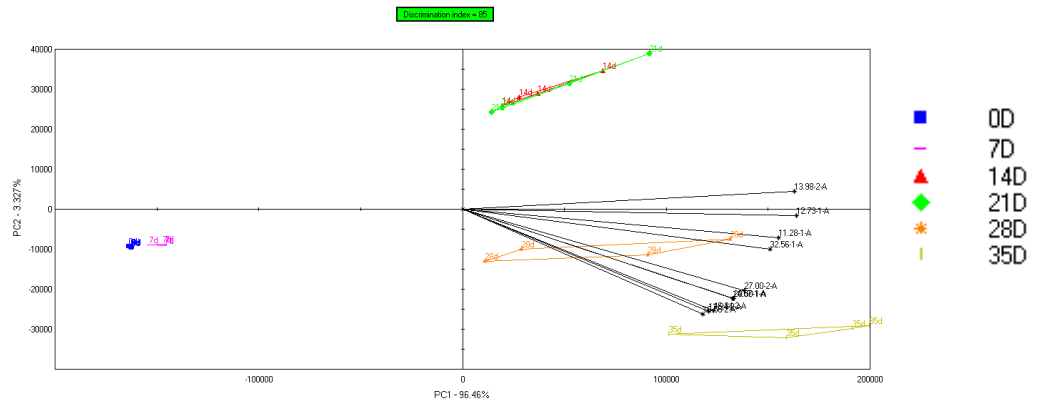


그림 19. 건식숙성 기간 중 크러스트 표면 전자코 변화

- 건식숙성육 크러스트를 전자코로 분석해본 결과, 0, 7일까지 큰 변화가 없다가 14일부터 향기성분의 변화를 나타내었음(그림 19). 14일과 21일차간 유의적 차이는 없었으나 그 이후 일차에 따라서 methanol, trimethylamine, butan-2-one, pentan-2-ol 등의 향기성분들이 유의하게 변화하였으며 해당 물질들은 pungent, ammoniacal, fishy, cheese, butter, ethereal, fruity 및 sweet한 향에 영향을 미치는 것으로 확인되었음. 건식숙성 시 전자코를 이용하여 숙성도 판별이 가능할 것으로 사료됨.

○ 품질 지표인자 및 내부 품질간의 상관관계 분석

표 25. 건식숙성 시 크러스트 품질 지표인자 품질특성

	건식숙성 기간(일)						SEM ¹	R ²
	0	7	14	21	28	35		
수분(%)	70.65 ^a	56.37 ^b	45.60 ^c	45.45 ^c	38.34 ^d	36.25 ^d	0.728	0.8884
전기저항도(M.Ω)	0.94 ^d	2.47 ^d	8.09 ^c	9.82 ^c	14.10 ^b	40.00 ^a	0.870	0.8391
곰팡이 분포도(%)	1.22 ^c	0.56 ^c	1.04 ^c	3.93 ^c	8.04 ^b	11.67 ^a	0.870	0.7536

¹Standard error of means (n= 18).

^{a-d}The letters within the same row were significantly different (P<0.05).

- 건식숙성 중 크러스트 품질 지표인자 특성 분석

· 수분

: 크러스트 수분의 함량은 건식숙성 후 일자별로 점차 감소하는 경향을 보였고 0.8884로 높은 R² 값을 나타내었음(표 25).

· 전기저항도

: 기존 실험에서 이용된 핸디형 수분측정기(HM520, Kett, Japan 및 J-2000, Delmhorst, USA)의 단점을 보완하기 위하여 전기저항도 측정기를 본 실험에서 활용해보았음. 이는 기존 핸디형 수분측정기가 전기저항도를 이용한 것에 착안한 것으로 실험 결과 전기저항도는 건식숙성 후 14일부터 일자별로 증가하는 경향을 보였음(P<0.05, 표25).

전기저항도의 R²는 0.8391로 수분과 비슷한 수준을 유지하였으며 수분과 -0.72 이상의 상관관계를 보였으므로(data not shown) 현장 적용 시 핸디형 수분측정기의 대안으로 활용이 가능할 것으로 사료됨.

• 곱팡이 분포도

: 곱팡이 분포는 건식숙성 28일 후 증가하는 경향을 보였고 0.7536로 높은 R² 값을 나타내었음(표 25). 1차, 2차 실험 모두의 결과를 종합해볼 때, 수분은 건식숙성 초기의 변화가 큰 반면 곱팡이 분포는 건식숙성이 진행될수록 유의적인 차이를 보이는 경향을 확인하였음.

표 26. 건식숙성 시 내부 품질특성

	건식숙성 기간(일)						SEM ¹
	0	7	14	21	28	35	
수분(%)	70.65 ^a	70.75 ^{ax}	69.66 ^{ax}	70.18 ^{ax}	67.06 ^{bx}	65.26 ^{cx}	0.390
pH	5.67 ^c	5.65 ^{cx}	5.77 ^{bx}	5.77 ^{bx}	5.80 ^b	5.90 ^{ax}	0.012
<i>L</i> [*]	31.85 ^{bc}	34.66 ^{ab}	36.02 ^{ab}	35.17 ^{ab}	36.64 ^a	30.59 ^c	1.043
<i>a</i> [*]	24.89 ^a	26.83 ^a	18.45 ^d	22.56 ^b	25.26 ^a	20.63 ^c	0.524
<i>b</i> [*]	18.33 ^a	20.35 ^a	14.45 ^b	18.02 ^a	18.37 ^a	15.59 ^b	0.646
Chroma	30.91 ^b	33.68 ^a	23.46 ^d	28.87 ^b	31.23 ^b	25.86 ^c	0.714
Hue-angle	36.39	37.20	37.86	38.62	36.04	37.05	0.966
전단력(N)	33.49 ^a	29.45 ^b	28.96 ^b	19.90 ^c	19.22 ^c	19.08 ^c	0.741

¹Standard error of means (n= 18).

^{a-c}The letters within the same row were significantly different (P<0.05).

- 내부 품질특성 분석

• 수분

: 건식숙성육 내부의 수분은 숙성 초기 큰 변화가 없다가 건식숙성 28일부터 점차 감소하였으나(표 26) 크러스트처럼 큰 폭의 변화는 없었음.

• pH

: 건식숙성 시 크러스트의 pH가 숙성 후 28일차에 유의적으로 가장 높은 값을 보였다가 감소한 반면에(data not shown), 건식숙성육 내부의 pH는 숙성기간 동안 점차 증가하는 경향을 보였음(표 26).

• 육색

: 건식숙성 기간 동안 육색은 일정한 경향을 보이지는 않았으나 유의적 변화를 나타내었음(표 26).

• 전단력

: 연도는 식육의 관능적 품질을 결정짓는 주요 인자(Troy & Kerry, 2010)로서 전단력은 연도를 측정할 수 있는 가장 대표적인 방법임. 건식숙성 기간 동안 전단력은 숙성 후 21일까지 감소하다 이후에는 유의적 차이를 보이지 않았음(표 26).

표 27. 건식숙성 시 숙성기간별 관능평가

	건식숙성 기간(일)						SEM ¹
	0	7	14	21	28	35	
외관	5.75	5.58	5.67	5.19	5.88	5.67	0.203
향	5.00 ^b	5.25 ^{ab}	5.63 ^{ab}	5.25 ^{ab}	6.08 ^a	5.75 ^{ab}	0.229
맛	4.88 ^b	5.00 ^b	5.58 ^{ab}	5.83 ^{ab}	6.13 ^a	5.75 ^{ab}	0.274
풍미	4.58 ^b	5.04 ^{ab}	5.42 ^{ab}	5.79 ^a	6.04 ^a	5.75 ^a	0.277
연도	4.40 ^b	4.79 ^b	4.88 ^b	6.00 ^a	5.67 ^a	6.29 ^a	0.232
다즙성	4.83 ^b	5.08 ^{ab}	5.50 ^{ab}	5.63 ^{ab}	5.79 ^a	5.92 ^a	0.231
종합적 기호도	4.63 ^c	4.88 ^{bc}	5.63 ^{ab}	5.75 ^{ab}	6.00 ^a	5.63 ^{ab}	0.268

¹Standard error of means (n= 18).

^{a-c}The letters within the same row were significantly different (P<0.05).

- 관능평가

- 관능평가 결과, 외관을 제외한 향, 맛, 풍미, 연도, 다즙성, 종합적 기호도 등 모든 항목에서 건식숙성 기간 동안 관능적 품질이 유의적 증진을 보인 것을 확인하였음(표 27). 특히, 건식숙성 후 28일 경과 시 다른 일자에 비해서 유의적으로 우수한 관능적 품질(향, 맛, 풍미, 연도, 다즙성, 종합적 기호도)을 보인 것을 확인하였음. 상관관계 분석 결과, 맛(r=0.9), 풍미(r=0.9), 다즙성(r=0.8) 및 연도(r=0.7) 등이 종합적 기호도에 유의미한 영향을 미쳤던 것으로 확인되었음.

표 28. 품질 지표인자 및 내부 품질간의 상관관계 분석

	품질 지표인자			
	수분	전기저항도	곰팡이 분포도	
내부 품질인자	수분	0.67**	-0.86***	-0.85***
	pH	-0.87***	0.91***	0.81***
	<i>L</i> [*]	-0.21	-0.42	-0.27
	<i>a</i> [*]	0.45	-0.43	-0.17
	<i>b</i> [*]	0.42	-0.44	-0.25
	Chroma	0.45	-0.44	-0.20
	Hue-angle	-0.09	-0.01	-0.16
관능평가	외관	0.03	0.05	0.12
	향	-0.48*	0.37	0.40
	맛	-0.68***	0.41	0.46
	풍미	-0.76**	0.46	0.48*
	연도	-0.73**	0.69**	0.65**
	다즙성	-0.57*	0.46	0.46

	종합적 기호도	-0.65**	0.37	0.36
--	---------	---------	------	------

*, P<0.05; **, P<0.01; ***, P<0.0001

- 품질 지표인자 및 내부 품질간의 상관관계 분석

· 수분

: 상관관계 분석 결과, 크러스트 수분의 함량이 내부 수분, pH 등 내부 품질인자 뿐 아니라 향, 맛, 풍미, 연도, 다즙성, 종합적 기호도 등 대다수의 항목들과 유의적인 상관성을 보이는 것으로 확인되었음(표 28). 단, 현장 적용 시 식육에 적합한 가능한 기기를 찾거나 새로운 기기의 개발이 필요할 것으로 사료됨.

· 전기저항도

: 본 실험 결과, 전기저항도는 수분과 -0.72 이상의 상관관계를 보였었지만(data not shown) 실제 수분의 함량과 내부 품질인자들이 높은 상관성을 보인 반면 전기저항도는 내부 수분, pH 및 연도 등 소수의 항목만 상관관계를 나타내었음(표 28).

· 곰팡이 분포도

: 곰팡이 분포는 내부 수분, pH, 풍미, 연도 등의 항목과 유의적 상관관계를 보였음(표28). 곰팡이 분포는 기존 건염 육제품에서도 지표로서 이용되어 오던 인자이나(Luisa Garcia, 등, 2001) 실제 건식숙성 시 활용하기 위해서는 이미지 분석 툴 및 숙성의 척도를 알 수 있는 적정 기준의 설정이 필요할 것으로 사료됨.

(2) 시너지스트 활용법 개발

○ 시너지스트 개별 접종 육질 변화 분석

표 29. 시너지스트 접종 후 건식숙성 시 pH 변화

	건식숙성 기간(일)				SEM ¹
	0	14	21	28	
대조군	5.54 ^{bc}	5.53 ^{cy}	5.72 ^{ay}	5.59 ^{by}	0.012
곰팡이	5.54 ^c	5.55 ^{cx}	5.81 ^{ax}	5.69 ^{bx}	0.007
효모	5.54 ^c	5.51 ^{dz}	5.65 ^{ay}	5.59 ^{by}	0.004
SEM ²	0.000	0.002	0.015	0.006	

¹Standard error of means (n= 15), ²(n=9).

^{a-d}The letters within the same row were significantly different (P<0.05).

^{x,y}The letters within the same column were significantly different (P<0.05).

- pH

· 세 처리군 모두 건식숙성 후 21일에서 유의적으로 가장 높은 pH 값을 보였으며 21일 이후에는 감소하는 경향을 보였음(표 29). 또한, 곰팡이 접종군이 다른 군에 비해 유의적으로 높은 pH 값을 나타내었음. 이는 미생물이 가진 효소의 proteolytic activity 차이 때문인 것으로 사료됨(Lorenzo 등, 2014). 미생물 효소의 작용에 의한 펩타이드, 아미노산, 암모니아 등의 생성이 pH 증가에 영향을 미치는 것으로 보고된 바 있음. 21일

이후 pH가 떨어지는 것은 미생물이 생성하는 산(acetic acid 또는 lactic acid) 때문인 것으로 사료됨. pH의 저하는 단백질 응고를 일으켜 식육의 물성이 변하는 원인이 되며 산미(acid taste)를 발생함(Hammes 등, 1990).

표 30. 시너지스트 접종 후 건식숙성 시 전단력(N) 변화

	건식숙성 기간(일)				SEM ¹
	0	14	21	28	
대조군	35.91 ^a	18.62 ^{cy}	16.28 ^{cy}	24.53 ^{by}	0.920
곰팡이	35.91 ^a	19.00 ^{cy}	12.59 ^{dz}	27.60 ^{bx}	0.815
효모	35.91 ^a	22.46 ^{bx}	22.81 ^{bx}	17.09 ^{cz}	0.719
SEM ²	0.908	0.847	0.706	0.815	

¹Standard error of means (n= 15), ²(n=6).

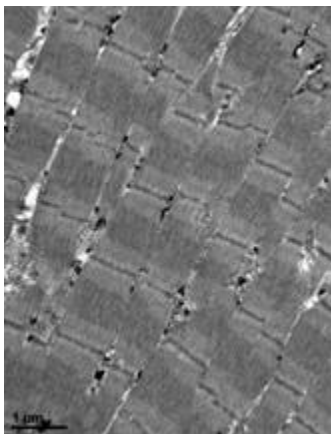
^{a-d}The letters within the same row were significantly different (P<0.05).

^{x,y}The letters within the same column were significantly different (P<0.05).

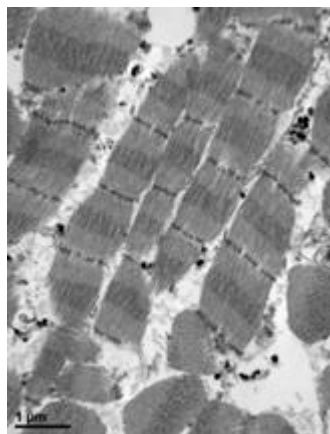
- 전단력

- 대조군 및 미생물 접종군 모두에서 전단력은 21일까지 감소한 경향을 보였음. 전단력 수치의 감소폭은 효모에서 가장 낮았으나 이후에도 꾸준히 감소한 반면 대조군과 곰팡이 접종군은 21일 이후 오히려 전단력이 증가하는 경향을 보였음. 28일 후 투과전자현미경(TEM)으로 근육 내 미세구조를 관찰하였을 때 곰팡이 접종군의 z-disk 붕괴가 더 많이 발생했던 것을 보아(표 30) 대조군과 곰팡이 접종군의 전단력이 증가한 이유는 pH의 저하와 연관된 것으로 사료됨. pH의 저하는 단백질 응고를 일으켜 식육의 물성이 변하는 원인으로 보고되고 있음(Hammes 등, 1990).

(a) 대조군



(b) 곰팡이 접종군



(c) 효모 접종군

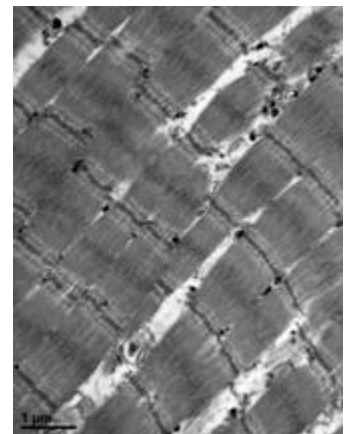


그림 20. 시너지스트 접종 28일 후 근육 내 미세구조 변화

- 투과전자현미경(TEM)

- 시너지스트 접종 및 건식숙성 28일 후 각 처리군의 근육 내 미세구조 변화를 관찰한 결과,

대조군 및 효모 접종군에 비해 곰팡이 접종군 내 z-disk의 붕괴가 더 많이 일어났음을 확인 하였음(그림 20). 효모 접종군의 근육 내 미세구조 또한 대조군에 비해 붕괴되었음. 이는 미생물이 가진 효소의 proteolytic activity 차이 때문인 것으로 사료됨.

표 31. 시너지스트 접종 후 건식숙성 시 환원당 함량(mM) 변화

	건식숙성 기간(일)				SEM ¹
	0	14	21	28	
대조군	9.93 ^c	17.67 ^{ax}	15.35 ^{bx}	17.31 ^{ax}	0.235
곰팡이	9.93 ^d	14.46 ^{ay}	11.63 ^{cy}	13.30 ^{by}	0.221
효모	9.93 ^b	13.51 ^{ay}	10.09 ^{bz}	13.58 ^{ay}	0.528
SEM ²	0.201	0.642	0.189	0.148	

¹Standard error of means (n= 15), ²(n=6).

^{a-d}The letters within the same row were significantly different (P<0.05).

^{x,y}The letters within the same column were significantly different (P<0.05).

- 환원당

- 세 처리군 모두에서 환원당 함량은 건식숙성 수 14일까지 큰 폭으로 증가하였다가 21일 까지 감소, 다시 28일에는 증가하는 경향을 보였음(P<0.05, 표 31). 각 처리군을 비교해보 았을 때 대조군의 환원당 함량이 건식숙성 기간 전반적으로 더 높았는데 이는 접종한 곰팡이 및 효모가 성장하며 당을 소비하기 때문일 것으로 사료됨.

표 32. 시너지스트 접종 후 건식숙성 시 유리지방산 함량(mg/g) 변화

		건식숙성 기간(일)				SEM ¹
		0	14	21	28	
C12:0	대조군	0.03 ^b	0.03 ^{by}	0.04 ^{aby}	0.05 ^{ax}	0.003
	곰팡이	0.03 ^c	0.04 ^{bx}	0.15 ^{ax}	0.04 ^{bx}	0.002
	효모	0.03	0.03 ^y	0.04 ^y	0.03 ^y	0.003
	SEM ²	0.000	0.002	0.005	0.002	
C14:0	대조군	0.15 ^b	0.18 ^{by}	0.56 ^{ay}	0.74 ^{ax}	0.040
	곰팡이	0.15 ^c	0.60 ^{bx}	2.99 ^{ax}	0.63 ^{by}	0.061
	효모	0.15 ^b	0.15 ^{by}	0.57 ^{ay}	0.25 ^{bz}	0.046
	SEM ²	0.019	0.008	0.097	0.012	
C14:1	대조군	0.04 ^c	0.06 ^{cy}	0.11 ^{by}	0.17 ^{ax}	0.010
	곰팡이	0.04 ^d	0.13 ^{cx}	0.40 ^{bx}	0.17 ^{ax}	0.008
	효모	0.04 ^b	0.04 ^{bz}	0.17 ^{ay}	0.09 ^{by}	0.013
	SEM ²	0.007	0.003	0.018	0.006	
C16:0	대조군	3.47 ^b	4.08 ^{by}	9.49 ^{ay}	12.33 ^{ax}	0.673

	곰팡이	3.47 ^c	9.21 ^{bx}	38.61 ^{ax}	9.73 ^{by}	0.675
	효모	3.47 ^b	4.09 ^{by}	8.50 ^{ay}	4.82 ^{bz}	0.524
	SEM ²	0.157	0.256	1.211	0.144	
C16:1	대조군	0.16 ^c	0.24 ^{cy}	0.71 ^{by}	1.07 ^{ax}	0.038
	곰팡이	0.16 ^c	0.82 ^{bx}	3.44 ^{ax}	0.92 ^{by}	0.073
	효모	0.16 ^c	0.16 ^{cz}	0.82 ^{ay}	0.36 ^{bz}	0.040
	SEM ²	0.025	0.017	0.100	0.019	
C18:0	대조군	2.39 ^b	2.57 ^{by}	4.84 ^{ay}	5.23 ^{ax}	0.379
	곰팡이	2.39 ^c	4.37 ^{bx}	14.61 ^{ax}	4.47 ^{by}	0.228
	효모	2.39 ^c	2.64 ^{by}	4.11 ^{ay}	2.75 ^{bz}	0.294
	SEM ²	0.110	0.194	0.568	0.060	
C18:1	대조군	1.57 ^c	2.26 ^{cy}	6.49 ^{by}	9.09 ^{ax}	0.334
	곰팡이	1.57 ^c	6.31 ^{bx}	28.58 ^{ax}	7.72 ^{by}	0.503
	효모	1.57 ^b	1.66 ^{by}	6.36 ^{ay}	2.83 ^{bz}	0.346
	SEM ²	0.211	0.145	0.750	0.132	
C18:2	대조군	0.22 ^b	0.36 ^{by}	1.02 ^{ay}	0.89 ^{ax}	0.051
	곰팡이	0.22 ^c	0.68 ^{bx}	2.57 ^{ax}	0.72 ^{by}	0.050
	효모	0.22 ^b	0.39 ^{aby}	0.44 ^{az}	0.37 ^{abz}	0.041
	SEM ²	0.018	0.052	0.069	0.037	
C20:3	대조군	0.04 ^b	0.07 ^{bxy}	0.13 ^{ay}	0.14 ^{ax}	0.008
	곰팡이	0.04 ^c	0.11 ^{bx}	0.19 ^{ax}	0.12 ^{bxy}	0.006
	효모	0.04 ^c	0.06 ^{bcy}	0.09 ^{abz}	0.11 ^{ay}	0.009
	SEM ²	0.003	0.011	0.009	0.006	
C20:4	대조군	0.08 ^b	0.13 ^{bxy}	0.30 ^{ay}	0.31 ^{ax}	0.023
	곰팡이	0.08 ^c	0.23 ^{bx}	0.56 ^{ax}	0.26 ^{bxy}	0.017
	효모	0.08 ^b	0.08 ^y	0.15 ^{abz}	0.20 ^{ay}	0.021
	SEM ²	0.006	0.030	0.022	0.018	
Total	대조군	8.15 ^b	9.99 ^{by}	23.69 ^{ay}	30.01 ^{ax}	1.497
	곰팡이	8.15 ^c	22.50 ^{bx}	92.10 ^{ax}	24.80 ^{by}	1.536
	효모	8.15 ^b	9.31 ^{by}	21.24 ^{ay}	11.82 ^{bz}	1.232
	SEM ²	0.459	0.525	2.751	0.321	

¹Standard error of means (n= 15), ²(n=6).

^{a-d}The letters within the same row were significantly different (P<0.05).

^{x,y}The letters within the same column were significantly different (P<0.05).

- 유리지방산

- 유리지방산 함량은 대조군과 미생물 접종군(곰팡이 및 효모)이 서로 다른 경향을 보였는데 대조군은 전반적으로 건식숙성이 진행됨에 따라 그 함량이 유의적으로 증가하는 경향을 보인 반면 미생물 접종군은 21일까지 유리지방산 함량이 유의적으로 증가하다 이후 감소하는 결과를 나타내었음(표 32). 특히, 곰팡이 접종군의 증가율이 큰 것을 보았을 때 곰팡이의 lipolytic activity가 효모의 lipolytic activity에 비해 높은 것으로 사료됨.

표 33. 시너지스트 접종 후 28일동안 건식숙성 시 유리아미노산 함량(mM) 변화

	건식숙성 전	건식숙성군			SEM ¹
	대조군	대조군	곰팡이	효모	
Asp	0.15 ^c	0.25 ^a	0.26 ^a	0.22 ^b	0.005
Glu	0.10 ^b	0.32 ^a	0.34 ^a	0.35 ^a	0.008

¹Standard error of means (n= 12).

^{a,b}The letters within the same row were significantly different (P<0.05).

- 유리아미노산

- 아스탐산(aspartic acid) 및 글루탐산(glutamic acid)은 식육 풍미의 형성에 중요한 영향을 미치는 주요 풍미관련물질 중 하나로서 본 실험결과, 두 물질 모두 건식숙성 후 유의적으로 증가하는 것을 확인하였음(표 33). 단, 아스탐산의 경우 효모 접종 시 대조군과 곰팡이 접종군에 비해 유의적으로 낮은 아스탐산 함량을 보였음.

(3) 고등급(1⁺⁺)육과 시너지스트 적용 건식 숙성육의 품질인자 비교 분석

(a) 건식숙성 대조군

(b) 곰팡이/효모(1:1) 접종군

(c) 곰팡이/효모(4:1) 접종군

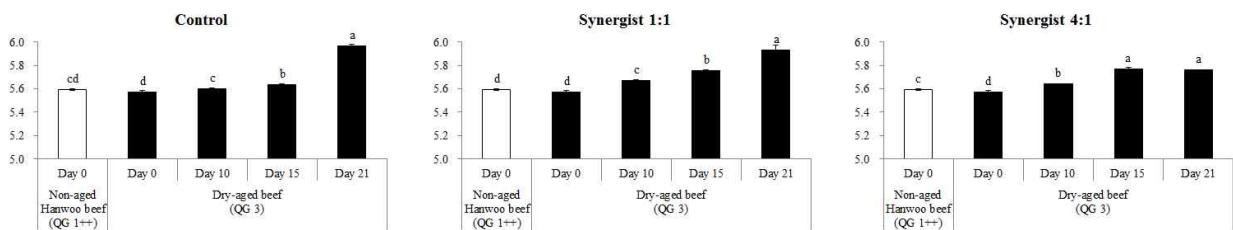


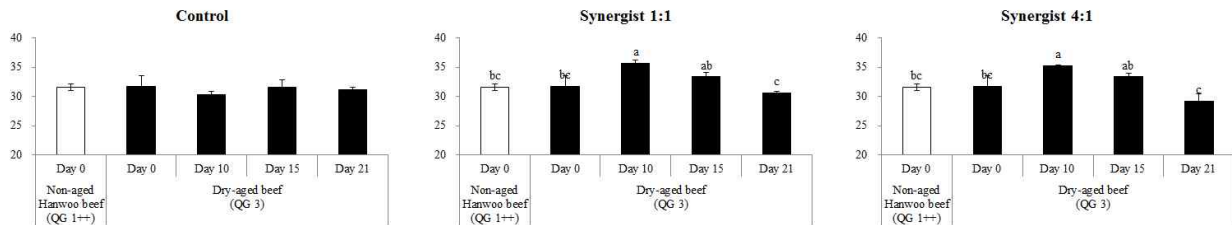
그림 21. 1⁺⁺등급 한우육과 시너지스트 접종 후 건식숙성한 3등급 우육 간 pH 비교

- pH

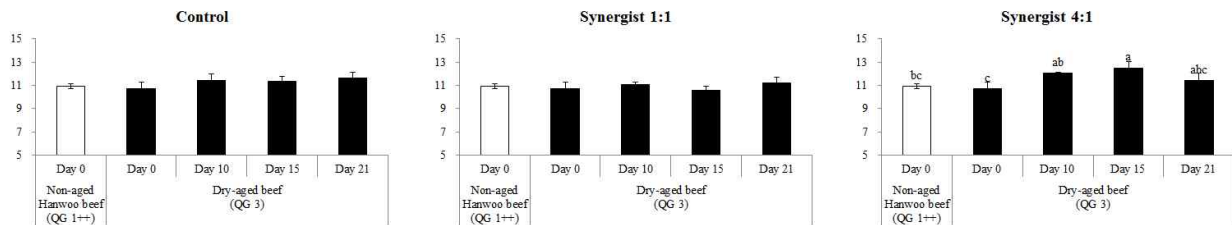
- 고등급 한우육과 건식숙성한 3등급 육우 간 pH 값을 비교해본 결과, 건식숙성 10일까지 두 처리군간 유의적 차이는 보인 반면 건식숙성 15일 후부터 유의적으로 다른 pH 값을 나타내었음(그림 21a). 이는 건식숙성 중 우육의 pH가 숙성기간이 지남에 따라서 유의적으로 증가하였기 때문인 것으로 사료되며 숙성 중 미생물 생장에 따른 펩타이드, 아미노산, 암모니아 등의 생성이 pH 증가에 영향을 미치는 것으로 보고된 바 있음. 시너지스트(곰팡이/효모)를 1:1로 접종 후 건식숙성 하였을 때 pH의 변화는 건식숙성 대조군과 비슷한 경향을 보였으며

4:1로 접종 시 15일까지 유의적 변화를 보였으나 그 이후의 증가는 보이지 않았음(그림 21b 및 21c). 이는 곰팡이 비율이 높음에 따라 곰팡이가 생성한 산들이 증가하여 proteolysis에 의한 pH의 증가의 속도가 감소한 것으로 사료됨.

(a) CIE L^*



(b) CIE a^*



(c) CIE b^*

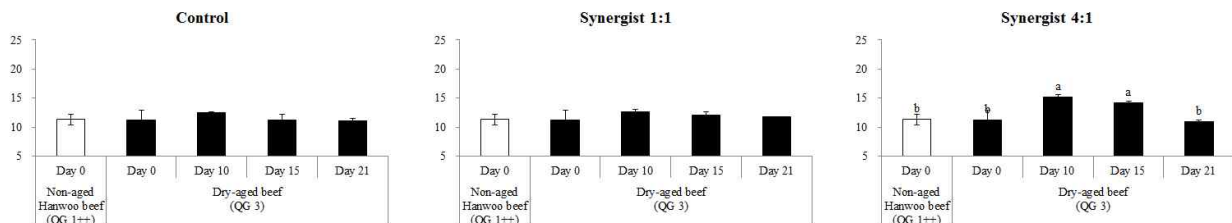


그림 22. 1⁺⁺등급 한우육과 시너지스트 접종 후 건식숙성한 3등급 우육 간 육색 비교

- 육색

- 숙성하지 않은 고등급 한우육과 건식숙성육의 육색을 비교한 결과, 처리군간 유의적 차이는 없었음(그림 22). 곰팡이 및 효모를 1:1로 접종한 후 건식숙성 시 건식숙성 대조군과 비슷한 경향을 보였으나 4:1 접종군에서는 건식숙성 10-15일 후 명도(CIE L^*), 적색도(CIE a^*) 및 황색도(CIE b^*)가 전반적으로 높아지는 경향을 보였음. 다만, 기기적 측정 상 차이는 있었으나 그 수치가 미미하여 외관 상 차이는 나타나지 않았음.

(a) 건식숙성 대조군

(b) 곰팡이/효모(1:1) 접종군

(c) 곰팡이/효모(4:1) 접종군

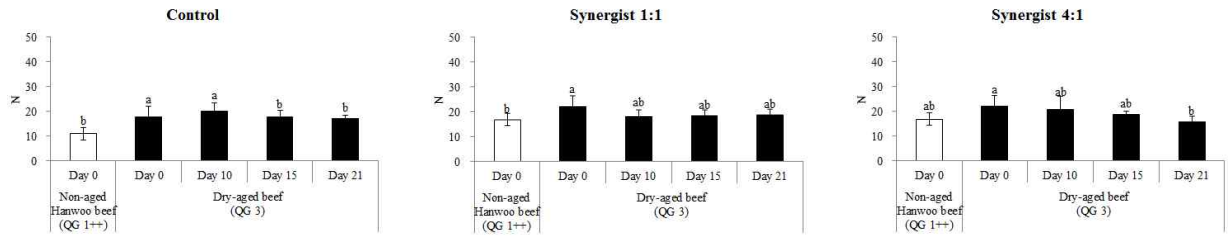


그림 23. 1⁺⁺등급 한우육과 시너지스트 접종 후 건식숙성한 3등급 우육 간 전단력(N) 비교

- 전단력

- 숙성 전 3등급 우육의 전단력은 고등급 한우육에 비해 유의적으로 높았던 반면 건식숙성 15일 후 한우육과 비슷한 수준의 전단력 수치를 나타내었음(그림 23a). 또한, 시너지스트 (곰팡이 및 효모)를 접종하였을 때, 미생물 비율과 관계없이 건식숙성 10일 후부터 전단력 수치가 고등급 한우육과 유의적으로 비슷하였음(그림 23b 및 23c). 본 연구를 통하여 저등급·저지방 우육을 건식숙성 시 고등급과 비슷한 수준까지 연도를 증진할 수 있음을 확인하였으며 시너지스트 적용 시 연도 증진에 필요한 숙성기간의 단축이 가능할 것으로 사료됨.

표 34. 1⁺⁺등급 한우육과 시너지스트 접종 후 21일동안 건식숙성한 3등급 우육 간 조직감 비교

	1 ⁺⁺ 등급 한우육	3등급 우육	3등급 우육 이용 건식숙성군			SEM [†]
			대조군	시너지스트1:1	시너지스트4:1	
Hardness (N)	91.84 ^c	219.98 ^b	229.50 ^b	256.88 ^{ab}	284.67 ^a	8.516
Adhesiveness (N)	0.80 ^b	8.47 ^a	0.58 ^b	-0.08 ^b	0.72 ^b	0.351
Springiness	0.33 ^c	0.57 ^b	0.58 ^b	0.65 ^a	0.62 ^a	0.007
Gumminess (N)	24.42 ^d	108.31 ^c	160.78 ^{bc}	252.70 ^a	170.18 ^b	12.320
Chewiness (N)	8.18 ^d	62.20 ^c	93.64 ^{bc}	164.22 ^a	105.96 ^b	7.681
Cohesiveness	0.27 ^c	0.49 ^{bc}	0.71 ^{ab}	0.98 ^a	0.60 ^b	0.059

[†]Standard error of means (n= 15).

^{a-d}The letters within the same row were significantly different (P<0.05).

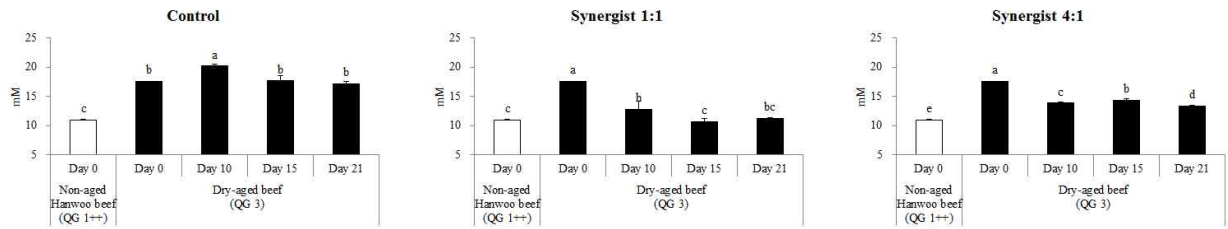
- 조직감

- 시너지스트 접종 및 건식숙성 모두 3등급 우육의 조직감 개선에 큰 영향을 주지는 않았음 (표 34). 오히려 시너지스트 접종 시 hardness, springiness, gumminess, chewiness, cohesiveness 등 대부분의 항목에서 건식숙성 대조군에 비해 유의적으로 높은 결과를 보였음.

(a) 건식숙성 대조군

(b) 곰팡이/효모(1:1) 접종군

(c) 곰팡이/효모(4:1) 접종군

그림 24. 1⁺⁺등급 한우육과 시너지스트 접종 후 건식숙성한 3등급 우육 간 환원당(mM) 비교

- 환원당

- 3등급 우육 내 환원당 함량이 한우육에 비해 유의적으로 더 높았으며(그림 24a) 이는 지방의 함량이 높은 고등급일수록 환원당 함량이 낮았던 기존의 연구와 유사한 결과임(data not shown). 또한, 3등급 우육을 건식숙성 시 환원당 함량은 10일까지 유의적으로 증가하다가 다시 감소하는 경향을 보였음. 이는 숙성 중 당 함량이 증가하다(Koutsidis 등, 2008) 미생물의 급격한 성장에 따라서 당이 소비되어 다시 감소하는 경향을 보였던 것으로 사료됨. 반면, 시너지스트를 접종한 다음에 건식숙성 하였을 시 건식숙성 대조군과 다른 경향을 보였음(그림 24b 및 24c). 미생물 비율과 관계없이 접종 후 건식숙성 시 환원당 함량은 유의적으로 감소하는 결과를 보였고 이는 곰팡이 및 효모 성장에 따른 당 소비가 원인인 것으로 사료됨.

표 35. 1⁺⁺등급 한우육과 시너지스트 접종 후 21일동안 건식숙성한 3등급 우육 간 유리 지방산(mg/g) 비교

	1 ⁺⁺ 등급 한우육	3등급 우육	3등급 우육 이용 건식숙성군			SEM ¹
			대조군	시너지스트 1:1	시너지스트 4:1	
C12:0	0.07 ^b	0.05 ^b	0.07 ^b	0.13 ^a	0.13 ^a	0.008
C14:0	1.39 ^b	0.58 ^b	0.92 ^b	2.55 ^a	2.41 ^a	0.183
C14:1	0.54 ^{bc}	0.18 ^d	0.29 ^{cd}	0.90 ^a	0.76 ^{ab}	0.074
C15:0	0.15 ^b	0.12 ^b	0.11 ^b	0.31 ^a	0.32 ^a	0.024
C16:0	14.29 ^b	9.15 ^b	12.12 ^b	35.26 ^a	37.15 ^a	1.495
C16:1	1.89 ^b	0.75 ^b	1.61 ^b	4.12 ^a	4.00 ^a	0.248
C17:0	0.46 ^b	0.36 ^b	0.28 ^b	0.91 ^a	0.95 ^a	0.079
C18:0	5.96 ^b	4.37 ^b	5.10 ^b	11.08 ^a	11.71 ^a	0.503
C18:1n9c	16.77 ^b	6.83 ^b	11.46 ^b	30.51 ^a	30.00 ^a	2.185
C18:2n6c	0.90	0.93	1.28	1.86	1.98	0.242
C18:3n3	0.08 ^b	0.04 ^b	0.06 ^b	0.22 ^a	0.21 ^a	0.010
C20:3n6	0.13 ^c	0.20 ^c	0.58 ^b	1.11 ^a	0.70 ^b	0.068
C21:0	0.05 ^{ab}	0.04 ^b	0.04 ^b	0.07 ^a	0.07 ^a	0.005

C21:1	0.04 ^b	0.03 ^b	0.03 ^b	0.09 ^a	0.09 ^a	0.004
C22:0	0.14 ^b	0.16 ^b	0.44 ^a	0.17 ^b	0.47 ^a	0.026
Total	52.23 ^b	23.84 ^c	34.43 ^{bc}	89.36 ^a	91.03 ^a	4.889

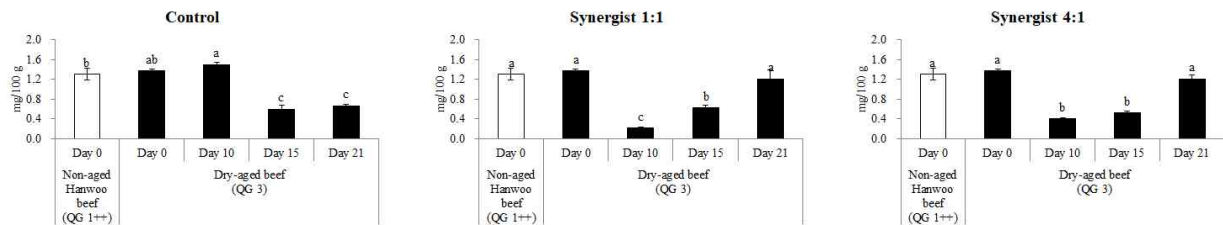
[†]Standard error of means (n= 15).

^{a-c}The letters within the same row were significantly different (P<0.05).

- 유리지방산

- 본 실험 결과, 건식숙성 전·후 3등급 우육의 총 유리지방산 함량은 고등급 한우육에 비해 유의적으로 낮거나 비슷하였으나 시너지스트(곰팡이/효모)를 접종 후 건식숙성을 하였을 때는 미생물 비율과 상관없이 유의적으로 가장 높은 수준의 유리지방산 함량을 나타내었음(표 35). 특히, 한우육의 풍미에 주요한 영향을 미치는 것으로 알려진 올레산(C18:1n9C)가 시너지스트를 접종한 후 건식숙성 하였을 때 고등급 한우육에 비해 2배 정도 더 높은 함량을 보였고 이는 시너지스트 적용 건식숙성육의 풍미에 긍정적 영향을 미칠 것으로 사료됨.

(a) GMP



(b) IMP

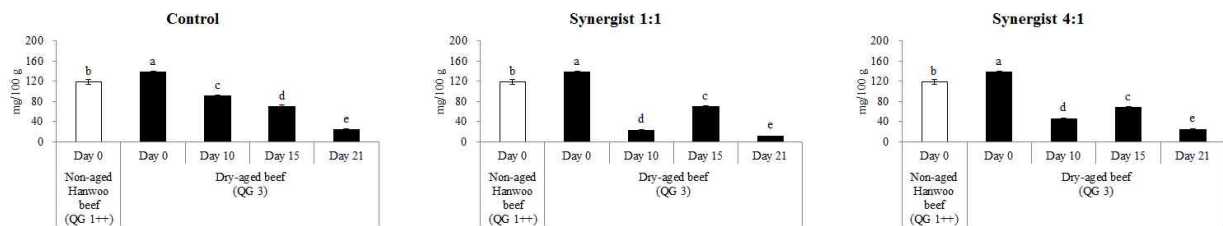


그림 25. 1⁺⁺등급 한우육과 시너지스트 접종 후 건식숙성한 3등급 우육 간 핵산관련물질(mg/100 g) 비교

- 핵산관련물질

- GMP 및 IMP는 감칠맛에 영향을 미치는 식육 내 중요한 풍미관련물질 중 하나임. 본 실험에서 고등급 한우육과 건식숙성한 3등급 우육의 GMP 함량을 측정해본 결과, 건식숙성 15일 이후 GMP 함량이 고등급 한우육에 비해 유의적으로 낮아짐을 확인하였으나 시너지스트(곰팡이/효모)를 접종한 후 건식숙성한 처리군들의 GMP 함량은 10일 이후 점차 증가하

여 21일에는 한우육과 비슷한 수준의 GMP 함량을 보였음(그림 25a). 또한, 고등급 한우육에 비해 건식숙성 전 3등급 우유이 지방을 적게 함유하고 있음에 따라 유의적으로 높은 IMP를 함유하고 있었으나 숙성과정 중 degradation됨에 따라 감소하는 경향을 보였음(그림 25b). 다만, 기간이 지남에 따라서 유의적인 변화를 보였던 건식숙성 대조군과 달리 시너지스트 접종군들은 건식숙성 15일 후 증가했다가 다시 감소하는 결과를 나타내었음.

- 관능평가

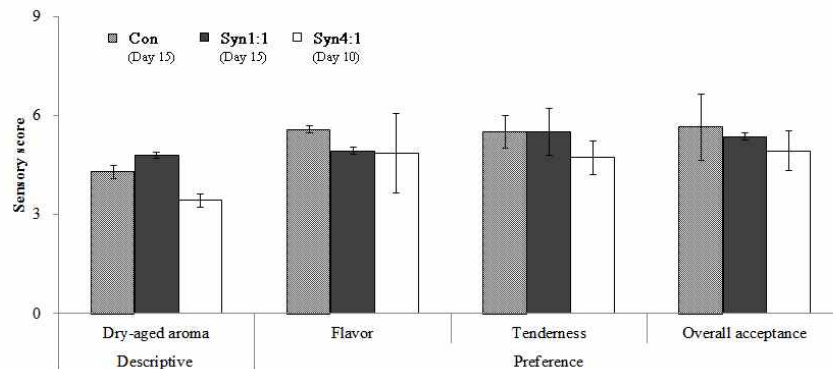


그림 26. 시너지스트 접종 후 건식숙성한 3등급 우유 간 관능평가

Con - 15일간 건식숙성한 시너지스트 미접종군

Syn1:1 - 15일간 건식숙성한 시너지스트1:1 접종군(곰팡이1:효모1)

Syn4:1 - 10일간 건식숙성한 시너지스트4:1 접종군(곰팡이4:효모1)

- 각 시너지스트별 관능평가 결과 대조군 및 시너지스트1:1 접종군의 경우 건식숙성 후 15일에 시너지스트4:1 접종군이 경우 건식숙성 후 10일에 종합적 기호도가 가장 우수하였으며 이에 따라 본 실험에서 15일간 건식숙성한 대조군 및 시너지스트1:1 접종군과 10일간 건식숙성한 시너지스트 4:1 접종군에 대한 관능평가를 수행하였음. 분석 결과, 건식숙성 향 및 풍미, 연도, 종합적 기호도 모든 항목에서 세 처리군간 유의적 차이는 없었음. 본 결과로 보았을 때, 시너지스트4:1 활용 시 숙성기간을 최소 5일 이상 단축할 수 있을 것으로 사료됨.

< 3차년도 >

① 연구내용 및 방법

(1) 고품질 건조숙성 우유 보급을 위한 안전생산 관리방안 제시

- 시료 준비

- 상기의 실험은 포장방법(랩 포장 및 진공포장)별로 3배치로 진행하였으며 각 배치마다 3개씩 총 9개의 채끝등심을 사용하였음. 준비한 시료는 28일 동안 건식숙성(온도 4°C, 습도 75%, 풍속 2.5 m/s)하여 외부 크러스트를 제거한 후 12.7 × 7.6 × 2.54 cm³ 크기로 잘라 랩 포장 및 진공포장을 완료함. 이후 랩 포장한 시료는 7일 동안 진공포장한

시료는 21일 동안 4°C에서 냉장저장하며 미생물 분석을 수행하였음.

- 호기성 미생물

- 약 5 g의 시료에 멸균된 식염수(0.85% NaCl)을 첨가하여 bag mixer(BagMixer 400 P, Interscience, France)로 2분 동안 균질함. 균질한 시료는 멸균식염수를 이용하여 10진 희석법으로 희석한 후 100 μ L를 plate count agar(Difco Laboratories, USA)에 도말하였음. 호기성 미생물 수는 37°C에서 48시간 동안 배양한 후 계수하였으며 log CFU/g으로 표기하였음.

- 대장균

- 상기와 동일한 방법으로 희석한 시료를 3M™ Petrifilm™에 도말하였음. 도말한 시료는 37°C에서 48시간 동안 배양한 후 젖산균 수를 계수하였으며 log CFU/g으로 표기하였음.

- 효모 및 곰팡이

- 희석한 시료를 YM agar(Difco Laboratories, USA)에 도말한 후 25°C에서 120시간 동안 배양한 후 계수하였음. 효모 및 곰팡이 수는 log CFU/g으로 표기함.

- 젖산균

- 상기와 동일한 방법으로 희석한 시료를 de man, rogosa and sharpe agar(Difco Laboratories, USA)에 도말하였음. 도말한 시료를 37°C에서 48시간 동안 배양한 후 젖산균 수를 계수하였으며 log CFU/g으로 표기하였음.

(2) 건조 숙성 우육의 최적 숙성 후 포장 및 유통 조건 (포장방법, 유통온도 등) 제시

- pH

- 상기 42쪽과 동일한 방법으로 수행하였음.

- 휘발성 염기태 질소

- 시료 3 g에 증류수 27 mL을 첨가하여 1분 동안 균질한 후 원심분리(2,265 \times g for 10 min; Continent 512R, Hanil Co. Ltd., Korea)하고 Whatman No. 4 여과지로 여과하였음. 여과액 1 mL을 Conway unit 외실 한쪽에 넣고 내실에는 0.01 N boric acid 와 Conway reagent(0.066% methyl red:bromocresol green in ethanol = 1:1)을 넣어 준 후 다른 한쪽의 외실에 50% potassium carbonate 1 mL을 넣고 즉시 밀폐하여 섞어주었음. 이후 37°C에서 2시간 동안 방치 후 0.01 N hydrochloric acid으로 적정 하여 휘발성 염기태 질소의 함량을 측정하였음.

- 지방산패도

- 시료 3 g에 9 mL 증류수 및 50 μ L butylated hydroxyl toluene (7.2%, Sigma-Aldrich, USA)를 첨가 후 균질하였음. 균질액 1 mL을 시험관에 넣고 20 mM 2-thiobarbituric acid (Sigma-Aldrich) in 15% trichloroacetic acid (Sigma-Aldrich, USA) 2 mL을 혼합 후

항온수조(90°C)에서 30분동안 가열하였음. 냉각 후 원심분리(2,265 g, 15 min, HM-150IV, Hanil Co. Ltd., Korea)하여 분광광도계(X-ma 3100, Human Co. Ltd. Korea)를 이용하여 532 nm에서 흡광도를 측정하였음. 지방산패도의 값은 mg malondialdehyde/kg sample으로 표시하여 나타냄.

- 육색

- 상기 42쪽과 동일한 방법으로 측정하였음.

- 마이오글로빈 함량 및 조성

- 마이오글로빈 함량 및 조성은 Krzywicki(1979)의 방법에 따라서 측정하였음. 시료 4 g에 0.4 M phosphate buffer(pH 6.8) 20 mL을 첨가하여 균질 후 4°C 암실에서 1시간동안 방치하였음. 준비된 시료는 원심분리(5,000 g, 30 min, Combi 514R, Hanil Co. Ltd., Korea)하여 Whatman No. 1 여과지를 이용하여 여과 후 525, 572, 그리고 700 nm에서 상층액의 흡광도를 측정하였음(X-ma 3100, Human Co. Ltd., Korea).

- 조직감

- 상기 43쪽에 기재된 방법을 이용하여 경도, 탄력성, 씹힘성, 응집성 등을 측정하였음.

- Proteolysis index

- 단백질 질소의 측정을 위하여 Kjeldahl 법(1978)을 이용하였으며 비단백태 질소의 측정을 위하여 Pérez-Santaescolástica 등(2018)의 방법을 이용해 추출하였음. 시료 2.5 g에 3차증류수 25 mL을 첨가하여 약 30초동안 균질하였음(T10 basic, Ika Works). 균질한 시료는 원심분리(252 g, 20 min; Continent 512R, Hanil Co. Ltd.) 후 Whatman No. 4 여과지에 이용하여 여과 후 상층액에 10% trichloroacetic acid를 첨가하여 1시간동안 방치하였음. 이후 준비된 시료는 다시 원심분리(1,734 g, 10 min; Continent 512R, Hanil Co. Ltd., Korea)하였으며 상층액을 이용하여 비단백태 질소의 함량을 측정하였음. 측정한 단백질 질소 및 비단백태 질소의 함량을 이용하여 proteolysis index를 계산하였음.

$$\text{Proteolysis index(\%)} = \left(\frac{\text{비단백태 질소 함량}}{\text{단백태 질소 함량}} \right) \times 100$$

- 유리아미노산

- 상기 44쪽과 동일한 방법으로 분석하였음.

- 관능평가

- 소비자 기호도법을 이용해 시료간 관능적 차이를 평가하였음. 식육 관능검사에 경험이 있는 패널 8명을 선발하였으며, 일정한 크기 (2 × 4 cm²)로 세절하여 준비한 시료를 육내 심부 온도가 72°C에 도달될 때까지 조리한 다음 각 패널에게 제시하였음. 관능평가는 총 3회 실시되었으며, 9점 척도법을 이용하여 외관, 향, 맛, 풍미, 연도, 다즙성 및 종합적 기호도를 평가하였음.

(3) 건식숙성 후 크러스트의 기능성 평가

- 시료 준비

- 도축 직후의 소고기 채끝(육우, 3등급) 9수를 구입함. 구입한 시료 중 3수는 신선육 시료로 이용하였으며 각 3수씩 28일 동안 습식숙성(진공포장 후 온도 4°C) 또는 건식숙성(온도 4°C, 습도 75%, 풍속 2.5 m/s)함. 건식숙성 후 외부 크러스트는 트리밍(trimming)하여 채취되었으며 크러스트와 건식숙성육(건식숙성 후 내부육), 습식숙성육, 신선육 모두 동결건조를 완료하였음. 동결건조 후 시료 1 g에 sodium phosphate butter(containing 2% sodium dodecyl sulfate) 10 mL을 첨가하여 균질하였음. 균질한 시료는 원심분리(1,500 g, 15 min; Continent 512R, Hanil Co. Ltd., KOREA) 후 Whatman No. 4 여과지에 여과하여 시료의 추출을 완료함.

- 항산화능

- DPPH 라디칼 측정을 위하여 추출한 시료 200 μ L에 800 μ L의 증류수와 methanol에 용해시킨 0.2 mM DPPH를 첨가하여 혼합 후 상온에서 30분간 반응함. 반응의 종료된 시료는 원심분리(2,268 g 10 min ; Continent 512R, Hanil Co. Ltd., Korea) 후 상등액을 이용하여 517 nm에서 흡광도를 측정함. 측정된 흡광도는 아래의 공식에 적용하여 DPPH 라디칼 소거능(%)을 계산하였음.

$$\text{DPPH 라디칼 소거능(\%)} = [1 - (\text{시료 첨가 시 흡광도} / \text{증류수(대조군) 첨가 시 흡광도})] \times 100$$

- 2,2'-Azino-di-(3-ethylbenzthiazoline sulfonate)(ABTS+) 라디칼 소거능 측정을 위해 7 mM ABTS와 2.45 mM potassium persulphate를 1:1(v/v)로 혼합하여 ABTS+ 용액을 제조함. 제조한 ABTS+ 용액은 사용 전 약 16시간 동안 암실에서 실온 저장 후 734 nm에서 흡광도가 0.70 ± 0.02 가 되도록 ethanol로 희석하여 실험에 사용함. 추출 시료 20 μ L에 ABTS+ 용액 3 mL을 첨가하여 30°C에서 5분간 반응한 후 원심분리(2,268 g 5 min; Continent 512R, Hanil Co. Ltd., Korea)하여 734 nm에서 흡광도를 측정하였음. ABTS+ 라디칼 소거능은 다음의 식을 이용하여 계산함.

$$\text{ABTS 라디칼 소거능(\%)} = [(A_B - A_S) / A_B] \times 100$$

A_B = 증류수(대조군) 첨가 시 흡광도

A_S = 시료 첨가 시 흡광도

- 환원력(reducing power) 측정을 위하여 300 mM acetate buffer(pH 3.6), 10 mM 2,4,6-tris-(2,4,6-tripyridyl)-2-triazine in 40 mM hydrochloric acid 및 20 mM ferric chloride solution을 10:1:1로 혼합 후 37°C에서 30분간 반응하여 시약을 제조함. 추출 시료 1 mL에 시약 3 mL을 첨가하여 5분간 암실에 방치 후 원심분리(2,268 g 5 min; Continent 512R, Hanil Co. Ltd., Korea)함. 원심분리 후 593 nm에서 상등액의 흡광도를 측정함.

- 추출 시료 0.5 mL에 2 mM ferrous chloride 50 μ L를 첨가한 후 5 mM ferrozine 0.1 mL 및 ethanol 3.2 mL를 넣어 상온에서 10분간 반응을 완료함. 반응을 완료한 시료는 원심분리(2,268 g 5 min ; Continent 512R, Hanil Co. Ltd., Korea)한 후 562 nm에서 흡광도를 측정하여 금속 킬레이트 효과를 계산함.

$$\text{금속 킬레이트 효과(\%)} = [1 - (A_B - A_S) / A_B] \times 100$$

A_B = 증류수(대조군) 첨가 시 흡광도

A_S = 시료 첨가 시 흡광도

- 항고혈압능

- 항고혈압능은 angiotensin converting enzyme(ACE)의 저해효과를 측정하였음(Park 등, 2018). 추출 시료 10 mL에 30 μ L hippuryl-L-histidyl-L-leucine(12.5 mM in 0.1 M sodium borate buffer)를 첨가하여 37°C에서 10분, 30 μ L ACE 가수분해물을 첨가하여 다시 37°C에서 30분간 반응시킨 후 50 μ L hydrochloric acid를 첨가하여 반응을 종료함. 반응이 종료된 시료에 ethyl acetate 300 μ L를 첨가 후 원심분리(1,000 g, 15 min; Continent 512R, Hanil Co. Ltd., Korea)함. 상등액 1 mL을 취해 70°C에서 1시간 반응시킨 후 증류수에 녹여 228 nm에서 흡광도를 측정함. 측정된 흡광도는 아래의 공식에 적용하여 ACE 저해효과(%)를 계산하였음.

$$\text{ACE 저해효과(\%)} = [1 - (A_S - A_{SB}) / (A_C - A_{CB})] \times 100$$

A_S = 시료 첨가 시 반응종료 후 흡광도

A_{SB} = 시료 첨가 시 흡광도

A_C = 증류수(대조군) 첨가 시 반응종료 후 흡광도

A_{CB} = 증류수(대조군) 첨가 시 흡광도

- SDS-page 분석

- Park 등(2018)의 방법으로 신선육 및 크러스트 내 근원섬유 단백질을 추출하였음. 추출한 단백질은 12.5% polyacrylamide 겔을 이용하여 전기영동 하였으며 전기영동 후 겔은 0.1% Coomassie Brilliant Blue R-250 solution으로 염색 후 관찰함.

- 저분자 펩타이드(< 3 kDa) 분석

- 각 시료 1 g에 30% acetonitrile 9 mL을 첨가 후 1분간 균질하였음. 균질한 시료는 Amicon® ultra centrifugal filters(Ultracel® - 3K, Merck Millipore Ltd., USA)에 여과하여 3 kDa 미만의 저분자 펩타이드를 추출하였음. 추출한 시료는 triple TOF 5600® Q-TOF LC/MS/MS(AB Sciex, USA)를 이용하여 분석하였으며 분석한 조건은 다음과 동일함.

표 36. LC/MS/MS 분석조건

Time	Eluent A,	Eluent B,
------	-----------	-----------

(min)	DDW w/ 0.1% formic acid (%)	Acetonitrile w/ 0.1% formic acid (%)
0	95	5
1	95	5
16	0	40
18	0	100
20	95	100
21	95	5
26	95	5

(4) 크러스트 첨가 육제품 제조

- 시료 준비

- 육우 소고기 채끝을 28일 동안 건식숙성(온도 4°C, 습도 75%, 풍속 2.5 m/s)한 후 외부 크러스트를 동결건조함. 동결건조를 완료한 시료는 파우더화(< 2 mm) 하여 아래 표와 같이 소고기 패티의 제조에 이용하였음. 또한, 소고기 패티에 크러스트를 첨가하였을 때 대조군과 수분의 차이로 인한 물리화학적 및 관능적 영향을 보완하기 위해 대조군 내 수분의 함량을 계산하여 처리군의 수분 함량을 조정함.

표 37. 크러스트 첨가량에 따른 소고기 패티 제조(g)

Addition of crust (%)	Lean beef	Beef fat	Salt	Water	Crust
0	2,400	600	9	-	-
5	2,250	600	9	105	45

- 호기성 미생물

- 상기 73쪽과 동일한 방법으로 측정하였음.

- 조직감

- 조직감 분석은 상기 43쪽과 동일한 방법으로 수행하였음.

- 지방산패도

- 지방산패도는 상기 73쪽에 기재된 방법으로 측정하였음.

- 전자코

- 상기 44쪽과 동일한 방법으로 분석하였음.

- 관능평가
 - 상기 44쪽과 동일한 방법으로 관능평가를 수행하였음.

② 연구결과

(1) 고품질 건조숙성 우육 보급을 위한 안전생산 관리방안 제시

○ 랩 포장

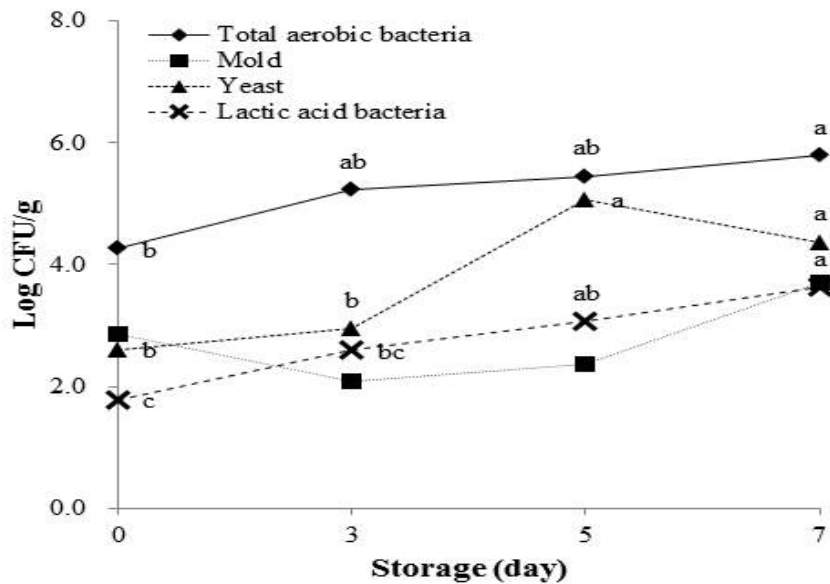


그림 27. 랩 포장 후 유통 중 건조숙성육의 일반미생물 수 변화(log CFU/g)

- 호기성 미생물

- 건조숙성 직후 호기성 미생물의 수는 4.26 log CFU/g으로 7일 동안 유의적 성장을 보임을 확인하였음(그림 27). 2018년 이후부터 식약처에 고시되어 있는 지침(식약처, 2018)에 따르면 식육 내 호기성 미생물은 6 log CFU/g 미만으로 제한되어 있음. 이를 기준으로 할 때 랩 포장한 건조숙성육은 4°C에서 약 7.5일까지 저장이 가능할 것으로 사료됨. 분석 결과, 랩 포장 시 호기성 미생물 생장은 효모, 향, 맛, 종합적 기호도와 음의 상관성을 젖산균 및 휘발성 염기태 질소의 함량과 양의 상관성을 가지는 것으로 확인하였음(표 38).

- 대장균

- 대장균은 대표적인 위생지표세균으로 랩 포장 후 7일 동안 검출되지 않았음.

- 효모 및 곰팡이

- 현재까지 효모 및 곰팡이와 관련한 법적인 기준은 고시된 바 없음. 건조숙성 직후 효모 및 곰팡이의 수는 각각 2.60, 2.86 log CFU/g이었으며 효모는 냉장저장 5일 이후 유의적

으로 증가한 경향을 보인 반면, 곰팡이는 저장기간 동안 유의적인 변화를 보이지 않았음(그림 27). 상관관계 분석 결과, 효모의 생장이 젖산균, 휘발성 염기태 질소와 음의 상관성을 향, 맛, 종합적 기호도와 양의 상관성을 보임(표 38). 즉, 건식숙성 시 건식숙성육의 관능적 품질에 효모의 생장의 유의미한 영향을 미치는 것으로 사료됨.

- 젖산균

- 건식숙성 직후 젖산균은 1.78 log CFU/g으로 랩 포장 후 냉장저장 5일 시 유의적으로 증가하였음(그림 27). 분석 결과, 젖산균은 휘발성 염기태 질소와 양의 상관성을 맛 및 종합적 기호도와 음의 상관성을 가지는 것으로 확인하였음(표 38).

표 38. 랩 포장한 건식숙성육의 유통 중 미생물 성장과 품질 지표간의 상관관계¹⁾

	TAB	Mold	Yeast	LAB	pH	VBN	TBARS	L*	a*	b*	Chroma	Hue-angle	Appearance	Odor	Taste	Overall acceptance
TAB	1	0.18	-0.63*	0.97***	0.10	0.88**	-0.11	-0.49	-0.45	-0.26	-0.39	0.24	-0.46	-0.60*	-0.66*	-0.79*
Mold		1	-0.54	0.40	0.20	0.06	-0.05	0.07	0.18	0.29	0.22	0.24	-0.12	0.01	-0.01	-0.20
Yeast			1	-0.73*	-0.30	-0.61*	0.11	0.17	0.28	0.05	0.19	-0.48	0.43	0.69*	0.69*	0.72**
LAB				1	0.14	0.84**	-0.12	-0.44	-0.41	-0.21	-0.34	0.27	-0.47	-0.56	-0.65*	-0.82*

¹⁾TAB, total aerobic bacteria; LAB, lactic acid bacteria; VBN, volatile basic nitrogen; TBARS, 2-thiobarbituric acid-reactive substances.

○ 진공포장

- 호기성 미생물

- 건식숙성 직후 호기성 미생물 수는 4.4 log CFU/g으로 진공포장하여 냉장저장 14일 후 유의적 변화를 보였으며 이 때 법적 기준으로 고시되어 있는 6.0 log CFU/g가 초과하는 결과를 보였음(그림 28).

- 대장균

- 대장균은 검출되지 않았음.

- 효모 및 곰팡이

- 28일 동안 건식숙성 후 초기 효모 및 곰팡이의 수는 각각 5.9, 3.6 log CFU/g으로 확인하였음(그림 28). 진공포장함에 따라 냉장저장 14일 후 효모, 21일 후 곰팡이가 유의적으로 감소한 것으로 사료됨. 단, 효모는 21일에 다시 유의적 증가를 보였음.

- 젖산균

- 건식숙성 직후 젖산균의 수는 2.4 log CFU/g이며 냉장저장 7일 후 유의적인 증가를 보였음(그림 28). 이는 혐기적 조건에서 잘 자라는 젖산균의 특성과 관련된 것으로 사료됨.

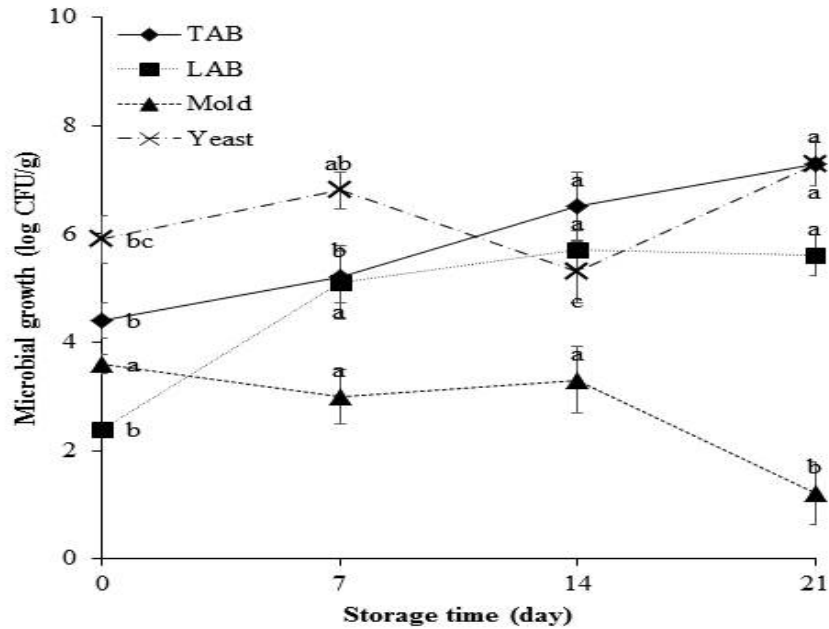


그림 28. 진공포장 후 유통 중 건식숙성육의 일반미생물 수 변화(log CFU/g)¹⁾

¹⁾TAB, total aerobic bacteria; LAB, lactic acid bacteria.

(2) 건조 숙성 우육의 최적 숙성 후 포장 및 유통 조건 (포장방법, 유통온도 등) 제시

○ 랩 포장

- pH

- 랩 포장 후 7일 동안 건식숙성육을 유통 시 pH 값에 유의적 차이는 보이지 않았음.

- 휘발성 염기태 질소

- 건식숙성 직후 휘발성 염기태 질소의 함량은 66.14 mg%로 기존에 알려진 일반 신선육의 기준(< 20 mg%; Lee et al., 2018)보다 높음. 랩 포장 시 저장 3일 후 유의적 증가를 보였으며 L*, a*, chroma 값 및 향, 맛, 종합적 기호도 등과 음의 상관성이 있음을 확인함.

- 지방산패도

- 건식숙성육의 지방산패도는 건식숙성 완료 직후 1.57 mg MDA/kg meat으로 높은 수치를 보였음. 이는 건식숙성 과정 중 식육이 외부에 노출됨에 따라 발생한 것으로 사료되며 냉장저장 동안 추가적인 유의적 변화는 보이지 않았음. 유통 중 건식숙성육의 다른 품질 특성파도 유의적인 상관성을 보이지 않았음.

표 40. 랩 포장 후 유통 중 건식숙성육의 pH, 휘발성 염기태 질소(mg%), 지방산패도(mg MDA/kg meat) 변화

Traits ¹⁾	Storage (day)				SEM ²⁾
	0	3	5	7	
pH	5.75	5.69	5.81	5.74	0.075
VBN	66.14 ^b	83.26 ^a	85.60 ^a	89.49 ^a	1.946
TBARS	1.57	1.52	1.62	1.43	0.168

¹⁾VBN, volatile basic nitrogen; TBARS, 2-thiobarbituric acid-reactive substance; MDA, malondialdehyde.

²⁾Standard error of the means (n = 12).

^{a,b}Different letters within the same row indicate a significant difference (p < 0.05).

- 육색

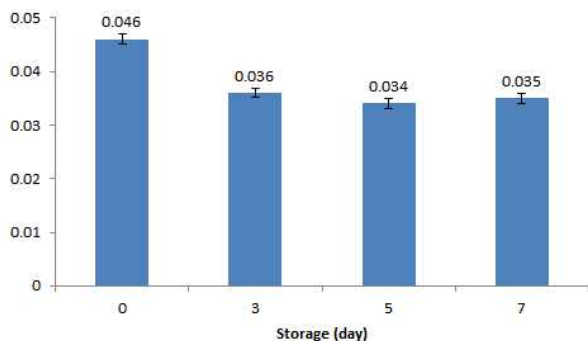
표 41. 랩 포장 후 유통 중 건식숙성육의 육색 변화

Traits	Storage (day)				SEM ¹⁾
	0	3	5	7	
CIE <i>L</i> *	41.99 ^a	36.33 ^b	38.78 ^{ab}	37.22 ^{ab}	1.185
CIE <i>a</i> *	15.05 ^a	8.09 ^b	9.54 ^{ab}	10.59 ^{ab}	1.267
CIE <i>b</i> *	10.60 ^a	4.57 ^b	7.13 ^{ab}	8.19 ^{ab}	1.021
Chroma	18.43 ^a	9.33 ^b	12.02 ^{ab}	13.45 ^{ab}	1.548
Hue-angle	35.06 ^a	28.39 ^b	37.79 ^{ab}	37.71 ^{ab}	2.335

¹⁾Standard error of the means (n = 12).

^{a-c}Different letters within the same row indicate a significant difference (p < 0.05).

(a) 마이오글로빈 함량(mM/L)



(b) 마이오글로빈 조성(%)

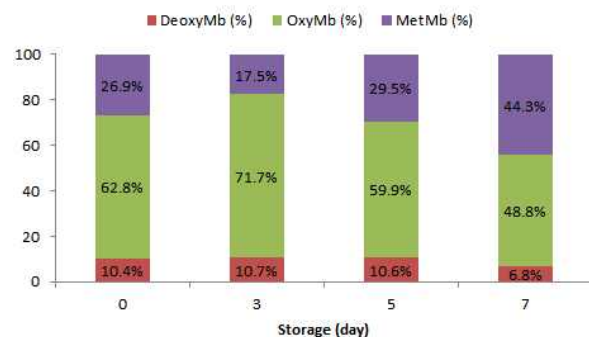


그림 29. 랩 포장 후 유통 중 건식숙성육의 마이오글로빈 함량(mM/L) 및 조성(%) 변화

· 랩 포장한 건식숙성육을 냉장저장하며 육색 변화를 관찰한 결과, 저장 3일 후 명도(L*,

lightness), 적색도(a*, redness) 및 황색도(b*, yellowness) 모두 낮아지는 경향을 확인함. 그 이후로는 큰 변화를 보이지 않았음. 랩 포장 후 유통 시 3일차에 육색의 변화는 마이오글로빈 함량과 관련한 것으로 사료됨. 건식숙성 직후 마이오글로빈 함량은 0.046 mM/L에서 냉장저장 3일 후 0.036 mM/L로 유의적 감소를 보임.

- 관능평가

- 랩 포장 후 유통 중 건식숙성육의 외관은 유의적 변화를 보이지 않았음. 단, 냉장저장 5일 후 향, 맛 등의 항목에서 유의적 감소를 보였으며 종합적 기호도의 경우 3일차에 유의적 감소를 나타내었음. 단, 이후에도 보통 이상(< 5 point)의 관능적 품질을 보임에 따라서 3일 이후에도 우수한 품질의 건식숙성육의 제공이 가능한 것으로 사료됨.

표 42. 랩 포장 후 유통 중 건식숙성육의 관능평가 결과

Traits ¹⁾	Storage (day)				SEM ²⁾
	0	3	5	7	
Appearance	6.22	5.84	5.55	5.81	0.286
Odor	5.72 ^a	5.45 ^{ab}	4.95 ^b	5.11 ^{ab}	0.143
Taste	6.50 ^a	5.78 ^{ab}	5.08 ^b	5.36 ^b	0.231
Overall acceptance	6.11 ^a	5.28 ^b	5.11 ^b	5.06 ^b	0.130

¹⁾1, extreme dislike; 5, neither dislike nor like 9, extreme like.

²⁾Standard error of the means (n = 12).

^{a,b}Different letters within the same row indicate a significant difference (p < 0.05).

표 43. 랩 포장한 건식숙성육의 유통 중 품질 지표간의 상관관계

	pH	VBN	TBAR _S	L*	a*	b*	Chroma	Hue-angle	Appearance	Odor	Taste	Overall acceptance
pH	1	-0.15	0.07	0.25	0.06	0.17	0.10	0.24	0.07	-0.30	-0.12	0.02
VBN		1	-0.21	-0.70*	-0.66*	-0.51	-0.62*	0.14	-0.31	-0.65*	-0.78**	-0.87**
TBAR _S			1	-0.19	-0.12	-0.15	-0.13	-0.05	-0.13	-0.15	0.01	0.15
L*				1	0.85*	0.83*	0.87*	0.23	0.09	0.48	0.45	0.57
a*					1	0.91**	0.99**	0.18	0.24	0.55	0.55	0.72*
b*						1	0.96**	0.55	0.23	0.32	0.43	0.58*
Chroma							1	0.33	0.24	0.47	0.51	0.68*
Hue-angle								1	0.11	-0.46	-0.16	0.00
Appearance									1	0.17	0.22	0.59*
Odor										1	0.82*	0.58*
Taste											1	0.77*

Overall acceptance												1
--------------------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	---

¹⁾TAB, total aerobic bacteria; LAB, lactic acid bacteria; VBN, volatile basic nitrogen; TBARS, 2-thiobarbituric acid-reactive substances.

○ 진공포장

- pH

- 진공포장 후 14일까지 유의적으로 증가하다가 21일에 감소하는 경향을 보였음(표 43). 이는 유통기간 중 건식숙성육 내 여러 미생물에 의한 단백질 분해나 산 생성 등에 의한 것으로 사료됨. 해당의 변화는 5.55-5.69 수준으로 유통 중 큰 pH 변화는 없었음.

- 휘발성 염기태 질소

- 냉장저장 전 16.92 mg%에서 21일 후 23.92 mg%로 국내 신선육 기준을 초과하는 결과를 보였음(표 43). 이는 유통기간 중 미생물 성장에 의한 단백질 분해로 아민류, 암모니아 등이 생성됨에 따라 발생한 것으로 사료됨.

- 지방산패도

- 진공포장 후 7일에서 14일 사이 유의적 감소를 보였음(표 43). 이는 지방산패도가 낮아졌기보다 미생물의 성장 등 다른 요인들이 영향을 미쳤을 것으로 사료됨.

표 44. 진공포장 후 유통 중 건식숙성육의 pH, 휘발성 염기태 질소(mg%), 지방산패도(mg MDA/kg meat) 변화

Traits ¹⁾	Storage (day)				SEM ²⁾
	0	7	14	21	
pH	5.62 ^c	5.65 ^b	5.69 ^a	5.55 ^d	0.004
VBN	16.92 ^b	17.15 ^b	19.03 ^b	23.92 ^a	0.678
TBARS	0.98 ^{ab}	1.13 ^a	0.87 ^b	0.83 ^b	0.041

¹⁾VBN, volatile basic nitrogen; TBARS, 2-thiobarbituric acid-reactive substance; MDA, malondialdehyde.

²⁾Standard error of the means (n = 12).

^{a-c}Different letters within the same row mean significant difference (p < 0.05).

- 육색

- 진공포장한 건식숙성육의 냉장저장 중 육색의 변화를 관찰한 결과, 명도(L*, lightness)는 7일 후 증가하였다가 다시 감소하는 경향을 보였음. 적색도(a*, redness)와 황색도(b*, yellowness)가 냉장저장 14일 후 유의적인 증가를 보였다 이후 감소함. 이는 저장 중 산소화 마이오글로빈 증가 및 21일 후 pH 값 감소에 따른 산화 마이오글로빈 증가

등 마이오글로빈 조성의 변화에 따른 것으로 사료됨. 이에 따라 유통기간 중 유의적인 CIE Lab* 값의 변화를 보이긴 하였으나 냉장저장 전 육색과의 ΔE 값을 계산해본 결과, 7일 및 14일간의 ΔE 에서 유의적 차이는 없었으며 21일 후 감소한 경향을 보여 진공포장 후 냉장저장 시 기간의 증가에 따른 육색의 차이는 크지 않은 것으로 생각됨.

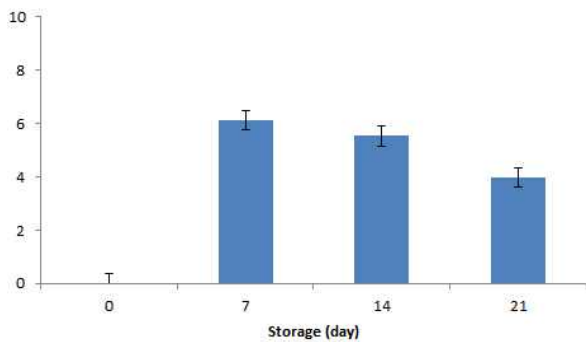
표 45. 진공포장 후 유통 중 건식숙성육의 육색 변화

Traits	Storage (day)				SEM ¹⁾
	0	7	14	21	
CIE L*	33.38 ^c	38.50 ^a	35.84 ^b	35.22 ^{bc}	0.487
CIE a*	9.95 ^c	10.08 ^c	12.34 ^a	11.67 ^b	0.130
CIE b*	6.30 ^c	6.30 ^c	9.46 ^a	7.81 ^b	0.056

¹⁾Standard error of the means (n = 12).

^{a-c}Different letters within the same row indicate a significant difference (p < 0.05).

(a) ΔE 값



(b) 마이오글로빈 조성 (%)

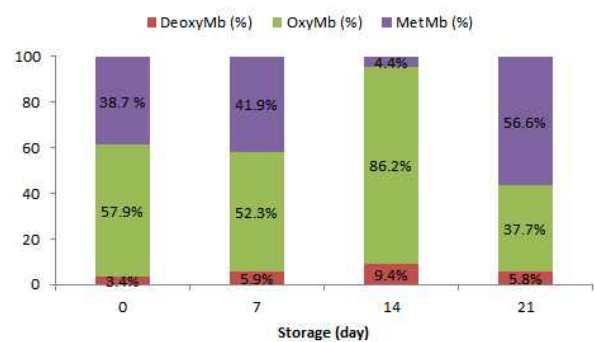


그림 30. 진공포장 후 유통 중 건식숙성육의 ΔE 값 및 마이오글로빈 조성 변화

- 조직감

- 진공포장 후 7일차에 경도(hardness) 및 chewiness, cohesiveness 등의 유의적 감소를 보였으나 차후 큰 변화는 보이지 않았음. 또한, 과도한 단백질 분해로 발생하는 끈적임 (slime texture)을 표현하는 adhesiveness의 경우 21일간의 냉장저장 중 관찰되지 않아 진공포장 후 7일 이상 냉장저장 시 조직감 변화는 크지 않고 부정적인 조직감 형성을 유발하지 않을 것으로 판단됨.

표 45. 진공포장 후 유통 중 건식숙성육의 조직감 변화

Traits ¹⁾	Storage (day)				SEM ²⁾
	0	7	14	21	
Hardness (N)	389.90 ^a	313.01 ^c	337.44 ^b	335.92 ^{bc}	5.726
Adhesiveness (kgf.mm)	-12.83	-0.42	0.05	-0.22	3.928

Springiness	0.58 ^{ab}	0.60 ^a	0.56 ^{bc}	0.56 ^c	0.005
Chewiness (N)	148.69 ^a	105.35 ^b	93.50 ^b	99.96 ^b	5.369
Cohesiveness	0.72 ^a	0.56 ^b	0.50 ^b	0.53 ^b	0.031

¹⁾Standard error of means (n = 12).

^{a-c}Different letters within the same row mean significant difference (p < 0.05).

- Proteolysis index

- 조직감의 adhesiveness 결과와 동일함. 진공포장 후 21일 동안 냉장저장 시 부정적인 조직감 형성을 유발하는 수준의 단백질 분해는 관찰되지 않음.

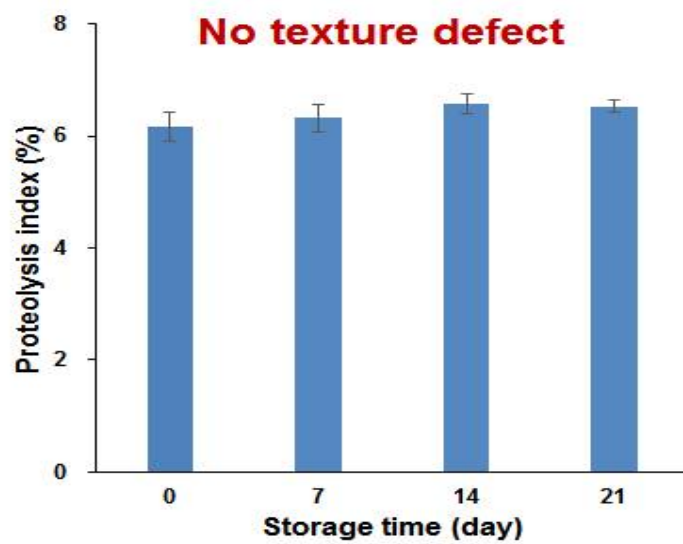


그림 31. 진공포장 후 유통 중 건식숙성육의 proteolysis index(%) 변화

- 유리아미노산

- 건식숙성기간 동안 식육 내 효소 및 미생물 작용에 의하여 유리아미노산 함량이 증가할 수 있음(Lee, 2018). 건식숙성 직후 총 유리아미노산 함량은 약 645 mg/100 g이었으며 glycine을 제외한 대부분 유리아미노산에서 21일간의 저장기간 동안 증가하는 경향을 보였음.

표 46. 진공포장 후 유통 중 건식숙성육의 유리아미노산 함량 변화(mg/100 g)

Traits	Storage (day)				SEM ¹⁾
	0	7	14	21	
Ala	130.45 ^b	129.22 ^b	147.95 ^a	160.93 ^a	3.553
Asp	18.13 ^c	21.07 ^b	21.53 ^b	25.54 ^a	0.384
Glu	115.26 ^c	114.29 ^c	133.76 ^b	150.47 ^a	2.685
Gly	50.07 ^a	43.81 ^{ab}	45.79 ^{ab}	39.74 ^b	1.412

Ile	66.73 ^c	69.54 ^{bc}	79.44 ^b	100.15 ^a	2.720
Leu	108.98 ^{bc}	101.94 ^c	114.71 ^b	124.58 ^a	1.986
Phe	56.19 ^b	52.22 ^b	58.86 ^b	66.04 ^a	1.549
Tyr	25.49 ^c	28.70 ^{bc}	35.02 ^{ab}	38.31 ^a	1.442
Val	73.99 ^c	70.24 ^c	85.62 ^b	98.35 ^a	1.880
Total	645.30 ^c	631.03 ^c	722.68 ^b	804.10 ^a	11.906

¹⁾Standard error of the means (n = 12).

^{a-c}Different letters within the same row indicate a significant difference (p < 0.05).

- 관능평가

- 진공포장 후 21일 동안 건식숙성육의 외관, 향, 맛, 연도 등은 유의적 차이를 보이지 않았으나 다즙성 및 종합적 기호도는 14일 또는 21일 후 다소 감소하는 경향을 보였음. 단, 21일 후에도 여전히 보통 이상(< 5 point) 수준의 기호도를 보여 우수한 관능적 품질을 유지하고 있는 것으로 사료됨.

표 47. 진공포장 후 유통 중 건식숙성육의 관능평가 결과

Traits ¹⁾	Storage (day)				SEM ²⁾
	0	7	14	21	
Appearance	6.30	6.04	6.07	5.63	0.223
Odor	6.19	6.26	6.11	5.70	0.140
Taste	6.59	6.04	6.00	5.63	0.220
Tenderness	6.33	5.70	5.74	6.22	0.260
Juiciness	6.33 ^a	5.85 ^{ab}	5.55 ^b	5.59 ^{ab}	0.169
Overall acceptance	6.44 ^a	5.96 ^{ab}	5.78 ^{ab}	5.41 ^b	0.183

¹⁾1, extreme dislike; 5, neither dislike nor like 9, extreme like.

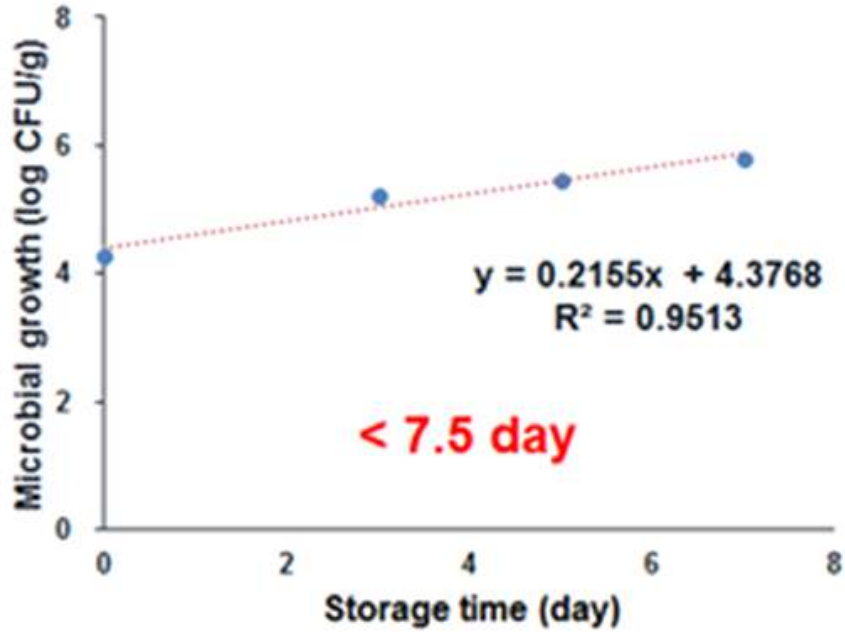
²⁾Standard error of the means (n = 12).

^{a,b}Different letters within the same row indicate a significant difference (p < 0.05).

※ 포장방법별 최적 유통기한 제시

- 저장기간 중 포장방법별 건식숙성육의 호기성 미생물 생장을 고려해보았을 때, 건식숙성 후 랩 포장 시 약 7.5일 진공포장 시 약 11.5일까지 유통이 가능할 것으로 사료되어 장 기간 보관할 경우 4°C 이하에서 진공포장하는 것이 유리할 것으로 판단됨(그림 32).
- 또한, 본 연구결과 랩 포장 시 단 기간 내 판매하는 것이 좋고 관능적 품질을 고려하였을 때 6.3일 이전에 섭취하는 것이 가장 좋음.

(a) 랩 포장



(b) 진공포장

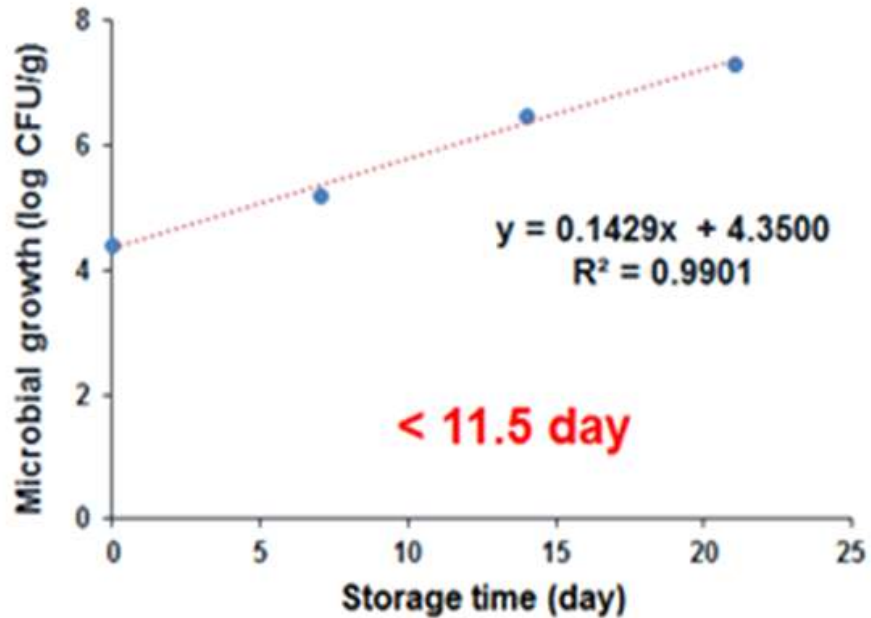


그림 32. 포장방법별 최적 유통기간 제시(안)

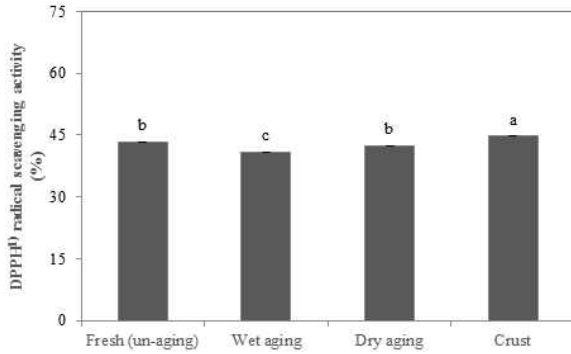
(3) 크러스트 기능성 평가

- 항산화능

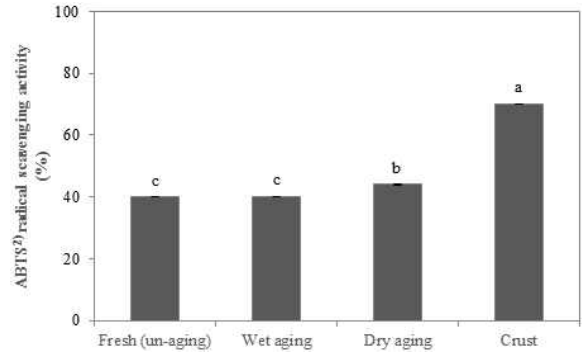
- DPPH 라디칼 소거능, ABTS+ 라디칼 소거능, 환원력, 금속 킬레이팅 등 신선육과 습식 숙성육, 건식숙성육 및 크러스트의 항산화능을 평가해본 결과 크러스트의 항산화능이 다른 시료에 비해서 유의적으로 높은 결과를 보였음(그림 33). 건식숙성육 또한 일반 신선육 및 습식숙성육에 비해 높은 ABTS+ 라디칼 소거능, 환원력, 금속 킬레이팅 효과를 보였음. 이는 건식숙성 중 식육 내 단백질 분해가 더 우수하여 건식숙성육 및 크러스트에 보다 다양한 종류의 저분자 펩타이드(< 3 kDa)들이 함유되어있기 때문

인 것으로 판단됨.

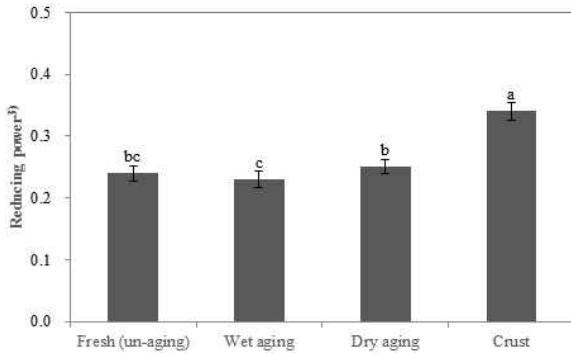
(A) DPPH 라디칼 소거능



(B) ABTS+ 라디칼 소거능



(C) 환원력



(D) 금속 킬레이팅 효과

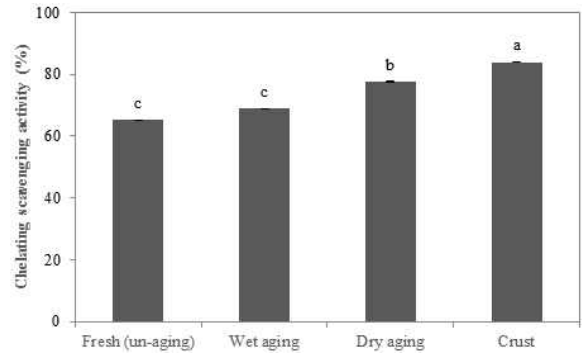


그림 33. 숙성방법별 항산화능 분석 결과

- 항고혈압능

- 분석 결과, 건식숙성 시 일반 신선육에 비해 항고혈압능이 유의적으로 우수하였음. 또한, 이러한 결과는 크러스트에서 더 두드러지게 확인되었음. 이러한 결과는 건식 숙성육 및 크러스트 내 저분자 펩타이드(< 3 kDa)에 의해 발생한 것으로 사료됨.

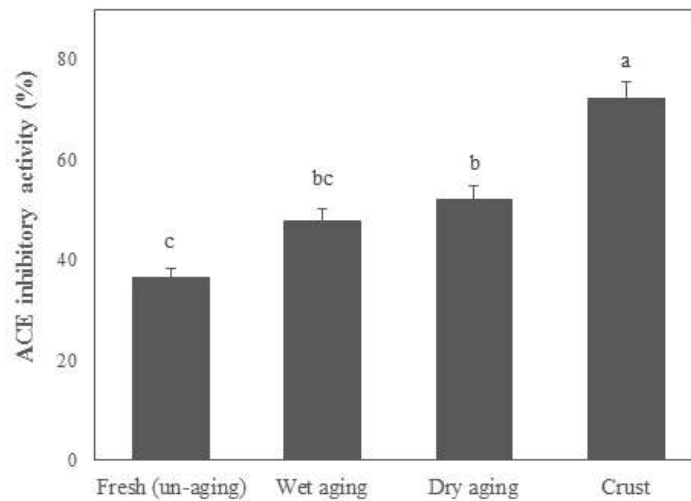


그림 34. 숙성방법별 항고혈압능 분석 결과

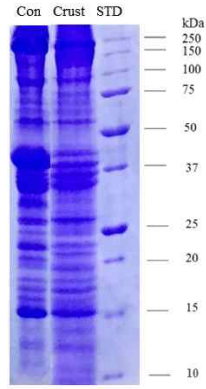


그림 35. 신선육 및 건식숙성육 크리스트간 SDS-page 분석 결과

표 48. 숙성방법별 저분자 펩타이드(< 3 kDa) 분석 결과

Protein name	Sequence	None	Crust	Dry	Wet
Actin, alpha cardiac muscle 1	AGFAGDDAPR		+		
	AVFPSIVGR		+		
	DNGSGLVKAGFAGDDAPR		+		
	FPSIVGR		+		
Actin, alpha skeletal muscle	DEDETT			+	
	ITKQEYDEAGPSIVHRK			+	+
	TKQEYDEAGPSIVHRK				+
Alpha-1,4 glucan phosphorylase	MPAPDEKI		+		
	SRPLTDQEKRKQISVRG			+	
AP complex subunit beta	LGDLLNLDLGPPVSG			+	
	TVEISLP			+	
AP-5 complex subunit beta-1	LNPASGASRLLPLL			+	
	LPLAGD			+	
Arf-GAP with SH3 domain, ANK repeat and PH domain-containing protein 1	DPPSPLP				+
ATF6B protein	LGDDPTSP				+
Beta-catenin-like protein 1	SIAVVDL			+	
B T B / P O Z domain-containing protein KCTD15	RSPVSPL			+	
Carbonic anhydrase 3	IVKASFK		+		
	NWRPPQPIKGR		+		
Cardiac phospholamban	MDKVQYLTR		+		

Cbp/p300-interacting transactivator 1	LPELWL			+	
Coagulation factor V	EVGDIMKVH		+		
Collagen alpha-1(XVII) chain	VPGSVGP				+
Creatine kinase M-type	DDVIQTG			+	
	DEESYTVFKD			+	+
	DKPV SPL			+	+
	DPIIQDR		+		
	FKAE E EYPDL SKHNNH		+		
	GVDNPGHPF		+		
	IDDHFL		+		
	PFGNTHNK		+		
	SIDDMIPAQK		+		
	TLEIYKK		+		
	VVDGVKL		+		
CTF18, chromosome transmission fidelity factor 18 homolog	PTLDITPP				+
Diacylglycerol kinase	IPVP				+
	PAPEPAPVP				+
DKK3 protein	PVCTPLPVEG			+	
Elastin	AKLGAGGAGVLP			+	
	AVGIGGIP		+	+	+
	VGIGGIP				+
	VG VGG		+		
	VIGAGVP			+	
Fructose-bisphosphate aldolase	ESLFISNH		+		
	ESLFISNHAY		+		
Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase	AVGKVIP			+	+
	AVGKVIPE		+		
	AVGKVIPELN		+		
	AVGKVIPELNGK		+		
	AVGKVIPELNGKLT			+	+
	AVGKVIPELNGKLTG				+
	DAGAGIALNDH				+
	DAGAGIALNDHFVK			+	+
	DFNSDTH			+	+
	DNEFGYSNR			+	+
	DPANIKW			+	

	EKPAKYDEIKKVVVKQASEG PLK				+
	ELNGKLT			+	
	FDAGAGIALNDHFVK			+	+
	GAAKAVGKVIP			+	
	GFGRIGR		+		
	GIALNDH			+	+
	GIALNDHFVK			+	+
	IALNDHFVK				+
	IIPASTGAAKAVGKVIP			+	
	IPASTGAAKAVGKVIP			+	
	IPASTGAAKAVGKVIPELN			+	+
	IPASTGAAKAVGKVIPELNG KLT			+	+
	IPASTGAAKAVGKVIPELNG KLTG			+	+
	IPELN			+	+
	IPELNGK			+	+
	IPELNGKLT			+	
	NDHFVK			+	
	NDHFVKL			+	
	SSTFDAGAGIALNDHFVK			+	+
	TGAAKAVGKVIP			+	+
	VGKVIP		+		+
	VGKVIPELN		+		
	VGVN		+		
	VGVNGFGR		+		
	VGVNGFGRIGR		+		
	VNGFGRIGRL				+
	VTPNVS			+	+
	VTPNVSVVD		+		
	VTPNVSVVDLT			+	
G-protein coupled receptor family C group 6 member A OS=Bos taurus GN=GPRC6A PE=3 SV=1	AASPGHIM			+	
GSTM1 protein OS=Bos taurus GN=GSTM1 PE=2 SV=1	LAVWGK		+		
Histone acetyltransferase	PPQPQPAPPPP				+
Importin subunit alpha	QQVQVAVIDAGLIP			+	
Matrix metalloproteinase 19	LPGNL				+

	LPTIPLVP	+			+
Meiosis arrest female protein 1	KDVPSPL				+
	LPLK				+
MYBPC1 protein	FKRSGEGQDDAGELDFSGLLKRR		+		
	PDPP		+		
Myoglobin	DMAAQYKVLGFHG				+
	GGILK		+		
	TALGGIL		+		
	VAGHGQEVL		+		
	VLGFHG		+		
Myosin light chain 1/3, skeletal muscle isoform	AAPAPAPAPAPAPAPPK EEK		+		
Myosin, light chain 6B, alkali, smooth muscle and non-muscle	ELPSL		+		
	IPVILEKPAK		+		
	PAVGPPPSR		+		
	VGPPPSR		+		
Myosin-7	VDAEM		+		
Myozenin-1	NRTPIP			+	
	NVDISIP			+	
	YNVDISIPLD			+	
Nuclear receptor binding factor 2	DIPINLPP			+	
O(6)-methylguanine-induced apoptosis 2	PAANAYT		+		
Olfactory receptor	LGNLGLIL		+		
	LILLIWVD				+
Paternally-expressed gene 3 protein	KAAGASSLSAPPAA				+
PDZ and LIM domain 5	DWHHEVS		+		
Phosphodiesterase	LLADPSLP			+	
Phosphoglycerate kinase 1	AAVPSIK		+		
	ALESPER		+		
	SLSNKLTLDKLDVKGK		+		
PIH1 domain-containing protein 1	VGENR		+		
PIM2 protein (Fragment)	PMTPTPLP			+	+
Plastin-3	SLAVVDL				+
Probable cystatin-15	PLLLGLLALGPH			+	
Programmed cell death protein 2	PSEDPPSE			+	

Protein YIPF6	EGEITIP			+	
Pyruvate kinase	FTNTMRVVPVP	+		+	+
	NTMRVVPVP	+			
RBM34 protein	LQPVYVPVP	+			
Regucalcin	LGVKGIP				+
Retinoic acid receptor RXR-gamma	GINLVAP		+		
RING finger protein 10	ALSLSPLSR				+
Ring finger protein 214	VRNGAKLSSLPQIP				+
Sodium channel protein	PEVEEVPEEQ				+
Solute carrier family 31 (Copper transporters), member 2	PVSRSP			+	
Target of rapamycin complex subunit LST8	IPEPEVSIT			+	
Targeting protein for Xklp2	SGSLVQEP			+	
TOX high mobility group box family member 4	ASMLQPPP		+		
	IVPP		+		
	LVPP		+		
Transcription initiation factor IIB	PECGLVVG	+			
Troponin T fast skeletal muscle type	APPPPAEVP				+
	APPPPAEVPEVHEE				+
	APPPPAEVPEVHEEVH		+	+	+
	APPPPAEVPEVHEEVHEVH				+
	AQEEAPPPPAEVPEVHEEV H			+	
	EAPPPPAEVPEVHEEVH			+	+
	EEAPPPPAEVPEVHEEVH			+	+
	EVPEVHEEVH			+	+
	SDEEVHEVE			+	
	VPEVHEEVH			+	+
UBA domain containing 1	PTIDTPLP	+		+	+
UPF0609 protein C4orf27 homolog	GAGLVVP				+
Vasopressin V1b receptor	MQVFVLH			+	

(4) 크러스트 첨가 육제품 제조

- 호기성 미생물

- 크러스트를 5% 첨가한 소고기 패티 내 호기성 미생물은 4.5 log CFU/g으로 크러스트 무첨가군에 비해 유의적으로 높은 결과를 보였으며 저장 6일 후 8.4 log CFU/g까지 증가하였음(P<0.05, 그림 5). 이는 현재 국내 유통기준인 6 log CFU/g를 상회하는 수치로서 미 조리한 소고기 패티는 단 기간 내 유통만 가능할 것으로 사료됨. 단, 조리 후 호기성 미생물 수는 크러스트 첨가군과 미첨가군간의 유의적 차이를 보이지 않았음. 또한, 조리 후 저장 시 패티 내 호기성 미생물 수 또한 조리하지 않은 크러스트 첨가군에 비해 저장기간 동안 유의적으로 낮은 결과를 나타냄.

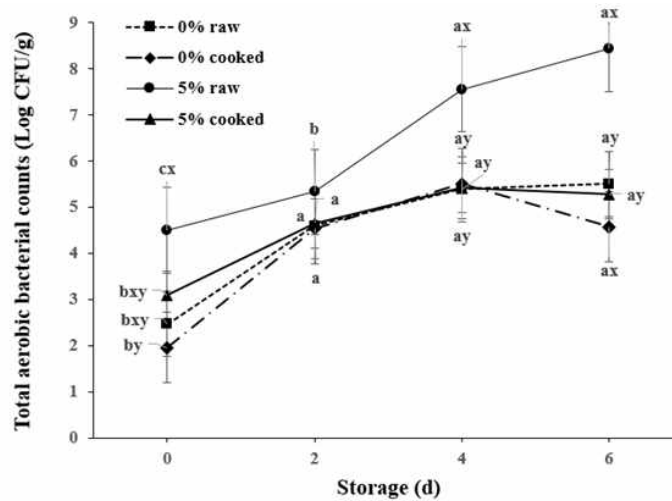


그림 36. 크러스트 첨가량에 따른 소고기 패티의 저장기간 중 미생물 성장 변화(log CFU/g)

- 조직감

- 크러스트를 첨가하였을 때 소고기 패티 제조 직후 미첨가군과 조직감 차이는 보이지 않았으나 3일 이상 냉장저장 시 크러스트의 첨가에 따라서 hardness, gumminess 및 chewiness 등이 미첨가군에 비해 유의적으로 낮은 것을 관찰하였음. 이에 따라 크러스트를 첨가한 소고기 패티는 미첨가군보다 부드러운 조직감 특성을 가질 것으로 사료됨.

표 49. 크러스트 첨가량에 따른 소고기 패티의 저장기간 중 조직감 변화

		Addition of crust (%)		SEM ¹⁾
		0	5	
Hardness (N)	0	159.14	134.25	19.523
	3	199.00 ^x	139.57 ^y	9.374
	7	197.89 ^x	111.59 ^y	11.907
	SEM ²⁾	18.182	8.754	
Springiness	0	0.68	0.73	0.04

(mm)	3	0.77	0.77	0.026
	7	0.68	0.74	0.03
	SEM ²⁾	0.031	0.034	
Gumminess (N)	0	69.35	58.40 ^a	7.191
	3	71.46 ^x	51.36 ^{ay}	3.319
	7	72.14 ^x	41.12 ^{by}	2.928
	SEM ²⁾	6.211	2.994	
Chewiness (N)	0	45.44	42.45 ^a	3.67
	3	55.11 ^x	39.55 ^{ay}	3.364
	7	49.01 ^x	30.05 ^{by}	2.837
	SEM ²⁾	4.046	2.35	
Cohesiveness	0	0.45 ^a	0.44	0.018
	3	0.36 ^b	0.37	0.02
	7	0.37 ^b	0.37	0.017
	SEM ²⁾	0.017	0.019	

¹⁾Standard error of the means (n=18), 2) (n=12).

^{a,b}Values with different letters within the same row differ significantly (P<0.05).

^{x,y}Values with different letters within the same column differ significantly (P<0.05).

- 지방산패도

- 크러스트를 첨가한 소고기 패티가 미첨가군에 비해 저장기간 동안 지방산패도가 증가하는 비율이 비교적 낮았으며 이에 따라 냉장저장 6일 후 유의적으로 낮은 지방산패도를 보임. 이러한 결과는 건식숙성 중 크러스트 내 단백질 분해가 높아 저분자 펩타이드들을 다수 함유하고 있기 때문인 것으로 사료됨.

표 50. 크러스트 첨가량에 따른 소고기 패티의 저장기간 중 지방산패도(MDA mg/sample kg)¹⁾

	Addition of crust (%)		SEM ²⁾
	0	5	
0	1.00 ^d	0.95 ^c	0.032
2	1.16 ^{cx}	1.04 ^{by}	0.017
4	1.38 ^b	1.33 ^a	0.024
6	1.54 ^{ax}	1.35 ^{ay}	0.033
SEM ²⁾	0.028	0.027	

¹⁾MDA, malondialdehyde.

²⁾Standard error of the means (n = 12).

^{a-d}Values with different letters within the same differ row significantly (P<0.05).

^{x,y}Values with different letters within the same column differ significantly (P<0.05).

- 향 변화

- 크러스트 첨가에 따라서 미첨가군과 다른 향을 가지고 있으며 저장기간 중 향 변화 또한 다른 경향을 보임을 확인하였음. 이는 주로 ethanol, 2-methylfuran, and methylcyclopentane 등 향 물질의 차이에 기인한 것으로 관찰됨. 또한 이러한 제품간 차이는 저장기간이 지남에 따라서 더 커지는 경향을 보였음.

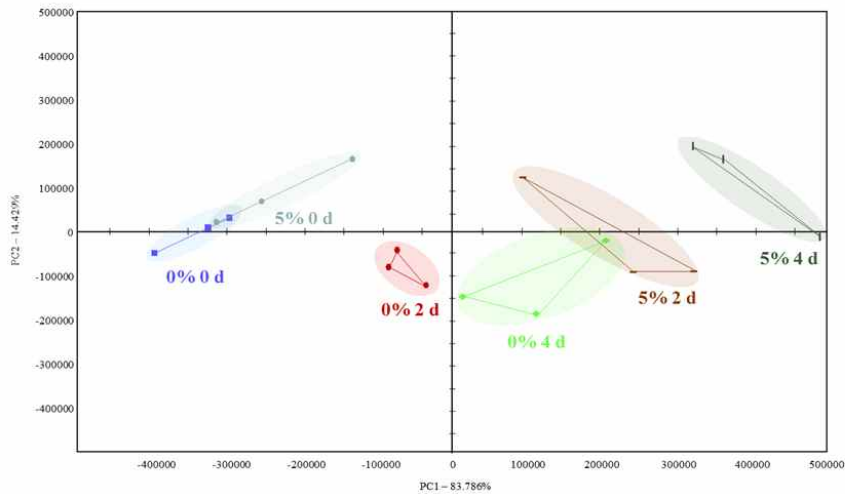


그림 37. 크러스트 첨가량에 따른 소고기 패티의 저장기간 중 향 변화 분석 결과

- 관능평가

- 크러스트 5%를 첨가하여 소고기 패티를 제조하였을 때 크러스트 미첨가군에 비해 유의적으로 더 우수한 향, 맛, 연도, 다즙성 및 종합적 기호도를 보임을 확인하였음. 본 결과를 보았을 때 소고기 패티 제조 시 크러스트를 첨가하여 지방산패 등 저장 중 제품 품질의 변패를 줄일 수 있을 뿐 아니라 관능적으로도 우수한 품질의 육제품을 제조할 수 있을 것으로 기대됨.

표 51. 크러스트 첨가량에 따른 소고기 패티의 관능평가 결과

	Addition of crust (%)		SEM ¹⁾
	0	5	
Appearance	5.63	6.00	0.169
Odor	5.44 ^y	6.19 ^x	0.226
Taste	5.70 ^y	6.85 ^x	0.224
Tenderness	5.48 ^y	6.48 ^x	0.216
Juiciness	5.19 ^y	6.44 ^x	0.246
Overall acceptance	5.78 ^y	7.00 ^x	0.225

¹⁾Standard error of the means (n=6).

^{x,y}Values with different letters within the same column differ significantly (P<0.05).

▶ 위탁연구기관(숙명여자대학교)

< 1차년도 >

① 연구내용 및 방법

(1) 숙성용 미생물 분리 및 동정을 통한 시너지스트 탐색

○ 식육 숙성조건별 미생물 분포 비교

- Next Generation Sequencing(NGS)

· 시료채취 및 전처리

풍속을 0 m/s, 2.5 m/s, 5 m/s로 설정하여 28일 동안 숙성한 윗등심의 미생물 균집 분포 차이를 확인하기 위하여 각 숙성조건에 따른 시료를 무균 실험대에서 1 g씩 채취하였고, NGS 분석을 진행하였음.

· Pyrosequencing

풍속을 0 m/s, 2.5 m/s, 5 m/s로 설정하여 28일 동안 숙성한 윗등심의 미생물 균집 분포 차이를 확인하기 위한 NGS 분석은 그림 38과 같이 수행하였으며, 세균과 진균류에 대한 분석을 진행하였음.

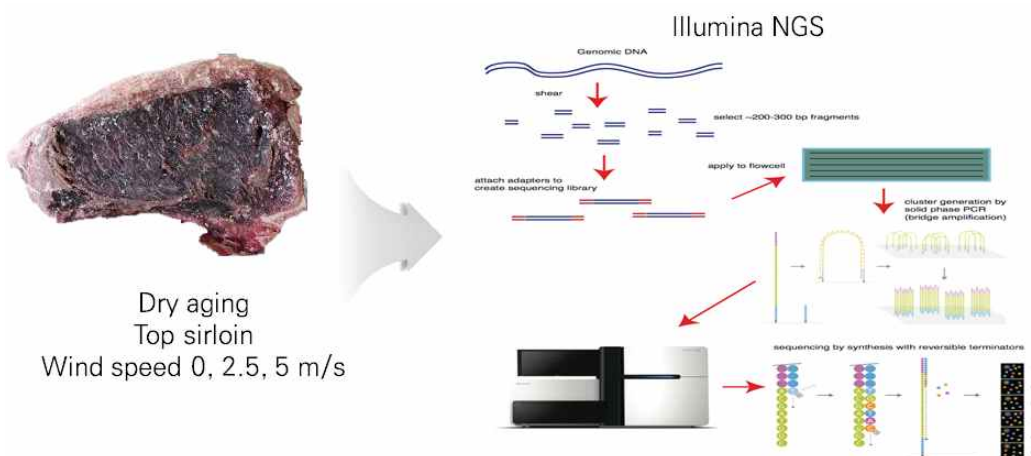


그림 38. 건조 숙성육의 NGS 분석 과정

DNA는 PowerSoil® DNA Isolation Kit(MO BIO, Hilden, NW, Germany)를 이용해 추출하였고, 추출한 DNA를 polymerase chain reaction(PCR)을 통하여 증폭하기 위하여 세균은 16s V3-V4 primer, 진균류는 ITS3-ITS4 primer를 사용하였음. 증폭된 산물은 PicoGreen으로 정량하였으며, 라이브러리의 크기는 LabChip GX HT DNA High Sensitivity Kit (PerkinElmer, Waltham, MA, USA)를 통해 검증하여 MiSeq™ platform (Illumina, San Diego, CA, USA)로 염기서열을 분석하였음. 통계적 분석은 Illumina Miseq의 소프트웨어를 이용하여 각 그룹 간의 미생물 분포를 비교하였음.

표 52. 건조 숙성육의 NGS 분석을 위한 primer (Illumina MiSeq)

Target	Primer	Primer sequence(5' →3')
Bacteria	16s-F	TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAGCCTACGGGNGGCWGCAG
	16s-R	GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGGACTACHVGGGTATCTAATCC
Eukaryote	ITS3-F	TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAGGCATCGATGAAGAACGCAGC
	ITS4-F	GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGTCCTCCGCTTATTGATATGC

○ 식육 부위별 미생물 변화 비교

- 시료준비

- 건조 숙성육의 미생물 분포를 확인하기 위해 부위와 풍속을 달리하여 건조 숙성을 진행하였으며, 모든 시료는 3등급의 소고기를 사용하였음. 건조 숙성은 부위별(윗 등심, 아랫 등심, 보섭)로 진행하였으며, 풍속에 따른 미생물 생장을 확인하기 위하여 풍속(0, 2.5, 5 m/s) 조건을 달리하여 온도 1-3°C, 상대 습도 70%의 숙성고에서 진행하였음. 습식 숙성 균을 대조군으로 비교하였고, 0일차 시료는 숙성이 시작되기 전에 부위 별로 동일한 도체의 일부를 채취하였고, 28일 숙성 후 조건 별(풍속×부위)로 시료를 채취하여 실험에 사용하였음.

- 미생물 검사

• 시료 채취 및 전처리

모든 시료는 냉장 온도에서 보관하여 운반하였으며, 시료채취 4시간 이내에 미생물 분석을 실시하였음. 시료는 무균 실험대에서 25 g을 채취하여 3M sample bag(3M™, Maplewood, MN, USA)에 넣고, 0.1% peptone water(PW) 용액 50 mL을 첨가한 후, 균질기를 이용하여 1분 동안 균질화 하여 균질화 된 용액을 실험 원액으로 사용하였음.

• 세균수 확인

정량분석을 위하여 실험원액 1 mL을 0.1% PW 9 mL을 이용하여 적정 농도로 십진 희석하였음. 일반세균수를 확인하기 위해 tryptic soy agar(TSA) 배지에 분주해 도말하고, 35°C에서 24시간 배양 후 계수하였으며, 곰팡이의 수를 확인하기 위하여 10% tartartic acid를 첨가한 potato dextrose agar(PDA) 배지에 분주해 도말하고, 20°C에서 7일 배양 후 계수하였음.

(2) 식육 숙성 시너지스트 선정

○ 곰팡이

- 균주의 분리 및 동정

- 소고기를 건조 숙성하는 과정에서 소고기 표면에 형성되는 크러스트를 채취하여 실험에 사용하였고 시료는 ice box로 운반하였으며, 시료 채취 4시간 이내에 미생물 분석을 실시하였음.

- 곰팡이 분리는 세균의 성장을 억제하기 위해 10% tartaric acid를 첨가한 PDA 배지를 제조하여 곰팡이 분리 시험에 사용하였음. 무균상태에서 현미경을 이용하여 크러스트 표면에 존재하는 곰팡이 균사체를 관찰하였고 바늘을 이용하여 균사체의 일부를 PDA 배지에 찢어 접종하여 20°C에서 7일 배양한 후 성장한 곰팡이를 분리하였음.
 - 1차적으로 분리된 곰팡이를 순수 분리하기 위하여 단포자를 바늘을 이용하여 분리하고 새로운 PDA 배지 중심부에 찢어 접종하여 곰팡이를 분리 배양하였음.
 - 순수 분리된 곰팡이에 대하여 육안으로 형태학 특성을 확인하여 분리하였고, 미생물 동정은 18S rRNA ITS(Internal Transcribed Space)의 염기서열 분석으로 하였으며 분석은 (주)마크로젠(Daejeon, Korea)에 의뢰하였음.
 - PCR 분석을 위한 primer는 진균의 염기보존 서열인 18S rRNA를 증폭하기 위하여 NS1 (5'-GTA GTC ATA TGC TTG TCT C-3')와 NS24 (5'-AAA CCT TGT TAC GAC TTT TA- 3')를 사용하였음.
 - PCR 반응조건은 95°C에서 5분 간 초기 변성(initial denaturation) 한 후, 95°C에서 30초, 55°C에서 2분, 68°C에서 1분 30초로 30회 반복하였으며, 마지막으로 68°C에서 10분 동안 증폭 한 후 4°C에서 보관하였음.
 - 증폭된 PCR 반응 산물은 Motage PCR clean up kit (Millipore Corp.)를 이용하여 정제하였고, 정제된 PCR산물을 대상으로 PRISM BigDye Terminator v3.1 Cycle sequencing Kit 을 이용하여 염기서열을 확인하였음.
 - 증폭된 DNA sample에 Hi-Di formamide (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) 를 첨가하였으며, 첨가된 산물은 95°C에서 5분 간 반응시킨 후 다시 얼음에서 5분 간 반응시켜 3730XL DNA sequencing system(Applied Biosystems)을 이용하여 분석하였음.
- 형태학적 특징관찰
- 최종 선별된 균주의 형태학적인 특징을 조사하기 위하여 PDA 배지에 20°C에서 7일간 배양하여 광학 현미경(Olympus CX21, Japan)을 이용하여 균체 격벽의 유무 및 포자의 모양, 크기 등 형태학적 특징을 관찰하였음.

○ 효모

- 균주의 분리 및 동정
- 소고기를 건조 숙성하는 과정에서 소고기 표면에 형성되는 크러스트를 채취하여 실험에 사용하였고 시료는 ice box로 운반하였으며, 시료 채취 4시간 이내에 미생물 분석을 실시하였음.
- 효모의 분리는 10% tartaric acid를 첨가한 PDA 배지를 제조하여 효모 분리 시험에 사용하였고 25 g 건조 숙성 크러스트에 50 mL의 0.1% PW를 첨가하여 균질화한 용액을 배지에 분주하여 도말하였음. 도말한 PDA 배지를 20°C에서 7일간 배양한 후, 동그란 집락 형태로 성장한 효모를 분리하였음.
- 1차적으로 분리된 효모를 순수 분리하기 위하여, 형태의 차이에 따라 단일 집락을 화염 멸균한 백금이를 이용하여 1 loop 취하여 멸균한 potato dextrose broth(PDB) 배지 10 mL에 접종하여 뿌영게 자랄 때까지 20°C에서 4일간 배양하였음. 분리된 효모가 자란

PDB를 멸균한 백금이를 이용하여 PDA 배지에 희선 도말하고 20°C에서 7일간 배양하였으며 순수 분리된 효모에 대하여 26S rRNA 분석을 수행하였음.

- 26S rRNA 분석은 (주)코스모진텍에 의뢰하였고, DNA는 InstaGenetm Matrix를 이용해 추출하였으며, PCR 반응을 위한 primer는 LROR (5'-ACC CGC TGA ACT TAA GC-3')와 LR7 (5'-TAC TAC CAC CAA GAT CT-3')를 사용하였음.
 - PCR 반응조건은 95°C에서 5분 간 초기 변성(initial denaturation) 한 후, 95°C에서 30초, 55°C에서 2분, 68°C에서 1분 30초로 30회 반복하였으며, 마지막으로 68°C에서 10분 동안 증폭 한 후 4°C에서 보관하였음.
 - 증폭된 PCR 반응 산물은 Motage PCR clean up kit (Millipore Corp.)를 이용하여 정제하였고, 정제된 PCR산물을 대상으로 PRISM BigDye Terminator v3.1 Cycle sequencing Kit을 이용하여 염기서열을 확인하였음.
 - 증폭된 DNA sample에 Hi-Di formamide를 첨가하였으며, 첨가된 산물은 95°C에서 5분 간 반응시킨 후 다시 얼음에서 5분 간 반응시켜 3730XL DNA sequencing system을 이용하여 분석하였음.
- 형태학적 특징관찰
- 최종 선발된 균주의 형태학적인 특징을 조사하기 위하여 광학 현미경과 주사전자현미경을 이용하여 균체 격벽의 유무 및 포자의 모양, 크기 등 형태학적 특징을 관찰하였음

② 연구결과

(1) 숙성용 미생물 분리 및 동정을 통한 시너지스트 탐색

○ 식육 숙성조건별 미생물 분포 비교

- 곰팡이 및 효모

- 풍속(0, 2.5, 5 m/s)에 따른 숙성 조건별 윗등심 부위에 존재하는 곰팡이와 효모의 균집의 차이를 확인하기 위하여 NGS를 통한 pyrosequencing 분석을 진행하였으며, 0일차 대조구와 습식 숙성육의 경우 곰팡이와 효모의 DNA 양이 낮아 진균류의 NGS 분석은 제외하였으며 이는 습식조건에서는 곰팡이와 효모가 성장하기 어려운 것으로 사료됨.
- 풍속(0, 2.5, 5 m/s)에 따른 숙성 조건으로 진행한 건조 숙성육에 존재하는 곰팡이는 대부분 Mucoraceae 과이며, 효모는 대부분 Saccharomycetaceae 과의 *Debaryomyces* 속으로 확인되었음(표 53). 곰팡이는 건조 숙성 0 m/s에서 가장 많이 존재(99.6%)했으며, 2.5 m/s와 5 m/s에서는 효모가 각각 18.5%, 14.0%의 분포를 나타내어 0 m/s (0.2%)에 비하여 높은 분포를 확인하였음(그림 39)

표 53. 건조 숙성육(0, 2.5, 5 m/s) 윗등심의 곰팡이 및 효모 분포 비교

(Unit : %)

	Dry 0 m/s	Dry 2.5 m/s	Dry 5 m/s
Mucoraceae	99.8	81.0	86.0
<i>Debaryomyces</i>	0.2	18.6	14.0

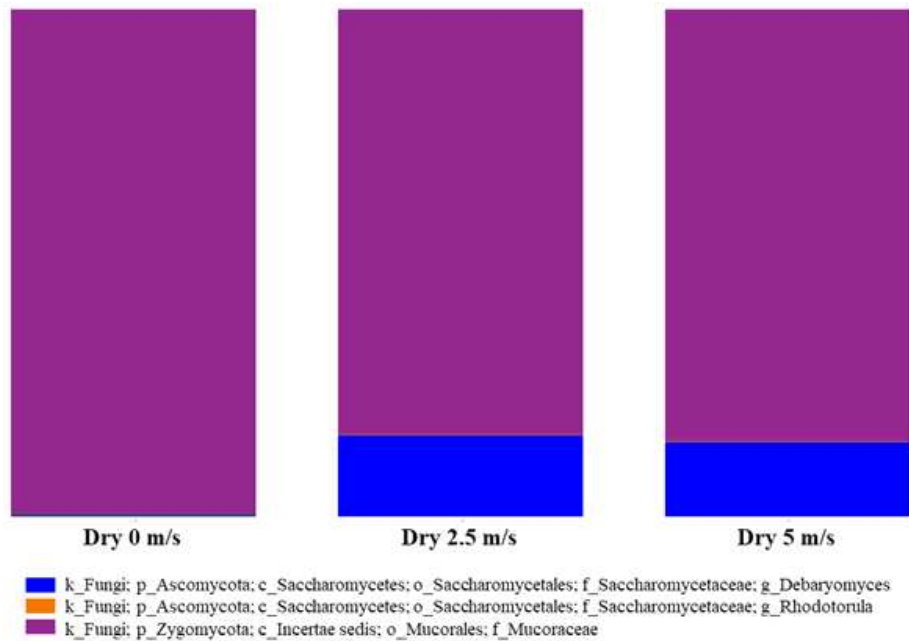


그림 39. 건조 숙성육 (0, 2.5, 5 m/s) 간 곰팡이 및 효모 분포

- 세균

- 풍속(0, 2.5, 5 m/s)에 따른 숙성 조건별 윗등심 부위에 존재하는 세균의 분포를 확인하기 위하여 NGS를 통한 16s rRNA 분석을 진행하였음. 약 110개의 속이 다양하게 존재하는 것을 확인했으며, 그 중 Proteobacteria, Firmicutes, Bacteroidetes 문이 높은 비율을 차지하였음. 가장 높은 비율을 차지하고 있는 세균은 *Pseudomonas rhodesiae*이며 이는 저온성세균으로 육가공품에서 쉽게 검출되는 세균임. *Pseudomonas*는 습식 숙성육 (24.4%)에 비하여 건조 숙성육에서 높게 나타났으며, 0 m/s에서 가장 높게 (91.4%) 확인됨. Firmicutes 문에서 주로 존재하는 세균은 *Lactobacillus*로 나타났으며 특히 습식 숙성육에서 분포가 높게(42.0%) 나타남(표 54, 그림 40)

표 54. 윗등심을 28일간 숙성 후 숙성방법별 세균 분포 비교

(Unit : %)

Phylum	Order	Dry 0 m/s	Dry 2.5 m/s	Dry 5 m/s	Con	Wet
Firmicutes	<i>Lactobacillus</i>	0.9	4.3	6.5	50.0	42.0
Proteobacteria	<i>Pseudomonas</i>	91.4	69.5	70.1	38.5	24.4
	<i>Enterobacterium</i>	6.1	5.0	1.8	0.1	1.6
Bacteroidetes	<i>Flavobacterium</i>	0.2	1.7	4.9	1.5	7.8
Other bacteria		1.4	19.5	16.7	9.9	24.2

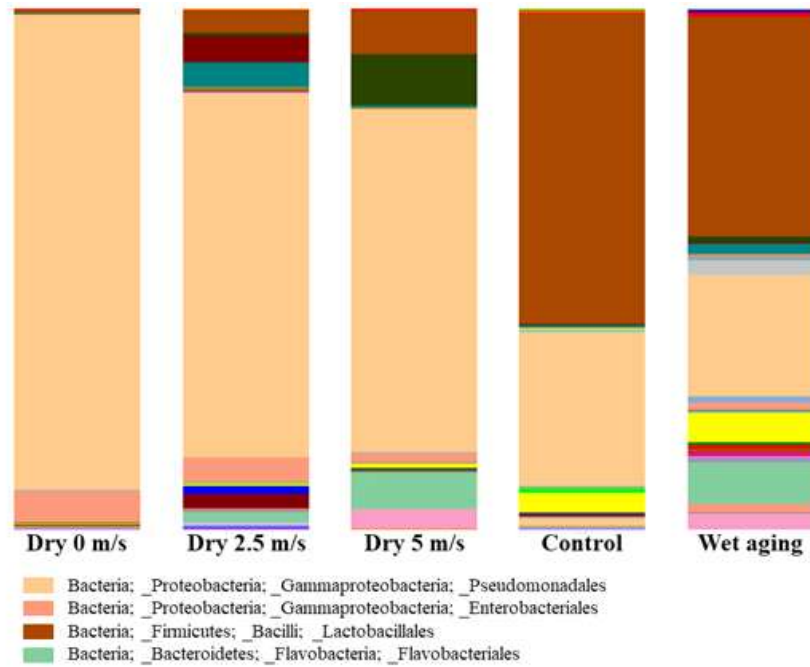


그림 40. 건조 숙성육(0, 2.5, 5 m/s)간 세균 분포

○ 식육 부위별 미생물 변화 비교

- 곰팡이

- 숙성조건에 따른 곰팡이의 정량적 비교를 표 55에 나타내었음. 0일차 대조구와 습식 숙성에 비하여 28일 동안 건조숙성을 진행한 실험군에서 곰팡이가 높은 수준으로 검출되었으며, 특히 0 m/s에서 가장 많은 곰팡이가 검출되었음. 또한 부위 별로 비교하였을 때, 아랫등심에 비하여 보섭에서 곰팡이가 많이 존재하는 것을 확인할 수 있었음.

표 55. 3등급 육우를 부위별로 28일 숙성 후 곰팡이 비교

(Unit : Log CFU/g)

	Con	Dry 0 m/s	Dry 2.5 m/s	Dry 5 m/s	Wet	SEM ¹
윗등심	2.1 ^b	5.5 ^a	4.6 ^a	4.6 ^a	2.6 ^b	0.082
아랫등심	2.0 ^c	5.5 ^a	4.4 ^b	3.5 ^b	2.0 ^c	0.090
보섭	1.9 ^b	5.5 ^a	4.8 ^a	4.8 ^a	1.8 ^b	0.104

¹Standard errors of mean (n=15).

^{a-c}Different letters within same row mean significantly different ($P < 0.05$).

- 세균

- 숙성조건에 따른 부위별 일반세균수를 비교한 결과(표 56), 실험군에 따른 차이는 크게 나타나지 않았으며 부위별 차이도 확인되지 않았음. 그러나, 윗등심과 아랫등심의 경우 습식 숙성을 한 그룹에서 일반세균수가 유의적으로 낮게 확인되었음($P < 0.05$)

표 56. 3등급 육우를 부위별로 28일 숙성 후 일반세균수 비교

(Unit : Log CFU/g)

	Con	Dry 0 m/s	Dry 2.5 m/s	Dry 5 m/s	Wet	SEM ¹
윗등심	6.9 ^{ab}	6.5 ^{ab}	6.4 ^{ab}	7.2 ^a	6.0 ^b	0.031
아랫등심	6.5 ^a	5.9 ^{ab}	6.2 ^a	6.1 ^{ab}	5.2 ^b	0.032
보섭	6.4 ^a	6.2 ^a	5.9 ^a	6.6 ^a	5.8 ^a	0.022

¹Standard errors of mean (n=15).

^{a,b}Different letters within same row mean significantly different ($P < 0.05$).

(2) 식육 숙성 시너지스트 선정

○ 곰팡이

- 균주의 분리 및 동정

- 크러스트에 존재하는 곰팡이를 수집하여 PDA 배지에서 단포자를 분리하였으며, 분리된 곰팡이의 포자 형태와 색의 차이를 확인하여 18s rRNA 분석을 진행하였음(그림 41).



Penicillium oxalicum



Penicillium echinulatum



Mucor circinelloides



Pilaira anomala

그림 41. 건조 숙성육 크러스트에서 배양된 곰팡이

- 분리된 푸른곰팡이는 주로 *Penicillium* 이었으며 어두운 포자를 형성하는 곰팡이는 *Mucor circinelloides*, 회갈색의 포자를 형성하는 곰팡이는 *Pilaira anomala*로 확인되었음. 일부 곰팡이 종은 독성이 있는 균독소를 생성할 수 있는 가능성으로 문헌고찰을 통하여 제외하였음.
- 고기 표면에 육안으로 확인되는 곰팡이의 형태와 가장 유사한 형태를 나타내며, 건조 숙성육에 존재하는 향미와 유사한 향을 나타내는 곰팡이를 18s rRNA 분석을 통하여 확인해본 결과 *P. anomala*로 확인되었음.
- *P. anomala*는 독성에 대한 보고가 없었으며, 숙성육에서 연화와 향미 발달을 유도한다고 보고(Dachdorj et al., 2016; Tapp, 2016)되는 *Thamnidium elegans*와 유전학적 유사성이 높게 확인되었음.
- 분리된 *P. anomala*에 *P. anomala* SMFM201611의 균주 번호를 부여하였으며 한국생명공학연구원에 미생물 기탁을 진행하여 KCTC 18517P의 번호를 부여받았고, 건조숙성육 시너지스트로 *P. anomala* SMFM201611의 사용 가능성을 확인해보고자 하였음.

- 형태학적 특징관찰

- 분리된 *P. anomala* SMFM201611는 단일 또는 가지가 있는 포자낭병(sporangiophore)을 형성함. 접합균류의 균사는 세포를 구분하고 있는 격벽(septa)이 없는 것이 특징이며, 수직으로 솟아있는 포자낭병 끝에는 포자낭이 달려 있으며, 성숙한 포자는 포자낭 밖으로 나와 퍼지게 됨(그림 42)

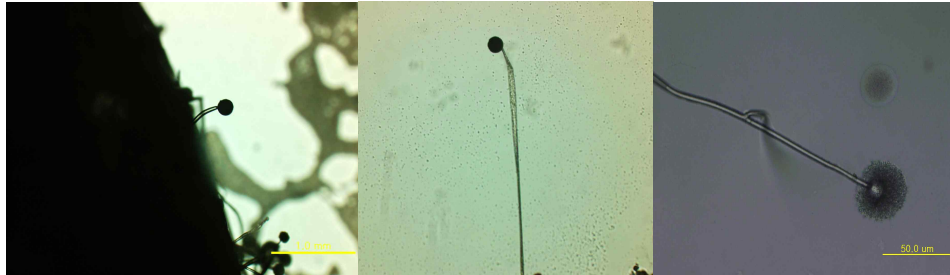


그림 42. *Pilaira anomala* SMFM201611의 형태학적 특성

○ 효모

- 균주의 분리 및 동정

- 크러스트에 존재하는 효모를 분리 배양하여 PDA 배지에서 집락을 분리하였으며, 분리된 효모의 집락 형태와 색의 차이를 확인하여 26s rRNA 분석을 진행하였음(그림 43).

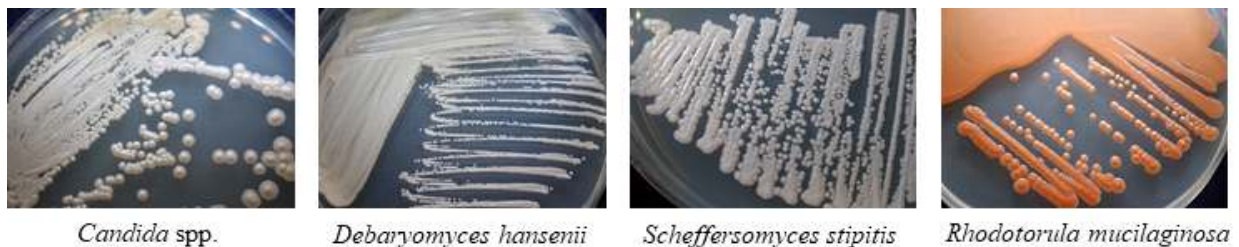


그림 43. 건조 숙성육 크러스트로부터 분리된 효모

- 배지에 형성된 효모의 집락은 대부분 흰색으로 나타났으며 26s rRNA 분석을 통하여 *Candida*, *Debaryomyces*, *Scheffersomyces(Pichia)*로 확인되었고, 분홍색의 집락을 나타내는 효모는 *Rhodotorula mucilaginosa*로 확인되었음.
- *D. hansenii*는 치즈와 소시지 등의 발효를 유도하는 효모로 단백질 분해능이 있는 세균의 성장을 촉진하고 지방의 분해로 인한 향미 증진을 유도하는 것으로 알려져 있으며 (Martorell 등, 2005), 현재 유가공품 제조에 한정되어 사용할 수 있도록 식품공전에 등록되어 있는 미생물임(식품의약품안전처, 2018).
- 또한 간장, 김치, 된장 등을 양조하여 또는 저장하고 있는 동안에 표면에 증식하는 종 및 고농도의 식염을 포함하는 식품에 증식하는 효모로 25%의 고염 환경에서도 생장이 가능함(Hanya et al., 2003; Norkrans, 1996).

- 현재 한정적으로 사용되고 있으나 식품공전에 등록되어 있는 *D. hansenii*의 건조 숙성육 시너지스트 사용 가능성을 확인해보고자 하였으며, *D. hansenii* SMFM201707의 균주번호를 부여하였음.

- 형태학적 특징관찰

- 분리된 *D. hansenii* SMFM201707는 작고 둥근 모양을 나타내며 출아를 통하여 증식하는 것을 확인하였고 그 크기는 1.24-2.11 μm 로 확인되었음(그림 44).

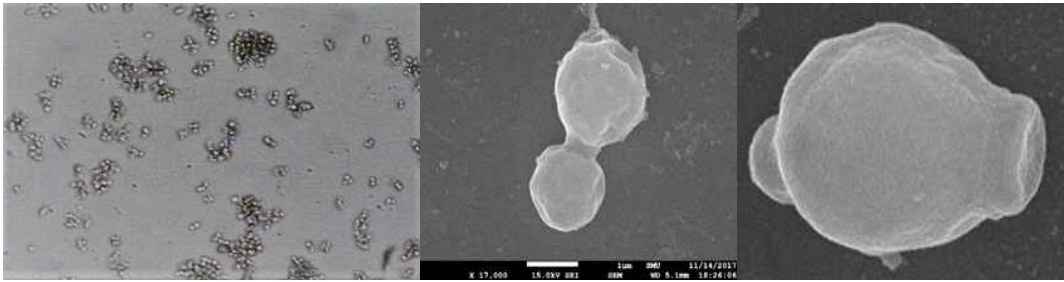


그림 44. *Debaryomyces hansenii* SMFM201707의 형태학적 특성

< 2차년도 >

① 연구내용 및 방법

(1) 안전성 및 배양 효율성을 고려한 미생물 시너지스트 선정 및 접종법 확립

○ 미생물 시너지스트의 형태학적 관찰

- 광학현미경 관찰

- PDA 배지에 배양된 *P. anomala* SMFM201611을 바늘을 이용하여 단포자를 분리하였으며, 고온 고압에서 멸균된 슬라이드 글라스위에 1×1 cm 1.2% agar(Becton, Dickinson and Company, Sparks, MD, USA)를 올려 모서리에 바늘을 이용하여 단포자를 접종하였음.
- 20°C에서 7일간 배양한 뒤, 슬라이드 글라스를 덮어 광학현미경을 통해 ×400배에서 관찰하였음.

- 주사전자현미경 관찰

- PDA 배지에 20°C에서 7일간 배양된 *P. anomala* SMFM201611와 *D. hansenii* SMFM201707에 5 mL의 phosphate buffer solution (PBS, pH 7.4; KH₂PO₄ 0.2 g, Na₂HPO₄ 1.5 g, NaCl 8.0 g, KCl 0.2 g, 증류수 1 L)를 첨가하여 *P. anomala* SMFM201611 포자액을 채취한 후, 12 well plate에 옮겨 담아 0.5×0.5 cm 으로 준비된 slide-glass와 함께 20°C에서 4일 동안 방치한 후 실험에 이용하였음.
- 멸균된 핀셋으로 slide-glass 조각의 양 옆을 집어 96 well에 옮긴 뒤 1.8% glutaldehyde solution을 녹여 slide-glass위에 50 μL 를 떨어뜨린 후 30분 간 실온에 방치하였고 slide-glass를 멸균증류수 1 mL에서 5분 간 세척하며, 이 과정을 3번 반복하였음.
- Slide-glass에 2% osmium tetroxide 용액을 40 μL 떨어뜨린 후 20분 간 암실환경의 실온에 방치하고 slide-glass를 멸균 증류수 1 mL에서 5분 간 세척하며, 이 과정을 3

번 반복하였음.

- Slide-glass를 ethanol 25%, 50%, 75%, 90%, 100% 에 단계별로 5분 간 담가 실온에 방치하여 완전히 마르도록 1시간 실온에 보관한 뒤에 Hexamethyldisilazane(HMDS)를 40 μ L 떨어뜨리고 다시 한 번 완전히 건조시켰음.
- 건조가 마무리 되면 slide-glass를 스티브에 부착한 뒤, 아르곤 가스를 이용하여 30-35 mA까지 진공을 형성시켜 60초 동안 coating을 진행하고, 코팅이 완료되면 주사전자현미경을 통해 *P. anomala* SMFM201611와 *D. hansenii* SMFM201707의 형태를 관찰하였음.

○ 미생물 시너지스트의 효소활성 확인 시험

- 시료준비

- 미생물 시너지스트인 *P. anomala* SMFM201611와 *D. hansenii* SMFM201707의 단백질 분해능을 확인하기 위하여, PDB 배지에 20°C에서 7일간 배양하여 균액으로 사용하였음.

- 단백질 분해효소 측정

- 단백질 분해능은 PDA 배지에 skim milk(Becton, Dickinson and Company)를 농도 별 (1%, 2%, 4%, 7%)로 첨가하여 제조된 배지를 준비하였고, 균주를 접종하여 20°C에서 7일 배양한 뒤 clear zone 생성, 균사체의 성장 비교를 통하여 단백질 분해능을 확인하였음.

- 지질 분해효소 측정

- 지질 분해능은 tributyrin agar base에 trybutyrin을 농도별(1%, 3%, 7%, 10%)로 첨가하여 제조된 배지를 준비하였고, 균주를 접종하여 20°C에서 7일 배양한 뒤 clear zone 생성, 집락의 성장 비교를 통하여 지질 분해능을 확인하였음.

○ 시너지스트의 안전성 및 배양조건 확립

- *P. anomala* SMFM201611와 *D. hansenii* SMFM201707의 안전성 확인

- 건조 숙성육에서 분리된 *P. anomala*의 18S rRNA, ITS영역의 분석을 통해 *P. anomala* SMFM201611를 동정하였으며, *P. anomala* SMFM201611에 대한 안전성을 확인하기 위해 aflatoxin(B1, B2, G1, G2) 생성능을 분석하였음.
- 건조 숙성육에서 분리한 *D. hansenii* SMFM201707는 26S rRNA 분석을 통해 동정하였으며, 문헌조사 결과를 통해 *D. hansenii* SMFM201707의 안전성을 확인하였음.

- 분리된 미생물 시너지스트의 배양조건 확립

- 분리미생물의 생육 가능 온도 범위를 확인하기 위해 *P. anomala* SMFM201611과 *D. hansenii* SMFM201707를 배양하여 PDA의 가운데에 접종하였으며, 접종 후 4°C, 10°C, 15°C, 20°C, 25°C, 30°C, 37°C, 42°C의 온도에서 각각 배양하여 적정 생육 온도를 확인하였음.

○ 건조 숙성육 제조를 위한 미생물 시너지스트의 접종법 확립

- 미생물 시너지스트(곰팡이 및 효모)의 접종법 확립
- 본 실험에서는 건조 숙성육에서 분리한 *P. anomala* SMFM201611와 *D. hansenii* SMFM201707를 건조 숙성육 제조를 위한 시너지스트로 사용하고자 하였음.
- 건조 숙성육 제조를 위한 *P. anomala* SMFM201611와 *D. hansenii* SMFM201707의 접종은 문헌 조사 및 배양조건 확립 실험을 통하여 최적 배양 온도를 설정하였고, 최적 배양 온도에서 *P. anomala* SMFM201611와 *D. hansenii* SMFM201707의 최적 배양 시간 설정을 통해 미생물 시너지스트 접종법을 확립하였음.

(2) 건조 숙성육의 숙성 공정 중 위해요소 평가

○ 숙성 공정에서의 미생물 분석

- 위해요소 선정을 위한 시료의 채취
- 건조 숙성육의 숙성 공정 중 중요관리점을 결정하기 위하여 숙성 공정 환경 미생물 모니터링을 통해 위해요소를 평가하였음.
- 숙성 공정의 모니터링은 건조 숙성육의 숙성 과정에서 위해 가능성이 있을 것으로 판단되는 환경 요소[총 12곳: 선반 4 개(각 3회), 문손잡이 3 개, 도마 2 개, 트레이 2 개, 칼 2 개, 컷팅기, 면장갑, 라텍스 장갑, 저울, 큰 선풍기, 작은 선풍기]를 설정하여, 5 cm × 5 cm의 면적에서 pipette swab (3M™; Maplewood, Minnesota, USA)을 이용하여 swab하여 환경시료를 채취하였음.

- 일반세균수 분석

- 시험원액을 0.1% PW용액을 이용하여 단계별로 희석한 후 TSA 배지에 분주해 도말하고, 35°C에서 24시간 배양 후 균수를 확인하였음.

- 곰팡이 및 효모 수 분석

- 시험 원액을 0.1% PW용액을 이용하여 단계별로 희석한 후 PDA 배지에 분주해 도말하고, 20°C에서 7일 배양 후 곰팡이 및 효모 수를 확인하였음.

- Coliform, *Escherichia coli* 세균 수 분석

- 시험 원액을 0.1% PW 용액을 이용하여 단계별로 희석한 후 Petrifilm™ E. coli/Coliform Count Plates(EC Petrifilm, 3M™)에 분주해 도말하고, 35°C에서 24시간 배양 후 세균수를 확인하였고, 해당 *E. coli* 집락을 16S rRNA 분석을 진행하였으며, 병원성을 확인하기 위하여 PowerCheck™ Diarrheal *E. coli* 8-plex Detection Kit (Kogenebiotech, geumcheon, Seoul, Korea)을 사용하여 분석하였음.
- 16S rRNA 분석의 PCR 반응을 위한 primer는 *uidA* gene을 증폭하기 위하여 27F (5'-GCG AAA ACT GTG GAA TTG GG -3')와 1492R (5'-TGA TGC TCC ATA ACT TCC TG -3')를 사용하였음.
- 반응조건은 초기 변성(initial denaturation)은 94°C에서 5분 실시하였고, 변성(denaturation)은 94°C에서 1분, 가열냉각(annealing)은 60°C에서 1분, 증폭 (extention)은 72°C에서 1분으로 35회 반복하였으며, 마지막으로 72°C에서 10분 동안 증폭한 후 4°C에서 보관하였음.

증폭된 PCR 반응 산물은 1.5% agarose gel 상에서 전기영동으로 확인하였으며, 252bp에서 밴드가 나타나는 경우 양성으로 판정하였음.

- PowerCheck™ Diarrheal *E. coli* 8-plex Detection Kit 분석은 Kit에 포함되어있는 PCR premix 10 μ L에 primer Mix(Diarrheal *E. coli* 8-plex)를 5 μ L, Template DNA 5 μ L를 첨가하여 총 20 μ L의 반응물을 만든 후 반응하였음. 반응조건의 경우, 초기 변성(initial denaturation)은 95°C에서 12분 실시하였고, 변성(denaturation)은 95°C에서 30초, 가열냉각(annealing)은 60°C에서 45초, 증폭(extention)은 72°C에서 1분으로 32회 반복하였으며, 마지막으로 72°C에서 10분 동안 증폭한 후 4°C에서 보관하였음. 증폭된 PCR 반응 산물은 2% agarose gel 상에서 전기영동으로 확인하였음.

- *Staphylococcus aureus* 세균 수 분석

- 정량 분석: *S. aureus* 세균 수 확인을 위하여 시험원액을 0.1% PW 용액을 이용하여 단계별로 희석한 후 mannitol salt agar(MSA; Becton, Dickinson and Company) 배지에 분주해 도말하고 35°C에서 24시간 배양 후 *S. aureus* 세균 수를 확인하였음.
- 정성 분석: 시험원액 1 mL을 10% NaCl을 첨가한 TSB 배지 9 mL에 첨가하여 37°C에서 24시간 증균 배양한 뒤, 배양액을 MSA 배지에 도말하여 37°C에서 24시간 배양하여 얻은 집락을 응집반응으로 1차 확인하고, 해당 *S. aureus* 집락을 16s rRNA 분석을 통하여 최종 확인하였음.

- *Listeria monocytogenes* 세균 수 분석

- 정량 분석: *L. monocytogenes* 세균 수 확인을 위하여 시험원액을 0.1% PW 용액을 이용하여 단계별로 희석한 후 PALCAM(Becton, Dickinson and Company) agar 배지에 분주해 도말하고 30°C에서 48시간 배양 후 *L. monocytogenes* 세균 수를 확인하였음.
- 정성 분석: 시험원액 1 mL을 listeria enrichment broth(LEB, Becton, Dickinson and Company) 9 mL에 첨가하여 30°C에서 24시간 1차 증균 배양한 뒤, 증균액 1 mL을 fraser listeria broth(FLB, Becton, Dickinson and Company)에 첨가하여 37°C에서 24시간 2차 증균 배양하고 배양액을 PALCAM 배지에 희석 도말하여 30°C에서 48시간 배양한 후, 검은색 *L. monocytogenes* 의심 집락을 취하여 16S rRNA 분석을 통하여 최종 확인하였음.

- *Salmonella* 세균 수 분석

- 정량 분석: *Salmonella* 세균 수 확인을 위하여 시험원액을 0.1% PW 용액을 이용하여 단계별로 희석하고 xylose lysine deoxycholate agar(XLD, Becton, Dickinson and Company) 배지에 분주해 도말하고 37°C에서 24시간 배양 후 *Salmonella* 세균 수를 확인하였음.
- 정성 분석: 시험원액 1 mL을 XLD 배지에 희석 도말하여 37°C에서 24시간 배양한 후, 검은색의 *Salmonella* 의심집락을 취하여 16S rRNA 분석을 통하여 최종 확인하였음.

○ 숙성 공정 중 위해요소 평가에 따른 중점관리점 설정

- 건조 숙성육의 숙성 및 정형실 환경 시료의 미생물 분석을 통하여 미생물(일반세균, 대장균, *S. aureus*, *L. monocytogenes*, *Salmonella* 등의 병원성 세균 등)에 취약한 위해

요소를 탐색하고 중점관리점(critical control point, CCP)로 선정하였음.

(3) 적정 품질 유지 기한 설정

○ 건조 숙성육의 숙정 시간에 따른 미생물 생육 측정

- 시료준비

- 건조 숙성 중의 미생물 생육을 측정하기 위해, 건조 숙성육 제조 후 0, 7, 14, 21, 28, 35일에 건조 숙성육 시료를 채취하였음.

- 미생물 분석

- 채취한 시료 중 25 g 을 취하여 0.1% PW 용액 50 mL 가하여 1분 간 균질화 한 후 이 중 1 mL을 시험원액으로 사용하였음.
- 총 균수 확인을 위하여 시험 원액을 0.1% PW 용액을 이용하여 단계별로 희석하고 TSA 배지에 분주해 도말하고, 35°C에서 24시간 배양 후 균수를 확인하였음.
- 곰팡이 및 효모 수를 확인하기 위하여 시험 원액을 0.1% PW 용액을 이용하여 단계별로 희석하고 PDA 배지에 분주해 도말하고, 20°C에서 7일 배양 후 곰팡이 및 효모 수를 확인하였음.

(4) 미생물 시너지스트 접종시험

○ 미생물 시너지스트 단독 접종

- *P. anomala* SMFM201611 균액 준비

- 10 mL의 PDB 배지에 *P. anomala* SMFM201611를 접종하고 뿌영계 *P. anomala* SMFM201611가 성장할 때까지 20°C에서 7일간 배양하여 배양액의 1 mL을 PDA 배지에 평판 도말한 뒤, 10분 간 배지를 상온에서 건조 시킨 후 20°C에서 7일 동안 배양하였음.
- *P. anomala* SMFM201611 시험 원액을 제조하기 위해, 배양한 PDA plate에 5 mL의 PBS를 첨가한 후 멸균 스프레더를 이용하여 *P. anomala* SMFM201611의 포자를 부유 시킴.
- 포자액을 멸균된 15 mL conical tube에 옮기고 2분 간 강하게 진탕하여 포자를 현탁 시킨 후, 9 mL의 PBS로 단계별로 희석하고 hemacytometer을 이용하여 *P. anomala* SMFM201611의 포자수를 계수하였음.
- PBS를 이용하여 최종 농도가 6 Log spores/mL가 되도록 *P. anomala* SMFM201611 포자액을 희석하고, 희석된 포자액을 최종적으로 건조 숙성을 위한 미생물 시너지스트로서 *P. anomala* SMFM201611 접종액으로 사용하였음.

- *D. hansenii* SMFM201707 접종액 준비

- 10 mL의 PDB 배지에 화염 멸균한 백금으로 *D. hansenii* SMFM201707 단일 집락을 따서 접종하고 *D. hansenii* SMFM201707가 뿌영계 성장할 때까지 20°C에서 4일 간 배양하여 배양액의 100 μ L을 10 mL의 새로운 PDB 배지에 옮겨 20°C에서 4일간 배양하였음.
- 최종 농도가 6 Log CFU/mL가 되도록 *D. hansenii* SMFM201707 배양액을 9 mL의 PBS

를 이용하여 단계별로 희석하고, 희석된 균액을 최종적으로 건조 숙성을 위한 미생물 시너지스트로서의 *D. hansenii* SMFM201707 접종액으로 사용하였음.

- 접종 및 숙성방법

- 3등급 소고기 채끝 부위를 구입 후, 클린벤치에서 UV를 쬐고, 아래 각각 15분 간 조사한 후 준비된 미생물 시너지스트를 고기의 표면에 분무 접종을 하며, 고기에 미생물 시너지스트가 잘 부착될 수 있도록 15분 간 방치하였음.
- 접종이 완료된 시료는 숙성고에서 0, 14, 21, 28일 숙성을 진행하였음.

- 시료채취

- 숙성 0, 14, 21, 28일 기간별로 숙성된 소고기로부터 시료 25 g을 채취하여 미생물 검사를 시험하였음.

- 미생물 분석

- 일반세균수 분석 : 시험원액을 0.1% PW 용액을 이용하여 단계별로 희석한 후 TSA 배지에 분주해 도말하고, 35°C에서 24시간 배양 후 균수를 확인하였음.
- 곰팡이 및 효모 수 분석 : 시험 원액을 0.1% PW 용액을 이용하여 단계별로 희석한 후 PDA 배지에 분주해 도말하고, 20°C에서 7일 배양 후 곰팡이 및 효모 수를 확인하였음.
- Coliform, *E. coli* 세균수 분석: 시험 원액을 0.1% PW 용액을 이용하여 단계별로 희석한 후 *E. coli* petrifilm 배지에 분주해 도말하고, 35°C에서 24시간 배양 후 세균수를 확인하였음.
- *S. aureus* 세균수 분석 : *S. aureus* 세균수 확인을 위하여 시험원액을 0.1% PW 용액을 이용하여 단계별로 희석한 후 MSA 배지에 분주해 도말하고, 35°C에서 24시간 배양 후 *S. aureus* 세균수를 확인하였음. 정성 분석을 위해 시험원액 1 mL을 10% NaCl을 첨가한 TSB 배지 9 mL에 첨가하여 37°C에서 24시간 증균 배양한 뒤, 배양액을 MSA 배지에 도말하여 37°C에서 24시간 배양하여 얻은 집락을 응집반응으로 1차 확인하고, 해당 *S. aureus* 집락을 16S rRNA 분석을 통하여 최종 확인하였음.
- *L. monocytogenes* 세균수 분석 : *L. monocytogenes* 세균수 확인을 위하여 시험원액을 0.1% PW 용액을 이용하여 단계 별로 십진 희석한 후 PALCAM agar 배지에 분주해 도말하고 30°C에서 48시간 배양 후 *L. monocytogenes* 세균수를 확인하였음. 정성 분석을 위해 시험원액 1 mL을 LEB 9 mL에 첨가하여 30°C에서 24시간 1차 증균 배양한 뒤, 증균액 1 mL을 FLB에 첨가하여 37°C에서 24시간 2차 증균 배양하고 배양액을 PALCAM 배지에 희석 도말하여 30°C에서 48시간 배양한 후, 검은색 *L. monocytogenes* 의심 집락을 취하여 16S rRNA 분석을 통하여 최종 확인하였음.
- *Salmonella* 세균수 분석 : *Salmonella* 세균수 확인을 위하여 시험원액을 0.1% PW 용액을 이용하여 단계별로 희석하고 XLD 배지에 분주해 도말하고 37°C에서 24시간 배양 후 *Salmonella* 세균수를 확인하였고, 정성 분석은 시험 원액 1 mL을 XLD 배지에 희석 도말하여 37°C에서 24시간 배양한 후, 검은색의 *Salmonella* 의심 집락을 취하여 16S rRNA 분석을 통하여 최종 확인하였음.

○ 미생물 시너지스트 비율에 따른 혼합접종

- 균액 준비

- 상기 109쪽과 동일한 방법으로 수행하였으며, 곰팡이와 효모 비율을 각각 4:1, 1:1의 비율로 혼합하여 접종액을 준비하였고, 대조군은 동량의 PBS로 사용하였음.

- 접종 및 숙성방법

- 상기 110쪽과 동일한 방법으로 수행하였음

- 미생물 분석

- 상기 110쪽과 동일한 방법으로 수행하였음

② 연구결과

(1) 안전성 및 배양 효율성을 고려한 미생물 시너지스트 선정 및 접종법 확립

○ 미생물 시너지스트의 형태학적 관찰

- 광학현미경과 주사전자현미경을 이용하여 *P. anomala* SMFM201611의 포자 형태를 관찰

- 건조 숙성육에서 분리한 *P. anomala* SMFM201611의 포자낭포자를 주사전자현미경을 활용하여 관찰한 결과, 아래의 그림 45처럼 타원형 모양의 포자를 갖는 것으로 확인됨. 성숙된 포자낭포자는 가로 3.5-5 μm , 세로 7.5-9.6 μm 정도의 크기를 갖는 것으로 나타남.

- Schrot(1886)은 *P. anomala*의 포자낭포자를 7.0-12.5 $\mu\text{m} \times$ 5.5-8.0 μm 의 모양을 나타내는 황갈색의 포자로 묘사하여 주사전자현미경을 통하여 확인한 포자낭포자와 일치하는 것으로 판단됨.

- 이는 *P. anomala*에 대한 다양한 논문에서 묘사되고 있는 형태와 일치하며, 곰팡이를 6-7일 정도 배양하였을 때 포자낭포자가 터지는 것을 관찰하였음(그림 45).

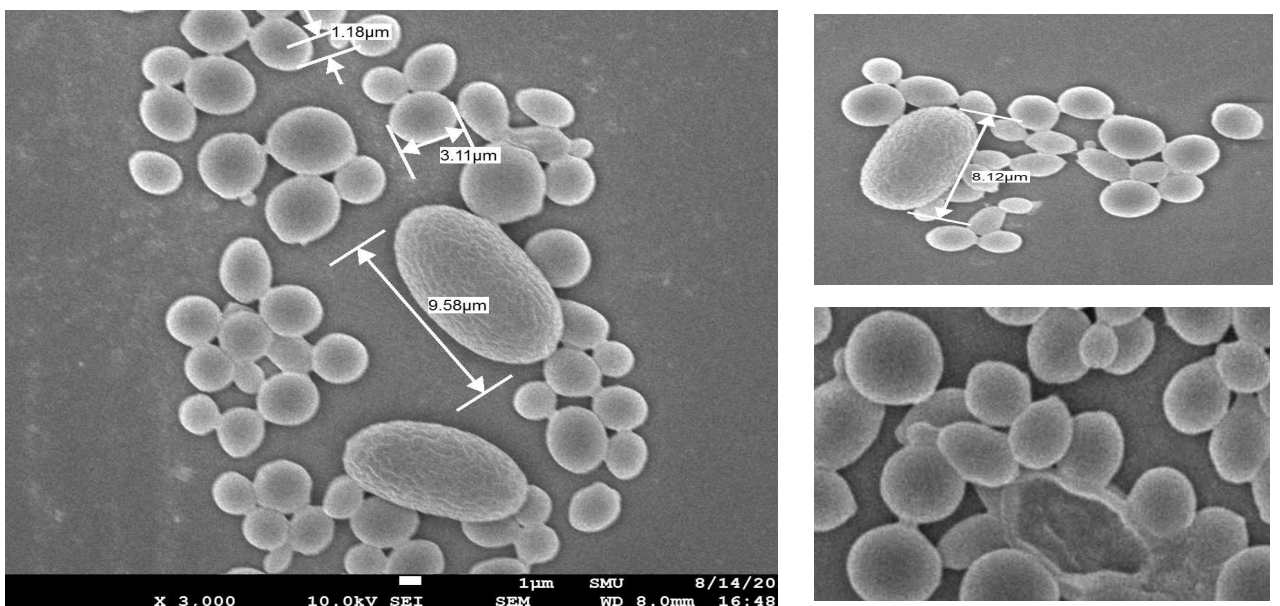


그림 45. 주사전자현미경을 통하여 *Pilaira anomala* SMFM201611 포자의 형태학적 관찰

- 건조 숙성육에서 분리한 *P. anomala* SMFM201611의 포자낭병과 포자낭을 광학현미경을 활용하여 관찰한 결과, 아래의 그림 46의 모양을 확인함.
- 포자낭병은 포자낭을 지지하는 균사의 가지로 실같이 가느다란 격막이 없는 긴 원통형의 기둥의 모양을 나타내며 높이는 1-5 cm 정도를 나타내고, 30-100 μm 로 얇은 기둥 모양으로 쉽게 가라앉고 붕괴되는 탁한 흰색 또는 투명한 갈색을 띠는 특징을 나타냄 (Nand and Mehrotra, 1978).
- *P. anomala*의 포자낭은 처음에는 구형의 백색 주머니의 모양을 띠다가 점차적으로 어두운 갈색 또는 검정색을 띠는 포자를 담고 있는 주머니 형태를 갖는 특징을 확인하였고 이는 다양한 선행연구를 통하여 *P. anomala*의 형태를 묘사한 것과 일치하는 것으로 사료됨(Zheng and Liu, 2009; Nand and Mehrotra, 1978).
- 직경 60-300 μm 의 크기를 나타내며 성숙하면서 크게 팽창하여 포자를 내보내게 되는데, 시간에 따른 포자낭의 변화를 관찰해 본 결과(그림 #), 포자낭이 생성된 후 5-6일 사이에 포자낭의 팽창이 나타나는 것을 확인하였음.



그림 46. 광학현미경을 통하여 *Pilaira anomala* SMFM201611 포자낭의 형태학적 관찰

- 주사전자현미경을 이용하여 *D. hansenii* SMFM201707의 형태를 관찰
- 건조 숙성육에서 분리한 *D. hansenii* SMFM201707의 집락을 주사전자현미경을 활용하여 관찰한 결과, 아래의 그림 47처럼 작고 둥근형 모양을 갖으며 3-4일 정도 배양하였을 때 출아하는 모습을 관찰하였으며 세포는 1.24-4.23 μm 정도의 크기를 갖는 것으로 나타남.
- 출아가 진행 중인 세포는 그 크기가 더 작았으며, 형태학적으로 일반적인 효모 균주와 비교하여 유사한 형태를 나타내는 것을 확인함.

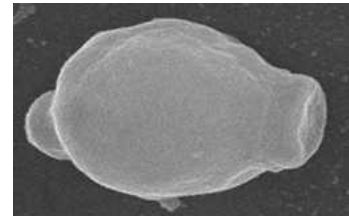
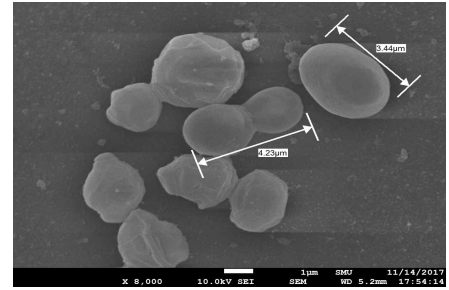
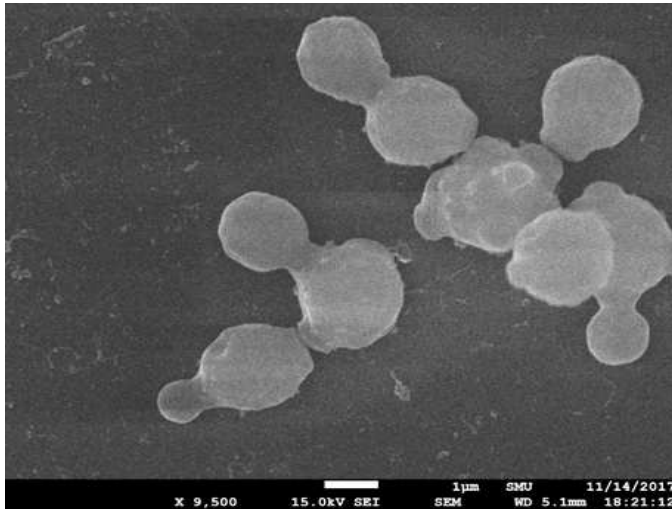


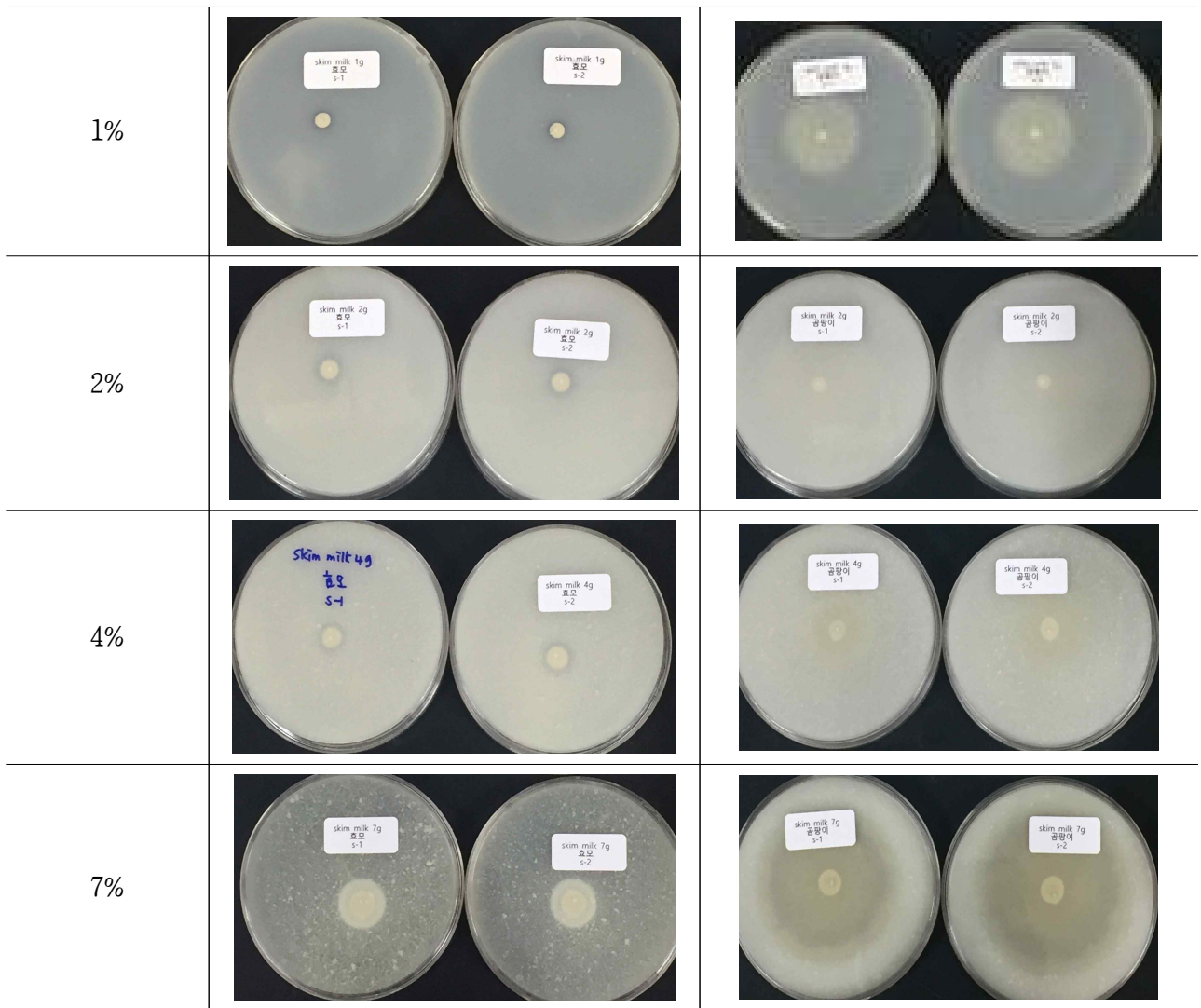
그림 47. 주사전자현미경을 통하여 *Debaryomyces hansenii* SMFM201707의 형태학적 관찰

○ 미생물 시너지스트의 효소활성 확인 시험

- *P. anomala* SMFM201611와 *D. hansenii* SMFM201707의 단백질 분해능(protease 활성) 확인
- PDA배지에 skim milk를 농도 별(1%, 2%, 4%, 7%)로 첨가한 후, 10 µL를 접종하여 배양한 결과, 기질로 사용한 skim milk의 농도가 높아질수록 미생물 시너지스트의 생장률이 증가하는 것으로 확인됨.
- *P. anomala* SMFM201611의 배양 속도가 증가하여 7% skim milk 첨가배지에 지름이 6.3 cm 로 확인되었고, 이는 0.5%와 1%의 skim milk를 첨가했던 3.5 cm 보다 약 2배 가까이 높은 생장률을 나타냄.
- *D. hansenii* SMFM201707의 배양 속도가 증가하여 7% skim milk 첨가 배지에서 지름이 2 cm 로 가장 크게 자란 것을 확인할 수 있음(표 57).
- 또한, *D. hansenii* SMFM201707의 배양된 집락 주변부로 clear zone이 관찰되는 것을 확인할 수 있었고, *P. anomala* SMFM201611의 경우에도 배양 후 균사체 주변으로 clear zone이 생성되어 미생물 시너지스트 두 종 모두 단백질 분해능(protease 활성)을 갖는 것으로 판단되었음.

표 57. *Pilaira anomala* SMFM201611와 *Debaryomyces hansenii* SMFM201707의 단백질 분해능 확인

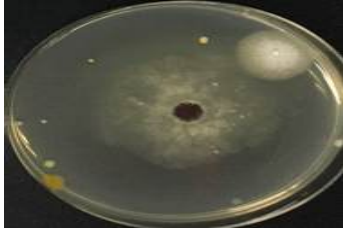
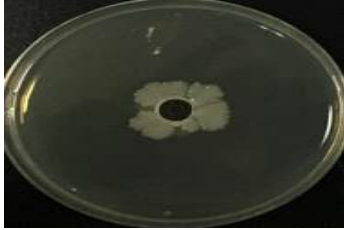
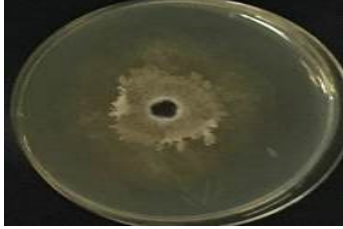

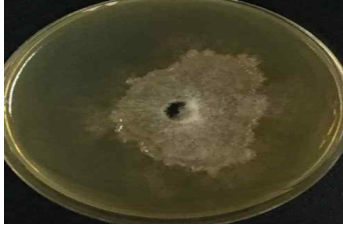


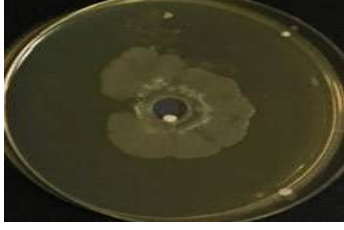
Skim milk 농도	<i>P. anomala</i> SMFM201611	<i>D. hansenii</i> SMFM201707



- *P. anomala* SMFM201611와 *D. hansenii* SMFM201707의 지질질 분해능(lipase 활성) 확인
- Tributyrin 농도(1%, 2%, 4%, 7%)로 첨가한 후, 10 μ L를 접종하여 배양한 결과, 기질로 사용한 tributyrin의 농도가 높아질수록 미생물 시너지스트의 성장률이 증가하는 것으로 확인됨(표 58).
- *P. anomala* SMFM201611의 배양 속도가 증가하여 7% tributyrin 첨가배지에서 균사체가 더 크게 성장하는 것을 확인하였고, *D. hansenii* SMFM201707 또한 7% tributyrin 첨가 배지에서 더 빠르게 성장하는 것을 확인함.
- *Debaryomyces*는 치즈와 소시지 등의 발효를 유도하는 효모로 지방의 분해로 인한 향미 증진을 유도할 수 있는 것으로 보고되었음(Martorell 등, 2005).

표 58. *Pilaira anomala* SMFM201611와 *Debaryomyces hansenii* SMFM201707의 지질 분해능 확인

Tributyrin 농도	<i>P. anomala</i> SMFM201611	<i>D. hansenii</i> SMFM201707
---------------	------------------------------	-------------------------------

1%		
3%		
7%		
10%		


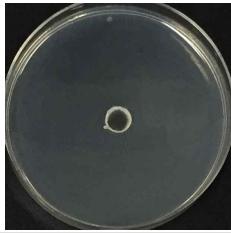
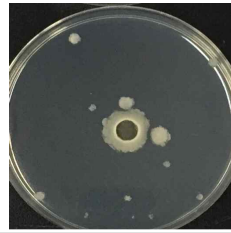






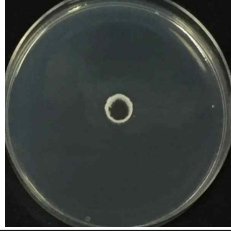
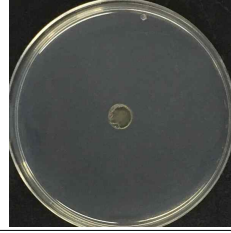

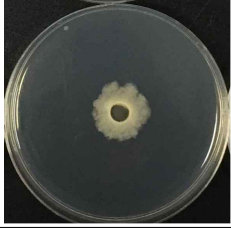
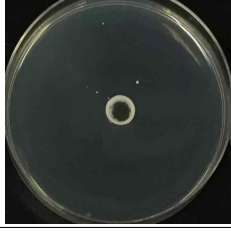



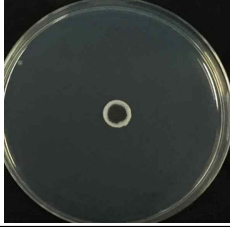
○ 시너지스트의 안전성 및 배양조건 확립

- *P. anomala* SMFM201611와 *D. hansenii* SMFM201707의 안전성 확인

- *D. hansenii*는 전통적으로 꾸준히 섭취하고 있는 된장과 간장에서 분리되는 효모이며, *D. hansenii*는 건조 숙성육에서 ochratoxin을 생성할 수 있는 *Penicillium nordicum*을 억제하는 능력이 있는 것으로 보고된 바가 있음(Andrade 등, 2014; Haque 등, 2014).
- 또한, *D. hansenii*은 유제품 및 육류 제품에서 널리 사용되는 스타터로서, 최근 치즈와 건조 숙성육의 풍미 증진에 활용되기 시작하는 것으로 보고되고 있음(Gori 등, 2012; Ramos 등, 2017).
- 식약처에서 *D. hansenii*를 유가공품 제조에 제한적으로 사용될 수 있도록 원료 목록에 신설 등록하였음(식품의약품안전처, 2016).
- *P. anomala* 에 대한 안전성에 대한 문헌 조사 결과, *P. anomala*의 안전성 연구는 미미함.
- 곰팡이 독소는 아플라톡신(aflatoxin), 오크라톡신(ochratoxin), 푸모니신(fumonisin)등으로 곰팡이에 의하여 생성되는 2차 대사산물이며 지금까지 400여 종이 알려져 있고, 그 중 아플라톡신은 WHO의 국제암연구소(International Agency for Research on Cancer, IARC)에서 group 1의 발암물질로 분류하고 있어 독소의 위해성이 강조되고 있음.

- Sørensen(1997)의 연구결과에 따르면, *D. hansenii*의 생장은 10-25°C에서 가장 우수한 것으로 확인되었으며, Masoud와 Jakobsen(2005)의 연구에서도 5-10°C에서보다 20-25°C에서 *D. hansenii*의 성장률이 높게 나타난다고 보고하였음.

표 59. *Pilaira anomala* SMFM201611와 *Debaryomyces hansenii* SMFM201707의 온도에 따른 성장 확인

온도 (°C)	<i>P. anomala</i> SMFM201611	<i>D. hansenii</i> SMFM201707	온도 (°C)	<i>P. anomala</i> SMFM201611	<i>D. hansenii</i> SMFM201707
4			25		
7			30		
10			37		
15			42		
20					

○ 건조 숙성육 제조를 위한 미생물 시너지스트의 접종법 확립

- *P. anomala* SMFM201611 접종법 확립

- 문헌 조사 및 배양 조건 확립 실험을 통하여 건조 숙성육 제조를 위한 미생물 시너지스트로서의 *P. anomala* SMFM201611 접종법을 아래와 같이 확립하였음.

- 1) *P. anomala* SMFM201611를 10 mL의 PDB 배지에 넣고 뿌옇게 *P. anomala* SMFM201611가 성장할 때 까지 20°C에서 4-5일 간 배양함.
- 2) *P. anomala* SMFM201611 배양액 1 mL을 PDA 배지에 평판 도말한 뒤, 10분 간 배지를 건조시킨 후 20°C에서 7일 동안 배양함.
- 3) *P. anomala* SMFM201611 시험 원액을 제조하기 위해, 배양한 PDA plate에 5 mL의 PBS를 첨가한 후 멸균 스프레더를 이용하여 *P. anomala* SMFM201611 포자액을 채취한 후, 9 mL PBS를 이용하여 단계별로 희석하고 hemacytometer을 이용하여 *P. anomala* SMFM201611의 포자수를 계수함.
- 4) PBS를 이용하여 최종 농도가 6 Log spores/mL가 되도록 *P. anomala* SMFM201611 포자액을 희석하고, 희석된 포자액을 최종적으로 건조 숙성을 위한 미생물 시너지스트로서의 *P. anomala* SMFM201611 접종액으로 사용함.
- 5) 숙성을 위하여 준비한 고기 표면은 UV로 10분 조사한 후, 준비된 접종액을 고기 표면에 분무기를 통하여 분무하고 5분 동안 정착시켰으며 숙성고 선반에 옮겨 숙성을 진행함.

- *D. hansenii* SMFM201707 접종법 확립

- 문헌 조사 및 배양 조건 확립 실험을 통하여 건조 숙성육 제조를 위한 미생물 시너지스트로서의 *D. hansenii* SMFM201707 접종법을 아래와 같이 확립하였음.

- 1) *D. hansenii* SMFM201707를 10 mL의 PDB 배지에 넣고 뿌옇게 *D. hansenii* SMFM201707가 성장할 때 까지 20°C에서 4일간 배양함.
- 2) *D. hansenii* SMFM201707 배양액 100 μ L을 10 mL의 새로운 PDB 배지에 옮겨 20°C에서 4일간 배양함.
- 3) 최종 농도가 6 Log CFU/mL가 되도록 *D. hansenii* SMFM201707 배양액을 9 mL의 PBS를 이용하여 단계별로 희석하고, 희석된 균액을 최종적으로 건조 숙성을 위한 미생물 시너지스트로서의 *D. hansenii* SMFM201707 접종액으로 사용함.
- 4) 숙성을 위하여 준비한 고기 표면은 UV로 10분 조사한 후, 준비된 접종액을 고기 표면에 분무기를 통하여 분무하고 5분 동안 정착시켰으며 숙성고 선반에 옮겨 숙성을 진행함.

(2) 건조 숙성육의 숙성 공정 중 위해요소 평가

○ 숙성 공정에서의 미생물 분석

- 일반세균수 분석

- 건조 숙성육의 숙성 공정 환경에서의 일반세균수 분석 결과는 표 60와 같음.
- 건조 숙성육을 숙성하는 선반에서 4.9-5.9 Log CFU/cm²으로 일반세균수 오염도가 가장 높았으며, 면장갑(2.9 Log CFU/cm²), 문손잡이(2.8 Log CFU/cm²), 도마(2.1 Log CFU/cm²), 라텍스 장갑(1.7 Log CFU/cm²), 컷팅기(1.5 Log CFU/cm²), 칼(1.4 Log CFU/cm²), 선풍기(1.3 Log CFU/cm²), 트레이(0.9 Log CFU/cm²), 저울(0.6 Log CFU/cm²) 순으로 확인됨.
- 도체의 입고 후, 일반세균수를 측정된 결과 4.5 Log CFU/g였으며, 숙성하는 선반에서 일반세균수가 평균 5.4 Log CFU/cm²로 확인됨.

- 농림축산검역본부(2002)의 연구결과에 따르면, 선반의 경우 도체를 올려놓고 숙성하는 장소이기 때문에 교차오염이 발생할 가능성이 있으므로 이를 최소화하기 위한 방안이 필요할 것으로 사료됨.
- 또한, 국내 식육 판매장에서의 식육에 대한 일반세균수는 1×10^6 CFU/cm² 이하로 권장하고 있으며(식품의약품안전처, 2018), 고(2013)의 연구에 따르면, 서울지역의 식육판매점에서 판매되고 있는 우육에 대한 일반세균수가 1.1×10^2 CFU/g에서 1.5×10^6 CFU/g으로 업소별로 매우 큰 차이를 보임.
- 따라서, 도체의 입고 시 초기오염도가 높을 수 있을 가능성이 있으므로 이를 제어하는 방안이 필요할 것으로 판단됨.

표 60. 건조 숙성육의 숙성 공정 환경에서의 일반세균수 분석 결과(n=66)

(Unit : Log CFU/cm², mean±SD)

시료	일반세균수	시료	일반세균수
선반	1	도체 ¹⁾	4.5±0.5
	2	도마	2.1±0.1
	3	트레이	0.9±1.8
	4	칼	1.4±0.9
문손잡이	2.8±0.0	컷팅기	1.5±0.2
면장갑	2.9±0.2	저울	0.6±1.4
라텍스 장갑	1.7±0.1	큰 선풍기	1.3±1.4
		작은 선풍기	1.2±0.8

¹⁾Unit : Log CFU/g

- 곰팡이 및 효모 수 분석

- 건조 숙성육의 숙성 공정 환경에서의 곰팡이 및 효모 수 분석 결과는 표 61-62과 같음.
- 곰팡이 분석 결과, 건조 숙성육을 숙성하는 선반에서 2.8-3.8 Log CFU/cm²으로 오염도가 가장 높았으며, 그 다음으로 문손잡이, 큰 선풍기에서 각각 2.1 Log CFU/cm², 1.8 Log CFU/cm²로 높게 관찰됨.
- 효모 분석결과, 곰팡이와 마찬가지로 건조 숙성육을 숙성하는 선반에서 2.1-4.7 Log CFU/cm²으로 오염도가 가장 높았으며, 그 다음으로 문손잡이, 큰 선풍기에서 각각 1.9 Log CFU/cm², 1.2 Log CFU/cm²로 높게 관찰됨.
- 이는 숙성 기간 동안 건조 숙성육 표면의 곰팡이의 포자가 숙성고 안의 선풍기에 의해 날려 선반에 교차 오염이 되었을 가능성이 있으며, 선반 아래에 배양균으로 숙성을 마치고 트리밍한 클러스터를 놓아두면서 숙성실 내부에 곰팡이와 효모가 상존할 수 있을 것으로 판단됨.
- 문손잡이의 경우 곰팡이와 효모의 수가 각각 2.1 Log CFU/cm², 1.9 Log CFU/cm²으로 확인되어 숙성 전, 후 고기를 옮기는 과정에서 작업자의 손에 의해 포자가 옮겨졌을

가능성도 있는 것으로 판단됨.

표 61. 건조 숙성육의 숙성 공정 환경에서의 곰팡이 수 분석 결과(n=66)

(Unit : Log CFU/cm², mean±SD)

시료	곰팡이 수	시료	곰팡이 수	
1	3.8±0.0	도체 ¹⁾	<-0.4 ²⁾	
2	2.8±0.3	도마	1.4±0.6	
선반	3	3.5±0.3	트레이	0.2±0.8
4	3.7±0.7	칼	1.2±0.5	
문손잡이	2.1±1.1	컷팅기	0.4±1.1	
면장갑	0.6±1.5	저울	0.5±1.2	
라텍스 장갑	1.2±0.2	큰 선풍기	1.8±1.4	
		작은 선풍기	1.3±0.7	

¹⁾Unit : Log CFU/g

²⁾Below detection limit

표 62. 건조 숙성육의 숙성 공정 환경에서의 효모 수 분석 결과(n=66)

(Unit : Log CFU/cm², mean±SD)

시료	효모 수	시료	효모 수	
1	4.7±0.4	도체 ¹⁾	1.9±1.8	
2	2.1±3.6	도마	0.4±1.1	
선반	3	3.2±2.5	트레이	0.1±0.4
4	3.4±2.3	칼	<-0.4 ²⁾	
문손잡이	1.9±0.3	컷팅기	0.0±0.5	
면장갑	0.2±0.8	저울	0.3±0.9	
라텍스 장갑	<-0.4	큰 선풍기	1.2±2.3	
		작은 선풍기	0.9±1.8	

¹⁾Unit : Log CFU/g

²⁾Below detection limit

- Coliform, *E. coli* 세균수 분석

- 건조 숙성육의 숙성 공정 환경에서의 Coliform, *E. coli* 세균수 분석 결과는 표 63-64과 같음.
- Coliform 분석 결과, 트레이, 칼, 라텍스 장갑, 저울, 선풍기 등에서는 Coliform이 검출

되지 않았으며(검출한계: $-0.4 \text{ Log CFU/cm}^2$), 선반에서 가장 오염도가 높게 나타났으나 그 수치는 $-0.4-1.6 \text{ Log CFU/cm}^2$ 로 매우 낮게 나타남.

- 국내 식육에 대한 Coliform은 2 Log CFU/cm^2 이하로 권장하고 있음(농림축산검역본부, 2002).
- *E. coli* 세균수 분석결과, Coliform 결과와 마찬가지로 대부분의 시료에서 *E. coli*가 검출되지 않았으며(검출한계: $-0.4 \text{ Log CFU/cm}^2$), 일부 선반과 면장갑에서 각각 0.3 Log CFU/cm^2 , 0.0 Log CFU/cm^2 로 매우 낮은 수준으로 *E. coli*가 검출됨.
- 검출된 *E. coli*의 병원성을 확인하기 위하여 PowerCheck™ Diarrheal *E. coli* 8-plex Detection Kit(Kogenebiotech)을 사용하여 PCR을 진행한 결과, 모두 비병원성의 *E. coli* 것으로 확인됨.

표 63. 건조 숙성육의 숙성 공정 환경에서의 Coliform 수 분석 결과(n=66)

(Unit : Log CFU/cm^2 , mean \pm SD)

시료	Coliform 수	시료	Coliform 수
선반	1	도체 ²⁾	2.6 ± 0.4
	2	도마	0.5 ± 1.3
	3	트레이	< -0.4
	4	칼	< -0.4
문손잡이	< 0.4	커팅기	< -0.4
면장갑	1.0 ± 1.4	저울	< -0.4
라텍스 장갑	< -0.4	큰 선풍기	< -0.4
		작은 선풍기	< -0.4

¹⁾Below detection limit

²⁾Unit : Log CFU/g

표 64. 건조 숙성육의 숙성 공정 환경에서의 *Escherichia coli* 수 분석 결과(n=66)

(Unit : Log CFU/cm^2 , mean \pm SD)

시료	<i>E. coli</i> 수	시료	<i>E. coli</i> 수
선반	1	도체 ¹⁾	0.5 ± 0.1
	2	도마	< -0.4 ²⁾
	3	트레이	< -0.4
	4	칼	< -0.4
문손잡이	< -0.4	커팅기	< -0.4
면장갑	0.0 ± 0.6	저울	< -0.4

라텍스 장갑	<-0.4	큰 선풍기	<-0.4
		작은 선풍기	<-0.4

¹⁾Unit : Log CFU/g

²⁾Below detection limit

- *S. aureus* 세균 수 분석

- 건조 숙성육의 숙성 공정 환경에서의 *S. aureus* 세균 수 분석 결과는 표 65와 같음.
- *S. aureus* 세균 수 분석 결과, 대부분의 시료에서 *S. aureus* 의심 집락이 검출되지 않았으며(검출한계: -0.4 Log CFU/cm²), 선반(-0.4-0.1 Log CFU/cm²)과 트레이(0.4 Log CFU/cm²)에서 *S. aureus*가 일부 검출되었으나 오염도가 매우 낮게 나타남.
- *S. aureus*는 독소형 식중독 세균으로, *S. aureus*가 장독소를 생성하기 위해서는 5 Log CFU/g 이상으로 오염되어야 하므로, 건조 숙성육의 숙성 환경에서 분리된 *S. aureus*는 아직은 위험한 수준이 아니라고 판단됨(Loir 등, 2003).
- 그러나, 식약처 식중독 통계에 따르면 *S. aureus*는 2002년 이후 매년 꾸준히 발생하는 식중독 원인 세균으로 건조 숙성육 숙성 과정에서의 *S. aureus* 오염 예방을 위한 꾸준한 관리가 필요하다고 판단됨.

표 65. 건조 숙성육의 숙성 공정 환경에서의 *Staphylococcus aureus* 분석 결과(n=66)

(Unit : Log CFU/cm², mean±SD)

시료	<i>S. aureus</i>	시료	<i>S. aureus</i>
1	0.0±0.5	도체 ¹⁾	2.0±1.0
2	0.0±0.5	도마	<-0.4 ²⁾
선반		트레이	0.4±0.6
3	0.1±0.7	칼	<-0.4
4	<-0.4	커팅기	<-0.4
문손잡이	<-0.4	저울	<-0.4
면장갑	<-0.4	큰 선풍기	<-0.4
라텍스 장갑	<-0.4	작은 선풍기	<-0.4

¹⁾Unit : Log CFU/g

²⁾Below detection limit

- *L. monocytogenes* 세균 수 분석

- 건조 숙성육의 숙성 공정 환경에서의 *L. monocytogenes* 세균 수 분석 결과, 정량 및 정성 분석 모두에서 *L. monocytogenes*가 검출되지 않았음(검출한계: -0.4 Log CFU/cm²).

- *Salmonella* 세균 수 분석

- 건조 숙성육의 숙성 공정 환경에서의 *Salmonella* 세균 수 분석 결과, 정량 및 정성 분석 모두에서 *Salmonella*가 검출되지 않았음(검출한계: $-0.4 \text{ Log CFU/cm}^2$).

○ 숙성 공정 중 위해요소 평가에 따른 중점관리점 설정

- 건조 숙성육의 숙성 및 가공과정에서의 위해요소 중점관리점 설정
- 건조 숙성육 제조 시 제품이 환경에 노출되는 환경 순서는 그림 48와 같음.

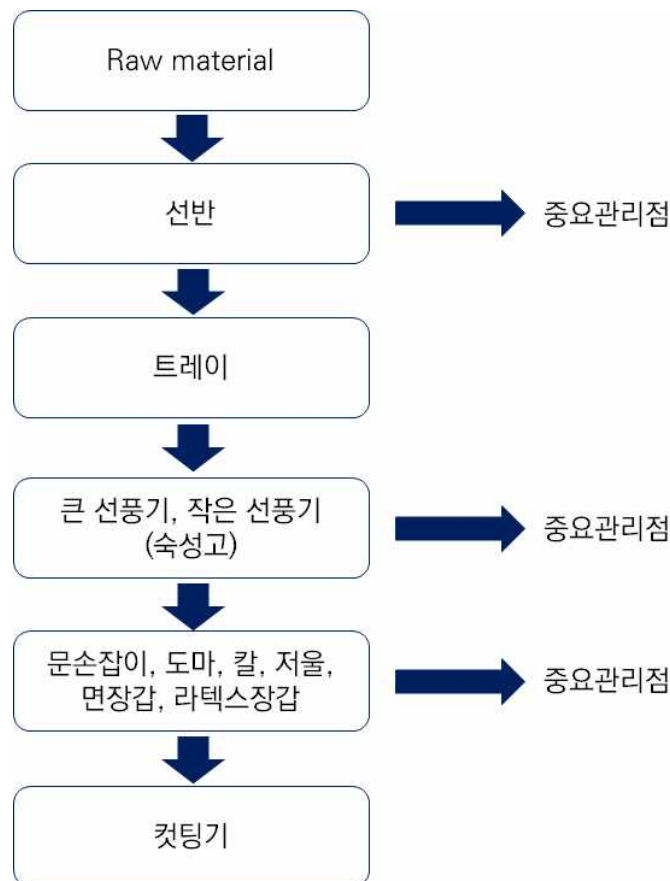


그림 48. 건조 숙성육 숙성 환경에서의 중점관리점 설정

- 숙성 및 가공과정에서의 미생물 분석 결과, Coliform, *E. coli*, *S. aureus*, *L. monocytogenes*, *Salmonella*는 매우 낮은 수준으로 나타났으므로, 건조 숙성육의 숙성 및 가공과정에서 병원성 세균의 오염은 비교적 낮은 것으로 판단됨.
- 그러나 숙성 공정 중 위해요소로 판단되는 12곳의 오염실태조사를 66건 실시한 결과, 특히 건조 숙성육의 숙성을 위해 도체를 보관하는 선반에서, 일반세균수가 평균 5.4 Log CFU/cm^2 으로 나타남.
- 국내 식육에 대한 일반세균수 권고 수준이 5.0 Log CFU/cm^2 이하로 제시되고 있는 것을 고려하면, 건조 숙성육의 숙성 및 가공과정으로부터의 교차오염을 방지하기 위하여 선반을 주기적으로 소독해야 할 것으로 판단됨.
- 또한, 작업자가 건조 숙성육 제조 시 선반에서 면장갑으로 교차오염이 발생 가능

하므로, 작업 전후로 작업자의 장갑을 자주 바꿔주거나, 70% alcohol로 자주 소독을 해주며 숙성고 선반의 분기별 교체 및 소독을 통해 위생 관리를 철저히 해야 할 것으로 사료됨.

- 공기의 순환을 위해 사용하는 선풍기에 먼지가 쌓이지 않도록 자주 닦아주며, 포자가 숙성고 외부로 날리지 않도록 주의하는 등 꾸준한 관리가 요구됨.
- 국외의 건조 숙성육 환경을 조사한 결과, 숙성고 안에 자외선 등을 설치하여 주기적으로 숙성고 내부에 조사함으로써 공기 중에 존재하는 세균들을 제어하는데 이용하는 사례가 있었음(Neil perry, 2012).
- 국내에도 이와 같이 숙성고 내부 환경으로부터 병원성 세균의 제어를 위한 방법 도입이 우선시 되어야 할 것으로 사료됨.

(3) 적정 품질 유지 기한 설정

○ 건조 숙성육의 숙성 시간에 따른 미생물 생육 측정

- 일반세균수 분석

- 육우를 건조 숙성 방법을 통하여 건조 숙성육 제조 시, 건조 숙성육 내부의 경우 일반세균수가 3.0-6.1 Log CFU/g로 나타났으며, 외부의 경우 4.5-8.4 Log CFU/g 으로 내부보다 다소 높은 것으로 나타남(표 66).
- 건조 숙성육의 내부의 경우, 28일에서 이상 숙성을 진행할 경우 내부의 일반세균수가 4.2 Log CFU/g에서 6.1 Log CFU/g까지 급격하게 증가하는 것을 확인할 수 있었음.
- 이는 국내 식육 판매장에서 일반세균수 권고 수준으로 제시되고 있는 7.0 Log CFU/g 이하의 기준보다는 낮은 것으로 확인되었으나, FSA(Food Standards Agency, 2017)의 기준에 따르면 소고기에서 일반세균수가 5.0 Log CFU/g 이상 검출될 경우 부적합으로 판정함.
- 따라서, 28일 이하의 숙성기간을 준수하며, 도체의 초기오염을 예방하고 지속적인 위생 관리가 중요한 것으로 사료됨.

표 66. 숙성 기간에 따른 건조 숙성육에서의 일반세균수 변화

(Unit : Log CFU/g, mean±SD)

	건조 숙성 기간(일)					
	0	7	14	21	28	35
건조 숙성육 내부	3.0±0.2	4.2±0.3	6.2±1.9	4.3±4.3	4.2±4.2	6.1±0.1
건조 숙성육 외부	4.5±0.4	6.1±0.2	6.0±0.9	7.1±0.6	7.2±1.7	8.4±1.5

- 곰팡이 수 분석 결과

- 숙성 기간에 따른 건조 숙성육의 곰팡이 수의 변화는 건조 숙성육의 내부의 경우, 숙성 시작일(0일차)에서 1.0 Log CFU/g 이었으나, 7일 차에는 1.6 Log CFU/g 으로 증가하였고, 숙성기간이 길어짐에 따라 14 일차와 35 일차에서 3.2 log CFU/g 에서 3.9 Log CFU/g 으로 점차 증가하는 것으로 나타남(표 67).

- 건조 숙성육 외부의 곰팡이 수를 숙성 기간에 따라 분석한 결과, 숙성 초기(0 일차)에서 곰팡이 수는 4.0 Log CFU/g 이었으나, 숙성 기간이 증가함에 따라 점차 증가하여 21 일차에 7.1 Log CFU/g 으로 가장 높게 나타남.
- 0일차에 분리된 곰팡이의 경우, 숙성 및 가공실 내부에 존재하는 곰팡이와 트리밍을 했던 칼 표면에 남아있던 곰팡이 균사가 옮겨진 것으로 사료되며, 내부에 존재하는 곰팡이의 경우도 일부분은 사용하는 칼에 의한 교차오염으로 사료됨.
- 또한, 오염실태조사 결과에 따르면 라텍스 장갑과 문손잡이에서도 각각 1.2 Log CFU/g, 2.1 Log CFU/g 존재하였으므로 작업자의 이동에 따라 식육으로 포자가 전달되었을 가능성이 있음.

표 67. 숙성 기간에 따른 건조 숙성육에서의 곰팡이 수 변화

(Unit : Log CFU/g, mean±SD)

	건조 숙성 기간(일)					
	0	7	14	21	28	35
건조 숙성육 내부	1.0±0.8	1.6±1.3	3.2±0.1	3.6±3.6	3.7±3.7	3.9±0.1
건조 숙성육 외부	4.0±1.9	2.3±1.8	6.1±0.9	7.1±0.0	7.1±0.8	7.0±0.4

- 효모 수 분석 결과

- 숙성 기간에 따른 건조 숙성육의 내부의 효모 수 변화는 숙성 시작일(0일차)에서 1.2 Log CFU/g 이었으나, 숙성 7일차에 3.9 Log CFU/g 으로 증가하였음. 그러나, 숙성 기간에 따른 효모 수의 유의적인 증가는 7일 이후로 크게 관찰되지 않았음(표 68).
- 건조 숙성육 외부의 효모 수를 숙성 기간에 따라 분석한 결과, 숙성 초기(0일차)에서 효모 수는 2.7 Log CFU/g 이었으나, 숙성 기간이 증가함에 따라 점차 증가하여 28일차에 6.9 Log CFU/g 으로 가장 높게 나타남.
- 건조 숙성육 외부의 효모는 28일에 가장 높게 존재하였고 그 이후로 감소하는 경향을 나타내었으며, 이는 건조 숙성 중 시너지스트로 작용하는 효모가 좋은 향에 영향을 미친다는 사전 결과에 따라 식육의 관능적 풍미에 영향을 줄 것으로 사료됨.

표 68. 숙성 기간에 따른 건조 숙성육에서의 효모 수 변화

(Unit : Log CFU/g, mean±SD)

	건조 숙성 기간(일)					
	0	7	14	21	28	35
건조 숙성육 내부	1.2±0.4	3.9±0.1	2.3±1.3	3.1±3.1	2.0±2.0	4.0±0.3
건조 숙성육 외부	2.7±3.1	4.5±1.7	5.9±0.4	6.5±0.7	6.9±0.9	5.4±0.5

(4) 미생물 시너지스트 접종시험

○ 미생물 시너지스트 단독 접종

- 일반세균수 분석

- 미생물 시너지스트를 단독으로 접종하여 28일 동안 숙성과정 중 일반세균수의 변화를 관찰하였음(표 69-70).
- 미생물 시너지스트 접종 후, 건조 숙성 과정에서의 총 일반세균수를 분석한 결과, 도체 자체의 초기 세균 수 3.2 Log CFU/g에 비해 숙성기간이 지날수록 꾸준히 증가하는 것으로 확인됨.
- 이는 숙성 과정 중에 나타날 수 있는 단백질 분해능이 있는 세균(proteolytic bacteria)의 성장과 젖산균의 증가로 인한 총 균수의 증가로 사료됨.
- *P. anomala* SMFM201611 접종균의 경우 숙성 28일까지 꾸준히 증가하여 내부 6.4 Log CFU/g, 외부 7.7 Log CFU/g 으로 확인됨.
- 1차 년도 연구결과에 따르면, 곰팡이가 가장 많이 성장했던 균(풍속 0 m/s 건식육)에서 *Pseudomonas*가 가장 높은 것으로 확인되었음. 이에 따라, 곰팡이 시너지스트를 단독으로 접종하였을 때 proteolytic activity를 증대시키는 proteolytic bacteria가 함께 증가할 수 있어 전체적인 세균수의 증가를 가져오는 것으로 사료됨.
- 식육의 일반세균수가 7.0 Log CFU/g 이상인 경우 지나친 숙성으로 인하여 부적합으로 판단 될 수 있으므로 곰팡이의 단독 접종으로 인한 지나친 생장은 오히려 식육의 위생에 부정적인 영향을 가져올 수 있을 것으로 판단됨.

표 69. 3등급 육우에 시너지스트 접종 시, 내부 일반세균수 비교

(Unit : Log CFU/g, mean±SD)

접종균주	건조 숙성 기간(일)			
	0	14	21	28
대조군	3.2±0.6 ^{bc}	2.3±1.0 ^{cx}	4.5±1.7 ^{abxy}	5.2±0.3 ^{ay}
<i>P. anomala</i> SMFM201611	3.2±0.6 ^c	4.2±1.0 ^{bx}	6.1±0.3 ^{ax}	6.4±0.4 ^{ax}
<i>D. hansenii</i> SMFM201707	3.2±0.6 ^b	1.7±1.4 ^{cy}	4.4±0.5 ^{ay}	5.1±0.4 ^{ay}

^{a-c}The letters within the same row were significantly different ($P<0.05$).

^{x,y}The letters within the same column were significantly different ($P<0.05$).

표 70. 3등급 육우에 시너지스트 접종 시, 외부 일반세균수 비교

(Unit : Log CFU/g, mean±SD)

접종균주	건조 숙성 기간(일)			
	0	14	21	28
대조군	3.2±0.6 ^c	2.8±1.1 ^{dy}	4.3±0.3 ^{by}	5.0±0.5 ^{az}
<i>P. anomala</i> SMFM201611	3.2±0.6 ^d	5.3±0.8 ^{cx}	6.2±0.4 ^{bx}	7.7±0.1 ^{ax}

<i>D. hansenii</i> SMFM201707	3.2±0.6 ^c	2.9±0.5 ^{cy}	4.3±1.0 ^{by}	5.5±0.1 ^{ay}
----------------------------------	----------------------	-----------------------	-----------------------	-----------------------

^{a-c}The letters within the same row were significantly different ($P<0.05$).

^{x-z}The letters within the same column were significantly different ($P<0.05$).

- 곰팡이 수 분석

- 미생물 시너지스트를 단독으로 접종하여 28일 동안 숙성과정 중 곰팡이의 변화를 관찰 하였음(표 71-72).
- 미생물 시너지스트 접종 후, 건조 숙성 과정에서 곰팡이 수를 분석한 결과 도체 자체의 초기 곰팡이 수 1.3 Log CFU/g에 비해 숙성기간이 지날수록 증가하는 것으로 확인됨.
- 미생물 시너지스트인 *P. anomala* SMFM201611 접종군의 경우 숙성기간이 지날수록 점차 증가하여 내부의 경우 5.8 Log CFU/g, 외부의 경우 6.0 Log CFU/g으로 확인됨.
- 내부에서 곰팡이가 관찰된 결과는 숙성 후, 손질을 하는 과정에서 교차오염이 발생했을 가능성이 있음.
- 반면 *D. hansenii* 접종군에서는 숙성 21일까지는 곰팡이가 확인되지 않았지만, 숙성기간이 28일 후 외부와 내부 모두 곰팡이가 관찰 되었으며, 이는 같은 숙성고에서 숙성을 진행하면서 숙성과정에서 숙성고 내부의 공기 흐름에 영향을 받아 포자가 옮겨갔을 것으로 판단됨.

표 71. 3등급 육우에 시너지스트 접종 시, 내부 곰팡이 수 비교

(Unit : Log CFU/g, mean±SD)

접종군주	건조 숙성 기간(일)			
	0	14	21	28
대조군	1.3±0.6 ^b	1.6±0.8 ^{by}	4.0±0.8 ^{ay}	4.2±0.4 ^{axy}
<i>P. anomala</i> SMFM201611	1.3±0.6 ^c	4.3±0.1 ^{bx}	4.9±0.3 ^{abx}	5.8±1.5 ^{ax}
<i>D. hansenii</i> SMFM201707	1.3±0.6 ^b	<0.48 ^{1)cz}	<0.48 ^{cz}	3.5±0.8 ^{ay}

¹⁾Below detection limit

^{a-d}The letters within the same row were significantly different ($P<0.05$).

^{x-z}The letters within the same column were significantly different ($P<0.05$).

표 72. 3등급 육우에 시너지스트 접종 시, 외부 곰팡이 수 비교

(Unit : Log CFU/g, mean±SD)

접종군주	건조 숙성 기간(일)			
	0	14	21	28
대조군	1.3±0.6 ^c	2.0±0.5 ^{by}	4.9±0.2 ^{ay}	5.0±0.3 ^{axy}
<i>P. anomala</i> SMFM201611	1.3±0.6 ^c	6.9±0.2 ^{abx}	7.2±0.1 ^{ax}	6.0±1.1 ^{bx}

<i>D. hansenii</i> SMFM201707	1.3±0.6 ^b	<0.48 ^{1cz}	<0.48 ^{cz}	4.8±0.4 ^{ay}
----------------------------------	----------------------	----------------------	---------------------	-----------------------

¹⁾Below detection limit

^{a-c)}The letters within the same row were significantly different (*P*<0.05).

^{x-z)}The letters within the same column were significantly different (*P*<0.05).

- 효모 수 분석

- 미생물 시너지스트를 단독으로 접종하여 28일 동안 숙성과정 중 효모 수의 변화를 관찰하였음(표 73-74).
- 미생물 시너지스트 접종 후, 건조 숙성 과정에서 효모 수를 분석한 결과 도체 자체의 초기 효모 수 1.1 Log CFU/g에 비하여 숙성기간이 지날수록 *P. anomala* SMFM201611 접종균의 내부에서는 효모가 관찰되지 않았지만, 외부에서는 21일 숙성까지 관찰됨.
- 이는 숙성과정에서 자연적으로 성장하는 효모가 약 5 Log CFU/g으로 접종된 *P. anomala* SMFM201611 와 경쟁적으로 존재하며 성장하다가 곰팡이의 수가 점차 증가함으로 인하여 식육 또는 배지 상에서 효모의 생장이 억제된 것으로 판단됨.
- 반면, *D. hansenii* SMFM201707 접종균에서는 효모 수가 꾸준히 증가하는 경향을 보였으며 외부의 경우 최종 7.4 Log CFU/g, 내부 6.4 Log CFU/g으로 확인되었고, 대조군에서의 효모 생장은 이루어지지 않는 것으로 확인됨(*P*<0.05).
- 전체적인 성장률에 대한 결과를 곰팡이 분석 결과와 비교하였을 때, 숙성 과정 중 곰팡이와 효모의 생장은 곰팡이에 비하여 효모가 더 빠르게 진행되는 것으로 판단됨.

표 73. 3등급 육우에 시너지스트 접종 시, 내부 효모 수 비교

(Unit : Log CFU/g, mean±SD)

접종균주	건조 숙성 기간(일)			
	0	14	21	28
대조군	1.1±0.8 ^{ab}	<0.48 ^{by}	2.1±1.8 ^{ay}	<0.48 ^{by}
<i>P. anomala</i> SMFM201611	1.1±0.8 ^a	<0.48 ^{1bcy}	<0.48 ^{cy}	<0.48 ^{cy}
<i>D. hansenii</i> SMFM201707	1.1±0.8 ^c	5.5±0.1 ^{bx}	6.5±0.2 ^{ax}	6.4±0.7 ^{ax}

¹⁾Below detection limit

^{a-c)}The letters within the same row were significantly different (*P*<0.05).

^{x-z)}The letters within the same column were significantly different (*P*<0.05).

표 74. 3등급 육우에 시너지스트 접종 시, 외부 효모 수 비교

(Unit : Log CFU/g, mean±SD)

접종균주	건조 숙성 기간(일)			
	0	14	21	28
대조군	1.1±0.8 ^a	<0.48 ^{ay}	1.4±1.8 ^{ay}	<0.48 ^{ay}
<i>P. anomala</i>	1.1±0.8 ^b	1.7±2.5 ^{aby}	4.2±2.5 ^{ay}	<0.48 ^{1by}

SMFM201611 <i>D. hansenii</i>	1.1±0.8 ^b	7.6±0.3 ^{ax}	7.7±0.3 ^{ax}	7.4±0.3 ^{ax}
SMFM201707				

¹⁾Below detection limit

^{a-c}The letters within the same row were significantly different ($P<0.05$).

^{x-z}The letters within the same column were significantly different ($P<0.05$).

- Coliform, *E. coli* 세균 수 분석

- 미생물 시너지스트를 단독으로 접종하여 28일 동안 숙성과정 중 식육의 위생관리 지표로 관리되고 있는 coliform과 *E. coli*의 변화를 관찰하였음(표 75-76).
- 미생물 시너지스트 접종 후, 건조 숙성육의 숙성 과정에서의 *E. coli* 세균 수 분석 결과 정량 분석에서 검출되지 않았음(검출한계: 0.48 Log CFU/g).
- Coliform의 경우 숙성 기간 중, 꾸준히 관찰되었으며 숙성 28일차에 감소하는 경향이 나타남.
- 우리나라 *E. coli*의 위생관리 기준은 도체의 경우 10² CFU/cm²이며, 식육의 경우 10³ CFU/cm²로 관리되고(식품의약품안전처, 2018), 국외에서도 10³ CFU/cm² 이하로 관리하고 있음.
- *P. anomala* SMFM201611 접종군의 경우 내부 21일차에서 5.0 Log CFU/g으로 관찰 되었으며 28일 숙성 시 3.4 Log CFU/g으로 감소하는 것으로 확인되었음. 이는 pH가 평균 5.73으로 다른 일차에 비해 21일이 높은 것으로 확인이 되었으며, pH가 세균의 생장에 영향을 주었을 것으로 사료됨.
- 따라서, 숙성기간 중 대장균군의 감소가 발생할 수는 있으나 초기오염수준이 높지 않도록 식육의 위생관리가 필요할 것으로 판단됨.

표 75. 3등급 육우에 시너지스트 접종 시, 내부 coliform 수 비교

(Unit : Log CFU/g, mean±SD)

접종군주	건조 숙성 기간(일)			
	0	14	21	28
대조군	1.3±0.7	<0.48	3.0±1.4	0.9±0.5
<i>P. anomala</i> SMFM201611	1.3±0.7	1.9±0.2	5.0±0.2	3.4±0.7
<i>D. hansenii</i> SMFM201707	1.3±0.7	<0.48 ¹⁾	0.9±0.8	1.2±1.4

¹⁾Below detection limit

표 76. 3등급 육우에 시너지스트 접종 시, 외부 coliform 수 비교

(Unit : Log CFU/g, mean±SD)

접종군주	건조 숙성 기간(일)			
	0	14	21	28

대조군	1.3±0.7	0.6±0.2	1.9±0.7	1.2±0.7
<i>P. anomala</i> SMFM201611	1.3±0.7	3.0±1.7	<0.48 ¹⁾	2.4±2.2
<i>D. hansenii</i> SMFM201707	1.3±0.7	0.8±0.5	2.5±1.3	0.9±0.8

¹⁾Below detection limit

- *Salmonella* 세균 수 분석

- 미생물 시너지스트를 단독으로 접종하여 28일 동안 숙성과정 중 식육의 위생관리 지표로 관리되고 있는 *Salmonella*의 변화를 관찰하였음.
- 미생물시너지스트 접종 후, 건조 숙성육의 숙성 과정에서의 *Salmonella* 세균 수 분석 결과, 정량 및 정성 분석 모두에서 *Salmonella*가 검출되지 않았음(검출한계: 0.48 Log CFU/g).

○ 미생물 시너지스트 비율에 따른 혼합접종

- 일반세균수 분석

- 미생물 시너지스트를 곰팡이와 효모의 혼합 접종(1:1, 4:1)하여 21일 동안 숙성과정 중 일반세균의 변화를 관찰하였음(표 77-78).
- 미생물 시너지스트 접종 후, 건조 숙성 과정에서의 총 일반세균수를 분석한 결과, 접종 전 도체의 초기 세균수가 4.5 Log CFU/g이며 숙성기간이 지날수록 꾸준히 증가하는데 특히 10일 만에 크게 증식하는 것으로 확인됨.
- 초기 세균 수에 비하여 접종 후의 초기 세균수가 낮은 것은 접종 전 UV를 조사하였기 때문인 것으로 사료되며, 따라서 숙성고 내 UV등을 설치하여 조사할 경우 숙성과정 중 위생관리에 도움이 될 것으로 판단됨.
- 일반세균수의 급격한 증가는 숙성과정 중에 나타날 수 있는 proteolytic bacteria의 생장과 젖산균의 증가로 인한 총 균수의 증가인 것으로 사료됨.
- 식육의 일반세균수가 7.0 Log CFU/g이상인 경우 지나친 숙성으로 인하여 부적합으로 판단 될 수 있으므로 곰팡이 접종 시 식육의 위생에 부정적인 영향을 가져올 수 있는 요인을 찾아 제거할 필요가 있음.

표 77. 3등급 육우에 시너지스트 접종 시, 내부 일반세균수 비교(초기균수: 4.5 Log CFU/g)

(Unit : Log CFU/g, mean±SD)

접종비율 (곰팡이:효모)	건조 숙성 기간(일)			
	0	10	15	21
대조군	3.1±0.5 ^c	7.7±0.5 ^{bx}	8.2±0.1 ^{abx}	8.3±0.1 ^{ax}
1:1	3.9±0.8 ^c	7.9±0.3 ^{bx}	7.6±0.2 ^{by}	8.8±0.6 ^{ax}
4:1	3.6±0.8 ^b	7.5±0.2 ^{ax}	7.6±0.3 ^{ay}	7.8±0.6 ^{ay}

^{a-c}The letters within the same row were significantly different (*P*<0.05).

^{x,y}The letters within the same column were significantly different (*P*<0.05).

표 78. 3등급 육우에 시너지스트 접종 시, 외부 일반세균 비교 (초기균수: 4.5 Log CFU/g)

(Unit : Log CFU/g, mean±SD)

접종비율 (곰팡이:효모)	건조 숙성 기간(일)			
	0	10	15	21
대조군	3.1±0.5 ^c	7.8±0.8 ^{bx}	8.5±0.3 ^{abx}	8.5±0.1 ^{ay}
1:1	3.9±0.8 ^c	8.3±0.8 ^{abx}	8.1±0.6 ^{bx}	9.1±0.1 ^{ax}
4:1	3.6±0.78 ^c	8.5±0.4 ^{abx}	8.1±0.1 ^{bx}	9.0±0.3 ^{ax}

^{a-c}The letters within the same row were significantly different ($P<0.05$).

^{x,y}The letters within the same column were significantly different ($P<0.05$).

- 곰팡이 및 효모 수 분석

- 미생물 시너지스트를 곰팡이와 효모의 혼합 접종(1:1, 4:1)하여 21일 동안 숙성과정 중 곰팡이와 효모의 변화를 관찰하였음(표 #-#).
- 미생물 시너지스트 접종 후, 곰팡이가 배지 상에 나타나지 않았으며 이는 효모가 배지에서 배양되는 과정 중에 경쟁적으로 곰팡이에 비하여 효모가 우점하는 것으로 사료됨 (Fleet, 2003; Lavoie 등, 2012).
- 접종군 간의 큰 차이는 나타나지 않았으나 곰팡이의 농도가 상대적으로 낮은 1:1의 접종군에서 효모가 더 빠른 시간 내에 성장하는 것으로 확인되었음.
- 그러나, 15일 이후로는 1:1 접종군과 4:1 접종군의 큰 차이를 나타내지 않음.

표 79. 3등급 육우에 시너지스트 접종 시, 내부 효모 비교 (초기균수: 1.9 Log CFU/g)

(Unit : Log CFU/g, mean±SD)

접종비율 (곰팡이:효모)	건조 숙성 기간(일)			
	0	10	15	21
대조군	1.7±1.3 ^b	3.7±0.1 ^{ay}	4.2±0.3 ^{ay}	4.8±0.4 ^{ay}
1:1	2.6±1.7 ^c	4.0±0.2 ^{bx}	4.0±0.2 ^{bx}	6.0±0.2 ^{ax}
4:1	2.2±1.4 ^b	4.1±0.4 ^{ax}	3.8±0.1 ^{ay}	4.1±0.1 ^{az}

^{a-c}The letters within the same row were significantly different ($P<0.05$).

^{x-z}The letters within the same column were significantly different ($P<0.05$).

표 80. 3등급 육우에 시너지스트 접종 시, 외부 효모 비교(초기균수: 1.9 Log CFU/g)

(Unit : Log CFU/g, mean±SD)

접종비율 (곰팡이:효모)	건조 숙성 기간(일)			
	0	10	15	21
대조군	1.7±1.3 ^b	4.6±0.2 ^{ay}	5.0±0.2 ^{ay}	5.1±0.1 ^{ay}
1:1	2.6±1.7 ^b	6.0±0.3 ^{ax}	5.7±0.2 ^{ax}	5.3±0.8 ^{ay}
4:1	2.2±1.4 ^b	6.2±0.5 ^{ax}	5.1±0.4 ^{ay}	6.1±0.3 ^{ax}

^{a-c}The letters within the same row were significantly different ($P<0.05$).
^{x,y}The letters within the same column were significantly different ($P<0.05$).

- 젖산균수 분석

- 미생물 시너지스트를 혼합 접종(1:1, 4:1)하여 21일 동안 숙성과정 중 젖산균의 변화를 관찰하였음(표 81-82).
- 미생물 시너지스트 접종 후, 젖산균은 10일 만에 크게 증가하였으며 내부 젖산균의 경우 20일 만에 6.0 Log CFU/g을 넘어 크게 성장한 것으로 확인되었음.
- 젖산균은 *Pseudomonas* 와 같은 그람 음성 세균의 성장을 막을 수 있으며, 식육에서 성장하는 과정에서 발효와 부패의 양면의 결과를 가져올 수 있음(Egan, 1983).
- 미생물 시너지스트 접종균과 대조균을 비교하였을 때, 상대적으로 대조균의 젖산균 생장이 빠르게 나타나는 것을 확인할 수 있었으며 1:1 접종균에 비하여 4:1 접종균에서 낮은 속도로 성장하는 것으로 확인됨.

표 81. 3등급 육우에 시너지스트 접종 시, 내부 젖산균 비교(초기균수: 3.9 Log CFU/g)

(Unit : Log CFU/g, mean±SD)

접종비율 (곰팡이:효모)	건조 숙성 기간(일)			
	0	10	15	21
대조균	2.8±0.6 ^d	5.0±0.5 ^{cx}	6.6±0.1 ^{bx}	7.6±0.1 ^{ax}
1:1	3.5±1.1 ^c	5.6±0.6 ^{bx}	5.9±0.6 ^{by}	7.1±0.5 ^{axy}
4:1	3.3±0.7 ^c	5.3±0.7 ^{bx}	5.3±0.2 ^{bz}	6.9±0.1 ^{ay}

^{a-c}The letters within the same row were significantly different ($P<0.05$).
^{x-z}The letters within the same column were significantly different ($P<0.05$).

표 82. 3등급 육우에 시너지스트 접종 시, 외부 젖산균 비교(초기균수: 3.9 Log CFU/g)

(Unit : Log CFU/g, mean±SD)

접종비율 (곰팡이:효모)	건조 숙성 기간(일)			
	0	10	15	21
대조균	2.9±0.6 ^c	6.0±0.1 ^{by}	6.5±0.7 ^{bx}	7.8±0.1 ^{ax}
1:1	3.5±1.1 ^c	6.6±0.6 ^{bx}	6.2±0.8 ^{bx}	7.6±0.3 ^{ax}
4:1	3.3±0.7 ^c	6.3±0.2 ^{bxy}	6.3±0.8 ^{bx}	7.6±0.3 ^{ax}

^{a-c}The letters within the same row were significantly different ($P<0.05$).
^{x,y}The letters within the same column were significantly different ($P<0.05$).

- Coliform, *E. coli* 세균 수 분석

- 미생물 시너지스트를 혼합 접종(1:1, 4:1)하여 21일 동안 숙성과정 중 식육의 위생관리 지표로 관리되고 있는 coliform과 *E. coli*의 변화를 관찰하였음.
- 미생물 시너지스트 접종 후, 건조 숙성육의 숙성 과정에서의 *E. coli* 세균수 분석 결과

정량 분석에서 검출되지 않았음(검출한계: 0.48 Log CFU/g).

- *Salmonella* 세균수 분석

- 미생물 시너지스트를 혼합 접종(1:1, 4:1)하여 21일 동안 숙성과정 중 식육의 위생관리 지표로 관리되고 있는 *Salmonella*의 변화를 관찰하였음.
- 미생물시너지스트 접종 후, 건조 숙성육의 숙성 과정에서의 *Salmonella* 세균수 분석 결과, 정량 및 정성 분석 모두에서 *Salmonella*가 검출되지 않았음(검출한계: 0.48 Log CFU/g).

< 3차년도 >

① 연구내용 및 방법

(1) 위해요소 파악 및 전문 관리방안 설정

○ 건조 숙성육에서의 미생물 성장 확인

- 시료준비

- 감성고기에서 제공받은 건조 숙성육(등심)을 무균적으로 25 g 채취하였고, 유통 중 온도 변화에 따른 위해 미생물의 성장을 확인하기 위하여 인위적으로 균을 접종하여 관찰함.

- *S. aureus*와 *E. coli* 균액 준비

- 접종을 위하여 사용된 *S. aureus*와 *E. coli*는 도체에서 분리한 균주를 사용하였으며, 4개의 *S. aureus* 균주 (SMFM2016 윗등심①, SMFM2016 보섭①, SMFM2016 보섭②, SMFM2016 보섭③)과 3개의 *E. coli* 균주 (SMFM2017 채끝①, SMFM2017 채끝②와 SMFM2017 채끝③)을 사용함.
- 10 mL의 TSB 배지에 *S. aureus*와 *E. coli*를 각각 접종하고, 35°C에서 24시간 동안 배양하여 배양액의 100 μ L을 새로운 TSB 배지에 접종한 뒤 35°C에서 24시간 동안 배양하였음.
- 배양된 균액을 원심분리(4°C, 1,912 \times g, 15분)를 통하여 2회 세척한 후, *S. aureus*와 *E. coli* 각각의 균액의 최종 접종 농도가 3 Log CFU/g이 되도록 9 mL의 PBS를 이용하여 십진 희석을 함.

- 균액 접종 및 보관 방법

- 준비된 건조 숙성육에 실험원액 100 μ L씩 접종하여 30번씩 문지른 후, 4°C, 10°C, 15°C에서 72시간까지 보관하면서 *S. aureus*와 *E. coli*의 성장 패턴을 확인함.

- 미생물 성장패턴 분석

- 4°C, 10°C, 15°C에서 일정 시간 보관된 시료를 꺼내어 50 mL의 0.1% BPW 희석용액을 가하여 1분간 균질화하고, 균질액을 0.1% BPW 용액에 단계별로 희석하여 배지에 평판도말하여 균수를 확인함.
- *S. aureus* 균수 확인을 위하여 시험 원액을 0.1% BPW 용액에 십진 희석하여 단계별 희석을 한 후, Baird-Parker 한천배지(BPA)에 분주해 도말하였고, 35°C에서 24시간 배양 후 균수를 확인함.

- *E. coli* 균수 확인을 위하여 시험 원액을 0.1% BPW 용액에 십진 희석하여 단계별 희석을 한 후, 3M™ Petrifilm™ E. coli/Coliform Count Plates(EC petrifilm)에 분주해 도말하였고, 35°C에서 24시간 배양 후 균수를 확인함.
- *S. aureus*와 *E. coli*의 성장패턴 확인은 Baranyi 모델 공식을 이용하여, 최대성장률 (μ_{max}), 유도기(LPD; lag phase duration)을 산출함(표 83).

표 83. Baranyi 모델에 사용된 지표 및 공식

분류	계산식
Baranyi model	$N_t = N_0 + \mu_{max} \times A_t - \ln \left[1 + \frac{\exp(\mu_{max} \times A_t) - 1}{\exp(N_{max} - N_0)} \right]$ $A_t = t + \frac{1}{\mu_{max}} \ln \left(\frac{\exp(-\mu_{max}) + q_0}{1 + q_0} \right)$ <ul style="list-style-type: none"> - μ_{max} : maximum specific growth rate - N_0 : initial bacterial cell counts - N_{max} : final bacterial counts - q_0 : a parameter defining the initial physiological state of the cells - t : time

○ 건조 숙성육 관리 매뉴얼 제시

- 건조 숙성육 관리를 위한 매뉴얼 및 식품 위생관리 매뉴얼에 대하여 국·내외 문헌 조사를 진행함
- 위생적이고 안전한 건조 숙성육 제조·관리를 위한 매뉴얼 작성
- 2차 년도에 진행된 숙성 및 가공공정의 미생물 모니터링 결과와 건조 숙성육 작업 공정 등을 종합적으로 고려하여 중점관리점을 설정하였으며, 건조 숙성육 작업 공정 순서에 따른 생물학적, 물리적, 화학적 위해요소를 파악하고 위해요소의 원인과 적절한 관리방안을 제시함.
- 위해요소는 ‘위해평가 매트릭스’를 통하여 점수화해 관리수준을 설정하였고, 위해평가 매트릭스는 위해 발생 시 사건의 심각성과 오염의 위험도 크기에 따라 관리의 중요도를 판단하여 설정함.
- 작업 공정에서 사용하는 도구 및 주요 설비에 대한 오염 가능성을 확인하고자 생물학적, 물리적, 화학적 위해요소를 파악하고, 해당 위해요소의 오염 원인과 적절한 관리방안을 제시함.
- 건조 숙성육 작업장에서 매일 또는 주기적으로 점검할 수 있도록 위생관리 점검표를 제시하였으며, 주기에 따른 위생관리 항목을 구분하여 제시함.
- 건조 숙성육 관리 매뉴얼을 통하여 종합적인 시각으로 건조 숙성육 제조 공장에서 반드시 지켜야 할 주요 생산관리 요령을 제시함.

○ 유통 기간에 따른 품질 유지 기한 설정

- 건조 숙성육 판매 시 미생물학적 변화 확인

- 건조 숙성육 판매 및 유통 단계에서의 미생물학적 변화를 확인하기 위하여, 건조 숙성육을 무균적으로 25 g 씩 랩 포장(호기)과 진공포장하여 4°C에서 냉장보관 하면서 미생물 검사를 진행함.
- 포장방법에 따라 일정 시간 보관된 건조 숙성육 시료를 꺼내고, 0.1% BPW 50 mL 를 가하여 1분간 균질화하여 균질액을 0.1% BPW 용액에 단계별로 희석하여 배지에 평판도말함.
- 일반세균의 경우 TSA 배지에 도말하여 35°C에서 24시간 배양 후 균수를 확인 하였고, 젖산균의 경우 MRSA 배지에 분주해 도말하고, 30°C에서 24시간 배양 후 균수를 확인함

② 연구결과

(1) 위해요소 파악 및 전문 관리방안 설정

○ 건조 숙성육에서의 미생물 성장 확인

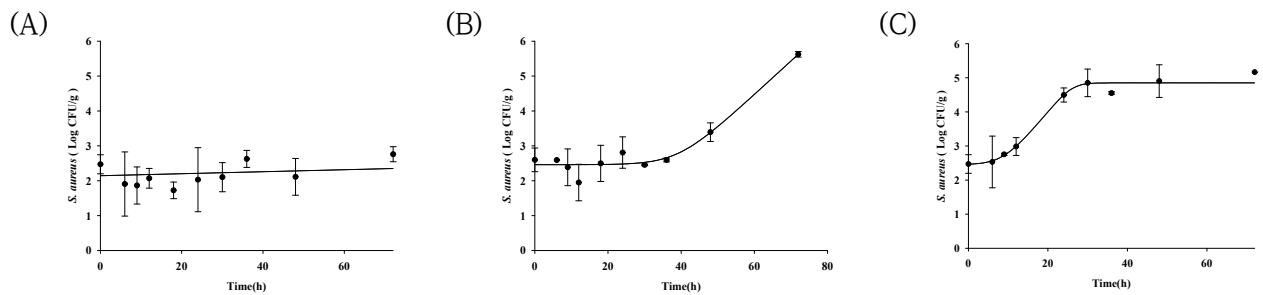


그림 49. 건조 숙성육에서의 *S. aureus* 성장 패턴 그래프 ; (A)4°C, (B)10°C, (C)15°C.

- 건조 숙성육에 *S. aureus*와 *E. coli*를 접종하여 위해 미생물 성장 패턴을 확인한 결과는 그림 49-50과 같음.

- *S. aureus*의 경우, 4°C에서 보관되었을 시에 초기 균수를 유지하는 것으로 나타났으며 10°C에서는 39시간 후부터, 15°C에서는 9시간 후부터 성장하는 것을 확인함. 따라서 보관온도가 상승할수록 *S. aureus*의 최대성장률(μ_{max})은 증가함(그림 49).

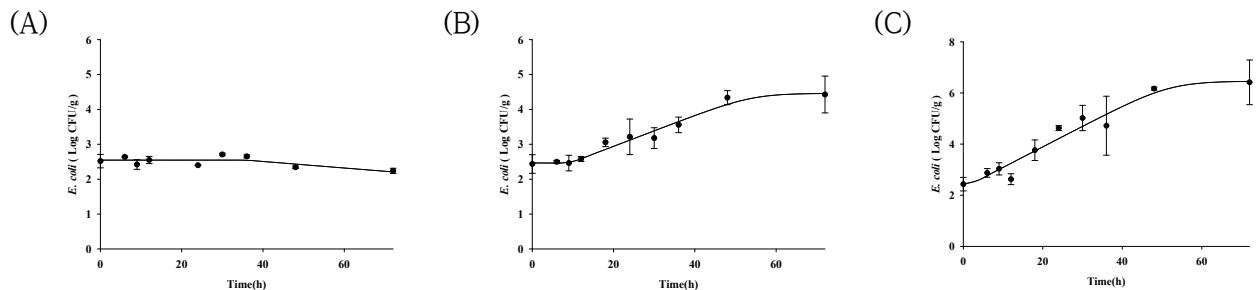


그림 50. 건조 숙성육에서의 *E. coli* 성장 패턴 그래프 ; (A)4°C, (B)10°C, (C)15°C.

- *E. coli*의 경우, 4°C에서 보관되었을 시에 초기 균수를 유지하는 것으로 나타났으며 10°C에서는 약 9시간 후부터 성장하는 패턴을 보였고, 15°C에서는 2시간 후부터 균 이 성장하는 것을 확인함. 따라서 보관온도가 상승할수록 최대성장률(μ_{max})은 증가 함(그림 50).
- *S. aureus*와 *E. coli*의 초기 세균수가 2-3 Log CFU/g로 존재할 때, 4°C 이하의 온도에서 는 성장하지 않고 초기 세균수를 유지하는 경향을 나타내었고, 10°C 이상에서는 *E. coli* 가 *S. aureus*보다 더 빠른 속도로 성장하였음.
- 따라서, 건조 숙성육의 위생 관리를 위하여 초기 오염도를 제어하는 것도 중요하지만, 냉장 보관온도를 4°C 이하로 유지하는 것이 매우 중요할 것으로 사료됨.

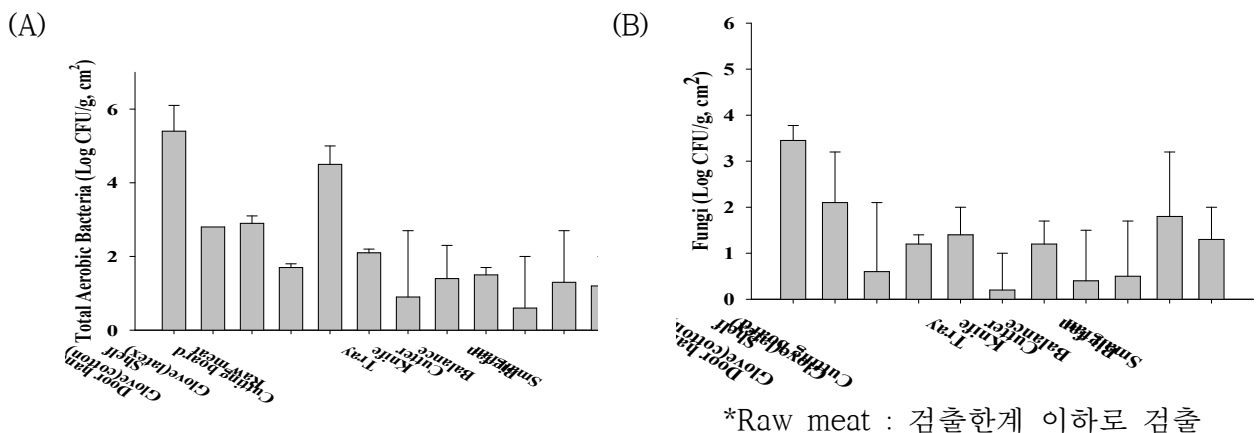
표 84. 건조 숙성육에서 *S. aureus*와 *E. coli*의 LPD와 μ_{max}

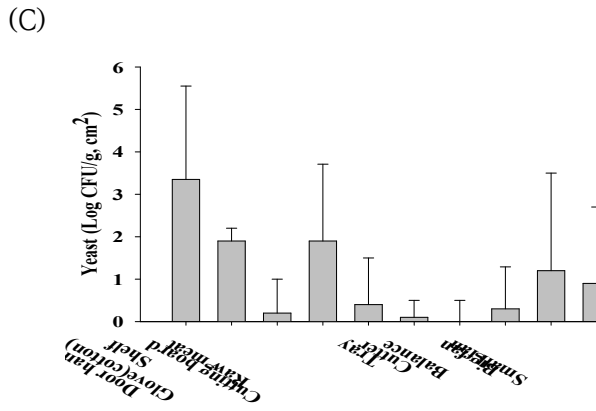
	<i>S. aureus</i>			<i>E. coli</i>		
	4°C	10°C	15°C	4°C	10°C	15°C
LPD ¹ (h)	60.0±17.0	34.4±0.0	5.4±0.3	37.5±2.4	9.0±1.7	1.6±0.2
μ_{max} ²	0.00±0.00	0.07±0.02	0.10±0.04	-0.00±0.00	0.04±0.00	0.08±0.02

¹LPD: lag phase duration ² μ_{max} : 최대 성장률

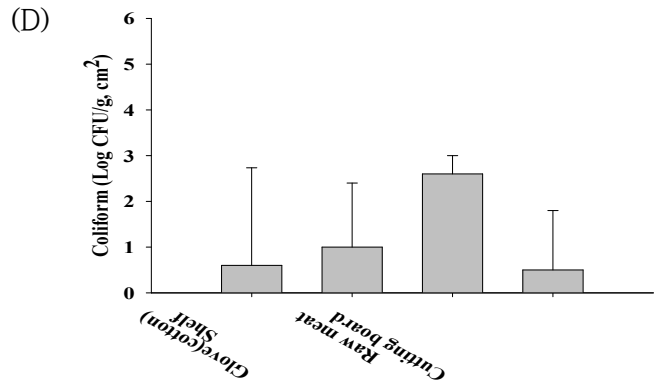
○ 건조 숙성육 관리 매뉴얼 제시

- 냉장 온도에서 오랜 기간에 걸쳐 숙성되는 건조 숙성육 제조 과정의 특성 상 곰팡이와 효모의 생장이 두드러짐. 교차오염이 되지 않도록 주의하는 것과, 위해 미생물이 성장 하지 않도록 5°C 이하의 냉장 온도를 유지하는 것이 매우 중요함(MLA, 2018).
- 2차 년도에 12곳에서 66건의 오염실태조사를 한 결과를 토대로, 중점관리점과 위해요소 제어를 위한 방안을 작성함(그림 51).

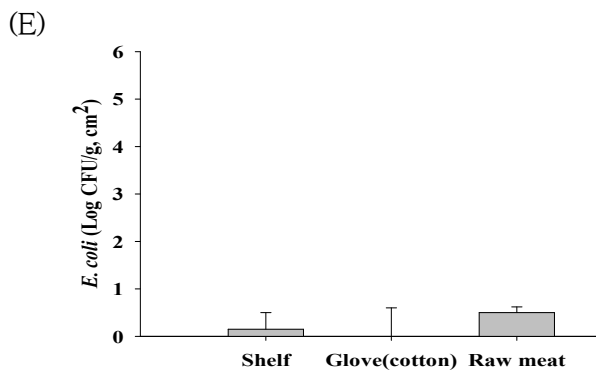




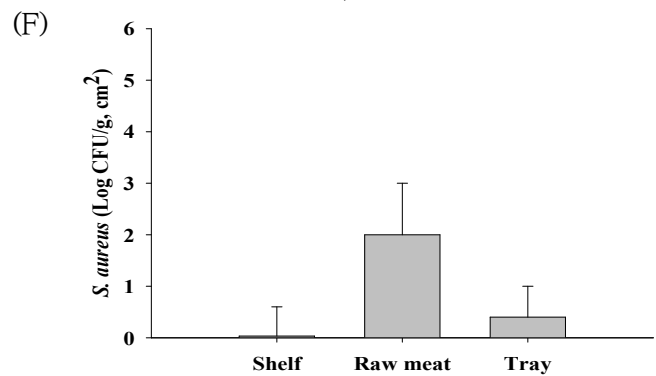
*Knife, Glove(latex) : 검출한계 이하로 검출



*Door handle, Glove(latex), Tray, Knife, Cutter, Balance, Fan : 검출한계 이하로 검출



*Door handle, Glove(latex), Cutting board, Tray, Knife, Cutter, Balance, Fan : 검출한계 이하로 검출



*Door handle, Glove(cotton), Glove(latex), Cutting board, Knife, Cutter, Balance, Fan : 검출한계 이하로 검출

그림 51. 2차년도 오염실태조사 결과

(A)일반세균, (B)곰팡이, (C)효모, (D)대장균군, (E)대장균, (F)포도상구균

- 선반의 경우, 4.9-5.9 Log CFU/cm²으로 일반세균수가 가장 높게 나타났으며, 선반의 경우 도체가 직접 닿을 수 있는 곳으로 식육으로 교차오염이 되지 않도록 반드시 주의해야 함.
- 문손잡이, 면장갑, 도마 역시 2 Log CFU/cm² 이상의 일반세균수가 검출되었으며 실내 온도가 10°C만 되어도 미생물이 성장할 수 있어, 소독과 세척에 주의해야 함. 장갑을 착용하지 않은 손으로 문손잡이를 잡지 않도록 하며, 적절한 농도의 살균 소독제를 사용하여 세척함(표 85).

표 85. 살균소독제 희석방법 및 사용방법

용도	성분 및 함량	희석방법	사용 방법
칼, 도마 등 식품기기, 작업대, 식품	차아염소산나트륨, 유*락스 등 (유효염소 4%)	• 원액을 물과 200배(200 ppm)로 희석하여 사용 • 원액 5 mL에 물을 채워 1	• 5분 이상 처리 후 별도의 행균 처리 필요 없으며, 최대한 기울여 남아있는

취급 도구 등의 미생물 살균 및 소독	에탄올	L로 함 • 에탄올 원액 사용 시 700 mL에 물을 채워 1 L로 희석	액체를 완전히 흘려 보낸 후 자연건조 또는 반드시 음용수로 행구어 제거 • 분무기에 넣고 사용 후 제거
작업장 바닥, 후드 등의 미생물 살균 및 소독	요오드 (1.75%)	• 원액 1.5 mL에 물을 채워 1 L로 함	• 각 성분별 정해진 사용량을 초과하여 사용하지 말 것

- ‘위험도 평가표’ 를 사용하여 위해요소 관리수준을 평가
 - 위해요소를 관리 및 제어하기 위하여 ‘위험도 평가표’ 를 바탕으로 위해에 대한 위험도를 결정하고 그를 바탕으로 관리수준을 정함. ‘위험도 평가표’ 는 위해의 발생 가능성과 결과의 심각성을 평가하는데 이용할 수 있음(그림 52). 또한 그 용어의 정리는 표 86과 같음.

		결과의 심각성			
		거의 없음	낮음	보통	높음
발생 가능성	거의 없음	만족	만족	만족	만족
	낮음	만족	경한 결함	경한 결함	경한 결함
	보통	만족	경한 결함	중한 결함	중한 결함
	높음	만족	경한 결함	중한 결함	치명적 결함

그림 52. 위험도 평가표

표 86. 용어의 정의

구분	내용
치명적 결함 (critical deficiency, Cr)	- 높은 보건상의 위험도를 나타내는 결함사항(오염 포함)
중한 결함 (Major deficiency, Ma)	- 보건 상의 위험도가 중간정도이거나, 오염 또는 변질의 위험도가 높은 결함사항
경한 결함 (Minor deficiency, Mi)	- 보건 상의 위험도가 낮거나, 오염 또는 변질의 위험도가 낮거나 중간정도의 결함사항
만족 (Satisfactory, Sa)	- 작업장에서 보건 상의 위험이나 오염 또는 변질의 위험을 일으키는 결함사항이 확인되지 않은 상태

- 결과의 심각성 평가 : 위해요소에 대한 결과의 심각성은 인체의 건강장애를 일으킬 수 있는 정도에 따라 판단함. 예를 들어 병원성 미생물은 대부분 높음으로 분류되지만, 물리적 위해는 낮음이나 보통으로 분류됨.
- 위해의 발생가능성 평가 : 해당 제품에서 나타날 수 있는 위해의 가능성 즉 최종 소비자가 위해에 노출될 수 있는 가능성을 의미하며, 이는 작업장 내에서의 위생관리가 충분하지 않으면 발생가능성이 높아짐. 예를 들어 온도가 병원성 미생물의 증식을 막을 수 있는 수준으로 유지되지 못하면 지육에 병원균이 증식할 수 있으므로 위해의 발생가능성이 보통이나 높음으로 분류됨(표 87).

표 87. 평가 시 고려사항

결과의 심각성 판단 기준	발생 가능성 판단 기준
<ul style="list-style-type: none"> • 관련 위해의 발생 형태 • 보건위생상의 결과 <ul style="list-style-type: none"> - 무증상 또는 잠재성 : 낮음 - 일시적 장애 : 보통 - 영구적 장애 또는 사망 : 높음 	<ul style="list-style-type: none"> • 위해 발생의 빈도 • 위해 발생 여부 판단 • 작업장 위생관리 수준

- 공정 단계별 위해요소 관리방안은 표 88과 같음
- 공정 단계는 원료육 구매 및 준비, 원료육 보관, 건식 숙성 준비, 건식 숙성 과정, 트리밍, 절단, 포장과 보관 및 판매의 8단계로 구분하여 발생 가능한 생물학적, 물리적, 화학적 위해요소를 제시함.
- 또한, 위험도 평가표를 통하여 관리 수준을 설정하였으며, 가공실 온도 관리를 통한 미생물 성장, 숙성과정 중 온도와 습도 관리를 통한 미생물 성장, 트리밍 과정 중 발생할 수 있는 미생물 교차오염의 발생을 제어할 수 있도록 중점적인 위생관리가 필요할 것으로 판단됨.

표 88. 공정 단계별 위해요소 관리방안

공정 단계	위해요소	원인	관리방안	관리수준*	
1 원료육 구매 및 준비	생물학적 : 원료육의 세균수	초기 위생적이지 못한 도축 및 손질 과정	<ul style="list-style-type: none"> · 국내 도축 식육에 대한 일반세균수 권고 수준인 5 Log CFU/cm² 이하로 관리되는 농장을 거래함 · 도체에 대한 미생물 검사 실시 또는 검사 성적서(기록) 확인 	보통+보통 =Ma	
			<ul style="list-style-type: none"> · 운반 차량 및 원료육 중심부 온도 5°C 초과 	<ul style="list-style-type: none"> · 도체 이동 시 차량 내부 및 보관온도 4°C 이하로 유지관리 	보통+보통 =Ma
			포장재 손상 및 도축 장비로부터의 교차오염	<ul style="list-style-type: none"> · 도축 후 포장까지의 경로 위생관리 · 원료육 검수 시 포장재에 손상이 있는지 확인 	낮음+보통 =Mi
	물리적: 이물질 혼입	원료 입출하시 포장재 파손으로 혼입	<ul style="list-style-type: none"> · 훈련된 작업자를 통한 식육 검수 · 육안검사 및 금속 탐지기를 이용하여 이물질 확인 · 작업장 내 철저한 위생관리가 이루어지는지 매일 체크리스트 확인(바닥 및 트롤리를 통한 오염 방지) 	보통+낮음 =Mi	

			<ul style="list-style-type: none"> 이동 수레를 통한 식육 이동으로 원료육 오염 방지 	
	<p>화학적: 개체치료 후 휴약기간 미준수</p> <p>잔류물질(항생제 등) 항생제 잔류 가능</p>		<ul style="list-style-type: none"> 농장별 검사 실시 또는 검사성적서(기록) 확인 	<p>낮음+보통</p> <p>=Mi</p>
2		높은 보관 온도	<ul style="list-style-type: none"> 보관고 온도 4°C 이하로 유지관리 	<p>높음+보통</p> <p>=Ma</p>
원료육 보관	<p>생물학적 : 보관 중의 미생물 생장</p>	포장재 손상 또는 잠재적 위해요소와 함께 보관 시 미생물 교차오염	<ul style="list-style-type: none"> 잠재적 오염원(쓰레기통 주변, 세면대 등 물기가 있는 곳)으로부터 분리하고, 적절하게 포장하여 원료육 보관 도체 간 간격 10 cm 이상 유지 주 1회 보관고 청소 실시 	<p>낮음+보통</p> <p>=Mi</p>
	<p>물리적: 이물질 혼입</p>	포장재 등으로부터 이물질 혼입	<ul style="list-style-type: none"> 육안검사 및 금속 탐지기를 이용하여 이물질 확인 	<p>보통+낮음</p> <p>=Mi</p>
3		작업자에 의한 교차오염	<ul style="list-style-type: none"> 작업자 장갑·작업복 및 개인위생 철저히 관리 	<p>높음+보통</p> <p>=Ma</p>
건식 숙성 준비	<p>생물학적: 미생물 교차오염</p>	작업장 또는 장비에 의한 교차오염	<ul style="list-style-type: none"> 육류와 접촉되는 기구(칼, 도마, 컨베이어 등) 청결관리 작업 전, 중, 후 세척 및 소독 실시 칼의 경우 수시로 소독 실시(자외선 소독기 사용) 	<p>높음+보통</p> <p>=Ma</p>
	<p>생물학적: 미생물 생장</p>	작업 중 원료육의 온도 상승	<ul style="list-style-type: none"> 가공실 온도 10°C 이하로 유지관리 작업 전, 중, 후 가공실 온도 확인 	<p>높음+높음</p> <p>=Cr</p>
		공기 흐름을 제한하는 공간의 부족	<ul style="list-style-type: none"> 정기적인 미생물 검사 실시(낙하균 포함) - 월 2회 이상 공기 순환기 설치 	<p>낮음+높음</p> <p>=Mi</p>
	<p>물리적:</p>	숙성 중 장비 또는 작업자 등에 의	<ul style="list-style-type: none"> 육안검사를 통한 이물질 혼입 확인 	<p>보통+낮음</p>

이물질 혼입	하여 이물질 혼입 가능		=Mi
4 건식 숙성 과정	부적합한 온도 유지	<ul style="list-style-type: none"> 숙성고 온도 4°C 이하로 유지관리 (적정 숙성 온도 0-4°C) 	높음+높음 =Cr
	부적합한 습도 유지	<ul style="list-style-type: none"> 숙성고 내부 습도 75-85% 수준으로 유지 관리 	높음+높음 =Cr
	생물학적: 미생물 생장	부적합한 공기 흐름 조절 <ul style="list-style-type: none"> 숙성고 내 5 m/s의 풍속을 처리하여 내부 공기 흐름 관리(선풍기, 환풍기 등 사용) 숙성 중 작업자의 숙성고 출입 최대한 자제 	보통+높음 =Ma
	UV 조사 미사용으로 인한 미생물 제어 실패	<ul style="list-style-type: none"> UV 램프는 6개월마다 교체 (과잉 조사되어 열 손상 발생하지 않도록 시간 조절 관리) 	보통+높음 =Ma
5 트리밍(표면 제거)	트리밍 된 크러스터에 의한 교차오염	<ul style="list-style-type: none"> 작업자의 트리밍 작업 교육 및 숙지 작업 전, 중, 후 세척 및 소독 실시 트리밍 된 크러스터 신속하게 수거 및 정리 	높음+높음 =Cr
	생물학적: 미생물 교차오염	작업장 또는 장비에 의한 교차오염 <ul style="list-style-type: none"> 건조 숙성육과 직접적으로 접촉되는 기구 (칼, 도마, 컨베이어 등) 청결관리 작업 전, 중, 후 세척 및 소독 실시 칼의 경우 도체별로 구분하여 사용 트리밍용 장비와 절단 장비 구분 필요 	높음+높음 =Cr
	생물학적: 미생물 생장	트리밍 과정 중 제품표면 온도 상승 <ul style="list-style-type: none"> 가공실 온도 10°C 이하로 유지관리 숙성 완료 후 지체없이 트리밍 진행 	보통+높음 =Ma
생물학적:	미흡한 트리밍 작업으로 절단육 표	<ul style="list-style-type: none"> 작업자의 트리밍 작업 교육 및 숙지 	높음+보통

6 절단		면에 잔여 미생물 존재	<ul style="list-style-type: none"> • 작업 전, 중, 후 세척 및 소독 실시 • 선반에 닿았던 표면의 철저한 트리밍 작업 	=Ma
	미생물 교차오염	장비에 의한 교차오염	<ul style="list-style-type: none"> • 건조 숙성육과 직접적으로 접촉되는 기구 (칼, 도마, 컨베이어 등) 청결관리 • 작업 전, 중, 후 세척 및 소독 실시 • 칼의 경우 수시로 세척, 소독 실시 (자외선 조사를 통한 살균) • 트리밍용 장비와 절단 장비 구분 필요 	높음+보통 =Ma
	생물학적: 미생물 생장	제품 절단 과정 중 제품표면 온도 상승	<ul style="list-style-type: none"> • 가공실 온도 10°C 이하로 유지관리 • 트리밍 후 지체없이 작업 진행 	보통+높음 =Ma
	물리적: 금속 오염	칼 표면 또는 장비에 의한 금속 오염	<ul style="list-style-type: none"> • 육안으로 검사하거나 금속탐지기에 의한 검사 실시 	낮음+보통 =Mi
7 포장	생물학적: 미생물 교차오염	작업자, 작업장 또는 장비에 의한 교차오염	<ul style="list-style-type: none"> • 트리밍 후 작업자 장갑 교체 및 칼, 도마 등 세척 및 소독 실시 • 소독한 멸균 포장재 사용 • 진공 포장하여 추가적 교차오염 방지 	보통+높음 =Ma
	생물학적: 미생물 생장	제품 포장 과정 중 제품표면 온도 상승	<ul style="list-style-type: none"> • 가공실 온도 10°C 이하로 유지관리 	낮음+높음 =Mi
8 보관 및 판매	생물학적: 미생물 생장	저장 및 판매 과정 중 제품표면 온도 상승	<ul style="list-style-type: none"> • 보관고 온도 4°C 이하로 유지관리 • 출고 상차시 온도 및 시간 관리 • 월 2회 이상 미생물 모니터링 실시 • 선입선출의 출고시간 관리 	낮음+높음 =Mi
		유통기한 초과	<ul style="list-style-type: none"> • 숙성육의 경우 트리밍과 포장 후 2일 이내 판매 권장 	낮음+높음 =Mi

* : 위험도 평가표를 기준으로 작성

Cr: 치명적 결함, Ma: 중한 결함, Mi: 경한 결함, Sa: 만족

- 작업장 주요 설비 및 환경과 도구 위해요소 관리방안은 표 89, 90과 같음
- 오염실태조사 결과 미생물이 많이 검출되었던 항목 및 설비를 기준으로 작성하였고, 생물학적 위해요소, 물리적 위해요소와 화학적 위해요소에 대하여 관리방안을 마련하였음.
- 숙성고, 선반, 문손잡이, 면장갑, 라텍스 장갑, 도마, 트레이, 칼, 저울, 선풍기, 환풍구, 배수 및 배관, 쓰레기통 주변 등 건조 숙성육 제조 공정에서 오염 가능성이 높은 주요 설비에 대한 위생 관리방안을 제시하였음.

표 89. 작업장 주요 설비 및 환경 위해요소 관리방안

주요 설비	위해요소	관리방안
숙성고	생물학적: 미생물 성장 및 교차 오염	<ul style="list-style-type: none"> · 위해 미생물 성장을 방지하기 위하여 상대 습도를 85% 미만으로 유지 (상대습도 75-85% 권장) · 위해 미생물 성장을 방지하기 위하여 온도를 4°C 이하로 유지 · 매일 온도·습도 관리 체크리스트를 작성함 · 도체의 숙성이 끝나는 기간에 맞추어 숙성고 전체를 청소, 소독함
	물리적: 이물질 혼입	<ul style="list-style-type: none"> · 물리적 위해요소가 섞이지 않도록 숙성고 출입 시 소독, 세척이 완료된 위생복을 착용함
	화학적: 살균소독제의 잔류	<ul style="list-style-type: none"> · 개별 작업자들은 자신의 개인위생을 철저히 함 · 숙성고 청소 진행 시, 화학 물질이 잔류하지 않도록, 올바른 살균소독제 희석농도를 준수함
도체 숙성용 선반	생물학적: 미생물 성장 및 교차 오염	<ul style="list-style-type: none"> · 주 1회 전체적으로 선반을 세척함 · 맨손 혹은 면장갑을 착용한 상태로 선반을 만지지 않음. 라텍스 장갑을 착용함
	물리적: 이물질 혼입	<ul style="list-style-type: none"> · 페인트 등으로 표면이 코팅되어 있거나, 녹이 스는 재질의 선반을 사용하지 않음
	화학적: 잔류 화학물질	<ul style="list-style-type: none"> · 녹이 스는 것을 방지하기 위하여 알루미늄 재질의 선반을 사용함 · 도체에 화학 물질이 닿지 않도록, 도체 아래에 깔개를 놓음 · 화학 물질이 잔류하지 않도록, 올바른 살균소독제 희석농도를 준수함

문손잡이	생물학적: 미생물 성장 및 교차 오염	<ul style="list-style-type: none"> • 맨손으로 문손잡이를 만지지 않으며, 일회용 장갑을 착용하고 문손잡이를 만짐 • 매일 살균소독제로 세척 함
	화학적: 살균소독제의 잔류	<ul style="list-style-type: none"> • 세척 시, 올바른 살균소독제 희석농도를 준수함
저울	생물학적: 미생물 성장 및 교차 오염	<ul style="list-style-type: none"> • 매번 사용 후, 살균세척액으로 세척 함 • 세척 후 물기를 완전히 제거한 상태로 보관함
	화학적: 교차오염	<ul style="list-style-type: none"> • 사용 후, 세척을 꼼꼼히 하여 다른 물질들이 교차오염 되지 않도록 함 • 사용 후, 올바른 농도의 세척액을 사용함
선풍기	생물학적: 미생물 성장 및 교차 오염	<ul style="list-style-type: none"> • 월 1회 세척을 통해 미생물 성장을 억제함 • 세척을 꼼꼼히 하여 다른 물질들이 교차오염 되지 않도록 함
	물리적: 금속 등의 부품	<ul style="list-style-type: none"> • 선풍기 부품들이 떨어지지 않도록 세척 후 조립 시 주의함
	화학적: 교차오염	<ul style="list-style-type: none"> • 사용 후, 세척을 꼼꼼히 하여 다른 물질들이 교차오염 되지 않도록 함 • 사용 후, 올바른 농도의 세척액을 사용함
환풍구	생물학적: 미생물 성장 및 교차 오염	<ul style="list-style-type: none"> • 월 2회 청소를 하여 환풍구 청결을 유지함
	물리적: 금속성 이물 및 먼지	
배수 및 배관	생물학적: 미생물 성장 및 교차 오염	<ul style="list-style-type: none"> • 주 2회 배수로를 살균세척액으로 세척하여 미생물이 성장할 수 없도록 함
	물리적: 이물	<ul style="list-style-type: none"> • 배수구 및 배수로에 퇴적물이 쌓이지 않도록 함
쓰레기통 주변	생물학적: 미생물 성장 및 교차 오염	<ul style="list-style-type: none"> • 미생물이 자랄 수 없도록 주 3회 쓰레기통을 세척 함 • 쓰레기통은 뚜껑을 덮어 사용함
	물리적: 음식물, 플라스틱, 금속 등의 이물	<ul style="list-style-type: none"> • 쓰레기통은 도체가 닿는 작업장과 거리가 있는 곳에 둠 • 뚜껑이 있는 쓰레기통을 사용함
	화학적: 잔류 화학 물질	<ul style="list-style-type: none"> • 쓰레기통 주변 환경 관리 후, 반드시 손 세척함

표 90. 작업장 주요 도구 위해요소 관리방안

주요 도구	위해요소	관리방안
면장갑	생물학적: 미생물 성장 및 교차 오염	<ul style="list-style-type: none"> • 면장갑이 도체에 직접적으로 닿는 일이 없도록 함 • 용도별로 면장갑 사용을 분리함 • 면장갑 사용 후, 삶아서 세척 함
	화학적: 교차오염	<ul style="list-style-type: none"> • 용도별로 면장갑 사용을 분리 함
라텍스 장갑	생물학적: 미생물 성장 및 교차 오염	<ul style="list-style-type: none"> • 라텍스 장갑은 작업 후, 재사용 하지 않음
	물리적: 금속성 경질 이물	<ul style="list-style-type: none"> • 라텍스 장갑이 찢어지지 않도록 날카로운 도구 사용 시 주의
	화학적: 교차오염	<ul style="list-style-type: none"> • 라텍스 장갑을 재사용 하지 않음
도마	생물학적: 미생물 성장 및 교차 오염	<ul style="list-style-type: none"> • 작업 공정별 도마 사용을 분리함 • 사용 후, 중성 및 약알칼리성 세척제로 세척함
		<ul style="list-style-type: none"> • 세척 후, 살균-소독제를 사용하여 살균하며, 자외선 조사를 통해 미생물에 대한 오염을 제어함 • 맨손으로 도마를 만지지 않음 • 연 1회 도마를 교체함
	물리적: 금속 및 플라스틱 이물	<ul style="list-style-type: none"> • 매번 사용 전 도마의 파손 부위가 있는지 확인
	화학적: 교차오염	<ul style="list-style-type: none"> • 매번 사용 후, 올바른 농도의 세척액을 사용함
트레이	생물학적: 미생물 성장 및 교차 오염	<ul style="list-style-type: none"> • 한 개의 트레이에 2개 이상의 도체를 담지 않음 • 매번 사용 후, 살균세척액으로 세척 후 물기를 제거하여 트레이를 보관함 • 자외선 조사를 통해 미생물을 제어함
		물리적: 금속 및 플라스틱 이물
	화학적: 교차오염	<ul style="list-style-type: none"> • 사용 후, 세척을 꼼꼼히 하여 다른 물질들이 교차오염 되지 않도록 함

		<ul style="list-style-type: none"> • 사용 후, 올바른 농도의 세척액을 사용함
	생물학적: 미생물 성장 및 교차 오염	<ul style="list-style-type: none"> • 매번 사용 후, 살균세척액으로 세척 후 자외선 조사를 통해 미생물을 제어함 • 세척하지 않은 1개의 칼로 2개 이상의 도체를 작업하지 않음
칼	물리적: 금속성 이물	<ul style="list-style-type: none"> • 육안 검사를 하였을 때, 칼이 부식되거나 파손되었을 경우 폐기함 • 월 1 회 숫돌로 칼을 연마함
	화학적: 교차오염	<ul style="list-style-type: none"> • 사용 후, 세척을 꼼꼼히 하여 다른 물질들이 교차오염 되지 않도록 함 • 사용 후, 올바른 농도의 세척액을 사용함

- 전반적인 공정 환경에서 일반세균이 검출이 되었기 때문에, 건조 숙성육 작업장 온도·습도관리 점검표와 일반위생관리 및 공정점검표 작성으로 주기적이고 체계적인 청소가 필요 함(그림 53)

(A)

건조 숙성육 작업장 온도·습도관리 점검표				결과	작성자	승인자
작성일자	점검자					
기준	가공실		숙성실			
	15℃ 이하	온도 8℃ 이하	습도 75 ~ 85%			
주기	가공 작업 시작 전 / 작업 중 2시간 마다					
방법	온도계와 습도계 이용 온도 측정					

가공실 온도관리				숙성실 온도 습도관리				
날짜	측정시간	온도	서명	날짜	측정시간	온도	습도	서명
		℃	O / X			℃	%	
		℃	O / X			℃	%	
		℃	O / X			℃	%	
		℃	O / X			℃	%	
		℃	O / X			℃	%	
		℃	O / X			℃	%	
		℃	O / X			℃	%	
		℃	O / X			℃	%	
		℃	O / X			℃	%	
		℃	O / X			℃	%	

개선조치 방법	> 작업을 중단하고 온도를 기준으로 재조정된 뒤 다시 작업을 실시한다. > 작업이 완료되면 해당 제품 중 샘플을 선택하여 저온 상태를 확인하고 이상 없을 경우 다음 작업을 진행하고, 품질이 저하된 경우 해당 제품을 폐기한다.		
기준 이발 내용	개선조치 및 결과	조치자	서명

(B)

일반위생관리 및 공정점검표				결과	작성자	승인자
작성일자	점검자					
주기	관리	점검내용	기록			
일일 (작업 전)	개인 위생	종업원의 건강상태는 양호한가?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	예	아니오
		종업원의 손은 깨끗하며, 상처가 없는가?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
		위생복장과 위생 부품을 구분하여 보관하였는가?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
	작업장 관리	개인의 위생복장은 소독이 되어 있는가?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
		손 세척액 및 소독액이 잘 구비되어 있는가?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
		발판 소독기에 소독액이 적정량 채워져 있는가?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
일일 (작업 중)	개인 위생	작업장에 파손되거나 고장난 장비가 있는가?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
		숙성육 숙성고의 습도가 적절한가?	습도 : %			
		숙성육 숙성고 및 보관고의 온도가 적절한가?	온도 : ℃			
	작업장 관리	외부에서 작업장으로 들어올 때 발판 소독기를 사용하는가?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
		외부에서 작업장으로 들어올 때 손을 씻었는가?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
		입고된 원료 식육의 상태는 양호한가?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
일일 (작업 후)	개인 위생	숙성육 위생복의 포장 상태가 양호한가?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
		소독 세척액의 제조방법을 제대로 지켰는가?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
		사용하지 않는 도마 및 칼이 소독상태로 유지되고 있는가?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
	작업장 관리	제품 트러밍 시 식육에 이물이 닿지 않는가?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
		작업자의 위생복을 소독 및 세척 하였는가?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
		작업 후 작업 기구들을 세척 하였는가?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
주간 (금요일)	세척 소독	작업장에서 발생한 음식 폐기물과 일반 쓰레기를 외부로 반출하였는가?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
		작업장 바닥과 배수로의 청소 상태는 양호한가?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
		위생복 세탁을 하였는가?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
	교육	식육이 닿지 않는 부분에 대하여 작업장 청소를 하였는가?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
		퇴근 전, 식육 숙성고 및 보관고 온도를 확인하였는가?	온도 : ℃			
		퇴근 전, 식육 숙성고 및 보관고 습도를 확인하였는가?	습도 : %			
발명	종업원 위생 교육을 실시하였는가?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>			
	검사 문제점에 대한 마땅한 모니터링 검사를 실시하였는가?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>			
	세척 전반적인 작업장의 청소 상태가 양호한가?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>			
분기별	전반적인 방충 - 병서 시선에 대하여 유지보수 하였는가?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>			
특이사항	개선조치 및 결과	조치자	확인			

그림 53. 점검표 예시; (A) 건조 숙성육 작업장 온도·습도 관리 점검표, (B) 일반위생관리 및 공정점검표.

- 5 가지의 건조 숙성육 주요 생산관리 요령은 다음과 같음
 - 매일 작업장 온도관리 점검표를 작성하여, 숙성고 및 보관고 온도를 4℃ 이하로 유지시켜 미생물이 성장하는 것을 방지함
 - 매일 작업장 습도관리 점검표를 작성하여, 숙성고 및 보관고 습도를 85% 이하로 유지하여 미생물 성장을 저해함
 - 매달 작업자 위생교육을 통하여 교차오염의 위험성을 강조하고, 작업자 개인은 위생에 주의를 기울일 수 있도록 함
 - 일반위생관리 및 공정점검표 작성을 통하여 매일 작업 전 개인위생을 확인하여, 철저하게 작업자의 개인위생을 관리함
 - 매일 작업 후와 매 월, 매 분기별 주기적 세척을 통하여 작업장 도구 및 기구들의 위생을 관리함
- 유통 기간에 따른 품질 유지 기한 설정
- 건조 숙성육 판매 시 미생물학적 변화 확인
 - 건조 숙성육 유통 기간을 설정하기 위하여, 랩 포장(호기)과 진공포장에 따른 미생물학적 변화를 관찰하였음.

- 일반세균수 변화는 표 91와 같음. 냉장 보관 0 일차 일반세균수는 4.3 Log CFU/g이었고, 냉장 보관이 길어질수록 일반세균수도 함께 증가하는 경향을 보였으며 냉장 보관 3일 이후부터 5.0 Log CFU/g을 초과하는 것으로 확인됨.
- 영국 Food Standards Agency(FSA)에서는 식육에서 일반세균수 6.0 Log CFU/g 이상 검출될 경우 부적합으로 판정하고, 국내에서는 식육 판매장에서의 소고기 일반세균수를 5×10^6 CFU/g 이하로 권장하고 있음(식품의약품안전처, 2018).

표 91. 숙성 후, 랩 포장하여 냉장 보관 시 발생하는 미생물학적 변화 비교

(Unit : Log CFU/g, mean \pm SD)

	Day 0	Day 1	Day 2	Day 3	Day 4	Day 5	Day 7
일반세균	4.3 \pm 0.0	5.5 \pm 0.5	4.9 \pm 0.3	5.1 \pm 0.2	6.0 \pm 1.2	5.5 \pm 0.0	5.8 \pm 0.7
젖산균	2.4 \pm 0.8	3.9 \pm 0.7	3.4 \pm 0.0	3.4 \pm 0.7	3.3 \pm 0.1	3.6 \pm 0.6	3.6 \pm 0.0

- 건조 숙성육을 랩 포장하여 냉장 보관 시, 젖산균수는 2.5-3.9 Log CFU/g 으로 큰 변화가 없는 것으로 확인됨되었으며, 젖산균이 생성하는 유기산은 식품의 pH를 감소시켜 천연 보존제의 역할을 할 수 있음(이윤지, 고광석, 2016).
- 분리된 젖산균을 동정해 본 결과, 존재하고 있는 젖산균은 *Lactobacillus sakei* 균주로 확인되었으며 이 젖산균은 건조 소시지 제조에 starter culture로 사용되는 균주이며, *L. monocytogenes*를 제어하는 효과를 가지고 있는 균주로 보고되고 있음.
- 그러나, 젖산균은 산소의 부재와 *Pseudomonas-Achromobacter* group이 제거 되었을 때, 육류의 부패를 야기시킬 수 있다는 보고가 있어, 과도한 젖산균 증가가 부패 진행의 근거가 될 수 있음(육홍선 et al., 1999).
- 또한, 랩 포장 시 냉장 온도에 3일 정도 보관하였을 경우 고기 표면에 하얗게 곰팡이가 자라는 것을 확인할 수 있었으며(그림 54), 트리밍을 통하여 표면을 제어하였으나 곰팡이 포자가 숙성육 표면에 남아있어 보관 중에 성장한 것으로 판단됨.
- 곰팡이가 자란 숙성육의 경우, 소비자에게 시각적으로 비위생적으로 판단될 수 있기 때문에 트리밍 시 칼 표면으로부터 전달될 수 있는 교차오염을 주의해야하며, 트리밍 후 포장하여 3일 이내에 섭취할 수 있도록 소비자에게 안내하고, 포장된 식육은 당일 혹은 익일 판매를 해야 할 것으로 판단됨.

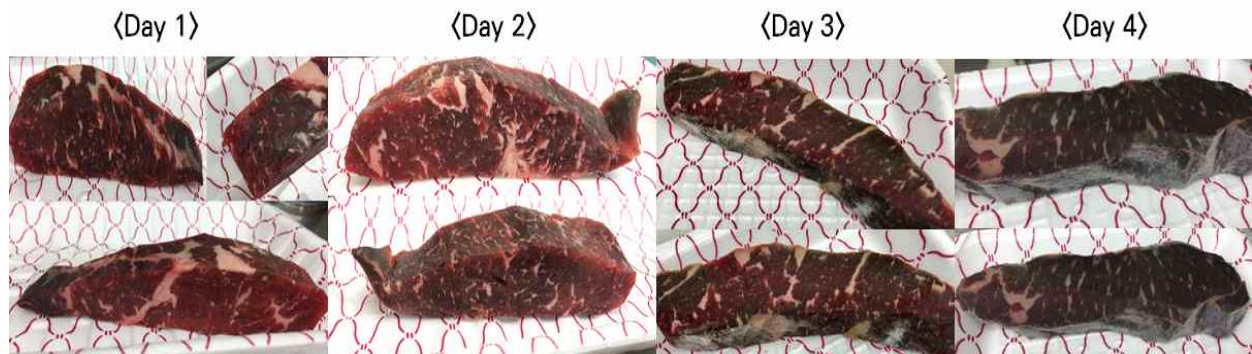


그림 54. 랩 포장 후 냉장 보관 시간에 따른 건조 숙성육 제품의 변화

- 건조 숙성육 유통 기간을 확인을 위하여 진공 포장에 따른 미생물학적 변화를 관찰한 결과, 초기 일반세균수가 낮을 경우(약 3 Log CFU/g), 진공 포장된 건조 숙성육을 냉장 보관 시 발생하는 미생물학적 변화는 표 92과 같음.
- 일반세균수의 경우 초기 균수가 낮을 때, 4°C에서 2주까지 보관을 하여도 일반세균수가 5 Log CFU/g을 초과하지 않았으나, 2주 이후부터는 7 Log CFU/g을 초과하여 급격히 증가하는 것을 확인함.

표 92. 숙성 후, 진공 포장 냉장 보관 시 미생물학적 변화 비교 (초기 일반세균수가 낮을 경우)

(Unit : Log CFU/g, mean±SD)

	Day 0	Day 3	Day 7	Day 10	Day 14	Day 21	Day 28
일반세균	3.6 ± 0.4	3.7 ± 1.1	4.8 ± 0.5	5.5 ± 1.0	4.8 ± 0.9	7.1 ± 0.8	7.4 ± 0.3
젖산균	2.6 ± 0.1	2.6 ± 1.9	3.7 ± 0.9	3.5 ± 0.6	4.4 ± 0.9	5.3 ± 0.9	5.5 ± 0.9

- 건조 숙성육의 초기 세균수가 높을 경우(약 5 Log CFU/g)에는 보관 후 일주일 이 지나게 되면 일반세균 수가 7 Log CFU/g을 초과하여, 식육 모니터링 검사 권장 기준(6.7 Log CFU/g 이하)에 벗어남(표 93).

표 93. 숙성 후, 진공 포장 냉장 보관 시 미생물학적 변화 비교 (초기 일반세균수가 높을 경우)

(Unit : Log CFU/g, mean±SD)

	Day 0	Day 3	Day 7	Day 10	Day 14	Day 22	Day 28
일반세균	5.2 ± 1.0	5.6 ± 0.7	6.6 ± 0.9	7.1 ± 0.4	6.0 ± 1.5	7.3 ± 0.7	7.0 ± 0.7
젖산균	2.5 ± 0.4	3.2 ± 1.2	5.6 ± 0.6	4.9 ± 0.5	5.9 ± 0.3	6.2 ± 0.2	5.8 ± 0.2

- 젖산균수의 경우, 건조 숙성육을 진공 포장 후 냉장 보관 시 초기 일반세균수와 관계없이 균수가 비슷한 것으로 확인됨. 냉장 보관 시간이 길어질수록 젖산균수도 증가하는 경향을 보임.
- 따라서, 건조 숙성육을 진공 포장하여 판매하게 될 경우에는 포장 후 7일 이내에 섭취하는 것을 권장하고, 판매 시 소비자에게 유통 기한 이내의 섭취와 올바른 조리방법을 제시해야 할 것으로 사료됨.

2-5. 연구개발성과

성과 목표	사업화지표										연구기반지표									
	지식 재산권		기술 실시 (이전)		사업화					기술 인증	학술성과				교육 지도	인력 양성	정책 활용·홍 보		기타 (타 연구 활용 등)	
	특 허 출 원	특 허 등 록	품 종 등 록	건 수	기 술 료	제 품 화	매 출 액	수 출 액	고 용 창 출		투 자 유 치	논 문		논 문 평 균 IF			학 술 발 표	정 책 활 용		홍 보 전 시
												SC I	비 SC I							
단위	건	건	건	건	백 만 원	백 만 원	백 만 원	백 만 원	명	백 만 원	건	건	건	명	건	건				
가중치																				
최종목 표	3	1		1		3	4,400		4			2	3	5		3				
1차 년도	목표	1		-					1					1						
	실적	2		1					1					2						
2차 년도	목표	1		-		1	2,000		1			1	1	2		1	-			
	실적	1		1		1	8		1			2	1	8		2	1			
3차 년도	목표	1	1		1	2	2,400		2			1	2	2		2				
	실적	2	2		1	2	7		2			3	2	7		2				
소 계	목표	3	1	-	1	3	4,400		4			2	3	5		3	-			
	실적	5	2	2	1	3	15		4			5	3	17		4	1			
종료 1차년도												3								
종료 2차년도																				
종료 3차년도																				
종료 4차년도																				
종료 5차년도																				
소 계												3								
합 계	5	2	2	1		3			4			8	3	17		4	1			

가. 국내의 논문 게재 - 11건(SCI 8건 / 비SCI 3건)

No	논문명	학술지명	주저자명	호	국명	발행기관	SCI여부 (SCI/비SCI)	게재일	등록번호
1	Analysis of low-marbled Hanwoo cow meat aged with different dry-aging methods	Asian-Australasian journal of animal sciences	이현정	30(12)		Asian-Australasian Association of Animal Production Societies	SCI	2017	
2	Microbial, Physicochemical, and Sensory Characteristics of Quality Grade 2 Beef Enhanced by Injection of Pineapple Concentrate and Honey	Korean journal for food science of animal resources	윤지원	37(4)		Korean society for food science of animal resources	SCI	2017	
3	건식숙성을 이용한 저지방 우유의 고부카키치화	축산식품과학과 산업	이현정	6(1)		Korean society for food science of animal resources	비SCI	2017	
4	The effects of dry or wet aging on the quality of the longissimus muscle from 4-year-old Hanwoo cows and 28-month-old Hanwoo steers	Animal Production Science	오정민	58		CSIRO publishing	SCI	2018	
5	Determination of salable	Korean journal for	이현정	38(2)			SCI	2018	

	shelf-life for wrap-packaged dry-aged beef during cold storage	food science of animal resources							
6	Storage stability of dry-aged beef: the effects of the packaging method and storage temperature	Korean Journal of Agricultural Science	최주희	45(2)			비SCI	2018	
7	건식숙성한 우육의 유통 관리 방법	축산식품과학과 산업	이현정	7(2)		Korean society for food science of animal resources	비SCI	2018	
8	Utilization of the crust from dry-aged beef to enhance flavor of beef patties	Korean journal for food science of animal resources	박범진	38(5)		Korean society for food science of animal resources	SCI	2018	
9	Effects of aging and aging method on physicochemical and sensory traits of different beef cuts	Korean journal for food science of animal resources	김민수			Korean society for food science of animal resources	SCI	2019 (in press)	
10	Isolation and identification of angiotensin I-converting enzyme (ACE) inhibitory peptides derived from thermolysin-injected Hanwoo <i>M longissimus</i>	Asian-Australasian journal of animal sciences	최주희			Asian-Australasian Association of Animal Production	SCI	2019 (in press)	

						Societies			
11	Role of moisture evaporation in the taste attributes of dry- and wet-aged beef determined by chemical and electronic tongue analyses	Meat science	이현정			Elsevier	SCI	2019 (in press)	

나. 국내 및 국제학술회의 발표 - 17건(국내 8건 / 국제 9건)

No	회의명칭	발표자	발표일시	장소	국명
[국내]					
1	한국식품저장유통학회	이현정 외 5인	2016.10.21	동아대학교	대한민국
2	한국식품저장유통학회	오정민 외 5인	2016.10.21	동아대학교	대한민국
3	The international conference of KoSFA and 49th annual meeting	이현정 외 6인	2017.5.19	천안 상록리조트	대한민국
4	The international conference of KoSFA and 49th annual meeting	최주희 외 5인	2017.5.19	천안 상록리조트	대한민국
5	한국축산학회	오정민* 외 7인	2017.6.30	전남대학교	대한민국
6	한국축산식품학회	이현정* 외 6인	2018.05.25	제주대학교	대한민국
7	한국축산식품학회	박범진* 외 4인	2018.05.25	제주대학교	대한민국
8	한국식품저장유통학회	김선진 외 5인	2018.11.16	전남대학교	대한민국
[국제]					
1	KoSFoST International symposium and annual meeting	이현정 외 6인	2017.6.22	제주 컨벤션센터	대한민국
2	International congress of meat science and technology	박범진 외 6인	2017.8.14	코크	아일랜드
3	International congress of meat science and technology	윤지원 외 4인	2017.8.14	코크	아일랜드
4	International congress of meat science and technology	이상희 외 5인	2017.8.14	코크	아일랜드
5	International congress of meat science and technology	이현정 외 6인	2017.8.14	코크	아일랜드
6	KoSFoST International symposium and annual meeting	윤지원 외 4인	2018.06.29	부산	대한민국
7	International congress of meat science and technology	김민수 외 5인	2018.08.16	멜버른	호주
8	International congress of meat	김선진* 외 5인	2018.08.16	멜버른	호주

	science and technology				
9	International congress of meat science and technology	이현정 외 4인	2018.08.16	멜버른	호주

*최우수/우수발표 수상

다. 생명자원(생물자원)/화합물 - 2건

No	생명자원(생물자원)/화합물명	등록/기탁번호	등록/기탁기관	발생년도
1	<i>Pilaira anomala</i> smfm201611	KCTC18517P	한국생명공학연구원	2016
2	<i>Debaryomyces hansenii</i> smfm201707	KCTC18601P	한국생명공학연구원	2017

라. 지식재산권(특허, 실용신안, 의장, 디자인, 상표, 규격, 신품종, 프로그램) - 특허 7건(출원 5건 / 등록 2건)

No	지식재산권 등 명칭 (건별 각각 기재)	국 명	출원			등록			기여율
			출원인	출원일	출원번호	등록인	등록 일	등록번호	
1	식육 연화 및 풍미 증진용 신규 필라이라 아노말라 smfm201611 균주	대한민국	숙명여대	2016 12.16	10-2016 -0172448	숙명여대			100
2	식육 연화 및 풍미 증진용 신규 필라이라 아노말라 smfm201611 균주를 이용한 식육 연화 및 풍미 증진 방법	대한민국	숙명여대	2016 12.16	10-2016 -0172440	숙명여대			100
3	식육 연화 및 풍미 증진용 신규 필라이라 아노말라 smfm201611 균주, 및 이를 이용한 식육 연화 및 풍미 증진 방법*	대한민국	숙명여대	2017 12.15	10-2017 -0173233	숙명여대	2018. 05.14	10-1859 417	100
4	건식숙성 소고기의 적정 숙성 정도를 판단하는 방법	대한민국	서울대	2018. 01.31	10-2018 -0012363	서울대	2018. 06.29	10-1875 121	100
5	식육 연화 및 풍미 증진용 데바리오마이세스 한세니 smfm201707균주 및 이를 이용한 식육 연화 및 풍미 증진 방법	대한민국	숙명여대	2018. 04.12	10-2018 -0042706	숙명여대			100

*PCT 출원 준비 중.

마. 저작권(소프트웨어, 서적 등) - 없음

No	저작권명	창작일	저작자명	등록일	등록번호	저작권자명	기여율

바. 전문연구 인력양성 - 4명

No	분류	기준 년도	현 황										
			학위별				성별		지역별				
			박사	석사	학사	기타	남	여	수도권	충청권	영남권	호남권	기타
1	인력양성	2017		2			1	1	2				
2	인력양성	2017		2			1	1	2				

사. 산업기술 인력양성 - 없음

No	프로그램 명	프로그램 내용	교육기관	교육 개최회수	총 교육시간	총 교육인원
1						
2						

아. 기술거래(이전) 등 - 1건

No	기술이전 유형	기술실시계약명	기술실시 대상기관	기술실시 발생일자	기술료 (당해연도 발생액)	누적 징수현황
1	직접실시	저 등급, 저 지방 식육 부위를 이용한 최적 숙성조건 확립	감성고기			

자. 사업화 투자실적 - 없음

No	추가 R&D 투자	설비 투자	기타 투자	합계	투자자금 성격
					1) 내부자금 2) 신용대출 3) 담보대출 4) 투자유치 5) 기타

차. 사업화 현황 - 제품화 3건

(단위 : 명, 년)

No	사업화 방식	사업화 형태	지역	사업화 명	내용	업체명	매출액		매출 발생년도	기술 수명
							국내	국외		
1	직접실시	신제품개발	국내	제품화	럼프		8		2017년도	

					스레이크				
2	직접실시	신제품개발	국내	제품화	부채살		4		2018년도
3	직접실시	신제품개발	국내	제품화	사태		2		2018년도

카. 표준화 - 없음

No	수행기관명	표준화 주제	표준화 기구	표준화 단계	관련번호	제출(채택)일	국가

타. 기술요약정보 - 없음

연도	기술명	요약내용	기술완성도	등록번호

파. 보고서 원문 - 없음

연도	보고서 구분	발간일	등록번호

하. 기타 - 홍보실적 1건 / 고용창출 4명

3. 목표 달성도 및 관련 분야 기여도

3-1. 목표

- 최종목표
 - 저 등급, 저 지방 부위 이용 건식 숙성육 신제품 3종 이상
 - 신속 심층 숙성기술 개발을 통한 혁신적 숙성 시너지스트 2건 개발
 - 시너지스트 활용 숙성 우육 제조기간 단축(기존 60일→21일)
 - 최종 년차(2018) 우수 품미 숙성 비선택 부위 소비량 현재 지육량 월 12두→월 16두
 - 최종 년차(2018)에 2015년 매출 대비 30% 이상 신장

- 성과항목
 - 연차별 지식재산권, 기술이전, 사업화, 학술성과, 인력양성
 - 최종 정성적 성과

- 성과목표 설정근거 :
 - 1차년도에 시너지스트 발굴 및 이후 심층숙성 방법 개발에 따른 특허 출원 및 기술이전 가능
 - 2차년도에 시너지스트를 이용한 전문 숙성공정 기술 개발을 통한 제품화가 가능하며 이로 인한 매출 발생, 고용창출 가능
 - 3차년도에 전문 숙성용 냉장설비 및 공정개발이 가능하며, 이와 함께 안전생산관리방안 제시 가능
 - 연구사업을 통한 지식재산권 취득, 학술논문, 발표 및 전문인력양성 가능

- 평가방법
 - 각 연차별 정성적 및 정량적 연구성과 달성도 확인
 - 최종적으로 특허기술평가(SMART3 등) 및 기술가치평가 결과 제시

3-2. 목표 달성여부

- 정량적 성과

성과목표	달성여부
(1차년도) <ul style="list-style-type: none"> · 숙성용 시너지스트 관련 특허출원 1건, · 고용 1인 · 학술발표 1건 	100% 달성 <ul style="list-style-type: none"> · <i>Pilaira anomala</i> 관련 특허출원 2건, · 고용 1인 · 학술발표 2건 · 품종등록 1건 (특허출원 1건 및 품종등록 1건추가 달성)
(2차년도)	100% 달성

<ul style="list-style-type: none"> · 심층 건식숙성방법 관련 특허출원 1건 · 신제품 1건, · 고용 1인 · 총 매출 20억원 달성 · 우육 숙성 관련 학술논문 2편 · 학술발표 2건 · 숙성 관련 전문 인력 양성 1인 	<ul style="list-style-type: none"> · <i>P. anomala</i> 관련 특허출원 1건 · 신제품 1건 · 고용 1인 · 총 매출 23억원 달성 · 우육 숙성 관련 학술논문 3편 · 학술발표 8건 · 숙성 관련 전문 인력 양성 2인 (학술논문 2편 및 학술발표 6건, 인력양성 1인 추가 달성)
<p>(3차년도)</p> <ul style="list-style-type: none"> · 전문건식숙성 공정 관련 특허출원 1건 · 출원된 특허의 등록 1건 · 관련 기술이전 1건 · 신제품 2건 · 고용 2인 · 총 매출 24억원 달성 · 학술논문 3편 · 학술발표 2건 · 전문 인력 양성 2인 	<p>100% 달성</p> <ul style="list-style-type: none"> · 건식숙성 지표인자 설정 및 <i>Debaryomyces hansenii</i> 관련 특허출원 2건 · 건식숙성 지표인자 설정 및 <i>P. anomala</i> 관련 특허등록 2건 · 관련 기술이전 1건 · 신제품 2건 · 고용 2인 · 총 매출 26억원 달성 · 학술논문 5편 · 학술발표 7건 · 전문 인력 양성 2인 (특허출원 1건, 등록 1건, 학술논문 2편 및 학술발표 5건 추가 달성)

○ 정성적 성과

성과목표	달성여부
<p>(1차년도)</p> <ul style="list-style-type: none"> · 부위별, 조건별 적정 숙성 조건 조사 · 숙성육의 관능 및 품질인자 특성 분석 · 숙성 미생물의 분리, 동정 및 안전성 검사 	<p>100% 달성</p>
<p>(2차년도)</p> <ul style="list-style-type: none"> · 시너지스트를 활용한 심층 숙성기술 개발 · 고등급(1++)과 시너지스트 적용 저등급 건식숙성육의 품질인자 비교분석 · 숙성 공정 중 위해요소 평가 및 유통기한 설정 	<p>100% 달성</p>

<p>(3차년도)</p> <ul style="list-style-type: none"> · 숙성 냉장설비 및 전문공정 개발, 적용, 산업화 · 고품질 건조숙성 우육 보급을 위한 안전 생산관리방안 제시 	<p>100% 달성</p> <p>건식숙성육 제조 가이드라인 제시(별첨)</p>
---	--

3-3. 목표 미달성 시 원인(사유) 및 차후대책

○ 해당 없음

4. 연구결과의 활용 계획 등

4-1. 연구개발결과의 활용방안

- 기술 응용분야
 - 심층 숙성용 시너지스트의 개발로 경제성 높은 신속 식육 숙성기술로 발전 및 기술사업화 가능.
 - 숙성 과정에서 발생할 수 있는 생물학적 위해를 과학적으로 분석, 건조 숙성 제품의 미생물학적 안전 기준 마련에 활용할 수 있음.

- 기술의 활용
 - 본 연구로 개발된 우육의 안전한 숙성 기술 및 기술 개발과정을 타 축산물에 적용, 발전시켜 숙성기술 활용 축산물 생산 시장 확대 발전.
 - 숙성 기술을 다른 비선호 부위 축산물의 부가가치 상승에 활용하여 축산물의 균형화된 소비에 기여할 수 있음.
 - 건식 숙성육의 품질 지표인자를 개발할 수 있음.

- 적용 범위
 - 저 등급, 저 지방 식육의 심층 숙성기술 개발
 - 대량 생산을 위한 기업보급형 숙성 냉장고 및 전문 공정 개발
 - 최적 숙성육의 품질 및 안전 관리 방안 제시
 - 전문 공정 적용, 유통 및 소비자 반응 조사를 통한 산업화

- 저지방, 비선호부위의 고급화 및 우육의 안정적 소비확대에 기여

- 숙성에 대한 기초자료를 확보하여 숙성에 대한 올바른 정보 제공
 - 위생안전성 및 품질증진에 대한 정보제공으로 소비자가 안심하고 소비할 수 있도록 하고, 지자체에서는 숙성육의 유통기한 설정 등에 기초자료로 활용

4-2. 기대성과 및 파급효과

- 기술적 측면
 - 숙성기술의 과학화를 통한 공정 표준화 가능
 - 최적화 숙성 전문 설비(냉장시설) 생산 기술 부가
 - 시너지스트를 활용한 창의적이며 경제적인 신속 숙성기술 개발로 기술 수출
 - 건식 숙성육 생산 시 위해요인 분석 및 관리 방안 제시
 - 숙성도 평가를 위한 품질지표 개발로 숙성 공정 과학화
 - 관련 지적재산권 확보 및 학술연구논문 발표

○ 경제·산업적 측면

- 저 등급, 저 지방, 저 이용 식육의 활용과 고부가가치화를 통한 생산자, 유통업자, 소비자 만족도 향상
- 전문 숙성기술 개발과 표준화로 원가절감 및 기업 매출 증대
- 숙성 시너지스트와 이를 활용한 우수 품미 건식 숙성법 개발로 공정 비용 개선 및 기술 수출 사업화
- 원가 절감 효과 약 15%.
 - 육우 3등급 지육 1마리(약 450kg)의 평균가격을 약 4,500,000원으로 봤을 때 1마리당 675,000원의 절감효과가 있으며 월 약 2,700,000원의 원가 절감 효과가 있음
- 소비자측면에서는 보다 저렴한 가격으로 정육을 구매할 수 있고, 생산자측면에서는 원가절감으로 인한 마진을 상승 및 다양한 가격 마케팅을 할 수 있게 되며, 비선호 부위의 매출 증가로 비선호부위와 선호부위의 가격 격차 해소로 인한 매출 기대 효과 (월 약 1,000,000원)
- 비선호부위의 적체현상 감소로 공간임대에 대한 비용이 감소.
- 4마리분의 비선호 부위 중량은 월 약 400kg으로 특히 하절기에는 이를 보관하기 위해서는 약 66㎡ 정도의 공간이 필요함 (수도권 기준 월 임대료 500,000원).

붙임. 참고문헌

- 교육과학기술부. (2010). 학교급식 위생관리 지침서.
- 김민식, 김신일, 하병석, 박혜영, 백성열, 여수환, 노현. (2014). 누룩곰팡이 분리균의 다양성 및 당화능 분석과 독소생산능 조사. 한국균학회지, 43(3), 191-200.
- 농림부 · 국립수의과학검역원. (2001). 축산물가공장 위해요소중점관리기준(HACCP) 적용 매뉴얼.
- 농림수산물식품부. (2012). 기능성 미생물을 이용한 고기능성 저가 발효 육제품 제조기술 개발.
- 농촌진흥청 국립축산과학원. (2018). 쇠고기 건식숙성육 생산을 위한 품질 및 위생관리 가이드.
- 식품의약품안전처. (2015). 식육의 미생물 위생관리기준 적정성 조사 연구.
- 식품의약품안전처. (2016). 학교급식 위생점검 매뉴얼.
- 식품의약품안전처. (2018). 식육 중 미생물 검사요령 일부개정고시. 제 2018-2호.
- 식품의약품안전처. (2018). 식품공전.
- 유영현, 김대호, 정구용, 홍승범. (2014). 살라미 외피로부터 분리한 곰팡이의 동정. 한국균학회지, 42(1), 74-78.
- 육홍선, 김성, 이경행, 김영지, 김정옥, 변명우. (1999). 우육에 오염된 미생물의 감마선 살균. 한국식품과학회지, 31(1), 212-218.
- 이윤지, 고광석. (2016). 유산균 배양액 추출액의 항병원성균 효과 및 냉장저장 육제품의 품질에 미치는 효과. 한국식품영양과학회지, 45(10), 1476-1480.
- 축산물품질평가원. (2016). 한우고기 건식숙성 방법 설정 연구.
- Ahnstrom, M. L., Seyfert, M., Hunt, M. C., Johnson, D. E. (2006). Dry aging of beef in a bag highly permeable to water vapour. Meat science, 73, 674-679.
- Atanassova M. R., Fernández-Otero C., Rodríguez-Alonso P., Fernández-No I. C., Garabal J. I., Centeno J. A. (2016). Characterization of yeasts isolated from artisanal short-ripened cows' cheeses produced in Galicia (NW Spain). Food microbiology, 53, 172-181.
- Bosilevac J. M., Kalchayanand N., Schmidt J. W., Shackelford S. D., Wheeler T. L., Koochmaraie M. (2010). Inoculation of beef with low concentrations of Escherichia coli O157:H7 and examination of factors that interfere with its detection by culture isolation and rapid methods. Journal of food protection, 73(12), 2180-2188.
- British Columbia, Ministry of Health. (2017). 식품 안전 계획 실용 안내서.
- Campbell, R. E., Hunt, M. C., Levis, P. Chambers IV, E. (2001). Dry-aging effects on palatability of beef longissimus muscle. Journal of food science, 66, 196-199.
- Dashdorj D., Tripathi V. K., Cho S., Kim Y., Hwang I. (2016) Dry aging of beef; Review. Journal of Animal Science and Technology, 58 (20), 1-11.
- Fletcher H. J. (1969). The carotenoids of the fungus *Pilaira anomala*. Phytochemistry, 8(2), 505-506.
- Fletcher H. J. (1969). The development and tropisms of the sporangiophores of *Pilaira anomala*. Transactions of the British Mycological Society, 53(1), 130-142.

- Fletcher H. J. (1970). Problems in the nutrition of *Pilaira anomala*. Transactions of the British Mycological Society, 54(3), 485-488.
- Frisvad J. C., Smedsgaard J., Larsen T. O., Samson R. A. (2004). Mycotoxins, drugs and other extrolites produced by species in *Penicillium* subgenus *Penicillium*. studies in mycology. 49: 201-241.
- FSA. (2017). Meat Industry Guide-Microbiological Criteria
- Garcia, M. L., Casas, C., Toledo, V. M., Selgas, M. D. (2001). Effect of selected mould strains on the sensory properties of dry fermented sausages. European food research and technology, 212, 287-291.
- Gill C. O., Penney N. (1977). Penetration of bacteria into meat. Applied and Environmental Microbiology, 33(6), 1284-1286.
- Gori K., Sørensen L. M., Petersen M. A., Jespersen L., Arneborg N. (2012). *Debaryomyces hansenii* strains differ in their production of flavor compounds in a cheese-surface model. MicrobiologyOpen, 1(2), 161-168.
- Gupta R. C. (2007). Placental toxicity in Veterinary toxicology basic and clinical principles. 245-262.
- Hanya Y. (2003). Yeasts and soy products. YeastsinFood. 413-428.
- Harper J. E., Webster J. (1964). An experimental analysis of the coprophilous fungus succession. Transactions of the British Mycological Society, 47(4), 511-530.
- Hoffmann K., Pawłowska J., Walther G., Wrzosek M., De Hoog G. S., Benny G. L., Voigt K. (2013). The family structure of the Mucorales: a synoptic revision based on comprehensive multigene-genealogies. Persoonia: Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi, 30, 57.
- Iacumin L., Manzano M., Andyanto D., Comi G. (2017). Biocontrol of ochratoxigenic moulds (*Aspergillus ochraceus* and *Penicillium nordicum*) by *Debaryomyces hansenii* and *Saccharomycopsis fibuligera* during speck production. Food microbiology, 62, 188-195.
- Imazaki P. H., Jacques-Houssa C., Kergourlay G., Daube G., Clinquart, A. (2015). Sensory quality of beef patties inoculated with strains of *Carnobacterium maltaromaticum* with potential as biopreservatives. In 61st International Congress of Meat Science and Technology, Clermont-Ferrand, France.
- Jang, A. (2014). Study of meat freshness (spoilage) standard evaluation. Ministry of food and drug safety.
- Joanne Galletly. (2016). Dry Aged Beef-Design and Good Manufacturing Practices Reveiw, Meat and Livestock Austrailia
- Khan, M. I., Jung, S., Nam, K. C., Jo, C. (2016). Postmortem aging of beef with a special reference to the dry aging. Korean journal for food science of animal resources. 36, 160-170.
- Kim M. J., Han J. K., Park J. S., Lee J. S., Lee S. H., Cho J. I., Kim K. S. (2015). Various enterotoxin and other virulence factor genes widespread among *Bacillus cereus* and *Bacillus thuringiensis* strains. J. Microbiol. Biotechnol, 25(6), 872-879.
- Kim, Y. H. B., Kemp, R., Samuelsson, L. M. (2016). Effects of dry-aging on meat quality

- attributes and metabolite profiles of beef loins. *Meat science*, 111, 168-176.
- Koutsidis, G., Elmore, J. S., Oruna-Concha, M. J., Campo, M. M., Wood, J. D., Mottram, D. S. (2008). Water-soluble precursors of beef flavour. Part II: Effect of post-mortem conditioning. *Meat science*, 79, 270-277.
 - Lee, H. J., Choe, J., Yoon, J. W., Kim, S. J., Oh, H., Yoon, Y., Jo, C. (2018). Determination of salable shelf-life for wrap-packaged dry-aged beef during cold storage. *Korean journal for food science of animal resources*. 38, 251-258.
 - Lepper-Blilie, A. N., Berg, E. P., Buchanan, D. S., Berg, P. T. (2016). Effects of post-mortem aging time and type of aging on palatability of low marbled beef loins. *Meat science*, 112, 63-68.
 - Li, X., Babol, J., Bredie, W. L. P., Nielsen, B., Tománková, J., Lundström, K. (2014). A comparative study of beef quality after ageing longissimus muscle using a dry ageing bag, traditional dry ageing or vacuum package ageing. *Meat science*, 97, 433-442.
 - Lopez-Fernandez L., Sanchis M., Navarro-Rodriguez P., Nicolas F. E., Silva-Franco F., Guarro J., Garre V., Navarro-Mendoza M. I., Perez-Arques C., Capilla J. (2018). Understanding *Mucor circinelloides* pathogenesis by comparative genomics and phenotypical studies. *Virulence*, 9:707-720.
 - Lorenzo, J. M. (2018). Effect of proteolysis index level on instrumental adhesiveness, free amino acids content and volatile compounds profile of dry-cured ham. *Food research international*, 107, 559-566.
 - Lorenzo, J. M., Gomez, M., Fonseca, S. (2014). Effect of commercial starter cultures on physicochemical characteristics, microbial counts and free fatty acid composition of dry-cured foal sausage. *Food control*, 46, 382-389.
 - Martorell P., Fernández-Espinar M. T., Querol A. (2005). Sequence-based identification of species belonging to the genus *Debaryomyces*. *FEMS yeast research*, 5(12), 1157-1165.
 - Meat and Livestock Australia. (2018). Guidelines for the safe production of dry aged meat.
 - Miceli M. H., Díaz J. A., Lee S .A.. (2011). Emerging opportunistic yeast infections. *The Lancet Infectious Diseases*, 11(2),142-151.
 - Nand K., Mehrotra B. S. (1968). Species of *Pilobolus* and *Pilaira* from India. *Sydowia*, 22, 299-306.
 - Norkrans B. (1966). Studies on marine occurring yeasts—growth related to pH, NaCl concentration and temperature. *Arch. Mikrobiol*, 54:374-392.
 - Parrish, F. C., Boles, J. A., Rust, R. E., Olson, D. G. (1991), Dry and wet aging effects on palatability attributes of beef loin and rib steaks from three quality grades. *Journal of food science*, 56, 601-603.
 - Pérez-Santaescolástica, C., Carballo, J., Fulladosa, E., Garcia-Perez, J. V., Bedito, J., and
 - Perry N. (2012). Dry aging beef. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, 1(1), 78-80.
 - Ramos J., Melero Y., Ramos-Moreno L., Michan C., Cabezas L. (2017). *Debaryomyces hansenii* Strains from Valle De Los Pedroches Iberian Dry Meat Products: Isolation,

- Identification, Characterization, and Selection for Starter Cultures. *Journal of microbiology and biotechnology*, 27(9), 1576-1585.
- Serna J. G., Álvarez B. P., González-Jaén M. T., Estévez C. V. (2009). Biocontrol of *Aspergillus ochraceus* by yeasts. In *Current research topics in applied microbiology and microbial biotechnology*, 368-372.
 - Steyn P. S., (1970), The isolation, structure and absolute configuration of secalonic acid D, the toxic metabolite of *Penicillium oxalicum*. *Tetrahedron*, 26: 51-57.
 - Tapp W. N., (2016) Investigation of mycologic growth, aflatoxin production, and human neural processing associated with quality differences in dry-aged meat products. Dissertation, Texas Tech University, USA.
 - Wallace F. M., Burns F., Fleck L., Andaloro B., Farnum A., Tice G., Ruebl J. (2010). Evaluation of DuPont Qualicon BAX System PCR Assay for Yeast and Mold. *Journal of AOAC International*, 93(3), 928-935.
 - Wirth F., Goldani L. Z. (2012). Epidemiology of *Rhodotorula*: An Emerging Pathogen. 2012: 465717.
 - Wood S. N., Cooke R. C. (1986). Effect of *Piptocephalis* species on growth and sporulation of *Pilaira anomala*. *Transactions of the British Mycological Society*, 86(4), 672-674.
 - Wood S. N., Cooke R. C. (1987). Nutritional competence of *Pilaira anomala* in relation to exploitation of faecal resource units. *Transactions of the British Mycological Society*, 88(2), 247-255.
 - Zheng R. Y., Liu X. Y. (2009). Taxa of *Pilaira* (Mucorales, Zygomycota) from China. *Nova Hedwigia*, 88(1-2), 255-267.

[별첨 1]

연구개발보고서 초록

과 제 명	(국문) 저 등급 저 지방 식육의 부가가치 증진 프로젝트				
	(영문) Project for enhancing added value of low quality grade and low fat meat				
주관연구기관	(주)감성고기		주 관 연 구 책 임 자	(소속) (주)감성고기	
참 여 기 업	(주)감성고기		총 연 구 기 간	(성명) 정건호	
총연구개발비 (642,000천원)	계	642,000천원	총 참 여 연 구 원 수	2016. 07. ~ 2018. 12. (2년6개월)	
	정부출연 연구개발비	480,000천원		총 인 원	37
	기업부담금	162,000천원		내부인원	37
	연구기관부담금			외부인원	
<p>○ 연구개발 목표 및 성과</p> <ul style="list-style-type: none"> - 목표 <ul style="list-style-type: none"> · 저 등급, 저 지방 부위 활용 고부가가치 건식 숙성 우육 생산 및 안전 유통 관리기술 개발 - 성과 <ul style="list-style-type: none"> · 건식숙성 미생물 분리·동정(<i>Pilaira anomala</i> 및 <i>Debaryomyces hansenii</i>) 및 공정 적용 가능성 확인 · 시너지스트 적용을 이용한 저 지방 저 등급 식육의 고부가가치화 방안 마련 · 건식숙성 중 위해요소 분석을 통하여 건식숙성육 제조 중 위생관리 가이드라인 마련 · 건식숙성 후 유통 시 포장방법에 따른 유통기한 제안 · 상기 결과를 활용한 지식재산권 7건, 기술이전 1건, 사업화 7건, 학술성과 26건, 인력양성 4인 등 연구성과 창출 <p>○ 연구내용 및 결과</p> <ul style="list-style-type: none"> - 저 등급, 저 지방 식육 부위 활용 우수 품미 숙성 우육 제조를 위한 최적화 전문 공정 개발 <ul style="list-style-type: none"> · 저 등급, 저 지방 식육의 숙성조건 확립 및 우수 품미 심층 숙성기술 개발 · 기업 보급형 저 등급, 저 지방 식육용 전문 숙성 냉장 설비 및 공정 개발 - 식육 숙성 공정의 과학화 및 안전 유통 관리 기술 개발 <ul style="list-style-type: none"> · 건식 숙성 우육 품질 지표인자 및 유통 중 품질 유지방안 마련 · 숙성 미생물(시너지스트) 활용 신속 심층숙성기술 개발 · 숙성 식육의 위해요소 전문 관리방안 설정 <p>○ 연구성과 활용실적 및 계획</p> <ul style="list-style-type: none"> - 식육 심층 숙성 신기술 개발로 기술사업화 - 대량 생산이 가능한 기업보급형 숙성 냉장 설비, 전문 공정 개발 및 체계 확립 - 최적 숙성육의 품질 및 안전 관리 방안 제시 - 저 등급, 저 지방, 저 이용 우육의 고부가가치화로 생산 및 유통업계 이윤 극대화 - 식육제품 다양화와 품질 보증을 통한 소비자 만족도 및 신뢰 제고 - 기업 매출 신장 및 고용창출 - 신기술 개발로 지적재산권 및 관련 학술논문 생산 					

[별첨 2]

자체평가의견서

1. 과제현황

		과제번호	316048-03		
사업구분	농식품기술개발사업				
연구분야	식품		과제구분	단위	
사업명	고부가가치식품기술개발사업			주관	
총괄과제	기재하지 않음		총괄책임자	기재하지 않음	
과제명	저 등급 저 지방 식육의 부가가치 증진 프로젝트		과제유형	(기초,응용,개발)	
연구기관			연구책임자		
연구기간 연구비 (천원)	연차	기간	정부	민간	계
	1차연도	'16.07.07~12.31	100,000천원	34,000천원	134,000원
	2차연도	'17.01.01~12.31	190,000천원	64,000천원	254,000천원
	3차연도	'18.01.01~12.31	190,000천원	64,000천원	254,000천원
	4차연도				
	5차연도				
	계				
참여기업	(주) 감성고기				
상대국	(해당 없음)	상대국연구기관	(해당 없음)		

※ 총 연구기간이 5차연도 이상인 경우 셀을 추가하여 작성 요망


2. 평가일 :

3. 평가자(연구책임자) :

소속	직위	성명
(주) 감성고기	대표이사	정건호

4. 평가자(연구책임자) 확인 :

본인은 평가대상 과제에 대한 연구결과에 대하여 객관적으로 기술하였으며, 공정하게 평가하였음을 확약하며, 본 자료가 전문가 및 전문기관 평가 시에 기초자료로 활용되기를 바랍니다.

확약	
----	---

I. 연구개발실적

※ 다음 각 평가항목에 따라 자체평가한 등급 및 실적을 간략하게 기술(200자 이내)

1. 연구개발결과의 우수성/창의성

■ 등급 : (아주우수, 우수, 보통, 미흡, 불량)

우수

시너지스트의 개발은 現숙성시장의 활성화에 장애요인인 숙성시간과 숙성공간의 제약을 보완할수 있으며, 비선호부위 중 특히 사태를 스테이크용으로 연구 개발한 것은 가장 적체되는 부위이자 식감이 질길 부위를 구이용으로 개발한 것으로 식육시장의 부위별 소비 평준화에 많은 도움이 될 것으로 판단된다.

2. 연구개발결과의 파급효과

■ 등급 : (아주우수, 우수, 보통, 미흡, 불량)

우수

숙성시장이 점차 증가하는 하고 있지만 숙성방법에 대한 이론적 기준이 미흡한 상황이며 이로 인해 소비자들로부터 신뢰를 얻을 수 있는 숙성육 기술이 더욱 발전해야 할 것으로 보고 있다. 따라서 본 연구개발 성과(시너지스트 개발, 고품질 건조숙성 우육 보급을 위한 안전생산관리방안)를 바탕으로 다양한 부위에 대한 숙성연구가 활발해져 구이문화가 중요한 국내 시장에 많은 도움이 될것으로 보인다.

3. 연구개발결과에 대한 활용가능성

■ 등급 : (아주우수, 우수, 보통, 미흡, 불량)

우수

숙성육을 제품화하려는 기업입장에서는 시너지스트를 이용하여 시간과 공간의 제약에서 보다 효율적으로 운영함으로써 원가를 절감할 수 있으며, 향후 특정 소비자층(다이어트, 건강식, 노인식)을 대상으로 사태, 림프, 부채살등 비선호부위 스테이크를 HMR형태로 상품화하여 다양하게 활용이 가능하다.

4. 연구개발 수행노력의 성실도

■ 등급 : (아주우수, 우수, 보통, 미흡, 불량)

우수

연구개발과제 하나하나가 장시간 인내를 가지고 실험이 필요했으며, 작은 실수 하나에도 반복적인 시간의 투자가 필요했던 만큼 집중력을 가지고 연구에 임한 연구자들의 노력에 높은 점수를 주고 싶다.

5. 공개발표된 연구개발성과(논문, 지적소유권, 발표회 개최 등)

■ 등급 : (아주우수, 우수, 보통, 미흡, 불량)

우수

연구성과목표 대비 논문, 지식재산권 모두 초과 달성하였으며 계획 상 없던 품종 등록 2건을 추가로 달성하여 우수한 성과를 보인 것으로 생각된다.

II. 연구목표 달성도

세부연구목표 (연구계획서상의 목표)	비중 (%)	달성도 (%)	자체평가
· 부위별, 조건별 적정 숙성 조건 조사 · 숙성육의 관능 및 품질인자 특성 분석 · 숙성 미생물의 분리, 동정 및 안전성 검사	30	100	
· 시너지스트를 활용한 심층 숙성 기술 개발 · 고등급(1++)과 시너지스트 적용 저등급 건식숙성육의 품질인자 비교분석 · 숙성 공정 중 위해요소 평가 및 유통기한 설정	30	100	
· 숙성 냉장설비 및 전문공정 개발, 적용, 산업화 · 고품질 건조숙성 우육 보급을 위한 안전생산관리방안 제시	40	100	안전하고 보다 빠른 숙성을 위한 공정개발은 앞으로 필수적으로 쓰일 것으로 보인다.
합계	100점		

III. 종합의견

1. 연구개발결과에 대한 종합의견

저 이용 부위의 고급화를 위한 노력으로 전체적인 국내 우육 시장을 위해 저 등급, 저 지방육 및 비선호부위의 소비를 확대할 수 있는 새로운 패러다임의 초석을 개발한 것 같다. 수입에 의존하는 우사료를 조금이라도 절감할 수 있는 저등급 숙성은 축산선진화에 많은 도움이 될 것으로 판단된다.

숙성육에 대한 국내 소비자 관심이 최근 급증하고 있으며, 특히 건식숙성육에 대한 관심은 폭발적으로 증가하고 있음에도 전문적인 안전관리방법 및 부위별 숙성법등이 기준을 없이 유통되고 생산되고 있었다. 본 연구결과를 바탕으로 숙성육의 대중화 및 유통, 그리고 신뢰에 많은 도움이 될 것으로 본다.

2. 평가시 고려할 사항 또는 요구사항

정량성과목표 달성 중 매출액에서 초기 전체 매출액을 목표로 기재하였으나(44억) 연구 도중 정량성과목표는 본 연구를 통해 개발된 신제품에 대한 매출 목표를 기재해야 하는 것으로 권고받고 수정하였습니다.

따라서 초기 제시한 매출목표는 달성하였으나 시제품으로 인한 40억 매출 목표는 무리가 있었습니다.

(시제품에 대한 제품 매출이 상승하고 있는 점 고려 부탁드립니다.)

3. 연구결과의 활용방안 및 향후조치에 대한 의견

지속적으로 저등급 비선회부위를 제품화하는데 추가적으로 연구개발을 진행할 예정이며, HMR 시장에 숙성육이 자리잡을 수 있도록 다른 산업과 연계하여 마케팅을 연구할 예정입니다.

아울러 비선회부위에 대한 부가가치를 증진시키는 동시에 선회부위에 대한 가격을 인하여 하는 운영방법을 도입하여 소비자와 판매자, 생산자 모두를 만족시킬 수 있도록 사업적인 방향을 모색하겠습니다.

끝으로 가장 우선이 되는 숙성육의 안전관리를 위해 추가 연구개발을 진행할 예정입니다.

IV. 보안성 검토

o 연구책임자의 보안성 검토의견, 연구기관 자체의 보안성 검토결과를 기재함

※ 보안성이 필요하다고 판단되는 경우 작성함.

1. 연구책임자의 의견

2. 연구기관 자체의 검토결과

연구성과 활용계획서

1. 연구과제 개요

사업추진형태	<input type="checkbox"/> 자유응모과제 <input checked="" type="checkbox"/> 지정공모과제	분 야	식품
연구과제명	저 등급 저 지방 식육의 부가가치 증진 프로젝트		
주관연구기관	(주) 감성고기	주관연구책임자	정건호
연구개발비	정부출연 연구개발비	기업부담금	연구기관부담금
	480,000천원	162,000천원	총연구개발비 642,000천원
연구개발기간	2016. 07. 07 ~ 2018. 12. 31		
주요활용유형	<input type="checkbox"/> 산업체이전 <input type="checkbox"/> 교육 및 지도 <input type="checkbox"/> 정책자료 <input type="checkbox"/> 기타() <input type="checkbox"/> 미활용 (사유:)		

2. 연구목표 대비 결과

당초목표	당초연구목표 대비 연구결과
① 1차년도 · 부위별, 조건별 적정 숙성 조건 조사 · 숙성육의 관능 및 품질인자 특성 분석 · 숙성 미생물의 분리, 동정 및 안전성 검사	· 부위별, 조건별 적정 숙성 조건 조사 완료 · 숙성육의 관능 및 품질인자 특성 분석 완료 · 숙성 미생물의 분리, 동정 및 안전성 검사 완료 : <i>Pilaira anomala</i> 및 <i>Debaryomyces hansenii</i> 분리 동정 및 <i>P. anomala</i> 의 독소 검사
② 2차년도 · 시너지스트를 활용한 심층 숙성기술 개발 · 고등급(1++)과 시너지스트 적용 저등급 건식숙성육의 품질인자 비교분석 · 숙성 공정 중 위해요소 평가 및 유통기한 설정	· 시너지스트를 활용한 심층 숙성기술 개발 완료 : <i>P. anomala</i> 및 <i>D. hansenii</i> 의 단백질 및 지방 분해능이 건식숙성 중 유효한 영향을 미침. · 고등급(1++)과 시너지스트 적용 저등급 건식숙성육의 품질인자 비교분석 완료 : 시너지스트 적용 시 고등급 한우육과 저등급 건식숙성육 간의 차이를 줄일 수 있음. 또한, <i>P. anomala</i> 및 <i>D. hansenii</i> 를 4:1 비율로 적용 시 건식숙성 기간을 약 5일 정도 단축할 수 있음. · 숙성 공정 중 위해요소 평가 및 유통기한 설정 완료 : 28일 이후 건식숙성육의 관능적 품질이 저하됨을 확인하고 적정 기간의 확인에 필요한 건식숙성 지표인자를 개발하였음.

③ 3차년도 · 숙성 냉장설비 및 전문공정 개발, 적용, 산업화 · 고품질 건조숙성 우유 보급을 위한 안전생산관리 방안 제시	· 숙성 냉장설비 및 전문공정 개발, 적용, 산업화 완료 · 고품질 건조숙성 우유 보급을 위한 안전생산관리 방안 제시 : 건식숙성 후 랩 포장 시 7.5일, 진공포장 시 11.5일까지 유통이 가능함. 또한, 건식숙성우유 제조 가이드라인(안) 제시를 완료함.
---	---

* 결과에 대한 의견 첨부 가능

3. 연구목표 대비 성과

성과 목표	사업화지표										연구기반지표								
	지식 재산권			기술 실시 (이전)		사업화					기술 인증	학술성과			교육 지도	인력 양성	정책 활용-홍보		기타 (타 연구 활용 등)
	특허출원	특허등록	품종등록	건수	기술료	제품화	매출액	수출액	고용창출	투자유치		논문		학술발표			정책 활용	홍보전시	
												SCI	비SCI						
단위	건	건	건	건	백만원	백만원	백만원	백만원	명	백만원	건	건	건	건	명	건	건		
가중치																			
최종목표	3	1	-	1		3	4,400		4			2	3		5	3		-	
연구기간내 달성실적	5	2	2*	1		3	15		4			3	3		17	4		1*	
달성율(%)	167	200		100		100			100			167	100		340	133			

* 추가 달성

4. 핵심기술

구분	핵심기술명
①	<i>P. anomala</i> 및 <i>D. hansenii</i> 를 활용한 건식숙성우유 제조방법
②	건식숙성 지표인자 개발
③	건식숙성 냉장 설비 개발

5. 연구결과별 기술적 수준

구분	핵심기술 수준					기술의 활용유형(복수표기 가능)				
	세계 최초	국내 최초	외국기술 복제	외국기술 소화·흡수	외국기술 개선·개량	특허출원	산업체이전 (상품화)	현장애로 해결	정책자료	기타
①의 기술		v				v				

②의 기술	v					v				
③의 기술		v						v		
·										
·										

* 각 해당란에 v 표시

6. 각 연구결과별 구체적 활용계획

핵심기술명	핵심기술별 연구결과활용계획 및 기대효과
①의 기술	건식숙성기간 단축 및 고품질 건식숙성육 제조
②의 기술	건식숙성 지표인자 적용을 통하여 최적 건식숙성육 제조시스템 제시
③의 기술	현장 적용을 통한 건식숙성육 제조 설비 개선

7. 연구종료 후 성과창출 계획

성과목표	사업화지표										연구기반지표								
	지식 재산권			기술실시 (이전)		사업화					기술인증	학술성과			교육지도	인력양성	정책 활용-홍보		기타 (타연구활용등)
	특허출원	특허등록	품종등록	건수	기술료	제품화	매출액	수출액	고용창출	투자유치		논문		학술발표			정책활용	홍보전시	
												SCI	비SCI						
단위	건	건	건	건	백만원	백만원	백만원	백만원	명	백만원	건	건	건	건	명				
가중치																			
최종목표	3	1	-	1		3	4,400		4			2	3		5		3	-	
연구기간내 달성실적	5	2	2*	1		3	15		4			5	3		17		4	1*	
연구종료후 성과창출 계획												3							

* 추가 달성

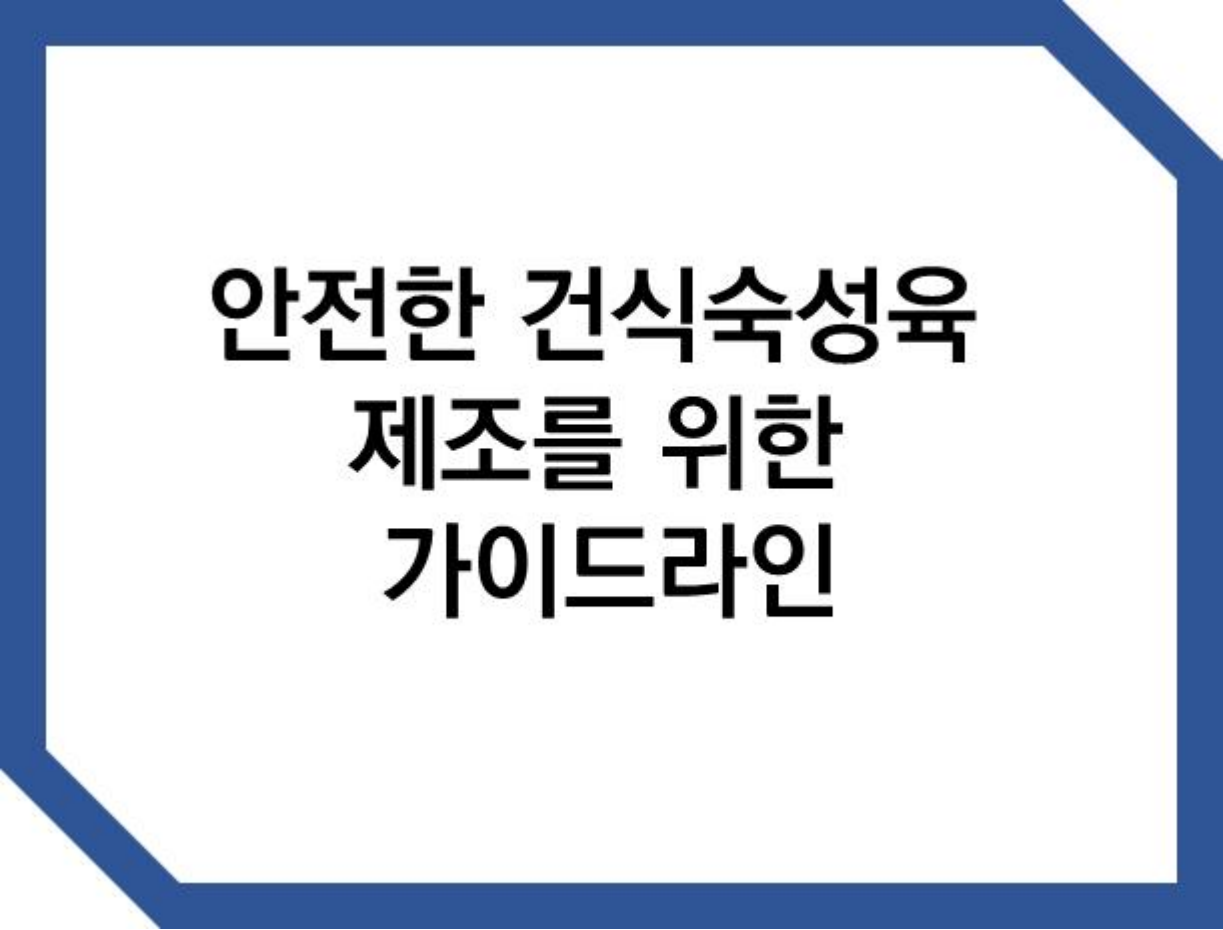
8. 연구결과의 기술이전조건(산업체이전 및 상품화연구결과에 한함) - 해당 없음

핵심기술명 ¹⁾			
이전형태	<input type="checkbox"/> 무상 <input type="checkbox"/> 유상	기술료 예정액	천원
이전방식 ²⁾	<input type="checkbox"/> 소유권이전 <input type="checkbox"/> 전용실시권 <input type="checkbox"/> 통상실시권 <input type="checkbox"/> 협의결정 <input type="checkbox"/> 기타()		
이전소요기간	실용화예상시기 ³⁾		

기술이전시 선행조건 ⁴⁾			

- 1) 핵심기술이 2개 이상일 경우에는 각 핵심기술별로 위의 표를 별도로 작성
- 2) 전용실시 : 특허권자가 그 발명에 대해 기간·장소 및 내용을 제한하여 다른 1인에게 독점적으로 허락한 권리
 통상실시 : 특허권자가 그 발명에 대해 기간·장소 및 내용을 제한하여 제3자에게 중복적으로 허락한 권리
- 3) 실용화예상시기 : 상품화인 경우 상품의 최초 출시 시기, 공정개선인 경우 공정개선 완료시기 등
- 4) 기술 이전 시 선행요건 : 기술실시계약을 체결하기 위한 제반 사전협의사항(기술지도, 설비 및 장비 등 기술이전 전에 실시기업에서 갖추어야 할 조건을 기재)

[별첨 4]



**안전한 건식숙성육
제조를 위한
가이드라인**

목차

1. 건식 숙성육의 개요

- 1.1. 숙성이란
- 1.2. 건식 숙성이란
- 1.3. 건식 숙성육 제조 방법

2. 위생적인 건식 숙성육 생산을 위한 관리 방안

- 2.1. 건식 숙성육 생산과정 중 위해요소
- 2.2. 위해요소 관리방안

3. 건식 숙성육 생산관리 5대 중점 요령

4. 건식 숙성육 생산관리 점검표

1. 건식숙성육의 개요

1.1. 숙성이란

- 고기를 일정 조건으로 보관함으로써 고기의 풍미와 품질을 향상하는 과정을 말함.

1.2. 건식 숙성이란

- 도체나 분할육의 표면에 보호 포장을 감싸지 않고 냉장온도에서 장시간 보관하면서 숙성 효과가 있는 미생물을 증식시켜 숙성 효과를 증진시키는 방식

건식 숙성 전



건식 숙성 후



그림 1. 건식 숙성육

1.3. 건식 숙성육 제조 방법



- 부분육 구매 및 준비
 - 도축 일로부터 시간이 오래 경과 되지 않은 최대한 위생적인 부분육 선택
- 숙성실 입고
 - 공기가 부분 육의 모든 면에 최대한 많이 접촉하도록 보관
 - 선반은 밀이 뚫려 있는 랙 타입으로 선택
- 숙성
 - 처음 1주일 동안 온도는 2°C, 습도는 65-70% 수준으로 유지하고, 송풍은 간이 건식 냉장고의 기본 송풍뿐만 아니라 보조 송풍도 필요
 - 2-4주 동안은 온도는 2°C, 습도는 70-75% 수준으로 유지하고, 송풍은 간이 건식 냉장고의 기본 송풍 조건으로 유지
- 트리밍
 - 건식 숙성 완료 후, 숙성육 표면의 클러스터를 제거
 - 트리밍 후에는 즉시 진공 포장하여 냉장 보관

II. 위생적인 건식 숙성육 생산을 위한 관리 방안

2.1. 건식 숙성육 생산과정 중 위해요소

(가) 생물학적 위해요소

(1) 곰팡이

- 곰팡이는 식품과 같은 영양분이 풍부하며 약산성이고 수분이 적절한 곳에서 잘 자람. 또한, 곰팡이는 세균이나 효모보다 환경에 대한 저항력이 커서 낮은 수분, 높은 당 농도, 넓은 pH 영역이나 온도 영역에서 잘 성장함. 따라서 제어되지 않은 상황에서 건식 숙성시킬 경우 건식 숙성육에서 곰팡이가 자라기 쉬움. 곰팡이 대부분이 내열성이 없고 절대 호기성인 특징을 가지기 때문에, 가열이나 진공포장 등으로 곰팡이를 제어할 수 있음. 몇몇 종류의 곰팡이는 대사산물로 마이코톡신을 생성하여 사람에게 질병을 유발할 수 있음. 곰팡이는 저온에서도 자랄 수 있으므로 저온에서 숙성을 진행하는 건식 숙성육의 경우 주의해야 하고, 특히나 냉장 온도에서 곰팡이 독소를 생산하는 곰팡이에 대하여 주의를 기울여야 함(표 1, 2).
- *Aspergillus* 속은 널리 분포된 곰팡이로서 아밀라아제와 프로테아제를 많이 분비하여 약주, 된장, 간장 등의 양조에 많이 사용함. 유익한 곰팡이로 *Aspergillus oryzae*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus sojae* 등은 식품산업에 많이 이용되고 있음. 그러나, 토양인 식품에서 자주 발견되는 *Aspergillus flavus*는 발암성 물질인 아플라톡신을 생성하고, *Aspergillus fumigatus*는 곡물에서 자주 발견되는데 사람의 폐에 기생하여 아스페르길루증(Aspergillosis)를 일으키는 병원성 균이기 때문에 주의해야 함.
- *Penicillium* 속은 자연에 널리 분포된 곰팡이로, 과일, 채소, 빵, 떡 등을 변패 시킴. 황변미의 원인이 되는 곰팡이로 해로운 것들이 많으나, 치즈의 숙성이나 항생물질인 penicillin의 생산에 이용되는 유용한 곰팡이도 존재함.
- *Cladosporium* 속은 수분이 많이 포함된 곡류에서 잘 발견되며 암녹색의 반점을 만들고 냉장한 육류, 달걀껍데기 등에 흑색 반점을 만들기도 함. 식물 병원균이 많으며 사료에 번식하여 가축에 중독을 일으키는 예도 있음.
- *Mucor* 속은 토양이나 퇴비 등 부패한 동물, 식물, 과일 등에서 흔히 볼 수 있으며, 발효공업에 중요한 속으로 알려져 있음. 최적 성장 온도는 20-25°C이며, 단백질이나 유지를 분해하기 때문에 낙농과 피혁 공업에서 유해균으로 여겨짐.

표 1. 냉장 온도 이하에서 보관될 경우 숙성육에 자랄 수 있는 곰팡이 종류

속 / 종	최저 증식 온도(°C)	속 / 종	최저 증식 온도(°C)
<i>Penicillium</i>	표 2 참고	<i>Chrysosporium</i>	-1
<i>P. hirsutum</i>	-5 to -6	<i>Mucor</i>	-1
<i>Cladosporium</i>	-6	<i>Rhizoopus</i>	-1
<i>C. cladosporioides</i>	-6	<i>Aspergillus</i> spp.	-1
<i>C. herbarum</i>	-5	<i>Aureobasidium pullulans</i>	-5
<i>Thamnidium</i>	-1		

표 2. *Aspergillus*와 *Penicillium*의 최저 성장 온도 및 최저 독소 생산 가능 온도

	최적 성장 온도(°C)	독소 생산 온도(°C)
<i>Aspergillus flavus</i>	10-12	13
<i>Aspergillus parasiticus</i>	12	12
<i>Aspergillus ochraceus</i>	8	12
<i>Aspergillus versicolor</i>	9	알려지지 않음
<i>Penicillium citreonigrum</i>	<5	10
<i>Penicillium citrinin</i>	5-7	<15
<i>Penicillium islandicum</i>	10	알려지지 않음
<i>Penicillium verrucosum</i>	0	4

(2) 효모

- 효모는 당분으로부터 발효하면 알코올과 이산화탄소를 생성함. 이러한 특성으로 주류 양조나 알코올 제조와 제빵 산업에 많이 이용됨. 그러나 발효산업에서 야생 오염 효모가 들어가면 부패를 일으킬 수 있고, 인체에 해로운 병원성 효모도 존재하기 때문에 오염에 주의해야 함. 효모는 생육 최적 온도가 보통 20-30°C이고 최적 pH가 5-6의 미산성인 호기성 및 통성혐기성균이며, 혐기적 조건에서도 생육할 수 있음.
- *Rhodotorula* 속은 비병원성으로 보고되었으나, 최근 *R. mucilaginosa*, *R. glutinis*, *R. minuta*의 병원성이 보고되고 있고 면역이 약한 환자에게 기회감염을 일으키는 진균으로 보고되었음. 감염 사례는 대부분 병원에서 사용되는 의료기구에 의한 감염으로 보고됨 (Wirth and Goldani, 2017; Miceli et al., 2011).
- *Pichia* 속은 양조과정에서 산소와 접하는 표면에서 얇은 피막을 생성하는 특징을 가지며,

주류와 간장 양조 시 유해균으로 취급됨.

- *Mycoderma* 속은 발효액이나 당액 표면에서 피막을 형성하는 산막 효모이며, 알코올 함량이 적은 과실주에서 잘 번식하고 당류 및 알코올을 소비하여 변화시키는 유해 효모임.

(3) 병원성 대장균(*Escherichia coli*)

- 일반적인 대장균은 장내 상주 균으로 인체에 해를 주지 않고 비타민류를 생산하는 등 숙주인 사람과 동물 등에 공생관계를 가짐. 그러나 특정 종들은 사람이나 동물에게 장 질환을 일으키거나 치명적인 질병을 일으킬 수 있음. 이러한 병원성 대장균은 감염된 환자의 분변을 통해서 감염될 수 있고 식육 도축 과정에서 내장 파열에 의한 교차 오염으로 식품에 오염될 수 있음. 따라서 식육을 다루는 작업자의 개인위생이 매우 중요하고, 식육을 적절한 온도에서 익혀 먹는 것이 병원성 대장균 제어에 중요함.
- 장출혈성대장균(Enterohemorrhagic *Escherichia coli*)은 시가독소를 생산하는 대장균으로, 법정감염병인 장출혈성 대장균감염증의 원인균임. 소, 양, 염소, 돼지, 개, 닭 등 가금류의 대변에서 주로 발견되며, 이 균은 열에 약하므로, 가열 조리 시 장출혈성 대장균감염증을 예방할 수 있음.
- 국내 식육 중 대장균수 규격은 3 Log CFU/g 이하로 제시되고 있음(표 3).

표 3. 식육 중 미생물 모니터링 검사 권장 규격(식품의약품안전처, 2018)

구 분	대장균수(CFU/g, cm ²)		
	도축장	식육 포장 처리장	식육 판매장
쇠고기, 양고기	1×10 ² 이하	1 × 10 ³ 이하	1 × 10 ³ 이하
돼지고기	1×10 ⁴ 이하	1 × 10 ⁴ 이하	1 × 10 ⁴ 이하
닭고기, 오리고기	1×10 ³ 이하	1 × 10 ⁴ 이하	1 × 10 ⁴ 이하

(4) 황색포도상구균(*Staphylococcus aureus*)

- 황색포도상구균은 그람양성의 통성혐기성 세균임. 건강한 사람의 20-30%가 보균자이며, 피부와 비강표면에 일반적으로 존재하고 있음. 황색포도상구균에 의한 식중독은 균이 식품에서 성장하면서 생산하는 장 독소에 의하여 발생함. 이 균이 생성하는 독소는 A-E까지 총 5종류로 내열성이 강하고 여러 물리 화학적 처리에도 저항성이 강함. 최근 대부분의 항생물질에 저항성을 나타내는 균주인 MRSA(메티실린 내성 황색 포도상구균)가 출현함. 황색포도상구균의 최적 성장 온도는 35°C이지만, 6.7°C 에서도 생장이 가능하기 때문에 냉장 온도에서도 존재할 수 있음.

(5) 리스테리아 모노사이토제네스(*Listeria monocytogenes*)

- 리스테리아 모노사이토제네스는 호냉성 통성혐기성균으로 인수공통 병원균이며, 건조하거나 염도가 높은 환경에서도 생존할 수 있으며 저온에서도 잘 자랄 수 있음. 고염 농도

(10% NaCl)나 저온에서도 성장하기 때문에 식품제조 단계에서 균이 오염되지 않도록 주의하는 것이 가장 중요함. 4°C의 저온에서도 증식할 수 있으므로, 냉장 온도에서 장시간 동안 유통되는 치즈, 살라미, 열처리된 유제품과 즉석 섭취 식품에서 균이 분리될 수 있음. 따라서 주기적으로 냉장고 및 보관고를 청소하는 것이 중요함. 임산부가 리스테리아 모노사이토제네스 감염 시, 자연유산, 조산, 사산 등을 초래할 수 있고, 신생아 감염 시 패혈증, 수막염 등을 일으킬 가능성이 있으며, 치사율이 약 30%로 매우 높음.

(6) 살모넬라(*Salmonella*)

- 식품에 존재하는 다량의 살모넬라를 섭취할 경우, 장 점막에서 균이 증식하여 급성 장염이나 대장염을 일으킬 수 있음. 최적 성장 온도는 37°C 이지만, 최저 성장 온도가 5.2°C 이고, pH 5.0 이상에서 증식 가능한 특징을 가짐. 이 균은 목장의 퇴적물에서 한 달 이상 생존할 수 있고, 사람의 손발에 부착한 후에도 생존하여 식품으로 교차 오염되기 쉬우므로 작업장에서 주의해야 하는 균임.

(7) 일반세균

- 일반세균 자체가 체내에서 질병을 유발하지 않으나 세균수가 지나치게 많을 경우 병원성 세균이 일반세균수에 포함되어 있을 가능성이 있어 배탈과 설사를 일으킬 수 있음. 일반세균은 위생지표 세균으로, 모니터링 검사 시 식품 전반에 대한 위생 수준을 나타내는 지표로 사용함. 인체 위해성을 직접 확인하기 위해 설정된 것이 아니며, 식품의 제조 공정상 위생관리를 판단하기 위해 설정된 것임.
- 국내 식육에 대한 일반세균수 규격은 7.0 Log CFU/g 이하로 제시되고 있음(표 4).

표 4. 식육 중 미생물 모니터링 검사 권장 규격(식품의약품안전처, 2018)

구 분	일반세균수(CFU/g, cm ²)		
	도축장	식육 포장 처리장	식육 판매장
쇠고기, 양고기	1×10 ⁵ 이하	5 × 10 ⁶ 이하	5 × 10 ⁶ 이하
돼지고기	1×10 ⁵ 이하	5 × 10 ⁶ 이하	5 × 10 ⁶ 이하
닭고기, 오리고기	1×10 ⁵ 이하	5 × 10 ⁶ 이하	5 × 10 ⁶ 이하

표 5. 주요 세균성 식중독의 증상

병명	발병유형	잠복기	주요 증상
살모넬라 식중독	감염형	12-24시간	구역질, 구토, 두통, 발열, 복통
황색포도상구균 식중독	독소형	3시간	구역질, 구토, 복통, 설사
장출혈성대장균 식중독	감염형	2-8일	(장염) 설사, 복통, 미열, 구토
리스테리아 식중독	감염형	3-7일	약한 감기 증세, 불안, 설사, 열 및 패혈증

(나) 화학적 위해요소

- 화학적 위해요소는 인체에 직접적인 위해나 손상을 줄 수 있는 화학적 물질을 말함.

표 6. 화학적 위해요소

구분	위해요소
원료	농약, 항생제, 호르몬제, 독소, 중금속, 착색제, 잉크류, 포장재
공정	축산물첨가물 : 보존료, 향료
건물 및 장비	윤활유, 페인트, 표면코팅물질
위생	농약, 소독제, 세척제
저장 및 유통	모든 종류의 화학제재, 교차오염

(다) 물리적 위해요소

- 물리적 위해요소는 다양한 종류의 이물질이 포함되며, 섭취를 통하여 인체로 들어갈 경우 해로운 질병이나 신체 손상을 줄 수 있음. 물리적 위해요소가 유발되는 원인으로는 오염된 원료, 시설 및 기구 유래 위해요소 혼입, 부주의한 작업자에 의한 위해요소 혼입 등이 존재함.

표 7. 물리적 위해요소

위해요소	원인 물질
유리	병
금속	너트, 볼트, 철사, 선반
돌	원료
플라스틱류	포장재
뼈	원료
탄알 및 주사바늘	동물포획 및 예방치료 시에 사용되는 물질
장신구 및 휴대품	펜, 연필, 단추

2.2. 위해요소 관리방안

(가) 공정 단계별 위해요소 관리

(1) 위험도 평가 기준

- 위해요소를 관리 및 제어하기 위하여 ‘위험도 평가표’를 바탕으로 위해에 대한 위험도를 결정하고 그를 바탕으로 관리수준을 정함. ‘위험도 평가표’는 위해의 발생 가능성과 결과의 심각성을 평가하는데 이용할 수 있음(그림 2). 또한 그 용어의 정리는 표 8과 같음.

		결과의 심각성			
		거의 없음	낮음	보통	높음
발 생 가 능 성	거의 없음	만족	만족	만족	만족
	낮음	만족	경한 결함	경한 결함	경한 결함
	보통	만족	경한 결함	중한 결함	중한 결함
	높음	만족	경한 결함	중한 결함	치명적 결함

그림 2. 위험도 평가표

표 8. 용어의 정의

구분	내용
치명적 결함 (critical deficiency, Cr)	- 높은 보건상의 위험도를 나타내는 결함사항 (오염 포함)
중한 결함 (Major deficiency, Ma)	- 보건 상의 위험도가 중간정도이거나, 오염 또는 변질의 위험도가 높은 결함사항
경한 결함 (Minor deficiency, Mi)	- 보건 상의 위험도가 낮거나, 오염 또는 변질의 위험도가 낮거나 중간정도의 결함사항
만족 (Satisfactory, Sa)	- 작업장에서 보건 상의 위험이나 오염 또는 변질의 위험을 일으키는 결함사항이 확인되지 않은 상태

- 결과의 심각성 평가 : 위해요소에 대한 결과의 심각성은 인체의 건강장애를 일으킬 수 있는 정도에 따라 판단함. 예를 들어 병원성 미생물은 대부분 높음으로 분류되지만, 물리적 위해는 낮음이나 보통으로 분류됨.
- 위해의 발생가능성 평가 : 해당 제품에서 나타날 수 있는 위해의 가능성 즉 최종 소비자가 위해에 노출될 수 있는 가능성을 의미하며, 이는 작업장 내에서의 위생관리가 충분하지 않으면 발생가능성이 높아짐. 예를 들어 온도가 병원성 미생물의 증식을 막을 수 있는 수준으로 유지되지 못하면 지육에 병원균이 증식할 수 있으므로 위해의 발생가능성이 보통이나 높음으로 분류됨(표 9).

표 9. 평가 시 고려사항

결과의 심각성 판단 기준	발생 가능성 판단 기준
<ul style="list-style-type: none"> • 관련 위해의 발생 형태 • 보건위생상의 결과 <ul style="list-style-type: none"> - 무증상 또는 잠재성 : 낮음 - 일시적 장애 : 보통 - 영구적 장애 또는 사망 : 높음 	<ul style="list-style-type: none"> • 위해 발생의 빈도 • 위해 발생 여부 판단 • 작업장 위생관리 수준

(2) 공정 단계별 위해요소 위험도 평가

공정 단계	위해요소	발생 원인	위험도 평가		
			발생 가능성	심각성	
원료육 구매 및 준비	생물학적 : 원료육 초기 세균 수	위생적이지 못한 도축 및 손질 과정	보통	보통	
		운반 차량 및 원료육 중심부 온도 5°C 초과	보통		
		포장재 손상 및 도축 장비로부터의 교차오염	낮음		
		물리적: 이물질 혼입	원료 입출하시 포장재 파손으로 혼입		보통
원료육 보관	생물학적 : 보관 중 미생물 생 장	화학적: 잔류물질 (항생제 등)	개체치료 후 휴약기간 미준수 항생제 잔류 가능	낮음	보통
		물리적: 이물질 혼입	높은 보관 온도 포장재 손상 또는 잠재적 위해요소와 함께 보관 시 미생물 교차오염	높음	보통
건식 숙성 준비	생물학적: 미생물 교차오염	물리적: 이물질 혼입	포장재 등으로부터 이물질 혼입	보통	낮음
		생물학적: 미생물 교차오염	작업자에 의한 교차오염 작업장 또는 장비에 의한 교차오염	높음	보통
		생물학적: 미생물 생장	작업 중 원료육의 온도 상승 공기 흐름을 제한하는 공간의 부족	높음	높음
		물리적: 이물질 혼입	숙성 중 장비 또는 작업자 등에 의하여 이물질 혼입 가능	보통	낮음
건식 숙성 과정	생물학적: 미생물 생장	부적합한 온도 유지	높음	높음	
		부적합한 습도 유지	높음		
트리밍 (표면 제거)	생물학적: 미생물 교차오염	부적합한 공기 흐름 조절	보통	높음	
		UV 조사 미사용으로 인한 미생물 제어 실패	보통		
		생물학적: 미생물 교차오염	트리밍 된 크러스터에 의한 교차오염 작업장 또는 장비에 의한 교차오염		높음
	생물학적: 미생물 생장	트리밍 과정 중 제품표면 온도 상승	보통	높음	

절단	생물학적: 미생물 교차오염	미흡한 트리밍 작업으로 절단육 표면에 잔여 미생물 존재 장비에 의한 교차오염	높음 높음	보통
	생물학적: 미생물 생장	제품 절단 과정 중 제품표면 온도 상승	보통	높음
	물리적: 금속 오염	칼 표면 또는 장비에 의한 금속 오염	낮음	보통
포장	생물학적: 미생물 교차오염	작업자, 작업장 또는 장비에 의한 교차오염	보통	높음
	생물학적: 미생물 생장	제품 포장 과정 중 제품표면 온도 상승	낮음	높음
보관 및 판매	생물학적: 미생물 생장	저장 및 판매 과정 중 제품표면 온도 상승	낮음	높음
		유통기한 초과	낮음	

(3) 공정 단계별 관리방안

공정 단계	위해요소	원인	관리방안	관리수준*
1 원료육 구매 및 준비	생물학적 : 원료육의 초기 세균 수	위생적이지 못한 도축 및 손질 과정	<ul style="list-style-type: none"> 국내 도축 식육에 대한 일반세균수 권고 수준인 5 Log CFU/cm² 이하로 관리되는 농장을 거래함 도체에 대한 미생물 검사 실시 또는 검사성적서(기록) 확인 	보통+보통 =Ma
		운반 차량 및 원료육 중심부 온도 5°C 초과	<ul style="list-style-type: none"> 도체 이동 시 차량 내부 및 보관온도 4°C 이하로 유지관리 	보통+보통 =Ma
	물리적: 이물질 혼입	포장재 손상 및 도축 장비로부터의 교차오염	<ul style="list-style-type: none"> 도축 후 포장까지의 경로 위생관리 원료육 검수 시 포장재에 손상이 있는지 확인 	낮음+보통 =Mi
		원료 입출하시 포장재 파손으로 혼입	<ul style="list-style-type: none"> 훈련된 작업자를 통한 식육 검수 육안검사 및 금속 탐지기를 이용하여 이물질 확인 작업장 내 철저한 위생관리가 이루어지는지 매일 체크리스트 확인(바닥 및 트롤리를 통한 오염 방지) 이동 수레를 통한 식육 이동으로 원료육 오염 방지 	보통+낮음 =Mi
화학적: 잔류물질(항생제 등)	개체치료 후 휴약기간 미준수 항생제 잔류 가능	<ul style="list-style-type: none"> 농장별 검사 실시 또는 검사성적서(기록) 확인 	낮음+보통 =Mi	
2 원료육 보관	생물학적 : 보관 중의 미생물 생장	높은 보관 온도	<ul style="list-style-type: none"> 보관고 온도 4°C 이하로 유지관리 	높음+보통 =Ma
		포장재 손상 또는 잠재적 위해요소와 함께 보관 시 미생물 교차오염	<ul style="list-style-type: none"> 잠재적 오염원(쓰레기통 주변, 세면대 등 물기가 있는 곳)으로부터 분리하고, 적절하게 포장하여 원료육 보관 도체 간 간격 10 cm 이상 유지 	낮음+보통 =Mi

공정 단계	위해요소	원인	관리방안	관리수준
	물리적: 이물질 혼입	포장재 등으로부터 이물질 혼입	<ul style="list-style-type: none"> • 주 1회 보관고 청소 실시 • 육안검사 및 금속 탐지기를 이용하여 이물질 확인 	보통+낮음 =Mi
3 건식 숙성 준비	생물학적: 미생물 교차오염	작업자에 의한 교차오염	<ul style="list-style-type: none"> • 작업자 장갑·작업복 및 개인위생 철저히 관리 	높음+보통 =Ma
		작업장 또는 장비에 의한 교차오염	<ul style="list-style-type: none"> • 육류와 접촉되는 기구(칼, 도마, 컨베이어 등) 청결관리 • 작업 전, 중, 후 세척 및 소독 실시 • 칼의 경우 수시로 소독 실시(자외선 소독기 사용) 	높음+보통 =Ma
	생물학적: 미생물 성장	작업 중 원료육의 온도 상승	<ul style="list-style-type: none"> • 가공실 온도 10°C 이하로 유지관리 • 작업 전, 중, 후 가공실 온도 확인 	높음+높음 =Cr
		공기 흐름을 제한하는 공간의 부족	<ul style="list-style-type: none"> • 정기적인 미생물 검사 실시(낙하균 포함) - 월 2회 이상 • 공기 순환기 설치 	낮음+높음 =Mi
	물리적: 이물질 혼입	숙성 중 장비 또는 작업자 등에 의하여 이물질 혼입 가능	<ul style="list-style-type: none"> • 육안검사를 통한 이물질 혼입 확인 	보통+낮음 =Mi
4 건식 숙성 과정		부적합한 온도 유지	<ul style="list-style-type: none"> • 숙성고 온도 4°C 이하로 유지관리 (적정 숙성 온도 0-4°C) 	높음+높음 =Cr
	생물학적: 미생물 성장	부적합한 습도 유지	<ul style="list-style-type: none"> • 숙성고 내부 습도 75-85% 수준으로 유지관리 	높음+높음 =Cr
		부적합한 공기 흐름 조절	<ul style="list-style-type: none"> • 숙성고 내 5 m/s의 풍속을 처리하여 내부 공기 흐름 관리(선풍기, 환풍기 등 사용) • 숙성 중 작업자의 숙성고 출입 최대한 자제 	보통+높음 =Ma

공정 단계	위해요소	원인	관리방안	관리수준
		UV 조사 미사용으로 인한 미생물 제어 실패	<ul style="list-style-type: none"> UV 램프는 6개월마다 교체 (과잉 조사되어 열 손상 발생하지 않도록 시간 조절 관리) 	보통+높음 =Ma
5 트리밍(표면 제거)	생물학적: 미생물 교차오염	트리밍 된 크러스터에 의한 교차오염	<ul style="list-style-type: none"> 작업자의 트리밍 작업 교육 및 숙지 작업 전, 중, 후 세척 및 소독 실시 트리밍 된 크러스터 신속하게 수거 및 정리 	높음+높음 =Cr
		작업장 또는 장비에 의한 교차오염	<ul style="list-style-type: none"> 건조 숙성육과 직접적으로 접촉되는 기구(칼, 도마, 컨베이어 등) 청결관리 작업 전, 중, 후 세척 및 소독 실시 칼의 경우 도체별로 구분하여 사용 트리밍용 장비와 절단 장비 구분 필요 	높음+높음 =Cr
	생물학적: 미생물 생장	트리밍 과정 중 제품표면 온도 상승	<ul style="list-style-type: none"> 가공실 온도 10°C 이하로 유지관리 숙성 완료 후 지체없이 트리밍 진행 	보통+높음 =Ma
6 절단	생물학적: 미생물 교차오염	미흡한 트리밍 작업으로 절단육 표면에 잔여 미생물 존재	<ul style="list-style-type: none"> 작업자의 트리밍 작업 교육 및 숙지 작업 전, 중, 후 세척 및 소독 실시 선반에 닿았던 표면의 철저한 트리밍 작업 	높음+보통 =Ma
		장비에 의한 교차오염	<ul style="list-style-type: none"> 건조 숙성육과 직접적으로 접촉되는 기구(칼, 도마, 컨베이어 등) 청결관리 작업 전, 중, 후 세척 및 소독 실시 칼의 경우 수시로 세척, 소독 실시 (자외선 조사를 통한 살균) 트리밍용 장비와 절단 장비 구분 필요 	높음+보통 =Ma
	생물학적: 미생물 생장	제품 절단 과정 중 제품표면 온도 상승	<ul style="list-style-type: none"> 가공실 온도 10°C 이하로 유지관리 트리밍 후 지체없이 작업 진행 	보통+높음 =Ma

	물리적: 금속 오염	칼 표면 또는 장비에 의한 금속 오염	• 육안으로 검사하거나 금속탐지기에 의한 검사 실시	낮음+보통 =Mi
공정 단계	위해요소	원인	관리방안	관리수준
7 포장	생물학적: 미생물 교차오염	작업자, 작업장 또는 장비에 의한 교차 오염	<ul style="list-style-type: none"> • 트리밍 후 작업자 장갑 교체 및 칼, 도마 등 세척 및 소독 실시 • 소독한 멸균 포장재 사용 • 진공 포장하여 추가적 교차오염 방지 	보통+높음 =Ma
	생물학적: 미생물 생장	제품 포장 과정 중 제품표면 온도 상승	• 가공실 온도 10°C 이하로 유지관리	낮음+높음 =Mi
8 보관 및 판매	생물학적: 미생물 생장	저장 및 판매 과정 중 제품표면 온도 상승	<ul style="list-style-type: none"> • 보관고 온도 4°C 이하로 유지관리 • 출고 상차시 온도 및 시간 관리 • 월 2회 이상 미생물 모니터링 실시 	낮음+높음 =Mi
		유통기한 초과	<ul style="list-style-type: none"> • 선입선출의 출고시간 관리 • 숙성육의 경우 트리밍과 포장 후 2일 이내 판매 권장 	낮음+높음 =Mi

* : 위험도 평가표를 기준으로 작성

Cr: 치명적 결함, Ma: 중한 결함, Mi: 경한 결함, Sa: 만족

(4) 중요 관리점 설정

· 건식 숙성 준비-온도 관리

구분	내용	비고
관리수준	Cr 1 (Critical deficiency)	온도 관리
처리공정	건식 숙성 준비	
설명	<ul style="list-style-type: none"> 작업 중 원료육의 온도관리 미흡으로 인한 미생물 생장 가능성이 높고, 숙성 전 오염으로 인하여 숙성육 품질에 대한 위해 가능성 존재 	
관리기준	<ul style="list-style-type: none"> 가공실 적정온도 유지 <ul style="list-style-type: none"> - 10°C 이하 	
모니터링 방법	<ul style="list-style-type: none"> 작업 전, 중, 후 가공실 온도 점검 기록 2시간 마다 자동온도기록 확인 	
개선조치	<ul style="list-style-type: none"> 가공실 적정 온도 초과 이탈시 원인 확인 및 제거 <ul style="list-style-type: none"> - 숙성 준비 중인 제품 중심온도 확인 - 자동온도 기록 확인 개선조치후 매시간 가공실 온도 점검 <ul style="list-style-type: none"> - 개선조치사항 기록 	
기록방법	<ul style="list-style-type: none"> 온도 점검표에 기록 유지 	
검증방법	<ul style="list-style-type: none"> 모니터링에 사용된 온도계 검교정 (1회/6월) 온도 점검표 기록부 확인 (1회/주) 	

· 건식 숙성 과정-온도, 습도 관리

구분	내용	비고
관리수준	Cr 2 (Critical deficiency)	온도, 습도 관리
처리공정	건식 숙성 과정	
설명	<ul style="list-style-type: none"> 건식 숙성 과정 중, 온도와 습도관리 미흡으로 인한 미생물 생장 가능성이 높음. 숙성 중에 자라야하는 미생물의 분포가 달라져 숙성육 품질에 대한 위해 가능성이 높아짐. 	
관리기준	<ul style="list-style-type: none"> 숙성고 적정온도/습도 유지 <ul style="list-style-type: none"> - 온도 : 0-4°C - 습도 : 75-85% 유지관리 	
모니터링 방법	<ul style="list-style-type: none"> 작업 전, 중, 후 숙성고 온도/습도 점검 기록 2시간 마다 자동기록 확인 	

개선조치	<ul style="list-style-type: none"> • 숙성고 적정 온도/습도 이탈시 원인 확인 및 제거 <ul style="list-style-type: none"> - 숙성 준비 중인 제품 중심온도 확인 - 자동기록 확인 - 가습 또는 제습기 확인 • 개선조치후 매시간 숙성고 온도/습도 점검 <ul style="list-style-type: none"> - 개선조치사항 기록 	
기록방법	<ul style="list-style-type: none"> • 온도/습도 점검표에 기록 유지 	
검증방법	<ul style="list-style-type: none"> • 모니터링에 사용된 온습도계 검교정 (1회/6월) • 온도/습도 점검표 기록부 확인 (1회/주) 	

• 트리밍-미생물 교차오염

구분	내용	비고
관리수준	Cr 3 (Critical deficiency)	교차오염 관리
처리공정	트리밍	
설명	<ul style="list-style-type: none"> • 트리밍 과정 중, 표면에 생장한 미생물이 도마, 칼 등의 장비로부터 교차오염 되는 가능성이 높음 • 작업자 또는 장비 관리 미흡으로 인한 미생물의 교차오염 가능성 존재 	
관리기준	<ul style="list-style-type: none"> • 트리밍 장비와 절단 장비를 구분하여 사용 <ul style="list-style-type: none"> - 트리밍하는 도마/칼과 절단용 도마/칼 구분 • 작업 전, 후 장비(도마, 칼, 컨베이어 등)에서 병원성 미생물 불검출 	
모니터링 방법	<ul style="list-style-type: none"> • 작업 전, 중, 후 사용하는 장비 표면 오염도 검사 • 장비의 구분 사용 확인 	
개선조치	<ul style="list-style-type: none"> • 작업자에 대한 트리밍 교육 실시 <ul style="list-style-type: none"> - 트리밍 된 크러스터 처리 및 장비 사용 • 도마, 칼 등의 장비의 오염도 확인 및 교체 <ul style="list-style-type: none"> - 주기별 교체 확인 	
기록방법	<ul style="list-style-type: none"> • 주기별 설비 검사 기록 유지 	
검증방법	<ul style="list-style-type: none"> • 트리밍용 장비 교체 (1회/6월) • 작업자 위생교육 훈련 (1회/월) • 검사일지 기록사항 확인 (1회/월) 	

(다) 작업환경 위해요소 관리

(1) 방충·방서

- 방충·방서는 해충이나 설치류에 의해 제품이 오염되는 것을 방지하기 위해 중요함
- 방충망 등과 같은 관련 설비를 설치하고 주기적으로 기기의 파손 여부 및 포획된 개체 수를 확인하여야 함
- 폐기물은 설치류의 먹이가 될 수 있으며 해충이 발생할 가능성이 크기 때문에, 매일 깔끔히 처리해야 하며 정해진 장소에 폐기물을 보관할 수 있도록 함
- 주요 방충·방서 관리 포인트
 1. 작업 구역별(원료육 보관고, 숙성고, 트리밍 구역 등)로 포충등, 초음파퇴치기 등을 설치함
 2. 폐기물 보관시설 근처에 끈끈이 트랩을 설치함
 3. 창문과 환기시설에는 방충망을 설치함
 4. 출입구의 문은 자동문이나 용수철이 달린 문으로 항상 닫힌 상태를 유지함
 5. 주 출입구에 에어커튼을 설치하고, 바람은 출입문 바깥을 향해 15°를 유지함
 6. 방역업체와 계약을 체결하여 분기별 방역을 실시함

(2) 생물학적 위해요소

- 곰팡이 포자가 숙성고 안에 존재할 수 있으므로, 숙성고 내 풍속을 5 m/s로 관리함
- 건식 숙성육 숙성고의 상대 습도를 85% 미만으로 유지하고, 온도는 4°C 이하로 유지해야 함
- 교차오염으로 인한 미생물의 전이를 방지하기 위하여 도체에 직접 닿는 도구들은 반드시 소독 후 사용함
 - 소독 및 살균 대상 품목 : 위생복, 위생모, 위생화, 보관·운반시설, 운반도구, 운반 용기, 환기시설(필터 및 방충망 포함), 쓰레기통, 도마, 칼, 숙성고 선반 등
- 기침, 재채기 등의 호흡기 질환, 피부 화농 등을 가진 작업자는 숙성육 취급을 제한함
- 모든 작업자는 개인위생에 항상 신경을 쓰고 있어야 하며, 도체를 작업하는 중에 다른 신체 부위를 만지지 않도록 해야 함
- 젖은 바닥, 수분 응결, 배수 등은 미생물의 성장을 촉진시키기 때문에 숙성고 및 작업장 환경을 깨끗하고 건조하게 유지해야 함
- 작업 시 위생 처리된 복장을 착용하고 바닥 청소 시 살균제를 사용해야 함
- 작업자들의 개인위생을 위하여 작업장 구획 별로 손 세정대를 구비함
- 작업장 내 발판 소독기를 구비하여 외부에서 작업장으로 오염원이 유입되는 것을 방지함

(3) 올바른 살균소독제 희석 및 사용방법

- 살균소독제 사용 시 '식품 첨가물의 기준 및 규격'에 고시된 기구 등의 살균소독제를 사용해야 함
- 살균소독제 사용 시 농도가 초과하지 않도록 사용방법을 준수함(표 8)

표 10. 살균소독제 희석방법 및 사용방법

용도	성분 및 함량	희석방법	사용 방법
칼, 도마 등 식품기기, 작업대, 식품 취급 도구 등의 미생물 살균 및 소독	차아염소산나트 륨, 유*락스 등 (유효염소 4%) 에탄올	<ul style="list-style-type: none"> • 원액을 물과 200배(200 ppm)로 희석하여 사용 • 원액 5 mL에 물을 채워 1 L로 함 • 에탄올 원액 사용 시 700 mL에 물을 채워 1 L로 희석 	<ul style="list-style-type: none"> • 5분 이상 처리 후 별도의 행 금 처리 필요 없으며, 최대한 기울여 남아있는 액체를 완전 히 흘려 보낸 후 자연건조 또 는 반드시 음용수로 행구어 제거 • 분무기에 넣고 사용 후 제거
작업장 바닥, 후드 등의 미생물 살균 및 소독	요오드 (1.75%)	<ul style="list-style-type: none"> • 원액 1.5 mL에 물을 채워 1 L로 함 	<ul style="list-style-type: none"> • 각 성분별 정해진 사용량을 초과하여 사용하지 말 것

(4) 작업장 주요 설비 및 환경 위해요소 관리방안

주요 설비	위해요소	관리방안
숙성고	생물학적: 미생물 성장 및 교차오염	<ul style="list-style-type: none"> 위해 미생물 성장을 방지하기 위하여 상대 습도를 85% 미만으로 유지 (상대습도 75-85% 권장) 위해 미생물 성장을 방지하기 위하여 온도를 4°C 이하로 유지 매일 온도·습도 관리 체크리스트를 작성함 도체의 숙성이 끝나는 기간에 맞추어 숙성고 전체를 청소, 소독함
	물리적: 이물질 혼입	<ul style="list-style-type: none"> 물리적 위해요소가 섞이지 않도록 숙성고 출입 시 소독, 세척이 완료된 위생복을 착용함 개별 작업자들은 자신의 개인위생을 철저히 함
	화학적: 살균소독제의 잔류	<ul style="list-style-type: none"> 숙성고 청소 진행 시, 화학 물질이 잔류하지 않도록, 올바른 살균소독제 희석농도를 준수함
도체 숙성용 선반	생물학적: 미생물 성장 및 교차오염	<ul style="list-style-type: none"> 주 1회 전체적으로 선반을 세척함 맨손 혹은 면장갑을 착용한 상태로 선반을 만지지 않음. 라텍스 장갑을 착용함
	물리적: 이물질 혼입	<ul style="list-style-type: none"> 페인트 등으로 표면이 코팅되어 있거나, 녹이 스는 재질의 선반을 사용하지 않음
	화학적: 잔류 화학물질	<ul style="list-style-type: none"> 녹이 스는 것을 방지하기 위하여 알루미늄 재질의 선반을 사용함 도체에 화학 물질이 닿지 않도록, 도체 아래에 깔개를 놓음 화학 물질이 잔류하지 않도록, 올바른 살균소독제 희석농도를 준수함
문손잡이	생물학적: 미생물 성장 및 교차오염	<ul style="list-style-type: none"> 맨손으로 문손잡이를 만지지 않으며, 일회용 장갑을 착용하고 문손잡이를 만짐 매일 살균소독제로 세척 함
	화학적: 살균소독제의 잔류	<ul style="list-style-type: none"> 세척 시, 올바른 살균소독제 희석농도를 준수함
저울	생물학적: 미생물 성장 및 교차오염	<ul style="list-style-type: none"> 매번 사용 후, 살균세척액으로 세척 함 세척 후 물기를 완전히 제거한 상태로 보관함
	화학적: 교차오염	<ul style="list-style-type: none"> 사용 후, 세척을 꼼꼼히 하여 다른 물질들이 교차오염 되지 않도록 함 사용 후, 올바른 농도의 세척액을 사용함

주요 설비	위해요소	관리방안
선풍기	생물학적: 미생물 성장 및 교차오염	<ul style="list-style-type: none"> • 월 1회 세척을 통해 미생물 성장을 억제함 • 세척을 꼼꼼히 하여 다른 물질들이 교차오염 되지 않도록 함
	물리적: 금속 등의 부품	<ul style="list-style-type: none"> • 선풍기 부품들이 떨어지지 않도록 세척 후 조립 시 주의함
	화학적: 교차오염	<ul style="list-style-type: none"> • 사용 후, 세척을 꼼꼼히 하여 다른 물질들이 교차오염 되지 않도록 함 • 사용 후, 올바른 농도의 세척액을 사용함
환풍구	<p>생물학적: 미생물 성장 및 교차오염</p> <p>물리적: 금속성 이물 및 먼지</p>	<ul style="list-style-type: none"> • 월 2회 청소를 하여 환풍구 청결을 유지함
배수 및 배관	생물학적: 미생물 성장 및 교차오염	<ul style="list-style-type: none"> • 주 2회 배수로를 살균세척액으로 세척하여 미생물이 성장할 수 없도록 함
	물리적: 이물	<ul style="list-style-type: none"> • 배수구 및 배수로에 퇴적물이 쌓이지 않도록 함
쓰레기통 주변	생물학적: 미생물 성장 및 교차오염	<ul style="list-style-type: none"> • 미생물이 자랄 수 없도록 주 3회 쓰레기통을 세척 함 • 쓰레기통은 뚜껑을 덮어 사용함
	물리적: 음식물, 플라스틱, 금속 등의 이물	<ul style="list-style-type: none"> • 쓰레기통은 도체가 닿는 작업장과 거리가 있는 곳에 둠 • 뚜껑이 있는 쓰레기통을 사용함
	화학적: 잔류 화학 물질	<ul style="list-style-type: none"> • 쓰레기통 주변 환경 관리 후, 반드시 손 세척함

(5) 작업장 주요 도구 위해요소 관리방안

주요 도구	위해요소	관리방안
면장갑	생물학적: 미생물 성장 및 교차오염	<ul style="list-style-type: none"> • 면장갑이 도체에 직접적으로 닿는 일이 없도록 함 • 용도별로 면장갑 사용을 분리함 • 면장갑 사용 후, 삶아서 세척 함
	화학적: 교차오염	<ul style="list-style-type: none"> • 용도별로 면장갑 사용을 분리 함
라텍스 장갑	생물학적: 미생물 성장 및 교차오염	<ul style="list-style-type: none"> • 라텍스 장갑은 작업 후, 재사용 하지 않음
	물리적: 금속성 경질 이물	<ul style="list-style-type: none"> • 라텍스 장갑이 찢어지지 않도록 날카로운 도구 사용 시 주의
	화학적: 교차오염	<ul style="list-style-type: none"> • 라텍스 장갑을 재사용 하지 않음
도마	생물학적: 미생물 성장 및 교차오염	<ul style="list-style-type: none"> • 작업 공정별 도마 사용을 분리함 • 사용 후, 중성 및 약알칼리성 세척제로 세척함 • 세척 후, 살균·소독제를 사용하여 살균하며, 자외선 조사를 통해 미생물에 대한 오염을 제어함 • 맨손으로 도마를 만지지 않음 • 연 1회 도마를 교체함
		물리적: 금속 및 플라스틱 이물
	화학적: 교차오염	<ul style="list-style-type: none"> • 매번 사용 후, 올바른 농도의 세척액을 사용함
	트레이	생물학적: 미생물 성장 및 교차오염
물리적: 금속 및 플라스틱 이물		<ul style="list-style-type: none"> • 이물질이 혼입되지 않도록, 알루미늄 재질의 트레이를 사용
화학적: 교차오염		<ul style="list-style-type: none"> • 사용 후, 세척을 꼼꼼히 하여 다른 물질들이 교차오염 되지 않도록 함 • 사용 후, 올바른 농도의 세척액을 사용함

주요 도구	위해요소	관리방안
칼	생물학적: 미생물 성장 및 교차오염	<ul style="list-style-type: none"> • 매번 사용 후, 살균세척액으로 세척 후 자외선 조사를 통해 미생물을 제어함 • 세척하지 않은 1개의 칼로 2개 이상의 도체를 작업하지 않음
	물리적: 금속성 이물	<ul style="list-style-type: none"> • 육안 검사를 하였을 때, 칼이 부식되거나 파손되었을 경우 폐기함 • 월 1 회 숫돌로 칼을 연마함
	화학적: 교차오염	<ul style="list-style-type: none"> • 사용 후, 세척을 꼼꼼히 하여 다른 물질들이 교차오염 되지 않도록 함 • 사용 후, 올바른 농도의 세척액을 사용함

(라) 작업자 관리

(1) 작업자 건강 관리

- 채용 전, 식품위생법시행규칙 제 49조에 의한 건강진단을 통하여 작업자의 건강상태를 확인함
- 매일 작업 전, 관리자는 모든 작업자의 건강상태를 확인해야 함
- 발열, 설사, 복통 및 구토의 증상이 있는 작업자는 식중독이 의심되기 때문에 당일 작업에 참여하지 않도록 함

(2) 작업자 복장 관리

- 위생모, 위생복, 위생화를 항상 착용하도록 하며, 적절한 소독제 및 자외선 소독을 통하여 위생적인 복장을 유지해야 함
- 매니큐어는 항상 제거된 상태로 유지하며, 장신구를 착용하지 않아야 함
- 숙성고 출입 시 마스크와 위생 장갑을 착용하도록 함



[O]



[X]



[X]



[X]

그림 3. 올바른 개인 복장(학교급식 위생점검 매뉴얼, 2017).

(3) 위생적인 손 관리 방법

- 평소대로 손을 씻었을 경우 세균이 제거되지 않는 부위는 다음과 같음(그림 4). 따라서 올바른 손 세척이 매우 중요함

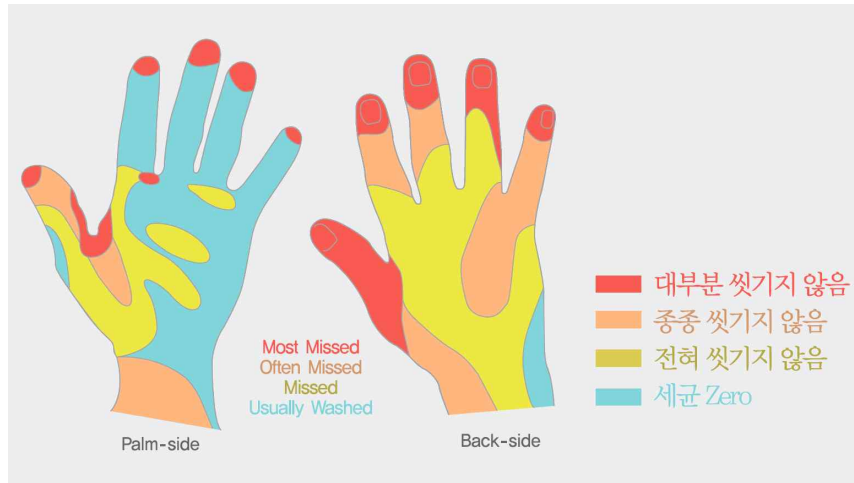


그림 4. 평소대로 손 씻은 후 세균이 제거되지 않는 부위(질병관리 본부, 2016).

- 손에 상처가 생겼을 경우, 황색포도상구균 감염 가능성이 커 주의해야 함. 손에 상처가 생긴 작업자는 관리자에게 보고한 후, 상처를 보호구로 덮거나 장갑 착용을 해야 함
- 손에 상처가 생긴 작업자는 도체를 직접 만지는 업무를 하지 않도록 하며, 작업장 정리 및 청소, 소독과 같은 일을 하도록 함
- 위생적이지 않은 작업자의 손으로 인하여 미생물 및 오염 물질이 교차 오염될 수 있으므로, 항상 깨끗한 장갑을 착용하도록 하며 개인의 손 관리를 소홀히 하지 않아야 함
- 70% 에틸알코올 혹은 동등한 소독 효과가 있는 살균 소독제를 이용하여 손 소독을 함
- 다음 사례에 해당 시 반드시 손을 씻어야 함(식품의약품안전처, 2015)
 1. 작업 시작 전
 2. 도체를 만지기 직전
 3. 화장실을 다녀온 후
 4. 코를 풀거나 재채기를 하여 다른 신체 부위를 만진 경우
 5. 식사를 하거나 담배를 피운 후
 6. 살균제, 소독제 등의 화학약품을 다룬 후
 7. 쓰레기나 청소도구를 취급한 후
- 올바른 손 세척 7단계 (그림 5)(질병관리본부, 2018)
 1. 흐르는 따뜻한 물에 손을 적시고 충분한 양의 비누를 바른다.
 2. 손바닥과 손바닥을 마주대고 문지른다.
 3. 손가락을 마주잡고 문질러 준다.
 4. 손등과 손바닥을 마주대고 문질러 준다.
 5. 엄지손가락을 다른 편 손바닥으로 돌려주면서 문질러 준다.
 6. 손바닥을 마주대고 손깍지를 끼고 문질러 준다.
 7. 손바닥을 반대편 손바닥에 놓고 문지르며 손톱 밑을 깨끗하게 한다.

모두 올바른 손씻기 6단계로 구석구석 깨끗한 손씻기를 실천해요!

올바른 손씻기 6단계

<p>1 손바닥</p>  <p>손바닥과 손바닥을 마주대고 문질러 주세요</p>	<p>2 손등</p>  <p>손등과 손바닥을 마주대고 문질러 주세요</p>	<p>3 손가락 사이</p>  <p>손바닥을 마주대고 손가락을 끼고 문질러 주세요</p>
<p>4 두 손 모아</p>  <p>손가락을 마주잡고 문질러 주세요</p>	<p>5 엄지 손가락</p>  <p>엄지손가락을 다른 편 손바닥으로 돌려주면서 문질러 주세요</p>	<p>6 손톱 밑</p>  <p>손가락을 반대편 손바닥에 놓고 문지르며 손톱 밑을 깨끗하게 하세요</p>

그림 5. 올바른 손 씻기 방법(질병관리본부, 2018).

Ⅲ. 건식 숙성육 생산관리 5대 중점 요령

3. 건식 숙성육 생산관리 5대 중점 요령

숙성고 및 보관고 온도 지키기(4°C 이하)

→ 매일 작업장 온도관리 점검표를 작성함

숙성고 및 보관고 습도 지키기(85% 이하)

→ 매일 작업장 습도관리 점검표를 작성함

위생에 부주의함으로 인한 교차오염 주의

→ 매달 작업자 위생교육을 통하여 교차오염의 위험성을 강조함

철저한 작업자 개인위생 관리

→ 일반위생관리 및 공정점검표 작성을 통하여 매일 작업 전 개인위생을 확인함

건식 숙성육 이동 카트 및 작업 도구의 세척 및 소독

→ 매일 작업 후 세척과 주기적 세척으로 작업장 도구들의 위생을 관리함

IV. 건식 숙성육 생산관리 점검표

4. 건식 숙성육 생산관리 점검표 예시

건조 숙성육 작업장 온도·습도관리 점검표			결재	작성자	승인자
작성일자			점검자		
기준	가공실		숙성실		
	10°C 이하		온도 4°C 이하	습도 75 - 85%	
주기	가공 작업 시작 전 / 작업 중 2시간 마다				
방법	온도계와 습도계 이용 온도 측정				

가공실 온도관리					숙성실 온도·습도관리				
날짜	측정시각	온도	기준판정	서명	날짜	측정시각	온도	습도	서명
	:	°C	O / X			:	°C	%	
	:	°C	O / X			:	°C	%	
	:	°C	O / X			:	°C	%	
	:	°C	O / X			:	°C	%	
	:	°C	O / X			:	°C	%	
	:	°C	O / X			:	°C	%	
	:	°C	O / X			:	°C	%	
	:	°C	O / X			:	°C	%	
	:	°C	O / X			:	°C	%	
	:	°C	O / X			:	°C	%	
	:	°C	O / X			:	°C	%	
	:	°C	O / X			:	°C	%	
	:	°C	O / X			:	°C	%	
	:	°C	O / X			:	°C	%	
	:	°C	O / X			:	°C	%	
	:	°C	O / X			:	°C	%	
	:	°C	O / X			:	°C	%	
	:	°C	O / X			:	°C	%	
	:	°C	O / X			:	°C	%	
	:	°C	O / X			:	°C	%	

개선조치 방법	▷ 작업을 중단하고 온도를 기준으로 재조정된 뒤 다시 작업을 실시한다. ▷ 작업이 완료되면 해당 제품 중 샘플을 선택하여 제품 상태를 확인하고 이상 없을 경우 다음 작업을 진행하고, 품질이 저하된 경우 해당 제품을 폐기한다.			
	기준 이탈 내용	개선조치 및 결과	조치자	서명

일반위생관리 및 공정점검표		결재	작성자	승인자
작성일자		점검자		

주기	관리	점검내용	기록		
			예	아니오	
일일 (작업 전)	개인위생	종업원의 건강상태는 양호한가?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
		종업원의 손은 깨끗하며, 상처가 없는가?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
		위생복장과 외출 복장을 구분하여 보관하였는가?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
	작업장관리	개인의 위생복장은 소독이 되어 있는가?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
		손 세척액 및 소독액이 잘 구비되어 있는가?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
		발판 소독기에 소독액이 적정량 채워져 있는가?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
		작업장에 파손되거나 고장난 설비가 있는가?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
숙성육 숙성고의 습도가 적절한가?	습도 : %				
숙성육 숙성고 및 보관고의 온도가 적절한가?	온도 : ℃				
일일 (작업 중)	개인위생	외부에서 작업장으로 들어올 때 발판 소독기를 사용하는가?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
		외부에서 작업장으로 들어올 때 손을 씻었는가?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
	숙성육 관리	입고된 원료 식육의 상태는 양호한가?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
		숙성육 완제품의 포장 상태가 양호한가?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
	작업장 관리	소독 세척액의 제조방법을 제대로 지켰는가?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
		사용하지 않는 도마 및 칼이 소독상태로 유지되고 있는가?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
제품 트리밍 시 식육에 이물이 닿지 않는가?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>			
일일 (작업 후)	작업장 관리	작업자의 위생복을 소독 및 세척 하였는가?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
		작업 후 작업 기기들을 세척 하였는가?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
		작업장에서 발생한 음식 폐기물과 일반 쓰레기를 외부로 반출하였는가?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
		작업장 바닥과 배수로의 청소 상태는 양호한가?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
주간 (금요일)	세척 소독	위생복 세탁을 하였는가?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
		식육이 닿지 않는 부분에 대하여 작업장 청소를 하였는가?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
		퇴근 전, 식육 숙성고 및 보관고 온도를 확인하였는가?	온도 : ℃		
		퇴근 전, 식육 숙성고 및 보관고 습도를 확인하였는가?	습도 : %		
월별	교육	종업원 위생 교육을 실시하였는가?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
	검사	완제품에 대한 미생물 모니터링 검사를 실시하였는가?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
	세척	전반적인 작업장의 청소 상태가 양호한가?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
분기별		전반적인 방충·방서 시설에 대하여 유지보수 하였는가?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
특이사항		개선조치 및 결과	조치자	확인	

세척 및 점검 이력 카드

장소	숙성고	점검자	
점검일시	세척 및 점검 대상 시설		특이사항
	<input type="checkbox"/> 도체 숙성 선반 <input type="checkbox"/> 문손잡이 <input type="checkbox"/> 방충, 방서 시설	<input type="checkbox"/> 환풍구 <input type="checkbox"/> 선풍기 <input type="checkbox"/> 바닥	
	<input type="checkbox"/> 도체 숙성 선반 <input type="checkbox"/> 문손잡이 <input type="checkbox"/> 방충, 방서 시설	<input type="checkbox"/> 환풍구 <input type="checkbox"/> 선풍기 <input type="checkbox"/> 바닥	
	<input type="checkbox"/> 도체 숙성 선반 <input type="checkbox"/> 문손잡이 <input type="checkbox"/> 방충, 방서 시설	<input type="checkbox"/> 환풍구 <input type="checkbox"/> 선풍기 <input type="checkbox"/> 바닥	
	<input type="checkbox"/> 도체 숙성 선반 <input type="checkbox"/> 문손잡이 <input type="checkbox"/> 방충, 방서 시설	<input type="checkbox"/> 환풍구 <input type="checkbox"/> 선풍기 <input type="checkbox"/> 바닥	
	<input type="checkbox"/> 도체 숙성 선반 <input type="checkbox"/> 문손잡이 <input type="checkbox"/> 방충, 방서 시설	<input type="checkbox"/> 환풍구 <input type="checkbox"/> 선풍기 <input type="checkbox"/> 바닥	
	<input type="checkbox"/> 도체 숙성 선반 <input type="checkbox"/> 문손잡이 <input type="checkbox"/> 방충, 방서 시설	<input type="checkbox"/> 환풍구 <input type="checkbox"/> 선풍기 <input type="checkbox"/> 바닥	
	<input type="checkbox"/> 도체 숙성 선반 <input type="checkbox"/> 문손잡이 <input type="checkbox"/> 방충, 방서 시설	<input type="checkbox"/> 환풍구 <input type="checkbox"/> 선풍기 <input type="checkbox"/> 바닥	
	<input type="checkbox"/> 도체 숙성 선반 <input type="checkbox"/> 문손잡이 <input type="checkbox"/> 방충, 방서 시설	<input type="checkbox"/> 환풍구 <input type="checkbox"/> 선풍기 <input type="checkbox"/> 바닥	
	<input type="checkbox"/> 도체 숙성 선반 <input type="checkbox"/> 문손잡이 <input type="checkbox"/> 방충, 방서 시설	<input type="checkbox"/> 환풍구 <input type="checkbox"/> 선풍기 <input type="checkbox"/> 바닥	
	<input type="checkbox"/> 도체 숙성 선반 <input type="checkbox"/> 문손잡이 <input type="checkbox"/> 방충, 방서 시설	<input type="checkbox"/> 환풍구 <input type="checkbox"/> 선풍기 <input type="checkbox"/> 바닥	
	<input type="checkbox"/> 도체 숙성 선반 <input type="checkbox"/> 문손잡이 <input type="checkbox"/> 방충, 방서 시설	<input type="checkbox"/> 환풍구 <input type="checkbox"/> 선풍기 <input type="checkbox"/> 바닥	

위생교육 실시 기록서	결	작성자	승인자
	재		

위생교육 일자		강의자	
장소		교육대상(참석인 원)	
교육주제			
교육내용			
참고사항			

주 의

1. 이 보고서는 농림축산식품부에서 시행한 고부가가치식품기술개발사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표하는 때에는 반드시 농림축산식품부에서 시행한 고부가가치식품 기술개발사업사업의 연구 결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니됩니다.