

발간등록번호

11-1543000-001881-01

**기능성 젖산균 스타터 개발 및 이를
이용한 한국형 발효소시지 개발에 관한
연구 최종보고서**

2017. 9. 14.

주관연구기관 / CJ제일제당(주)
협동연구기관 / 고려대학교

농림축산식품부

제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

본 보고서를 “기능성 젖산균 스타터 개발 및 이를 이용한 한국형 발효소시지 개발에 관한 연구”(개발기간 : 2014. 8. ~ 2017. 7.)과제의 최종보고서로 제출합니다.

2017. 9. 14.

주관연구기관명 : CJ제일제당

(대표자) 김철하

협동연구기관명 : 고려대학교산학협력단

(대표자) 고재상



주관연구책임자 : 강기문

협동연구책임자 : 황한준

국가연구개발사업의 관리 등에 관한 규정 제18조에 따라 보고서 열람에 동의합니다.

보고서 요약서

과제고유번호	114018-03	해당 단계 연구 기간	2014.08.01.~ 2017.07.31. (3년)	단계 구분	3차년도 / 3차년도
연구사업명	중사업명	고부가가치식품기술개발사업			
	세부사업명	고부가가치식품기술개발사업			
연구과제명	대과제명	기능성 젓산균 스타터 개발 및 이를 이용한 한국형 발효소시지 개발에 관한 연구			
	세부과제명	기능성 젓산균 스타터 개발 및 이를 이용한 한국형 발효소시지 개발에 관한 연구			
연구책임자	강기문	해당단계 참여 연구원 수	총: 12명 내부: 9명 외부: 3명	해당단계 연구개발비	정부: 70,000천원 민간: 70,000천원 계: 140,000천원
		총연구기간 참여 연구원 수	총: 32명 내부: 23명 외부: 9명	총연구개발비	정부: 210,000천원 민간: 210,000천원 계: 420,000천원
연구기관명 및 소속부서명	CJ제일제당 식품연구소			참여기업명: CJ제일제당	
협동기관	고려대학교 산학협력단			연구책임자: 황한준	
요약				보고서 면수	
<ul style="list-style-type: none"> • 우수 젓산균 스타터 후보균 선정: 기능성 GABA 성분 생성 균주 확보(특허출원, 논문게재) • GABA 성분 생성 균주 적용 발효소시지 품질 특성 확인 • 콜레스테롤 저감화 효과 기능성 균주 확보(특허출원) • 시중 유통 발효소시지에 대한 품질 분석 및 기초자료 확립 (논문게재) • 스타터 후보균 및 부원료별 발효소시지 가공 적성 확립 • 기능성 젓산균 함유한 한국형 발효소시지 공정 표준화 (특허출원) 				118	
				79	
				137	
				33	
				65	
				88	

요 약 문

		코드번호	D-01			
연구 목적 및 개발내용	<p><연구목적></p> <ul style="list-style-type: none"> • 건강기능 활성을 갖는 토착 젖산균 개발을 통해 종균화하고 한국인 소비자 기호에 적합한 원료(전통장류, 향신료, 원료육 등)와 혼합하여 한국형 발효소시지를 개발하고 최적 제조가공 기술을 확보하는데 있다. <p><연구개발내용></p> <ul style="list-style-type: none"> • 국내·외 제조 발효소시지 제품 수집 및 미생물 균상 조사·분석 • 젖산균 starter 후보균(발효최적 활성 및 건강기능활성 균주) 분리 및 선정: 발효특성(<i>in vitro</i>, <i>in situ</i> test) 및 각종 생리·화학적 특성 등을 토대로 선정 • 질산염환원성 starter 및 곰팡이 starter의 선정: 상업적 균주 수집 및 적성 검토 • 최종 스타터 선정균 적용 및 부재료 첨가 시 가공 적성 검토 (pilot/industry scale) • 최종 선정된 한국형 스타터의 적용에 의해 산업적 규모에서 제조된 발효소시지의 품질 특성(발효미생물학적 및 이화학적 특성 등) 및 관능적 특성 평가 					
연구개발성과	<ul style="list-style-type: none"> • 우수 젖산균 스타터 후보균 선정: 기능성 GABA 성분 생성 균주 확보(특허출원) • GABA 성분 생성 균주 적용 발효소시지 품질 특성 확인 • 콜레스테롤 저감화 효과 기능성 균주 확보(특허출원) • 시중 유통 발효소시지에 대한 품질 분석 및 기초자료 확립(논문) • 스타터 후보균 및 부원료별 발효소시지 가공 적성 확립 • 기능성 젖산균 함유한 한국형 발효소시지 공정 표준화(특허출원) 					
활용계획 및 기대효과	<ul style="list-style-type: none"> • 기술적 측면에서 건조, 발효 기술을 체계화함으로써 한국형 발효소시지 카테고리 창출을 위한 원천기술 확보 • 상품화 측면에서 기술차별력 심화를 통해 프리미엄 간식/냉장 편의식 제품에 대한 미래성장동력 확보 • 국내 토종미생물을 국내기술로 국내 식품발효기술, 허들테크놀로지(Hurdle technology) 및 생체보존(biopreservation) 기술수준 등 신기술개발에 성공을 거듭으로써 한국의 식육가공품산업 발전에 기여 					
중심어 (5개 이내)	한글	기능성 젖산균 스타터	한국형 발효소시지	발효육제품, 돈육	비인기 부위 돈육	

< SUMMARY >

		코드번호	D-02			
Purpose& Contents	<p><Purpose></p> <ul style="list-style-type: none"> - Isolation and selection of lactic acid bacteria starter candidates - Processing suitability for manufacturing fermented sausages with selected health functional strains and additives - Final establishment of the manufacturing process by optimizing the Korean type fermented sausages <p><Contents></p> <ul style="list-style-type: none"> - Selected as an excellent starter candidate for health functional (GABA, Cholesterol-lowering) - Study on Quality Properties of Fermented Sausages Collected from Domestic Market - Processing fermented sausage with selected health-functional lactic acid bacteria and various additives - Establishment of Korean-type fermented sausage manufacturing process by mixing and applying selected additives (Kimchi) and GABA-producing lactic acid bacteria to fermented sausages 					
Results	<ul style="list-style-type: none"> - Selected as an excellent starter candidate for health functional (GABA, Cholesterol-lowering)(2 patent applications, paper publishing) - Study of quality properties of fermented sausages with GABA-producing lactic acid bacteria - Study on quality properties of fermented sausages collected from domestic market(paper publishing) - Processing fermented sausage with selected health-functional lactic acid bacteria and various additives - Establishment of Korean-type fermented sausage manufacturing process by mixing and applying selected additives (patent applications) 					
Expected Contribution	<ul style="list-style-type: none"> - Development of functional strains applicable to fermented sausages - Development of Korean-type fermented sausage with enhanced functionality by mixing GABA-producing lactic acid bacteria and Kimchi powder - Provide consumers with a choice of new type meat products and obtain competitiveness in the meat market 					
Keywords	Functional lactic starter culture	Korean-type fermented sausage	Fermented meat products	low valued pork	process	

CONTENTS

Chapter 1. Concept of research project	9
Chapter 2. Current research status of lotus in domestic and foreign countries	17
Chapter 3. Contents of the project and research results	25
Chapter 4. Achievement and contribution to related fields	203
Chapter 5. Application plan of research results	206
Chapter 6. Information obtained during implementation of project	207
Chapter 7. Security grade of research results	212
Chapter 8. Status of research facility equipment	212
Chapter 9. Performance of safeguard about laboratory	213
Chapter 10. Representative research performance of this project	214
Chapter 11. Other items	214
Chapter 12. Reference	215

목 차

제 1장 연구개발과제의 개요	9
제 1절 연구개발의 목적 및 필요성	9
제 2장 국내외 기술개발 현황	17
제 1절 국내외 관련분야에 대한 기술개발 현황 및 수준	17
제 3장 연구개발수행 내용 및 결과	25
제 1절 연구개발의 목표 및 내용	25
제 2절 연구개발의 결과	34
1. 서구형 발효소시지 정보 및 제조기술 정보 확보	34
2. 상업화된 스타터를 이용한 발효소시지 제조기술 확보	51
3. 스타터 후보균 및 부원료별 발효소시지 가공 적성 확립	66
4. 우수 젖산균 스타터 후보균을 적용한 최적 발효 공정 확정	80
5. 한국형 발효소시지의 산업화 및 표준화	89
6. 발효소시지 상품화 계획	113
7. 젖산균starter 후보균분리 및 후보균 적용한 발효소시지 제조	119
8. 기능성 젖산균 스타터 후보균 분리 및 건강기능 특성 검토	138
9. 부원료에 첨가에 따른 발효소시지 특성 검토 (Lab scale)	158
10. 연구성과	201
제 4장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도	203
제 5장 연구결과의 활용계획	206
제 6장 연구과정에서 수집한 해외과학기술정보	207
제 7장 연구개발결과의 보안등급	212
제 8장 국가과학기술종합정보시스템에 등록된 연구시설·장비 현황	212
제 9장 연구개발과제 수행에 따른 연구실 등의 안전조치 이행실적	213
제 10장 연구개발과제의 대표적 연구실적	214
제 11장 기타사항	214
제 12장 참고문헌	215

제 1 장 연구개발과제의 개요

코드번호

D-03

제 1 절 연구개발의 목적 및 필요성

1. 연구개발의 목적

- 가. 김치, 장류 등의 전통발효식품에서 건강기능 활성을 갖는 기능성 젖산균 개발
- 나. 기능성 젖산균을 활용하여 한국인 소비자 기호에 적합한 원료(전통장류, 향신료, 원료육 등)와 혼합하여 한국형 발효소시지를 개발하고 최적 제조가공 기술을 확보

2. 연구개발의 필요성

가. 연구의 개요

- (1) 인류는 오래 전부터 주요 식자원을 이용하여 생활방식, 기후와 풍토 등에 적합한 미생물로부터 경험적으로 발효식품을 제조해 왔으며, 유럽에서는 유목생활이 발전하여 축산물을 이용한 발효식품, 그리고 동양권에서는 쌀, 보리 등 농작물 위주의 발효식품이 발전해 왔음
- (2) 축산물을 이용한 발효식품에는 치즈, 발효소시지 등 다양한데, 그 중 발효소시지란 생육(주로 돈육)이 발효·숙성 중 미생물에 의해 변화하여 특유의 절단견고성(sliceability), 육색고정(reddening), 향미성분의 생성(aroma production) 및 상온(10℃ 이상)에서 보존이 가능한 높은 저장성(preservation) 등을 특징으로 하는 독특한 형태의 정통 유럽식 발효육제품 중의 하나임
- (3) 우리나라에서 발효소시지에 관한 연구는 일반적인 이화학적 및 미생물학적 성상에 관한 연구가 극히 제한적으로 진행된 바는 있으나 매우 미흡하며 더구나 새로운 개념의 부원료 첨가 및 제조공정상의 연계성에 대한 연구사례는 국내외에서 전무하며, 전통 발효소시지의 산업적 제품화 사례도 없는 실정임
- (4) 현재 돼지고기 저지방부위는 국내 주소비형태인 구이용으로는 부적합 하여 등심과 안심은 주로 돈가스 제품을 만드는데 이용되고, 앞다리는 양념육으로, 뒷다리는 식육가공품 제조에 이용되고 있으나 부가가치 향상을 위해서는 다양한 제품개발에 의한 소비자의 선택 기회를 넓혀 줄 필요가 있음
- (5) 새로운 형태의 발효소시지는 유럽전통 발효소시지 제조기술을 기본으로 하여 위생적 안전성과 저장 유통 안정성 등이 기본적으로 확보되어야 할 뿐만 아니라 식품 고유의 품질 특

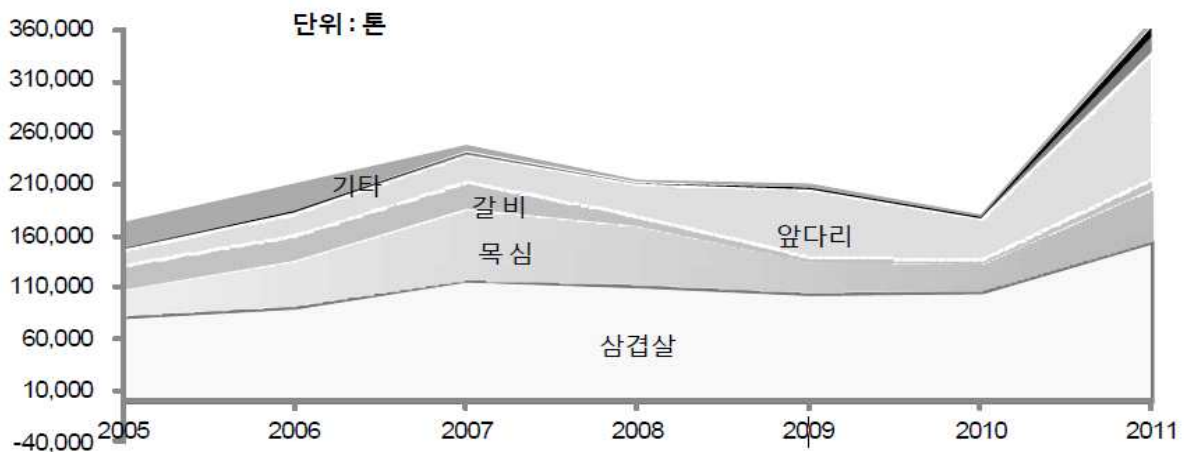
성, 기호성, 균일성, 가공 안전성 등 다양한 조건이 구비되어야 하며 이를 위해서는 발효소 시지의 원료 특성을 포함한 주요 상품화 요소 기술에 대한 집중적 연구를 필요로 하는 실정이며, 그 중 최적 제조공정 확립, 기호도 증진을 위한 조미기술 개발과 이러한 변형된 공정에 적합한 기능성 스타터 개발이 긴요하다고 판단됨

- (6) 본 연구에서 ‘한국형’ 이라 함은 구이용으로는 우리나라 국민들에게 덜 선호 대상이 되는 저지방 돈육 부위(안·등심, 후지 등)를 적극 이용하고, 또한 한국인들이 즐기는 식품(소재)들, 즉 마늘, 생강, 장류, 견과류 등의 건조과실류 등을 적용할 뿐만 아니라 γ -aminobutyric acid (GABA) 또는 항콜레스테롤 활성 등의 건강기능 특성을 갖는 젖산균스타터를 발효소시지 제조에 이용하고자 함에서 비롯됨
- (7) 본과제의 연구책임자는 선행연구를 통하여 각종 발효식품에서의 Biogenic amine (BA) 검출 및 제어기술 연구를 장기간 수행하였고, 기능성물질 중 하나인 GABA 고생성 균주, 항콜레스테롤 활성을 갖는 균주 등을 보유하고 있으며, 독일에서 박사학위 과정 중에 발효소시지의 스타터 개발 과제를 수행한 바 있음
- (8) 과제를 신청하는 주관연구책임자는 30년간 산업체에서 제품 개발 및 상품화를 담당하여 왔기 때문에 본 과제를 토대로 체계적인 기술력을 확보함으로써 본 과제와 연관된 한국형 발효소시지의 상품화가 가능할 것임
- (9) 발효소시지는 일본의 생햄과 같이 숙성기간이 2~3주로 단기간에 숙성으로 제조되는 방법이 있으나, 본 연구는 정통적인 유럽식 발효소시지 제조방법을 기반으로 하여 개발할 계획이며, 1회 테스트시 제조기간이 1달~3달가량 소요되며, 저장기간도 6개월 정도로 길게 소요되기 때문에 유통기한 테스트 등 개발기간이 장시간 소요되므로 연구기간은 최소한 3년으로 설정하여 계획에 반영하였음
- (10) 따라서 본 연구에서는 국내에서 극히 부분적으로 이루어지고 있는 발효소시지 산업이 세계화 추세에 발맞추어 적극 부응하되 과학적이고 체계적인 연구로 발효소시지 생산시 품질 균일성을 달성하고 기호성과 건강성을 포함한 제품의 품질고급화를 이룰 수 있는 연구를 수행하고자 하며 발효소시지의 품질을 향상시키고 위생적인 최적 공정을 확립하여 새로운 형태의 육가공품을 제공하고자 함

나. 연구의 배경

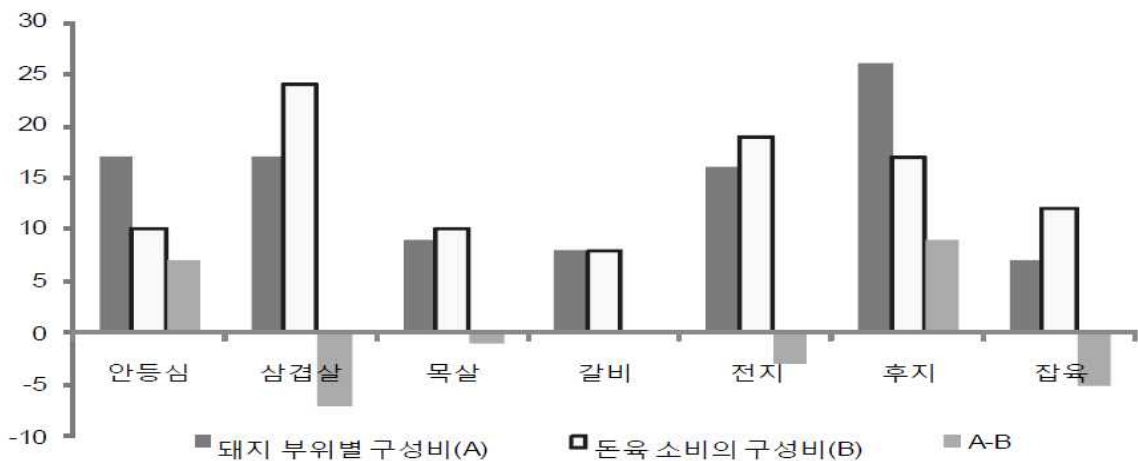
- (1) 돼지고기 수입현황 분석결과, <그림 1-1>에서 보는 바와 같이 우리나라에서 가장 많이 수입되는 부위는 삼겹살(Belly) 부위이고, 그밖에 부위별 수입량은 목심(Shoulder butt), 전지(Picnic shoulder), 갈비 순임
- (2) 구이부위에 편중된 소비성향과 저지방 부위(후지)의 소비정체로 인한 재고증가는 국내 돼지고기 부위별 수급불균형 발생구조<그림 1-2>

- (3) 선호부위 자급률을 높이려면 도축두수의 증가가 필요한데 도축생산이 늘어나면 저지방부위의 재고적체가 더욱 심화되는 문제가 발생하게 됨
- (4) 부위별로 수급불균형이 심화되면 선호-비인기부위 가격차가 더 확대, 선호부위의 가격상승이 계속될 경우 가격경쟁에 유리한 외국산 수입증가를 초래함
- (5) 현재 돼지고기 저지방부위는 지방함량이 낮아 국내 주 소비 형태인 구이용으로는 부적합하여 등심과 안심은 주로 돈가스 제품을 만드는데 이용되고, 앞다리는 양념육으로, 뒷다리는 식육가공품 제조에 이용되고 있으나 부가가치 향상을 위해서는 다양한 제품개발에 의한 소비자의 선택 기회를 넓혀 줄 필요가 있음



자료: 농협경제연구소

<그림 1-1> 2005년~2011년간 부위별 돼지고기 수입현황



자료 : 경영철외, 고수율·고급 돼지고기 생산 돼지 개발 연구, 2009.4 정 P&C연구소

<그림 1-2> 돼지고기 부위별 수급불균형 발생구조

- (6) 양돈농가와 관련 산업체는 돼지고기 저지방부위 중 가장 많은 부분을 차지하고 있는 후지 부위에 대한 합리적 이용 및 소비촉진 방안 구축에 대한 해결방안을 지속적으로 요청하고 있음
- (7) 외국의 경우 가공육제품 소비량이 많아 부위별 소비량에 차이가 없으나 우리나라의 경우 돼지고기 생산 대비 가공육제품 생산 비육이 15% 내외로 일본의 30%, 유럽의 70%에 비해 현저히 낮아 양돈산업 발달의 저해요인으로 작용하고 있으며, 식육가공품의 생산량이 '08년 162,927(톤)에서 '09년 158,975(톤), '10년 180,639(톤), '11년 188,744(톤)으로 몇 년째 크게 증가되지 못하고 있는 실정임<그림 1-3>

Unit : ton

구분 Classification	'01	'02	'03	'04	'05	'06	'07	'08	'09	'10	'11
햄 Ham	58.158	60.159	59.255	56.138	54.242	58.520	58.233	52.070	53.670	62.320	64.240
축육 소시지 Meat sausage	38.509	40.431	41.491	44.068	42.988	44.156	46.183	50.267	54.116	56.103	53.939
베이컨 Bacon	1.799	1.925	1.865	2.065	2.352	2.765	3.201	4.316	3.910	4.289	5.451
캔 Can	21.369	26.682	28.223	26.788	28.260	27.157	28.307	31.470	27.188	33.934	39.350
혼합 소시지 Mix Sausage	23.397	28.033	28.821	30.748	31.909	32.224	29.930	24.804	20.091	23.994	25.764
계 Total	143.232	157.230	159.655	159.807	159.751	164.822	165.854	162.927	158.975	180.640	188.744

자료 : (사)한국육가공협회

Source : Korea Meat Industries Association(KMIA)

<그림 1-3> 연도별 식육가공품 생산량

- (8) 이러한 현상의 원인은 국내에서 생산되는 식육가공품이 햄, 소시지, 베이컨, 캔, 혼합소시지 (2011, 한국육가공협회) 5종에 불과해 새로운 소비창출 한계가 있기 때문임
- (9) 최근 정부의 침체된 육가공 산업 활성화를 위해 국내에서 생산 판매가 저조한 발효육제품 류(생햄, 발효소시지)의 법적 기준을 마련하였고 식육가공품의 소비를 촉진시키기 위해 신선육과 가공품을 한자리에서 판매할 수 있는 식육판매업의 영업범위를 확대하여 “식육가공품판매업”으로 개정되어 육가공시장의 범위가 확대됨
- (10) 국내 발효육제품 시장은 연간 8억 수준으로 거의 수입제품에 대한 의존도가 큼. 주요 수요처는 호텔 레스토랑 등 고급 레스토랑이나 뷔페, 외국인 전문 음식점이었으나, 최근 와인 문화 등 소비자 문화 향상 및 글로벌화로 인해 주요 백화점 매장에 수입 발효육제품 전용 판매장이 유행하는 등 소비의 대중화와 소비량이 증대하고 있음
- (11) 육가공 전문가들은 이러한 경향을 보았을 때, 2020년에는 약 10배 정도 성장할 것으로 판단하고 있음
- (12) 서구형 발효육제품은 독특한 향이 있기 때문에 쉽게 접하지 못하는 소비자들을 위해서는

우리의 현실에 맞는 부재료들과 접목하여 소비자들의 거부감이 없는 제품 개발이 필요함

따라서 국내 실정에 적합한 원료인 돈육 및 우육 저소비부위를 발효소시지 제조에 활용한다면, 국내가공 수요의 한계를 극복하고 원가절감 효과 및 국내산 돈육으로부터 소비자의 취향에 맞는 한국형 발효소시지를 개발하고자 함

다. 발효소시지에 적합한 젖산균 starter culture

(1) 산생성과 절단견고성

(가) 발효소시지 제조에는 유산균, 특히 대표적인 것으로 *Lactobacillus plantarum*, *Lb. sake*, *Lb. curvatus*, *Pediococcus pentosaceus*, *Ped. acidilactici*가 알려져 있음

(나) 유산균은 발효 2~3일 후면 초기균수 10^7 cfu/ml 으로부터 10^9 cfu/ml으로 증가하며, 이와 더불어 pH-값은 발효초기의 pH 5.6-5.8로부터 개시 7-8 일 후에는 4.8-5.2까지 감소하며, 동시에 aw-값도 약 0.92로 감소함

(다) 산생성은 방향과 풍미, 저장성 등을 증진시키며 육색고정화를 도와주고, pH-값의 저하로 초기의 sol 상태에서 gel 상태로 전환되며, 또한 단백질의 보수력도 최소가 되어 탈수가 용이해 지고, 이 때 건조공정이 동시에 진행되므로 육입자와 지방입자가 단백질 matrix에 결합되어 절단견고성이 부여됨

(2) 향미성분의 생성

(가) 젖산 또는 젖산의 분해, 탄수화물의 분해, 미생물 또는 육 자체의 효소활성에 의해 원료 지방조직의 분해, 숙성 중에 용해성 육단백질의 부분적 분해 등을 통하여 300종 이상의 비휘발성의 향미에 영향을 주는 성분들[peptides, amino acids, fatty acids, alcohols, aldehydes, amines, carbonyl compounds etc.]이 생성됨

(3) 저장성

(가) 숙성과정 중에서 또 다른 중요한 변화는 지속적인 탈수현상으로써 6주후에는 형태에 따라 약 15-30%의 수분이 손실되며, aw값도 낮아져서 약 3주 후에는 0.88-0.90 까지 감소함

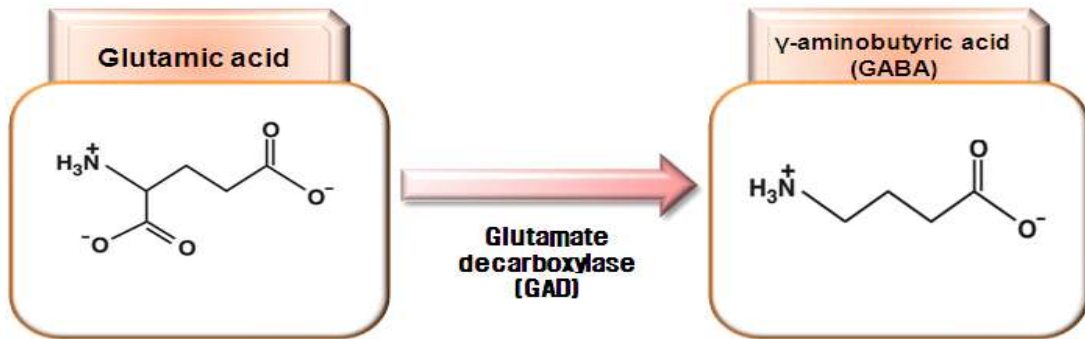
(나) 이와 같이 적어도 4주 이상의 장기 숙성 과정을 철저히 제어함으로써 출하되는 제품은 미생물학적으로 안정하여 상온보존에도 저장성이 우수함.

라. 젖산균의 기능성

(1) 젖산균이 생성하는 유용한 물질로는 lactic acid, bacteriocin, EPS, Vitamin B 등이 대표적이다. 이 중 유산균이 생성하는 저분자 또는 고분자 물질에 대한 관심이 증대되고 있으며 대표적으로 CLA(conjugated linoleic acid), GABA(γ -aminobutyric acid), 항콜레스테롤 등이 있음

(2) GABA는 자연계에 널리 분포하는 비단백태 아미노산의 일종이며, 중추신경계의 억제성 신경전달물질로서 중추신경계 전체 신경전달물질 중 약 30%를 차지하며, 다른 신경전달물질

에 비하여 약 200~1,000배의 고농도로 존재함. 동물의 경우 뇌, 신장, 심장 및 폐 등에서 발견되며 식물의 경우 발아곡류, 녹차, 배추 뿌리 등에서 많이 검출됨.



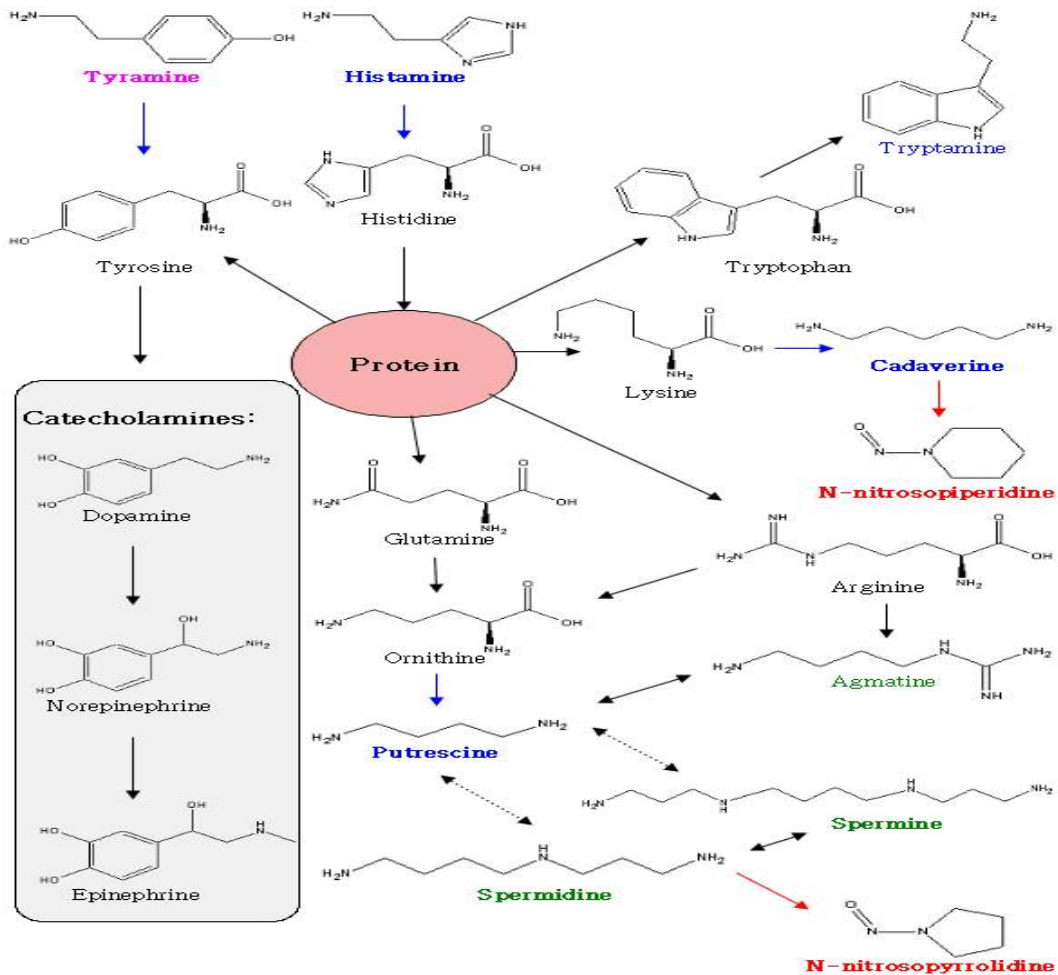
<그림 1-4> γ -aminobutyric acid(GABA)의 생성 기작

- (3) GABA의 생성은 glutamate decarboxylase(GAD)에 의한 glutamic acid의 탈탄산반응에 의해 생성되며 (그림 1-4), 식물체 내에서의 GABA 합성은 여러 외부 환경적 요인(기계적 자극, 온도, 산소결핍, 수분, 스트레스 등)에 의해 유도되는 것으로 알려져 있음
- (4) GABA는 뇌의 혈류 개선 및 뇌세포 대사기능 향진, 프로락틴(젖분비호르몬) 및 성장호르몬의 분비 조절에 관여하며 혈압강하 및 통증완화 등의 효과가 있는 것으로 알려져 있음. 또한 혈중 콜레스테롤 및 중성지방 증가 억제, 비만 방지, 알코올 대사 증진, 시력 증진, 항불안, 항경련 등 인체의 생리적인 메커니즘 조절에 관여함
- (5) 젖산균에 의한 콜레스테롤 저하 효과는 동물 및 임상 실험을 통해 널리 알려져 있음. 그 기작으로는 젖산균에 의한 장내 균총의 변화로 *Bifidobacterium*, *Clostridium*, *Bacteroides* 및 *Eubacterium* 등의 장내세균은 콜레스테롤을 coprostanol로 전환시켜 흡수율을 낮추거나 젖산균의 직접적인 지질저하 작용으로 장내에서 콜레스테롤을 흡수하여 혈중 콜레스테롤을 저하시키는 것이 알려져 있음
- (6) 국내 GABA와 항콜레스테롤에 대한 연구는 김치 및 대두발효식품에서 분리한 균주에 대해 한정적으로 진행되고 있으며, 육제품에 대한 GABA와 항콜레스테롤 관련 연구는 찾아보기 어려운 실정임

마. 젖산균의 안전성

- (1) 한편, 발효식품의 경우 유익한 측면은 많이 부각되어 있긴 하지만 다른 한편에서는 안전성 측면에서도 대비해야 할 것임
- (2) Biogenic amine(BA)이란 일반적으로 동물, 식물 및 미생물에서 아미노산의 효소적 탈탄산반응에 의해 형성되는 저분자량의 질소함유 유독 화합물을 의미하며, 특히 다양한 유산균류와 식품 부패미생물들을 포함하는 decarboxylase 생산성 미생물에 의해 고단백질성 식품으로부터 생성됨 (그림 1-5)

- (3) BAs 생성에 관여하는 탈탄산효소(decarboxylase) 활성을 갖는 균으로는 *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* 균속 등이 있고, 최근에는 *Staphylococcus* spp., *Enterobacter cloacae*, *Candida* spp. 등이 보고되고 있음
- (4) 어류, 치즈, 육과 육제품, 침채류, 발효대두식품 등에서 분리된 미생물들로부터 histamine, tyramine, cadaverine, putrescine 등의 다양한 BA 고생산성 균주가 분리 동정되었음
- (5) 본 과제외의 협동연구책임자는 GABA 고함유 건강식품으로 알려진 김치에서 BA가 생성됨을 확인하여 SCI급 국제 학술지에 보고한 바 있으며, 장류 등 대두발효식품에서 미생물에 의한 BA 생성과 관련하여 일련의 연구결과를 최근 수년간 지속적으로 발표하였음



<그림 1-5> Biogenic amine의 생합성 경로

따라서 본 연구에서는 바람직한 Starter의 자격으로써 위생학적 안전성 뿐만 아니라, 다른 미생물에 대한 경쟁력이 탁월하고 발효소시지 제품의 품질을 좌우하는 기술성, 관능성, 기능성이 갖춰진 스타터에 대해 연구를 수행하고자 함

바. 사회·문화적 측면

- (1) 식품은 열처리에 의해 단백질이 변성되기도 하고, 영양적 손실을 가져오기도 하며, 유독성 복합물질을 형성하기도 하며, 또한 성분 상호간의 반응에 의해 또 다른 인체건강 위해물질을 생성하거나 영양적 손실을 야기할 수 있음에 비해 비열처리 발효식품의 영양적, 위생 안전성의 우월성이 인정되고, 고단백으로써 21세기 주요 식품산업으로 각광을 받을 것으로 예상됨
- (2) 즉, 비열처리 식품문화가 주를 이루게 될 것이며, 이의 대표적 형태는 냉장하지 않고도 고품질을 유지할 수 있고, 위생안전성이 우월하며, 기능성 부여, 섭취준비완료(ready to eat), 향미증진 등으로 특정 지워지는 발효식품임
- (3) 바쁜 시대적 상황과 간편하고 새로운 식생활을 선호하는 경향은 우리 고유의 식생활 문화를 유지하면서도 1일 1식 정도는 빵 식사 형태의 식생활 문화의 변화가 예상되므로 발효소시지의 소비에 큰 영향을 줄 것으로 예상됨
- (4) 또한 발효소시지는 소비자의 다양한 식품 선택의 기회를 부여하여 식문화 개선에도 기여할 것임
- (5) 국내 거주 외국인이 선호하는 다양한 식품 선택의 기회는 유쾌한 거주심리를 유발하게 되고 외화획득에도 기여할 것임

제 2 장 국내외 기술개발 현황

코드번호

D-04

제 1절 국내외 관련분야에 대한 기술개발 현황 및 수준

1. 국내·외 연구동향

가. 국내 연구동향

- (1) 한 등(2006)은 김치 분말 스타터 첨가 발효소시지의 제조를 위한 기능성 유산균의 선발 연구 및 품질 평가 연구
- (2) Kang 등(2014)은 녹차를 이용한 김치발효소시지의 품질개선에 관한 연구를 수행
- (3) Kim 등(2011)은 감마선이 발효소시지의 지방산 및 관능특성에 미치는 연구에 대해 수행
- (4) Kim과 Ahn(2014)은 포도 추출물과 김치에서 추출한 유산균을 이용한 발효소시지 개발에 대한 연구
- (5) 현재 국내에 유통되는 발효소시지는 향에서 거부감이 가거나 지방산패취가 나는 등 좋지 않은 품질을 지니고 있는 제품들도 있기 때문에 소비자를 만족시킬 수 있는 제품을 개발하기 위해서 한국인에 적합한 김치, 젓갈, 동치미 등 전통 발효식품들로부터 스타터를 발굴하여 발효소시지에 적용하는 연구도 다양하게 진행(Lee JY 등 2002, Lee JY 등 2006, Kim RU 등 2011)
- (6) 발효식품에서 분리된 이들 젓산균들의 생육환경은 발효소시지의 환경과 다르지만 일반적으로 높은 염농도의 환경에서 생육이 가능하기 때문에 발효소시지 스타터로서 적용가능성이 있음(Yoo SA 등 2014)
- (7) 발효소시의 수분과 지방함량은 건조 조건과 시간에 따라 달라질 수 있으며(Kim YJ 등 2008), 발효소시지의 일반성분은 각각의 제품에 따라 다양함
- (8) 본 연구자 팀은 1998년 이래 국내에서는 처음으로 각종 발효식품(장류, 김치류, 젓갈류, 주류 등)에서의 스타터 미생물 관련 연구를 비롯한 바이오제니아민 검출, 생성 특성 및 제어 연구 등에 관한 연구(보건복지부, 식약청 등)를 수행해 왔으며, 다수의 SCI급 국제학술지와 국내외 학술 발표를 한 바 있음.

나. 국외 연구 동향

- (1) Starter 첨가와 고압처리를 통해 texture와 flavor, colour 등을 검토하여 품질개선 연구 수행(Arnau 등, 2007)
- (2) Lactic acid bacteria, yeast와 mold 등 미생물학적 균수 변화를 연구(Gray 등, 2007)
- (3) *Lactobacillus sakei* C2 유산균에서 bacteriocin 생성에 대한 연구(Gao Y 등, 2014)
- (4) Probiotic 젖산균인 *Lactobacillus casei*, *L. acidophilus*, *L. sakei*, *L. casei* 와 산업용 스타터인 *L. pentosaceus*를 starter로 하여 두 종류의 소시지를 이화학 및 미생물학적 변화 연구
- (5) Probiotic 유산균을 이용한 안전성 증진(Rubio 등, 2013; Trzaskowska, 2014)
- (6) 산성의 pH가 발효 소시지 특유의 색깔 발현과 풍미의 형성뿐만 아니라, 유해 미생물의 억제에 매우 중요한 역할을 하며 18°C 이상에서 발효시 pH가 5.3 미만으로 단시간 내에 감소시켜 병원성 식중독균을 억제할 수 있음(Kunz & Lee, 2003)
- (7) 최근 진행되어온 다양한 연구들에 따르면, 이탈리아 발효 소시지의 pH는 5.62-5.73(Comi 등, 2005), 터키 발효 소시지의 pH는 4.72-4.82(Hampikyan & Ugur, 2007)
- (8) 일반적으로 문헌상의 발효소시지에 대한 유산균수는 그리스 발효소시지 8.4 Log CFU/g (Papamanoli 등, 2003), 이탈리아 발효소시지 8.3-8.6 Log CUF/g(Comi 등, 2005) 및 터키 발효 소시지 7.0-7.3 Log CUF/g(Hampikyan & Ugur, 2007)로 나타났으며, 지금까지 발효소시지에 이용되는 스타터 미생물로는 주로 *Lactobacillus plantarum*, *Lac. pentosus*, *Lac. sakei*, *Lac. curvatus*, *Pediococcus pentosaceus*, *Ped. acidilactici* 등의 lactic acid bacteria와 *Staphylococcus carnosus*, *Sta. xylosus*, *Micrococcus varians* 등의 catalase-positive cocci가 발효소시지 제조를 위한 스타터로 사용되고 있으며(Leroy 등, 2006), 산업적으로는 단일종 또는 2종 이상의 혼합 균주로 발효소시지 제조에 이용되고 있음
- (9) 북유럽 및 남유럽 발효 소시지의 경우 0.04-0.30 mg MA/kg (Zanardi 등, 2004), 네덜란드 발효 소시지의 경우 약 0.5-1.0 mg MA/kg (Pelser 등, 2007), 터키 발효 소시지의 경우 약 0.9 mg MA/kg (Bozkurt, 2006) 수준의 TBA값을 나타내었으며, 자몽 추출물과 김치추출 유산균을 이용한 발효소시지의 경우에는 0.35-0.41 mg MA/kg (Kim & Ahn, 2014)로 나타남. 이들 제품들이 장시간 발효하면서 비교적 낮은 수준의 지방산화물을 함유했던 이유는 강력한 항산화 효과를 가진 질산염, 아질산염, 복합 인산염, ascorbic acid 등의 첨가물을 제조에 이용했기 때문임(Kang 등, 2012).
- (10) 이태리, 스위스, 프랑스 등에서는 오랜 전통의 산업화에 따라 제조공정이 확립되어 있으며, 스타터의 기준 및 원료육의 선별 과정, 미생물학적 분석, 미생물의 기준 규격에 대한 설정이 이루어져 있음

(11) 식품 전 분야에 걸쳐 BA의 안전성 평가에 관한 연구가 아래와 같이 광범위하게 진행되어 왔음

- 신선한 낙농제품 즉 숙성치즈 및 부패된 치즈에서의 BA 함량에 관한 연구.
- 육류에서의 저장기간에 따른 putrescine과 cadaverine 함량의 변화에 관한 연구.
- Sauerkraut 발효과정 중의 미생물 소장과 histamine 함량 변화의 관련성 규명 연구.
- 어류의 부패속도를 측정하는 지표로서 polyamine의 역할 규명에 관한 연구 등이 보고

(가) 이러한 연구를 바탕으로 EU는 고등어, 청어, 멸치, 민새기과에 대해 100~200 ppm, Codex는 어류 및 가공어육에 대해 100 ppm 이하의 histamine 기준 규격을 마련하였음

(나) Histamine 500 ppm, tyramine 100~800 ppm 및 β -phenylethylamine 30 ppm 농도에서 독성을 나타내며, 총 BA함량에 1000 ppm일 때는 매우 위험하다는 것이 일반적인 학설임

(다) 따라서 2000년대 들어 미국의 Wei 교수와 스페인의 Bover-Cid 교수를 중심으로 BA 함량 및 제어에 대한 연구가 활발히 진행되었으며, 미국 및 유럽 학자들에 의한 BA 관련 보고가 급증하고 있음

(라) 아시아권에서도 대만 연구진들이 BA 연구를 활발히 진행하고 있으며, 특히 자국 유통 중인 한국 전통발효식품의 BA 함량을 국제 학술지에 수차례 보고한 바 있음.

(마) 한편, 다양한 식품으로부터 BA 생산성 미생물들이 보고되어 있음 (표 1).

<표 2-1> 다양한 식품에서 발견되는 BA 생산성 미생물

식품	BA 생산성 분리 미생물	BA
발효대두식품	<i>Rhizopus oligosporus</i> , <i>Trichosporon beiglii</i> , <i>Lactobacillus plantarum</i>	histamine, tyramine, cadaverine, putrescine, tryptamine
어류	<i>Morganella morganii</i> , <i>Klebsiella pneumonia</i> , <i>Hafnia alvei</i> , <i>Proteus mirabilis</i> , <i>Proteus vulgaris</i> , <i>Clostridium perfringenes</i> , <i>Enterobacter aerogenes</i> , <i>Vibrio alginolytiens</i> , <i>Bacillus</i> spp., <i>Staphylococcus xylosus</i>	histamine, tyramine, cadaverine, putrescine, agmatine, spermine, spermidine
치즈	<i>Lactobacillus buchneri</i> , <i>L. bulgaricus</i> , <i>L. plantarum</i> , <i>L. casei</i> , <i>L. acidophilus</i> , <i>L. arabinos</i> , <i>Streptococcus faecium</i> , <i>S. mitis</i> , <i>Bacillus macerans</i> , <i>Propionibacteria</i>	histamine, tyramine, cadaverine, putrescine, β -phenylethylamine, tryptamine
육 및 육제품	<i>Pediococcus</i> , <i>Lactobacillus</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>Streptococcus</i> , <i>Micrococcus</i> , Enterobacteriaceae	histamine, tyramine, cadaverine, putrescine, β -phenylethylamine, tryptamine
	<i>Lactobacillus brevis</i> , <i>L. buchnerii</i> , <i>L. curvatus</i> , <i>L. carnis</i> , <i>L. divergens</i> , <i>E. coli</i> , <i>Klebsiella oxytoca</i> , <i>Morganella morganii</i> , <i>Edwardsiella</i> spp.	
발효 채소 (Sauerkraut)	<i>Lactobacillus plantarum</i> , <i>Pediococci</i> sp., <i>Leuconostoc mesenteroides</i>	histamine, tyramine, cadaverine, putrescine, tryptamine

- (바) 가장 많이 연구된 미생물은 수산물 유래의 *Morganella morganii*이며, 이 외에도 다양한 *Enterobacteriaceae* 미생물에 의한 BA 생산이 보고되었음
- (사) 이외에도 어류, 치즈, 육 및 육제품, 침채류, 발효대두식품 등으로부터 분리된 미생물에 의해 histamine, tyramine, cadaverine, putrescine, tryptamine 등의 다양한 BA이 생성됨이 확인되었으며, 관련 미생물로서 다양한 유산균에 대한 연구가 보고되었음

2. 기존 연구의 문제점

- 가. 국내 발효소시지 연구는 단편적인 연구가 일반적으로 진행된 바는 있지만, 발효에 있어서 스타터의 거동에 대한 심층적인 연구가 진행된 바가 없으며, 산업적 제품화 사례도 없는 실정임
- 나. 젖산균에 관한 연구는 국내에서도 활발히 이루어지고 있지만 육제품을 대상으로 한 우수 유산균에 관한 연구는 미흡함
- 다. 이 분야의 심도 있는 전문성 확보, 제조 원리와 mechanism의 이해를 통해서만 발효공정의 합리적 제어가 가능하고 제품의 품질, 위생 및 안전성이 보장될 수 있으나, 이에 대한 산업체의 전문가 확보는 거의 이루어지지 않고 있다고 판단됨
- 라. 유럽의 발효소시지 제조기술은 우수하지만 여전히 적지 않은 양의 결격품(misproduct)도 나타나고 있음. 예로써 peroxide 생성으로 인한 지방산패, 불쾌취 및 향미변화, 과도한 젖산생성, gas생성 등을 들 수 있으며, 다양한 곰팡이의 성장에 표면착색(적색, 검정색, 청색 등), 곰팡이의 소시지 표면 부착능의 취약 및 특유의 향미결여로 인한 외관불량 등이 있음
- 마. 질산염환원 starter도 발효소시지 내의 혐기적 환경에 적응하지 못하거나, 대사활성도 낮아 육색 보호 작용 효과가 저하되며, 특히 향미물질 생산에 어려움을 주고 있음
- 바. 유럽의 발효소시지 starter의 자격에 여러 요인들이 고려되지만 기능성생리활성에 대한 연구는 미진한 편이며 이에 대한 연구도 아울러 요구됨
- 사. 젖산균은 GRAS(Generally Recognized As Safe) 품목이므로 안전성에 별다른 문제가 없음. 그러나 젖산균에 의해 GABA는 특이적 효소인 glutamate decarboxylase의 탈탄산반응에 의해 생성되며 이는 amine류의 생합성 기작과 유사하므로 amine decarboxylase의 발현 가능성을 배제할 수 없음. 따라서 안전성 확보 측면에서 biogenic amines(BAs) 생성에 대한 확인이 필요함
- 사. 국외 GABA에 대한 연구는 발효육제품, 어류, 차, 육 및 육제품, 채소로부터 분리된 젖산균 및 진균을 주요 대상으로 하여 보고되고 있음 (표 2-2)
- 자. 가장 많이 연구된 미생물은 주로 *Lactobacillus* 군속에 포함되는 젖산균들이며, 이 외에도 *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Enterococcus*, *Streptomyces* 등 젖산균을 포함하는 세균류와 *Aspergillus*, *Penicillium*, *Rhizopus* 등과 같은 곰팡이 및 *Saccharomyces* 등 효모에 의한 GABA 생산 연구도 발견됨
- 차. 현재 보고된 GABA 생성, 항콜레스테롤 활성 젖산균에 관한 연구는 단순히 식품에서 분리된 균주들의 생성능 연구에 국한되어 있으며, 생산량을 증대시키기 위한 실험으로는 배양 조건을 변화시키는 정도에 머물고 있음
- 카. 따라서 본 연구팀에서는 지금까지 BAs에 대한 다양한 과제연구를 통해 쌓아 온 경험과 기능성 스타터 선별 능력을 통해 생리활성 뿐 만 아니라 향미가 우수하고 안전성을 확보

한 상업화 가능한 제품을 얻고자 함

<표 2-2> 최근 10년간 젖산균을 이용한 GABA 생산에 대한 연구

식품	GABA 생산성 분리 미생물
발효유제품	<i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Lb. delbrueckii</i> , <i>Lb. gasseri</i> , <i>Lb. casei</i> , <i>Lactococcus lactis</i> , <i>Lc. brevis</i>
어류	<i>Lb. farciminis</i> , <i>Lb. paracasei</i>
차	<i>Streptomyces bacillaris</i> , <i>St. cinereus</i> , <i>Aspergillus niger</i> , <i>A. gloucu</i> , <i>Penicillium sp.</i> , <i>Rhizopus sp.</i> , <i>Saccharomyces sp.</i> , <i>Lactobacillus sp.</i>
육 및 육제품	<i>Lb. fermentum</i>
채소	<i>Lb. paracasei</i> , <i>Lb. brevis</i> , <i>Leuconostoc mesenteroides</i> , <i>Enterococcus avium</i>

타. 본 과제와 기술과 관련된 선행연구 결과(본 연구팀의 선행연구)

연구과제를 공동으로 수행하는 협동연구기관에서는 된장, 청국장 등의 다양한 콩 발효제품, 김치, 유제품류에서 고기능성 유산균과 곰팡이를 지속적으로 분리하고 있으며, 젖산균의 기능성 및 안전성 연구로서 probiotics 선별을 위한 항콜레스테롤, 항암, 항산화 등의 활성 측정 방법 (in vitro, in vivo) 뿐만 아니라 GABA와 biogenic amine(BA)을 효과적으로 정량 분석하기 위한 TLC와 HPLC 분석방법 등을 확립하여 활용하고 있음.

*참조: 특허등록: 생체아민 생성 균주 선별용 배지 조성물(특허등록번호, 10-0429245)

고형의 콩 발효식품 및 이의 제조방법(특허등록번호, 10-1182761)

SCI 논문: Food Microbiology, 25(6), 815-823 (2008)

LWT-Food Sci. Technol, 41(5): 925-933 (2008)

(1) 2000년~2002년에 수행한 보건복지부과제[Biogenic amine 생성 제어기술 개발에 의한 식품의 안전성 제고에 관한 연구]*에서 Biogenic amine 생산성을 검토하기 위한 최적 배지 제조 및 분석방법을 확립 함.

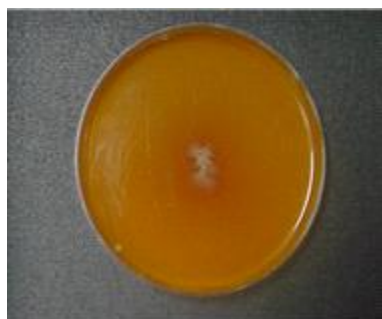
→ 이 연구의 목적은 BA 생산성 미생물 선택배지의 선택성을 개선하여 생산주의 신속·정확한 검출을 가능하게 하고, 이를 통해 식품 중 BA 함량으로 인한 위해도의 용이한 인지 및 대처를 위한 기초 data의 제시를 위함임.

→ BA 생산성 미생물의 선택배지인 Mah' s meadium은 스페인의 Bover-Cid 교수 등의 배지 조성을 기반으로 제조하였음(표 2-3)

→ BA 생산성 미생물제어에 대한 연구가 해당 BA의 전구체로서 첨가된 아미노산을 시험미생물이 대사 할 때 이루어지는 pH의 변화와 이로 인한 pH indicator의 색깔 변화에 기초를 두고 있음(그림 2-1)

〈표 2-3〉 바이오제닉아민 생성 균주 선별 배지 조성

Components	Decarboxylating agar media			
	Niven's	Joosten's	Yoshinaga's	Mah's
Tryptone	0.5%	0.5%	0.5%	0.125%
Yeast extract	0.5%	0.5%	0.5%	0.125%
(NH ₄) ₂ SO ₄	-	-	-	0.75%
Amino acid	2.7%	2.0%	2.0%	2.0%
NaCl	0.5%	0.5%	0.5%	0.5%
CaCO ₃	0.01%	0.01%	-	-
Bromocresol purple	0.006%	0.006%	-	-
Cresol red	-	-	0.02%	0.02%
Glucose	-	0.1%	-	0.1%
Tween 80	-	0.05%	-	0.05%
MgSO ₄	-	0.02%	-	0.02%
MnSO ₄	-	0.005%	-	0.005%
FeSO ₄	-	0.004%	-	0.004%
Agar	2.0%	2.0%	1.5%	(3.0%)
pH	5.3	5.0	6.5	5.3



대조구



시험구

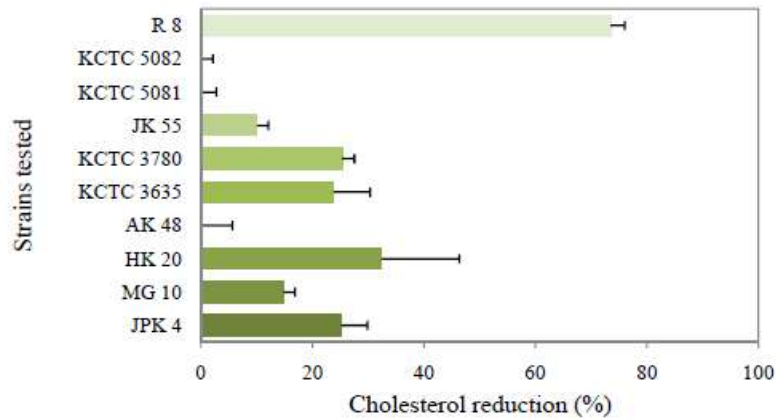
〈그림 2-1〉 BA 생산 미생물 선별 배지

(2) 2002년~2005년에 수행한 ARPC과제 [콩 단백을 이용한 고상 젖산 발효 식품 제조]*에 관한 농림부 과제에서 단백질 제품 특성과 젖산균의 기능성 균주 선별에 대한 충분한 자료를 구축하고 있음.

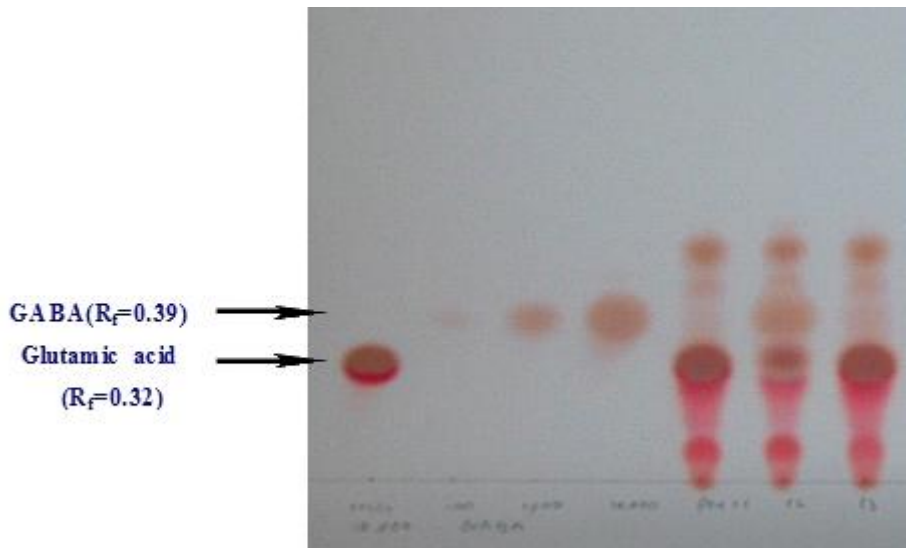
→ 젖산균의 probiotics 선별을 위한 항콜레스테롤 활성 측정 결과 (in vitro) 육제품에서 분리한 R8균주의 항콜레스테롤 활성이 다른 분리주보다 우수한 것으로 측정됨(그림 2-2)

(3) 2005년~2006년에 수행한 과학기술부과제 [기능성 식품제조를 위한 γ -aminobutyric acid 고생산성 변이주에 관한 연구]에서 GABA 고생산 균주를 확보 함.

→ Acetonitrile:140 mM sodium acetate(6:4)의 전개용매를 이용하여 TLC를 이용하여 정량적 확인이 가능함.



<그림 2-2> 항콜레스테롤 활성 균주 선별

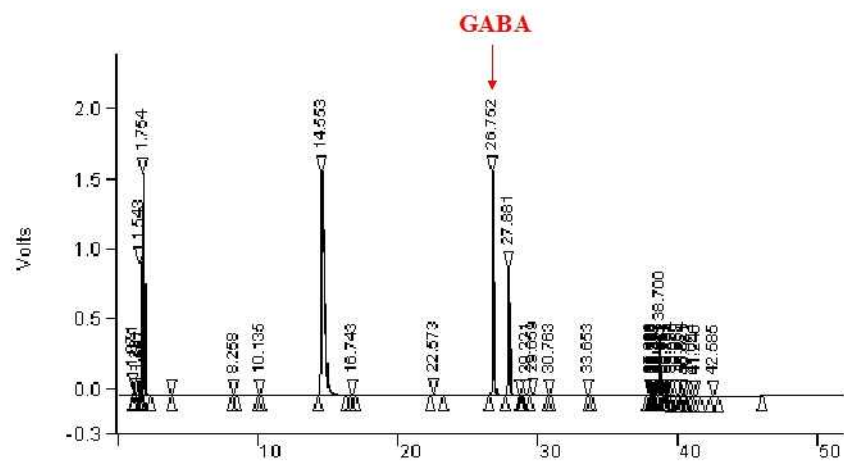
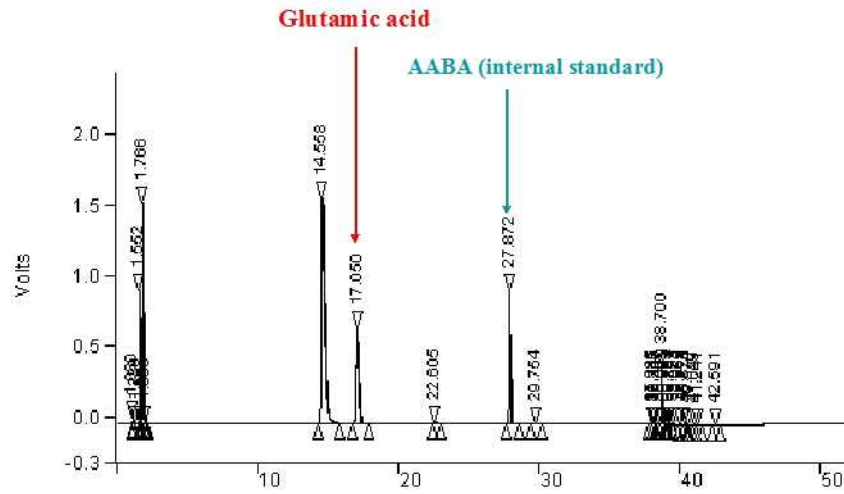


<그림 2-3> TLC를 이용한 분리주의 GABA 정성 분석

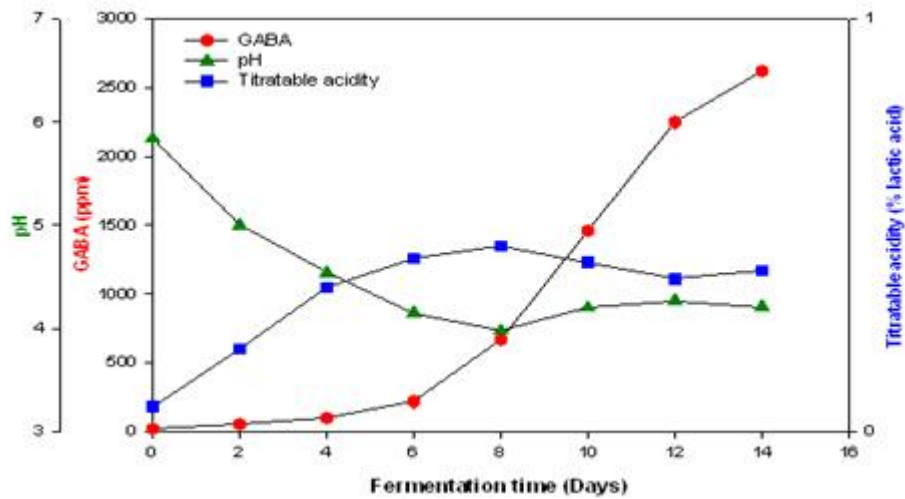
→ GABA 생산성은 정량적 확인을 위해 HPLC (Varian prostar 210, USA)를 사용 함.

전처리 배양물을 원심분리(3,500 rpm, 20 min)하여 0.2 μm membrane filter로 여과한 후 10배 희석한 것을 sample로 하여, 이것을 0.01 N HCl을 이용하여 단백질을 제거 후 AQC reagent (Waters, USA)를 이용하여 유도체화 함.

→ GABA고생성 균주를 이용한 동치미 sample을 채취하여 GABA 함량을 측정하였으며 그 결과 발효 6일부터 GABA 함량은 급격히 증가하여 2,624 ppm의 고함량을 생성함 (그림 2-5).



<그림 2-4> HPLC를 이용한 GABA 정량 분석



<그림 2-5> HPLC를 이용한 GABA 정량 분석

제 3 장 연구 수행내용 및 결과

코드번호	D-05
------	------

제 1 절 연구개발의 목표 및 내용

1. 연구개발의 최종 목표 및 주요내용

본 연구의 최종목표는 건강기능 활성을 갖는 토착 젓산균 개발을 통해 종균화하고 한 국인 소비자 기호에 적합한 원료(전통장류, 향신료, 원료육 등)와 혼합하여 한국형 발효 소시지를 개발하고 최적 제조가공 기술을 확보하는데 있다.

- 가. 국내외 발효소시지 정보 및 제조기술 자료 수집
- 나. 기능성 starter 후보균의 분리 및 생리· 화학적 특성 검토
- 다. 스타터 후보균 선정과 부원료 첨가 발효소시지 제조를 위한 가공 적성 검토 (pilot/industry scale)
- 라. 최종 선정된 스타터의 적용에 의해 산업적 규모에서 제조된 발효소시지의 품질특성(이화학적 특성 등) 및 관능적 특성 평가

2. 과제별(세부·협동) 연구개발의 목표 및 내용

가. 제 1 세부 연구개발의 목표 및 내용 (CJ제일제당)

연구개발의 목표	연구개발의 내용
서구형 발효소시지 정보 및 제조 기술 정보 확보	<ul style="list-style-type: none"> ● 국내외 서구형 발효소시지 정보 수집 <ul style="list-style-type: none"> ● 국내외 발효소시지 및 제조기술에 대한 정보 수집 <ul style="list-style-type: none"> - 각국의 상품 자료 수집 및 원부재료에 관한 특징 분석 - 각 제품별 일반성분 및 영양성분 등 분석 - 각 제품별 제조공정 분석 ● 상업화된 스타터 종류에 대한 정보 수집 <ul style="list-style-type: none"> - 제품별 사용된 스타터 특징 분석(온도, 습도, 안전성, 관능특성 등) - 각 스타터에 대한 정보 study ● 상업화된 스타터를 이용한 발효소시지 제조기술 확보 ● 상업화된 스타터 확보 및 발효소시지 제조공정 기초화 수립 <ul style="list-style-type: none"> - 제조된 각각의 발효소시지의 이화학적, 미생물학적, 관능적 특성 (일반성분, 기능성, 안전성, 향미성분 등 변화) - 저장기간에 따른 품질 특성 변화 분석 - 적용가능한 스타터 확보

<p>한국형 발효소시지 공정 표준화 기술 적용 (pilot scale)</p>	<ul style="list-style-type: none"> ● 스타터 후보균 및 부원료별 발효소시지 가공 적성 확립 <ul style="list-style-type: none"> ● 스타터 후보균과 원료육 종류에 따른 발효소시지의 가공적성 비교 <ul style="list-style-type: none"> - 원료 부위(등심, 후지, 전지) 및 지방함량 등의 배합에 따른 발효소시지 제조 - 제조된 발효소시지의 이화학적, 미생물학적 및 관능적 특성을 평가하여 우수한 스타터 후보균의 선정 ● 스타터 후보균과 부원료의 첨가에 따른 발효소시지 특성 검토 <ul style="list-style-type: none"> - 각종 부원료를 첨가하여 발효소시지를 제조하고 이화학적 특성 및 관능적 특성을 평가 - 향신료(마늘, 양파, 생강 등), 전통장류(고추장, 된장 등), 견과류(잣, 호두 등) - pH, Aw, 아질산, 염도, 일반성분 등 분석/관능적 특성 분석을 통한 우수한 스타터 후보균 선정 ● 한국형 발효소시지 공정 표준화 <ul style="list-style-type: none"> ● 건강기능적 특성을 지닌 우수 젖산균스타터 후보균을 적용 및 돈육 부위별(지방함량) 배합률과 최적 부원료 조합으로 한국형 발효소시지 개발(pilot scale) <ul style="list-style-type: none"> - 이화학적, 미생물학적, 관능적 품질 특성 비교 - Texture analyser를 통한 물성 비교 - 저장기간 동안 품질 특성 변화 비교 - 주부나 전문 연구원을 대상으로 소비자 조사를 실시하여 최적 배합 및 공정 도출
<p>● 한국형 발효소시지의 산업화 및 표준화 (Industrial scale)</p>	<ul style="list-style-type: none"> ● 최종 확정된 스타터 및 원부재료를 적용한 한국형 발효소시지의 산업화 및 표준화 <ul style="list-style-type: none"> ● Pilot scale에서 확보된 한국형 발효소시지 제조공정을 최종 확정하고 현장 scale로 적용시 문제점 검토 및 해결 <ul style="list-style-type: none"> - Pilot과 현장의 차이점 분석 및 문제 발생가능성 분석 - 최종 확정·선정된 원료, 스타터, 부원료를 사용하여 산업시제품을 제조하고 품질 특성을 검토함 - 이화학적, 미생물학적, 관능적 품질 특성 비교 - Texture analyser를 통한 물성 비교 - 저장기간 동안 품질 특성 변화 비교 ● 상기 품질특성 검토 결과를 토대로 제조공정 확립 <ul style="list-style-type: none"> - 개선·보완된 조건에 따라 제조공정 최종 확립 ● 발효소시지 상품화 계획

	<ul style="list-style-type: none"> - 국내 발효소시지 시장상황 및 마케팅 요소 분석 - 신규 개발된 발효소시지 제조원가 및 GP 설계 - 소비자 조사 수행 및 결과 분석
--	---

나. 제 1협동 연구개발의 목표 및 내용 (고려대학교)

연구개발의 목표	연구개발의 내용
<p>기능성 starter 후보균의 분리 및 생리·화학적 특성 검토</p>	<ul style="list-style-type: none"> ● 젖산균 후보균 분리 수집 및 스타터 선정 기준 마련을 통한 우수 스타터 후보균 선정 ● 시판 발효소시지의 미생물 균상 분석 및 젖산균 분리 <ul style="list-style-type: none"> - 상법에 의한 분석: 총균수, 지표미생물 등 - 젖산균: MRS, BCP 배지 사용 ● 스타터 후보균 분리 및 생리적 특성 <ul style="list-style-type: none"> - 미생물 염색법, morphology 검정 관찰 - 생리적 특성: catalase test, arginine hydrolysis, esculin hydrolysis, 당분해력, 산생성능, gas 생성력, pH, 생육속도, 온도에 따른 생육 특성 등 ● 항균활성[bacteriocin생성 능력] <ul style="list-style-type: none"> - agar diffusion test (ADT), BioScreen[®] 분석 ● 대사활성, 효소활성검토 (<i>in vitro</i>) <ul style="list-style-type: none"> - 유기산 생성 능력, pH 저하 능력 등 - 효소활성 측정, 향미성분 ● 젖산균 스타터 후보균의 건강기능 특성 검토 <ul style="list-style-type: none"> - glutamate decarboxylase 활성 검증 - GABA 고생성 균주 분리 - 항콜레스테롤 활성 균주 선별 ● 스타터 후보균의 안전성 특성 검토 <ul style="list-style-type: none"> - HPLC에 의한 biogenic amine 함량 및 생성능, hemolysis, 항생제 내성 등 ● 선별된 starter 후보균의 동정 <ul style="list-style-type: none"> - 생화학적 특성 및 미생물동정기(VITEK[®])에 의한 스타터 후보균 동정 ● 스타터 후보균의 <i>in situ</i> test <ul style="list-style-type: none"> - 발효기간 중 미생물학적 거동 및 균상 변화 검토 <ul style="list-style-type: none"> : 총균수, 해당후보균수, 기타 젖산균, 지표미생물 등 - 발효과정 중 이화학적 특성: pH, aw-값 등 - 대사활성, 효소활성 등 - 건강기능 특성: GABA, 항콜레스테롤 등

<p>스타터 후보균 선정과 부원료 첨가 발효소시지 제조를 위한 가공 적성 검토 (pilot scale)</p>	<ul style="list-style-type: none"> ● 원료육 최적화를 통하여 배합률을 최적화함으로써 원료육을 고정하고 복수의 우수스타터 후보균과 부원료의 조합을 결정 ● 우수 젖산균 스타터 후보균 선정 (근본적으로 <i>in vitro</i>에서 수행했던 특성들에 대해 <i>in situ</i>에서 재확인) <ul style="list-style-type: none"> - 선정된 우수 젖산균 스타터 후보균과 기타 스타터균(상업용 질산염환원능 균주)과 혼합·적용하여 최적화: 젖산생성능, pH 변화, 발효속성 과정 중 a_w값의 변화 - 혼합 적용 시 발효기간 중 미생물학적 거동 및 균상 변화 검토 : 총균수, 지표미생물, 젖산균수, 질산염환원균수 등 - 효소활성: 단백질분해 활성, 지방분해활성 등 - 건강기능 특성: GABA, 항콜레스테롤, 항균활성 등 ● 부원료에 첨가에 따른 발효소시지 특성 검토 <ul style="list-style-type: none"> - 등심, 후지, 전지, 돈지방 등의 배합에 따른 이화학적, 미생물학적 및 종합적 발효 특성을 평가하고, 관능적 특성으로 최적화 - 각종 부원료를 첨가하여 상기한 각종 특성을 확인하여 이화학적 특성 및 관능성 평가 <ul style="list-style-type: none"> • 향신료: 마늘, 생강/ • 장류: 고추장, 된장 등 /• 견과류: 잣, 호두 등 ● 건강기능적 특성을 지닌 우수 젖산균스타터 후보균을 적용하고 저지방 돈육의 최적 배합률과 최적 부원료 조합에서 pilot scale로 제조된 한국형 발효소시지의 분석 및 표준화 <ul style="list-style-type: none"> - 미생물학적, 이화학적, 품질적 특성 및 발효 과정 중 생리활성 물질 (GABA, amino acid 등), biogenic amine 등 분석 - 각 단위의 시료에 대한 관능검사를 실시하여 표준화
<p>최종 선정된 스타터의 적용에 의해 산업적 규모에서 제조된 발효소시지의 품질 특성, 관능적 특성 평가 (Industry Scale)</p>	<ul style="list-style-type: none"> ● 이미 최종 선정된 원료육과 배합률에 따라 최적화된 복수의 부원료 첨가 조건을 조합하여 건강기능적 활성을 지닌 우수 스타터를 적용 제조하여 발효학적, 이화학적, 품질적 특성을 검토함으로써 젖산균 및 부원료 조건을 최적화하여 제조공정을 최종 확립 ● 건강기능적 특성을 지닌 우수 젖산균 스타터 후보균과 기타 상업용 스타터(질산염 환원능 균주)과 혼합·적용하고, 우수 부원료 조합으로 pilot scale로 제조된 한국형 발효 소시지 시료의 분석 및 최적화 공정 확립 <ul style="list-style-type: none"> • 발효기간 중 미생물학적 거동 및 균상 변화 : 총균수, 지표미생물, 젖산균수, 질산염환원성 균수 등 • 이화학적 특성: pH-값, a_w-값, 지질산패도 등 • 효소활성: 단백질분해 활성, 지방분해활성 등 • 건강기능 특성: GABA, 항콜레스테롤 등 • 관능검사: 스타터 및 부원료 최종 선정, 제조공정 최적화 및 최종 확립

3. 연차별 연구개발의 목표 및 내용

가. 1 차년도 (2014년) 연구개발 목표 및 내용

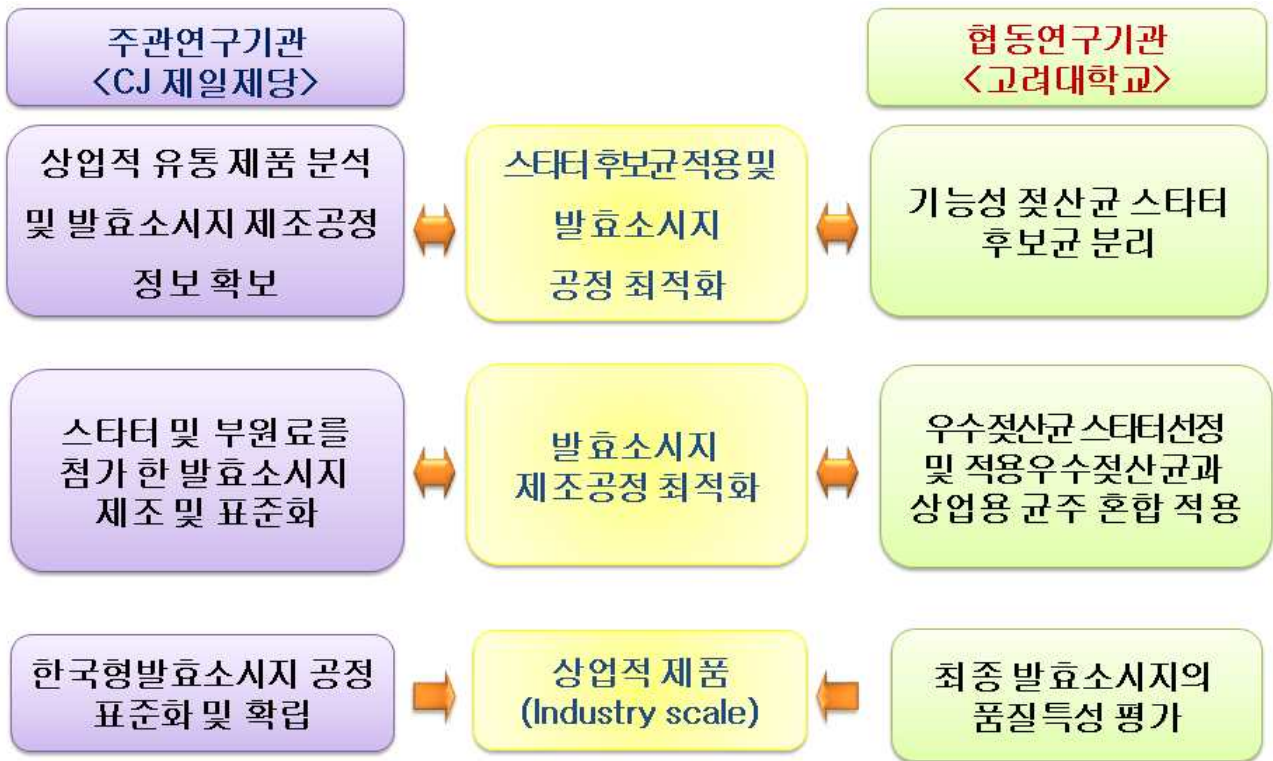
연구개발의 목표	연구개발의 내용
<p>서구형 발효소시지 정보 및 제조 기술 정보 확보</p>	<ul style="list-style-type: none"> ● 국내외 서구형 발효소시지 정보 수집 ● 국내외 발효소시지 및 제조기술에 대한 정보 수집 <ul style="list-style-type: none"> - 각국의 상품 자료 수집 및 원부재료에 관한 특징 분석 - 각 제품별 일반성분 및 영양성분 등 분석 ● 상업화된 스타터 종류에 대한 정보 수집 <ul style="list-style-type: none"> - 제품별 사용된 스타터 특징 분석(온도, 습도, 안전성, 관능적 특성 등) - 각 스타터에 대한 정보 study ● 상업화된 스타터를 이용한 발효소시지 제조기술 확보 ● 상업화된 스타터 확보 및 발효소시지 제조공정 기초화 수립 <ul style="list-style-type: none"> - 상업화된 스타터 확보 및 이를 적용한 발효소시지 제조 - 제조된 각각의 발효소시지의 이화학적, 미생물학적, 관능적 특성 (일반성분, 기능성, 안전성, 향미성분 등 변화) - 저장기간에 따른 품질 특성 변화 분석 - 적용가능한 스타터 확보
<p>기능성 starter 후보균의 분리 및 생리·화학적 특성 검토</p>	<ul style="list-style-type: none"> ● 젖산균 후보균 분리 수집 및 스타터 선정 기준 마련을 통한 우수 스타터 후보균 선정 ● 시판 발효소시지의 미생물 균상 분석 및 젖산균 분리 <ul style="list-style-type: none"> - 상법에 의한 분석: 총균수, 지표미생물 등 - 젖산균: MRS, BCP 배지 사용 ● 스타터 후보균 분리 및 생리적 특성 <ul style="list-style-type: none"> - 미생물 염색법, morphology 검경 관찰 - 생리적 특성: catalase test, arginine hydrolysis, esculin hydrolysis, 당분해력, 산생성능, gas 생성력, pH, 생육속도, 온도에 따른 생육 특성 등 ● 항균활성[bacteriocin 생성 능력] <ul style="list-style-type: none"> - agar diffusion test (ADT), BioScreen[®] 분석 ● 대사활성, 효소활성검토 (<i>in vitro</i>) <ul style="list-style-type: none"> - 유기산 생성 능력, pH 저하 능력 등 - 효소활성 측정, 향미성분 ● 젖산균 스타터 후보균의 건강기능 특성 검토 <ul style="list-style-type: none"> - glutamate decarboxylase 활성 검증 - GABA 고생성 균주 분리/항콜레스테롤 활성 균주 선별 ● 스타터 후보균의 안전성 특성 검토 <ul style="list-style-type: none"> - HPLC에 의한 biogenic amine 함량 및 생성능, hemolysis, 항생제내성 등 ● 선별된 starter 후보균의 동정 <ul style="list-style-type: none"> - 생화학적 특성 및 미생물동정기(VITEK[®])에 의한 스타터 후보균 동정 ● 스타터 후보균의 <i>in situ</i> test <ul style="list-style-type: none"> - 발효기간 중 미생물학적 거동 및 균상 변화 검토 <ul style="list-style-type: none"> : 총균수, 해당후보균수, 기타 젖산균, 지표미생물 등 - 발효과정 중 이화학적 특성: pH, aw-값 등 - 대사활성, 효소활성 등 - 건강기능 특성: GABA, 항콜레스테롤 등

나. 2 차년도 (2015년) 연구개발 목표 및 내용

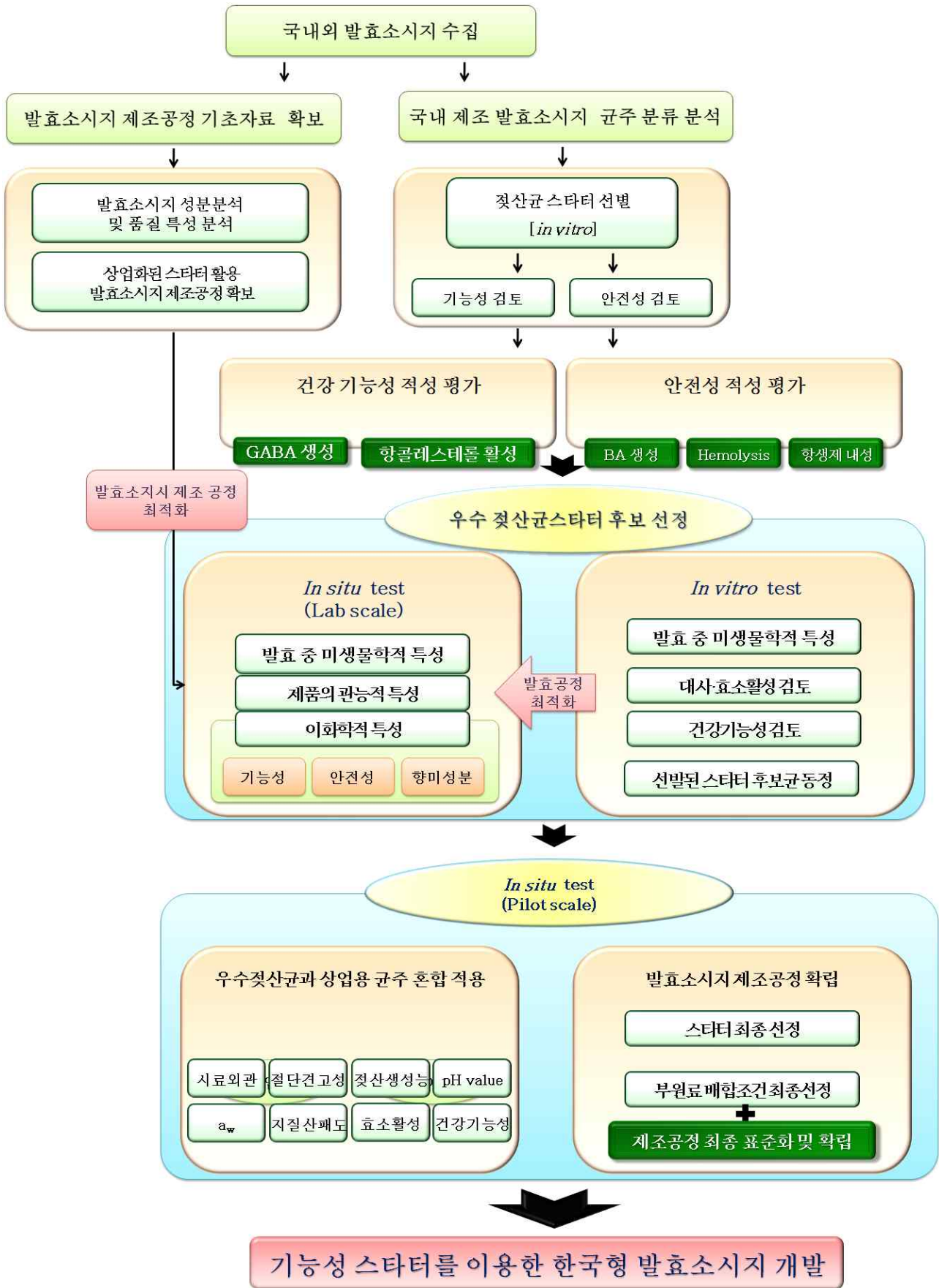
연구개발의 목표	연구개발의 내용
<p>한국형 발효소시지 공정 표준화 기술 적용 (pilot scale)</p> <p>스타터 후보군 선정과 부원료 첨가 발효소시지 제조를 위한 가공 적성 검토 (pilot scale)</p>	<ul style="list-style-type: none"> ● 스타터 후보군 및 부원료별 발효소시지 가공 적성 확립 <ul style="list-style-type: none"> ● 스타터 후보군과 원료육 종류에 따른 발효소시지의 가공적성 비교 <ul style="list-style-type: none"> - 원료 부위(등심, 후지, 전지) 및 지방함량 등의 배합에 따른 발효소시지 제조 - 제조된 발효소시지의 이화학적, 미생물학적 및 관능적 특성을 평가하여 우수한 스타터 후보군의 선정 ● 스타터 후보군과 부원료의 첨가에 따른 발효소시지 특성 검토 <ul style="list-style-type: none"> - 각종 부원료를 첨가하여 발효소시지를 제조하고 이화학적 특성 및 관능적 특성을 평가 - 향신료(마늘, 양파, 생강 등), 전통장류(고추장, 된장 등), 견과류(잣, 호두 등) - pH, Aw, 아질산, 염도, 일반성분 등 분석/관능적 특성 분석을 통한 우수한 스타터 후보군 선정 ● 한국형 발효소시지 공정 표준화 <ul style="list-style-type: none"> ● 건강기능적 특성을 지닌 우수 젖산균스타터 후보군을 적용 및 돈육 부위별 (지방함량) 배합률과 최적 부원료 조합으로 한국형 발효소시지 개발(pilot scale) <ul style="list-style-type: none"> - 이화학적, 미생물학적, 관능적 품질 특성 비교 - Texture analyser를 통한 물성 비교 - 저장기간 동안 품질 특성 변화 비교 - 주부나 전문 연구원을 대상으로 소비자 조사를 실시하여 최적 배합 및 공정 도출 ● 원료육 최적화를 통하여 배합률을 최적화함으로써 원료육을 고정하고 복수의 우수스타터 후보군과 부원료의 조합을 결정 ● 우수 젖산균 스타터 후보군 선정 (근본적으로 <i>in vitro</i>에서 수행했던 특성들에 대해 <i>in situ</i>에서 재확인) <ul style="list-style-type: none"> - 선정된 우수 젖산균 스타터 후보군과 기타 스타터균(상업용 질산염환원능 균주)과 혼합·적용하여 최적화: 젖산생성능, pH 변화, 발효속성 과정 중 a_w값의 변화 - 혼합 적용 시 발효기간 중 미생물학적 거동 및 균상 변화 검토 <ul style="list-style-type: none"> : 총균수, 지표미생물, 젖산균수, 질산염환원균수 등 - 효소활성: 단백분해 활성, 지방분해활성 등 - 건강기능 특성: GABA, 항콜레스테롤, 항균활성 등 ● 부원료에 첨가에 따른 발효소시지 특성 검토 <ul style="list-style-type: none"> - 등심, 후지, 전지, 돈지방 등의 배합에 따른 이화학적, 미생물학적 및 종합적 발효 특성을 평가하고, 관능적 특성으로 최적화 - 각종 부원료를 첨가하여 상기한 각종 특성을 확인하여 이화학적 특성 및 관능성 평가 <ul style="list-style-type: none"> • 향신료: 마늘, 생강 / • 장류: 고추장, 된장 등 / • 견과류: 잣, 호두 등 ● 건강기능적 특성을 지닌 우수 젖산균스타터 후보군을 적용하고 저지방 돈육의 최적 배합률과 최적 부원료 조합에서 pilot scale로 제조된 한국형 발효소시지의 분석 및 표준화 <ul style="list-style-type: none"> - 미생물학적, 이화학적, 품질적 특성 및 발효 과정 중 생리활성 물질 (GABA, amino acid 등), biogenic amine 등 분석 - 각 단위의 시료에 대한 관능검사를 실시하여 표준화

4. 연구개발의 추진전략 · 방법 및 추진체계

가. 연구개발의 추진전략



나. 연구개발의 추진방법



제 2 절 연구개발의 결과

1. 서구형 발효소시지 정보 및 제조기술 정보 확보

가. Introduction

발효식품은 곰팡이, 세균, 효모 등 미생물의 작용에 의해 유기물이 분해되어 새로운 성분을 합성하는 발효라는 작용을 이용해 만든 식품을 일컫는다. 된장, 나토와 같이 곡류를 이용한 제품, 와인과 같은 과일 제품, 김치와 sauerkraut 같은 채소류 제품, 살라미와 발효햄 같이 육류를 이용한 제품, 요구르트와 치즈 같은 유제품을 이용한 제품, 젓갈과 같이 수산물을 이용한 제품 등 다양한 원료를 이용하여 각 나라의 환경에 맞게 오래전부터 지속되어 개발되고 있는 대표적인 건강식품이라고 할 수 있다.

육류를 이용한 발효육제품은 이탈리아에서 약 260년 전 처음 시작되어 유지되어온 전통식품 중에 하나인 발효소시지는 국내에서는 주로 백화점이나 호텔 레스토랑에서 접할 수 있던 대표적인 고급 육가공품이었으나, 최근에는 다양한 곳에서 접할 수 있다(Kunz and Lee, 2003). 정부의 침체된 육가공 산업 활성화를 위해 국내에서 생산 판매가 저조한 발효육제품류(생햄, 발효소시지)의 법적 기준을 마련하였고 식육가공품의 소비를 촉진시키기 위해 신선육과 가공품을 한자리에서 판매할 수 있는 식육판매업의 영업범위를 확대하여 “식육가공품판매업”으로 개정되어 육가공시장의 범위가 확대됨에 따라 미국의 델리샵과 독일의 메쯔거라이(metzgerei) 샵을 벤치마킹한 델리미트샵이 활성화되고 있다(Seong, 2013).

국내 발효육제품 판매 동향을 보면, 국내의 독일식 프리미엄 메쯔거라이 샵인 어반나이프(Urban knife), 존쿡델리미트(Johncook delimeats), 그릭슈바인(Glücks schwein)은 미국, 유럽의 델리샵(Delicatessen)에서 체험할 수 있는 정통 육제품과 다양한 메뉴를 즐길 수 있으며, 국내에서 직접 제조한 발효소시지를 판매하기도 한다. 또한, 고급스러움을 추구하고 수입 식품류를 다양하게 취급하고 있는 신세계 SSG 마켓에서도 다양한 수입산 살라미, 초리조 제품과 발효햄 제품을 판매하고 있으며, 대형마트인 이마트, 홈플러스, 코스트코 등에서도 일반 소비자들에 잘 맞는 제품들을 수입해서 판매하고 있다. 그 외에도 현대백화점, 신세계백화점, 롯데백화점 등에서도 미국, 스페인, 이탈리아 등에서 수입한 발효육제품이 다양하게 판매되고 있다. 사회복지법인 ‘평화의 마을’에서 만드는 제주맘 살라미는 익히지 않고 직접 담근 한식 간장으로 흑돼지와 한우를 발효시켜 향산화 효소와 아미노산이 다량 함유되어 있는 제품을 백화점 등에서 판매하고 있다. 한편, 2016년 산청군의 특산품인 산청흑돼지와 한방약초를 원료로 한 친환경 한방발효육제품 ‘산청발효생햄’ 제조기법이 특허 등록되는 등 각 지방자치단체에서 다양한 시도를 하고 있으며, 농촌진흥청은 전통 양념과 채소 등을 활용한 육제품 121종의 제조법을 개발해 기술 보급에 나섰다. 그 중 발효육제품으로는 고추장, 청양고추, 마늘 등 전통 양념을 이용한 발효소시지류 제조법 5종과 발효햄류 제조법 5종이 포함되어 있다.

이처럼 국내에서도 발효육제품이 다양하게 수입되어 판매되고 있으며, 일부지만 직접 제조하여 판매가 이루어지고 있다. 국내 육가공 산업은 지속적으로 성장하고 있지만 가열한 육가공품 위주로 되어 있으며, 제품형태도 비엔나, 후랑크 등 소시지류와 사각형태와 라운드형태의 프레스햄류에 지나지 않아 육가공 산업의 지속적인 성장을 위해서는 새로운 카테고리의 육가공품 개발 및 판매가 시급한 상황이다. 이러한 부분에서 발효육제품은 육가공 산업의 성장에

한 축이 될 수 있을 것으로 생각되며, 발효육제품이 활발하게 소비되는 유럽의 발효육제품 기술 개발 동향 분석을 통해 우리나라의 발효육제품 발전 가능성을 전망해보고자 한다.

나. 발효육제품 제조시 주요 관리 포인트

(1) 수분활성도 및 수분함량

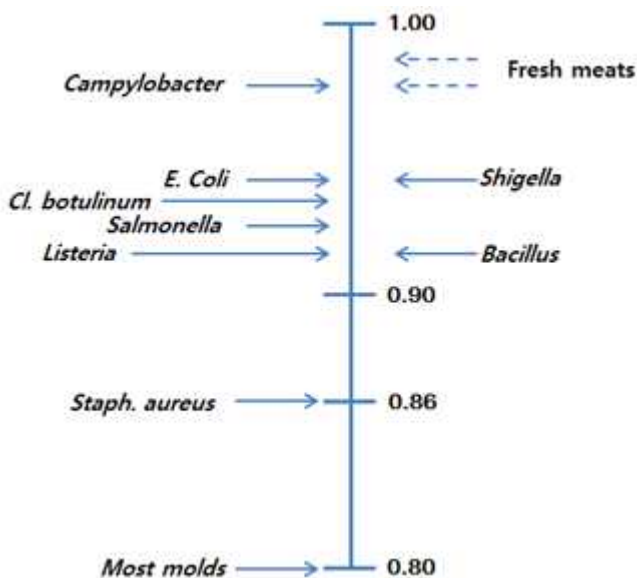
모든 미생물은 수분을 필요로 하며, 미생물이 이용할 수 있는 수분의 양은 수분활성도로 정의된다. 각 식품에 대한 수분활성도는 <표 3-1>과 같다. 살라미와 같은 발효소시지의 유통기한 연장은 숙성기간 중 낮은 수분활성도와 pH의 감소에 의해 유지된다. 특히, 수분활성도는 염 첨가와 제품의 탈수에 의해 낮아질 수 있다. 낮은 수분활성도와 pH는 발효와 건조하는 동안 부패 미생물의 성장을 저해한다(Leistner 등, 1981). <그림 3-1>의 미생물 성장에 필요한 최소한의 수분활성도에 따르면, *Staphylococcus aureus*를 제외한 대부분의 부패미생물은 수분활성도 0.9 이하에서는 성장하지 못한다.

<표 3-1> Water activity (Aw) of some foods

식품종류	Aw	식품종류	Aw
정제수	1.00	푸딩	0.80
신선 육 및 생선	0.99	건조과일	0.60
빵류	0.99	비스킷	0.30
살라미	0.87	분유	0.20
숙성치즈	0.85	인스턴트 커피	0.20
잼 및 젤리	0.80	건조 빵	0.00

(출처: Marianski S. and Marianski A, 2008)

<그림 3-1> Water activity minimum for growth of microorganisms.



(출처: Marianski S. and Marianski A, 2008)

이것은 건조(drying)가 일반적으로 미생물의 번식을 예방하고 식품을 보존하는 효과적인 방법

이라는 것을 의미한다.

통상적으로 건조 및 발효 육제품의 수분함량은 육포의 경우 31-33%이고, 생햄류는 35-40%이며, 미국과 유럽 등지에서 생산되고 있는 발효소시지 및 발효햄의 수분함량은 35-45% 정도인 것으로 보고되고 있다(Han 등, 2008; Zanardia 등, 2002).

(2) pH (수소이온농도)

대부분의 발효육제품은 육의 pH가 낮아지면서 제조되기 시작한다. 부패미생물의 성장을 억제하기 위해 낮은 pH 조건을 만들어 주면 발효육제품의 수분 증발이 쉽게 이루어진다. 유산균의 증가로 pH를 감소시킴으로써 다른 부패미생물의 성장을 억제하는 원리로 발효육제품의 유통기한을 연장시킬 수 있다. 발효육제품 제조시 이상적인 생육의 pH는 5.4-5.9이며, 최종 발효소시지의 pH는 4.8-5.3 정도로 유지된다. 표 2는 다양한 병원성균의 최적 생존 조건을 조사한 자료이다. 병원성 미생물은 4-60°C에서 급속하게 성장하며 식품의 외관, 맛, 향에 영향을 미치지 않아 발효소시지와 같이 가열하지 않은 발효육제품에서는 매우 위험하다. 따라서, 발효시 유산균 외에 다른 병원성 미생물이 오염되지 않도록 관리하는 것이 중요하다. 유럽의 발효육제품 제조회사에서는 Aw와 pH를 지속적으로 측정함으로써 제품들이 제대로 발효/숙성이 진행되고 있는지 관리포인트로 삼고 있다.

<표 3-2> 다양한 병원성균의 최적 생존 조건

균명	온도 (°C)			최소 pH	최소 Aw	산소유무
	최소	최적	최고			
<i>Salmonella</i>	7	35-37	45	3.8	0.94	FA
<i>Cl. botulinum</i>	3	18-25	45	5.0	0.97	OA
<i>Cl. perfringens</i>	12	43-47	50	4.2	0.93	OA
<i>Staph. aureus</i>	6	37	48	4.2	0.85	FA
<i>Campylobacter</i>	30	42	45	4.9	0.98	MA
<i>Listeria</i>	-1.5	37	45	4.4	0.92	FA
<i>E. coli</i>	7	37	46	4.4	0.95	FA
<i>Shigella</i>	7	35-37	47	4.0	0.91	FA
<i>Bacillus</i>	4	30-37	55	4.3	0.91	FA

* FA: 산소가 있으면 잘 성장하나, 산소 없이도 생존 가능
 OA: 산소가 있으면 생존할 수 없음
 MA: 매우 낮은 산소농도(5%)와 낮은 이산화탄소 농도(10%)에서 생존

(출처: Marianski S. and Marianski A, 2008)

(3) 온도 및 습도 조절

온도와 습도 조절이 발효육제품의 제조 및 품질에 있어 중요하다. 육선별, 커팅, 초핑, 믹싱, 충전 등을 포함하는 첫 번째 가공단계에서는 가능한 가장 낮은 온도로 유지하는 것이 중요하다. 이 공정 동안 부패를 방지하기 위해서는 신선육의 미생물 오염을 최소화하는 것도 필요하다. 초핑이나 커팅시 온도가 올라가기 때문에 냉동된 육과 지방을 사용하는 것이 좋으며, 사용하는 설비의 온도도 낮춰서 사용함으로써 지방이 녹아 품질이 열화되는 것을 방지할 수 있다. 습도는 발효소시지의 형태를 유지하는데 있어 중요하다. 최초 건조/발효를 들어갈 때, 95%에서 시

작해서 80%까지 낮추면서 건조를 실시하는데, 단계별로 서서히 습도를 낮추면서 발효를 시켜야 내부와 외부의 수분이동이 잘 이루어져 균일한 형태로 건조가 이루어진다. 급격하게 습도를 낮추거나 습도를 낮은 상태에서 시작하면, 건조는 빠르게 일어나지만 겉부분이 너무 빠르게 건조되는 현상이 발생하게 되고, 라운드 형태의 모양이 이루어지지 않고 쭈글쭈글거리며 타원형으로 찌그러지는 현상이 발생한다. 그러므로, 적절한 발효온도와 습도를 조절하는 것이 중요하다. 최근 유럽에서는 대량생산 시스템의 온습도 조절이 가능한 대형 숙성함을 도입하여 균일한 제품 생산에 활용하고 있다.

(4) Starter culture

발효에 이용되는 유익한 미생물을 확인하여 이들 균 특성을 분석함으로써, 상업적으로 활용 가능한 starter를 조사할 필요가 있다. 표 3은 유산균 종류에 따른 생존 조건 및 역할에 대해 정리한 것이다. 유익한 미생물 없이는 발효소시지 제조가 불가능하다. 육안에서 자연적으로 발생하기도 하지만, 대부분이 starter culture를 육안에 첨가하여 제조하는데, 주로 2가지 종류가 사용된다.

- Lactic acid producing bacteria - *Lactobacillus*, *Pediococcus*
- Color and flavor forming bacteria - *Staphylococcus*, *Kocuria*(*Micrococcus*)

Lactic acid bacteria는 발효식품을 제조하는 데 드는 엔진과 같은 역할을 한다. 요구르트, 치즈, 김치, 맥주, 사우어크라우트, 피클 등의 발효식품에 존재하고 있으며, 매우 작은 산소를 요구하는 micro-aerophilic이며, 당을 주급원으로 사용한다. Lactic acid bacteria는 초기 육내에서 1,000-10,000 cfu/g에서 시작하여 발효되는 동안 1,000,000-100,000,000 cfu/g까지 증가한다. 당을 소비하여 유산을 생성하기 때문에 발효하는 동안 pH가 지속적으로 떨어진다. 소시지를 안전하게 만들지만, pH가 떨어지기 때문에 특쓰는 신맛을 형성하여 맛품질을 떨어뜨린다. 일부 *Pediococcus* spp.가 육단백질을 가수분해하여 풍미를 개선시켜 주지만, 발효소시지의 좋은 맛에 영향을 미치지 않는다. 산도가 높은 환경(pH 3.0 이하)에서도 잘 서식한다.

Color and flavor forming bacteria는 발효소시지의 색상, 맛, 향에 영향을 미치나, 직접적으로 발효에 영향을 미치는 것은 아니다. 이들 균의 특징은 염지 및 발효과정 동안 질산염(자연적으로 존재하거나, 임의로 첨가된)을 아질산으로 환원을 시켜주는 역할을 한다. 이들 bacteria 없이는 전통적인 살라미 생산이 불가능하다. 이들 균은 낮은 pH(5.4 이하)에서는 활성이 떨어지기 때문에 속성으로 생산하는 발효소시지에서는 제한적으로 사용된다. 최근 제품들은 아질산나트륨을 인위적으로 첨가하지만, 느리게 발효시키는 소시지에서는 염지하는 동안 질산염에서 아질산염으로 환원할 수 있도록 이들 미생물이 필요하다. 염에서 견디는 능력이 우수하고 산소가 없이도 생존 가능한 균이다. 또한 풍미 증진에 기여하는 것으로도 잘 알려져 있다. 건조 발효하는 동안 단백질을 유리아미노산으로 분해시키고, 지방을 유리지방산으로 분해시키며, 효소활성으로 과산화물을 물과 수소로 분해시켜 바람직한 풍미를 만들어 준다. 따라서, 상업적으로 필요한 발효소시지 제조에 필요한 스타터는 산도 조절 기능 및 풍미 생성 기능을 포함한 혼합된 starter가 필요하다.

또한 주로 젖산균을 이용한 발효육제품들이 많이 있지만, 최근엔 곰팡이스타터를 액상으로 발효소시지 표면에 분사하여 발효과정 중에 표면이 하얗게 변하도록 하여 고급스러운 느낌을 주는 경향도 있다(그림 3-2). 일반 유산균만으로 발효하는 제품은 4~5일 소요가 되며, 곰팡이 표면 분사한 제품은 14~15일이 소요가 된다. 이들 제품의 경우, 중소규모의 업체에서는 한 속

성품 안에서 다양한 제품들을 함께 발효하고 있으며, 숙성품의 온/습도로 control 하지만, 전문가가 매일 직접 만져보고 향을 느낌으로서 발효 진행과정을 모니터링하고 있다.

<표 3-3> 유산균 종류에 따른 생존조건

종 류	균 명	최적 온도(°C)	소금 제한 농도(%)
Lactic acid bacteria	<i>Lactobacillus sakei</i>	30	9
	<i>Lactobacillus farciminis</i>	37	10
	<i>Lactobacillus plantarum</i>	30	13
	<i>Lactobacillus curvatus</i>	24	10
	<i>Lactobacillus pentosus</i>	35	9
	<i>Pediococcus acidilactici</i>	40	10
	<i>Pediococcus pentosaceus</i>	35	7
Color and flavor forming bacteria	<i>Staphylococcus carnosus</i>	36	86
	<i>Staphylococcus xylosum</i>	36	86
	<i>Micrococcaceae</i> spp.	36	86

(출처: Marianski S. and Marianski A, 2008)

<그림 3-2> 유산균 및 곰팡이균 스타터 사용에 따른 제품들(독일)



다. 시중 유통 중인 발효육제품 정보 수집

시중 유통 중인 발효소시지의 판매정보를 조사하였다. 2000년도에는 주로 백화점이나 호텔 레스토랑에서 접할 수 있던 살라미 등의 발효소시지나 하몽과 같은 발효햄은 최근 다양한 곳에서 접할 수 있었다. 최근 정부의 침체된 육가공 산업 활성화를 위해 국내에서 생산 판매가 저조한 발효육제품류(생햄, 발효소시지)의 법적 기준을 마련하였고 식육가공품의 소비를 촉진시키기 위해 신선육과 가공품을 한자리에서 판매할 수 있는 식육판매업의 영업범위를 확대하여 “식육가공품판매업”으로 개정되어 육가공시장의 범위가 확대됨에 따라 미국의 델리샵과 독일의 메쯔거라이 샵을 벤치마킹한 델리미트샵이 활성화되고 있다.

어반나이프(Urban knife)는 2013년 농림축산식품부의 중소식품 협력지원사업의 일환으로, 식육가공품 판매업(Metzgerei or Delicatessen) 시장개척으로 선정된 (주)KMCI에서 개발한 독일식 프리미엄 메쯔거라이 샵 브랜드이며, 모던아티즌(Morden Artisan: 유럽 정통기술, 제조방식, 장인정신을 현대적 포맷으로 재창조하는 육가공 전문가)이 만들어 맛과 풍미가 뛰어난 고품질 육가공 제품을 한 곳에서 다양하게 만날 수 있는 프리미엄 신개념 델리카트슨이며, 수제육가공품 및 이를 이용한 다양한 메뉴를 접할 수 있다. 발효소시지로는 천연장으로 제조한 살라미, 매운

맛 초리조 등을 직접 제조하여 판매하고 있고, 등심으로 제조한 Roh-썬켄이 있다.

존쿡델리미트(Johncook delimeats)는 국내 최초 정통 델리미트(2005년)로서, 미국, 유럽의 델리샵(Delicatessen)에서 체험할 수 있는 정통 육제품과 다양한 메뉴를 즐길 수 있으며, 스페인 몬테사노사의 최고급 이베리코 하몽을 단독 계약 체결하여 맛있고 신선한 품질을 지닌 발효햄을 경험할 수 있는 장점이 있다. 수제 델리미트, 건조육, 베이컨 등은 국내에서 직접 제조하여 판매하고 있으며, 고품질의 발효소시지나 하몽 등은 우수한 품질의 제품을 판매하고 있다. 국내에서 직접 제조하는 이탈리아인 살라미(Italian salame)와 육피 및 지방입자가 큰 이베리코 살치존 슬라이스(Iberico Salchichon Slice), 초리조 살라미(Chorizo Salame) 등이 있고, 발효햄은 목심으로 제조한 코파(Coppa), 스페인 천혜의 자연지역인 엑스트라 마두리에서 방목된 상태 그대로 도토리를 먹고 자란 최고급 세르도 이베리코 돼지(흑돼지)로 만든 하몽(6000원/10g)과 스페인의 최급 세르도 이베리코 돼지(흑돼지, 3500원/10g), 몬테사노 전용목장에서 정성스럽게 키운 돼지(일반돼지)로 만든 스페인 정통하몽(2000원/10g)이 있다. 현재 성남시 분당구, 서울시 강남구, 수원시 영통구 등 고급스러운 제품에 대한 거부감이 없는 곳에 매장이 있다.

또한, 고급스러움을 추구하고 수입 식품류를 다양하게 취급하고 있는 신세계 SSG 마켓에서도 다양한 수입산 살라미, 초리조 제품과 발효햄 제품을 판매하고 있었다. 주변에 후추가 토핑된 Romano salame slice(미국산), 스페인산인 살치천(Salchichon)과 초리조(Chorizo), 헝가리산 파프리카 소시지 등이 있으며, 목심으로 만든 발효햄인 코파(Coppa), 후지로 만든 프로슈토(Prosciutto, Italian cured ham), 하몽(Jamon, Spain dry cured ham), 삼겹살로 만든 판세타(Pancetta, Dry cured bacon) 등 다양하게 판매되고 있다.

대형마트인 이마트, 홈플러스, 코스트코 등에서도 일반 소비자들에 잘 맞는 제품들을 수입해서 판매하고 있다. 이마트는 직경 14 mm 케이싱에 충전하여 스틱형으로 건조/발효시킨 페퍼로니 핫로켓, 핫트위기살라미, 마일드 살라미 등을 호주에서 수입하여 판매하고 있으며, 홈플러스에서는 구르메 살라미 슬라이스(스페인산), 코스트코에서는 밀라노 살라미(Milano Salame) 등이 주로 판매되고 있다. 또한, CJ올리브영에서도 밀라노 살라미, 제노아 살라미, 로마노 살라미 등 다양한 맛을 가진 제품들을 판매하고 있다. 그 외에도 현대백화점, 신세계백화점, 롯데백화점 등 미국, 스페인, 이탈리아 등에서 수입한 발효육제품이 다양하게 판매되고 있다. 사회복지법인 ‘평화의 마을’에서 만드는 ‘제주맘 소시지’는 항생제, 유전자 변형 농산물(GMO), 보존료와 인공조미료, 인공색소, 증량제, 아질산나트륨 등을 사용하지 않고 자연에서 빌려올 수 있는 식재료로 만들며 어디서, 누가, 어떻게 만들었는지에 대한 분명한 이력서를 제품마다 지니고 있다. 샌드위치에 들어가는 제주맘의 살라미는 익히지 않고 직접 담근 한식 간장으로 흑돼지와 한우를 발효시켜 항산화 효소와 아미노산이 다량 함유되어 있는 제품이다.

2016년 산청군의 특산품인 산청흑돼지와 한방약초를 원료로 한 친환경 한방발효육제품 ‘산청발효생햄’ 제조기법이 특허 등록되는 등 각 지방자치단체에서 다양한 시도를 하고 있으며, 농촌진흥청은 전통 양념과 채소 등을 활용한 육제품121종의 제조법을 개발해 기술 보급에 나섰다. 그 중 발효육제품으로는 고추장, 청양고추, 마늘 등 전통 양념을 이용한 발효소시지류 제조법 5종과 발효햄류 제조법 5종이다(이투데이, 2015. 11.).

이상과 같이 향후 국내 발효소시지 성장가능성에 대한 예측이 필요한 시점으로 보이며, 발효소시지의 상품화 및 성공적인 시장안착을 위해서는 소비자에게 가깝게 다가가기 위한 방안을 맛 뿐만 아니라, 다양한 요리로 활용할 수 있는 방안에 대해서도 다각적으로 연구할 필요가 있다.

<그림 3-3> 국내 발효소시지 관련 시장 동향

▪ 독일식 프리미엄 메쯔거라이 샵의 성장



<어반나이프>

<존쿱델리미트>

<그릭슈바인>

▪ 대기업 중심의 수입식품 판매처의 증가



<신세계 SSG마켓>

<현대백화점 식품관>

<롯데백화점 식품관>

라. 시중 유통되는 발효소시지의 품질특성에 관한 연구

(1) 유통제품 조사 방법 및 타겟제품 선정

(가) 유통 제품 조사 및 선호도 조사

2015년 2월 시중 유통되는 발효소시지를 6개의 주요 판매처를 통해 구입하였다(표 3-4). 존쿱델리미트 압구정점에서 이탈리아산 살라미(Italian salami)와 이베리코 살치촌 슬라이스(Iberico salchichon slice) 2종, 어반나이프 강변점에서 양장 살라미(Sheep casing salami), 돈장 살라미(Pork casing salami), 초리조 돈장 살라미(Chorizo pork casing salami) 3종, 신세계 SSG 청담점에서 로마노 살라미 슬라이스(Romano salami slice), 살치촌 엑스트라(Salchichon extra), 초리조(Chorizo pamprola), 파프리카 소시지(Paprika Kolbasz) 4종, 이마트에서 페퍼로니 핫로켓(Peperoni hot rocket), 핫트위기살라미(Hot twiggy salami), 마일드 살라미(Striker mild salame) 3종, CJ 올리브영 제일제당센터점에서 밀라노 살라미(Milano salame), 제노아 살라미(Genoa salame), 핫소프레세타 살라미(Hot sopressata salame), 로마노 살라미(Romano salame) 4종, 코스트코에서 밀라노 살라미(Milano salame) 1종을 구입하였다. 이상과 같이 시중 유통중인 17종의 제품을 각 판매처에서 수거하였고, 각 제품의 특징을 분석하였다.

이들 17종 제품 중 가장 한국인의 입맛에 맞는 제품 4종을 선택하기 위해 훈련된 연구원 25명을 대상으로 기호도에서 가장 좋은 제품을 1인당 3품목씩 선택하도록 하였다. 그 중 가장 선호도가 높았던 4품목을 선정하였고 이들에 대한 품질 특성을 분석하였다.

(2) 실험방법

(가) 일반성분 및 염도 분석

시료의 일반성분 정량은 AOAC 법(2000)에 따라 수분함량은 105℃ 상압건조법(FSJ-785D, Jisico, Seoul, Korea), 조단백질 함량은 Kjeldahl 법(Kjeltec 8400, Foss, Hillerød, Denmark), 조지방 함량은 Soxhlet 법(2050 Soxtec Avanti Extract Unit, Foss, Höganäs, Sweden), 조회분 함량은 550℃에서 직접회화법(F62730-26, Thermo Scientific, IA, USA)으로 분석하였다.

염도는 도가니에 시료를 1~2 g 취하여 HOT PLATE 을 이용하여 1차 탄화한 후 550℃ 회화로(Thermo Scientific)에서 4 시간 회화하였다. 도가니를 냉각하고 잔류물을 증류수로 용해하여 500 mL 플라스크로 옮겨 채운 후 Whatman 여과지 No. 2 를 이용하여 여과하고 여액 10 mL 에 중크롬산칼륨 시액 2~3 방울을 가한 후 0.02 N-AgNO₃ 으로 적정하였다.

$$\text{염도}(\%) = \frac{\text{적정에 소비된 } 0.02 \text{ N AgNO}_3 \text{ 용액의 양(mL)}}{\text{검사시료 채취량(g)}} \times f \times 5.845$$

f : 0.02 N-AgNO₃ 역가

(나) pH 및 수분활성도 측정

pH는 잘게 다진 시료 20 g 과 증류수 80 mL 를 비닐팩에 넣고 균질기를 이용하여 2분 동안 균질한 후 pH meter(Orion 3 star, Thermo electron corporation, MA, USA)로 측정하였다.

수분활성도는 잘게 다진 시료를 칭량기에 5 g 의 샘플을 넣고 25±1° C 조건에서 수분활성도 측정기(RTD-200, Nobasina, Pfaffikon, Switzerland)에 넣은 후 평형이 될 때까지 기다린 후 값을 측정하였다.

(다) 지질산패도(2-thiobarbituric acid) 측정

Thiobarbituric acid(TBA)의 측정은 Tarladgis 등(1960)의 방법을 이용하였다. 시료 10 g, 증류수 50 mL 과 BHT 0.2 mL 을 첨가하여 균질화한 후 TBA 수기에 47.5 mL 증류수와 4 N HCl 2.5 mL 를 함께 넣은 후 증류기를 이용하여 증류액을 50 mL 를 포집하였다. 포집된 증류액 5 mL 과 TBA 시약 5 mL 를 시험관에 넣어 섞어준 후 100℃에서 30 분간 반응시켜준다. 반응이 끝난 시험관은 방냉 후 538 nm 에서 흡광도를 측정하여 계산하였다.

$$\text{TBA value (mg of malonaldehyde / 1 kg of meat)} = \text{측정값(O.D.)} \times 7.8 \text{ (factor)}$$

(라) 단백질변패도(volatilic basic nitrogen, VBN) 측정

단백질 변패 정도를 조사하기 위하여 휘발성 염기태질소 화합물 분석을 Conway 미량 확산법(Pearson, 1968)을 변형하여 측정하였다. 10 g 의 시료를 취한 뒤 증류수 약 90 mL 를 가하여 균질기로 최고 75,000 rpm 에서 1분간 균질화 시킨 후 여과지(whatman No. 1, Whatman™, Maidstone, England)를 이용하여 여과하였다. 여과액 1 mL 를 Conway 외실 외쪽에 넣고 50% K₂CO₃ 1 mL 를 외실 오른쪽에 넣은 후 내실에는 0.01 N H₃BO₃ 1 mL 와 500 μL 지시약(0.066% Methyl red in ethanol: 0.066% Bromocresol green in ethanol = 1: 1)을 넣은 후 글리세린을 바른 뚜껑을 닫은 후 외실의 샘플과 K₂CO₃ 용액을 반응시켰다. 반응시킨 후 37℃ 의 배양기에서 120 분간 반응을 촉진시켰다. 반응이 촉진된 Conway 의 뚜껑을 열어 빠른 시간 안에 0.01 N HCl 을 넣어 중화될 때까지 소모되는 양을 측정하여 계산하였다. 공시료는 시료 대신 증류수를 가하여 같은 방법으로 측정하였다. 계산식은 다음과 같다.

$$\text{VBN(mg\%, mg/100g)} = 0.28 \times (b-a) \times F \times 100 / 0.1 / 1000$$

a: sample mL(0.01 N HCl 용액)

b: blank mL(0.01 N HCl 용액)

F: 0.01 N HCl factor value

(마) 유산균수 측정 및 동정

시료 10 g 과 멸균한 0.1%(w/v) peptone 용액 90 mL 를 멸균백에 넣고, stomacher (Laboratory blender 400, Seward Co., West Sussex, UK)로 high speed 에서 1 분 동안 균질한 후 1 mL 를 채취하여 0.1%(w/v) peptone 용액에 적정 희석 비율까지 희석하였다. 이후 젖산균수를 측정하기 위해 희석액을 0.02%(w/v) sodium azide 를 첨가한 *Lactobacilli* MRS agar(Difco, BD biosciences, MI, USA)에 접종하여 37°C 에서 72 시간 동안 배양하였다. 최종 결과는 colony 가 30-300 개인 희석 배수에서 계수한 후 시료 1 g 당 Log CFU 로 산출하였다. 배양된 유산균은 API CHL kit(BioMérieux, Marcy-l'Etoile, France)를 사용하여 동정하였다.

(바) 관능평가

관능검사는 연구원 25 명을 대상으로 시료의 특성 및 목적을 설명하고 각각의 세부항목에 대한 기준이 확립될 때까지 훈련한 후 본 실험에 임하도록 하였다. 5 점 기호 척도법을 이용하여 각 발효소시지에 대해 색 및 외관(1=매우 나쁘다, 5=매우 좋다), 풍미(1=매우 나쁘다, 5=매우 좋다), 조직감(1=매우 질기다, 5=매우 연하다), 다즙성(1=즙성이 매우 적다, 5=즙성이 매우 많다), 전체적인 맛(1=매우 나쁘다, 5=매우 우수하다)에 대하여 평점하고 그 평균치를 구하여 비교하였다.

(사) 지방산 조성 분석

지방산 분석은 Folch 등(1957)의 방법에 따라 추출된 지방으로 분석에 이용하였다. 20 mg의 지질을 플라스크에 넣고 reflux관에 장착한 이후 10 mL 2 mM NaOH in methanol을 첨가하여 10분간 가열하여 비누화 과정을 거쳤으며, 이후 4% H₂SO₄ in methanol을 3 mL 가한 후 20분 동안 가열하면서 5분마다 vortexing을 실시하여 methylation을 시켰다. 방냉 이후 1 mL hexane 을 가하여 지방산을 추출하고이를 FID(flame ionization detector)가 장착된 GC(Agilent6890, Agilent Technologies Inc., Palo Alto, CA, USA)로분석하였다. 분석조건은 column은 SP-2560(100 m×0.25mm I.D., 0.20 μm)를 이용하여 측정하였으며, 오븐온도는80oC에서 단계 승온하여 200oC까지 측정하였으며, injection및 detector온도는 250oC 였으며, 이동상은 helium으로 20cm/s로 흘러주었으며, split ratio는 100:1로 1 μL 시료를 주입하여 분석하였다. 지방산 정량은 FAME(fatty acid methylester) standard 물질을 이용하여 동일 retention time을 확인하여 분석하였다.

(아) 통계분석

통계분석은 SAS program(Statistics Analytical System, ver. 9.12, SAS Inst., Cary, NC, USA)의 GLM (General Linear Model) procedure 를 통하여 분석하였고, 처리구간의 평균간 비교는 Duncan 의 다중검정을 통하여 유의성 검정(p<0.05)을 실시하였다.

<표 3-4> Fermented sausages collected from domestic market

No.	Store	Product name	Country of origin	Maker	Weight / Price
1	E-mart	Peperoni Hot Rocket	Australia	Hans Continetal Smallgoods PTY LTD.	90 g / 5,480 ₩
2		Hot twiggy salami	Australia		90 g / 4,980 ₩
3		Striker mild salame	Australia		90 g / 5,480 ₩
4	Urban Knife	Sheep casing salami	Korea	Urban Knife	100 g / 6,400 ₩
5		Pork casing salami	Korea		100 g / 6,400 ₩
6		Chorizo salami	Korea		100 g / 6,400 ₩
7	Johncook Delimeats	Italian salame	Korea	S-food	50 g / 4,500 ₩
8		Iberico salchichon slice	Spain	Not detected	100 g / 13,680 ₩
9	CJ Oliveyoung	Milano salame	USA	John Volpi & Co.	226 g / 13,500 ₩
10		Genoa salame	USA		226 g / 13,500 ₩
11		Hot Sopressata	USA		227 g / 16,500 ₩
12		Romano Salame	USA		226 g / 16,500 ₩
13	COSTCO	Milano salame	USA	Citterio	227 g / 11,070 ₩
14	Shinsegae SSG market	Romano Salami slice	USA	John Volpi & Co.	113 g / 12,000 ₩
15		Salchichon extra	Spain	Embotits Espina S. A.	100 g / 12,000 ₩
16		Chorizo pamprola	Spain		90 g / 10,500 ₩
17		Paprika Kolbasz	Hungary	Pick Szeged ZRT	250 g / 14,400 ₩

(3) 실험결과

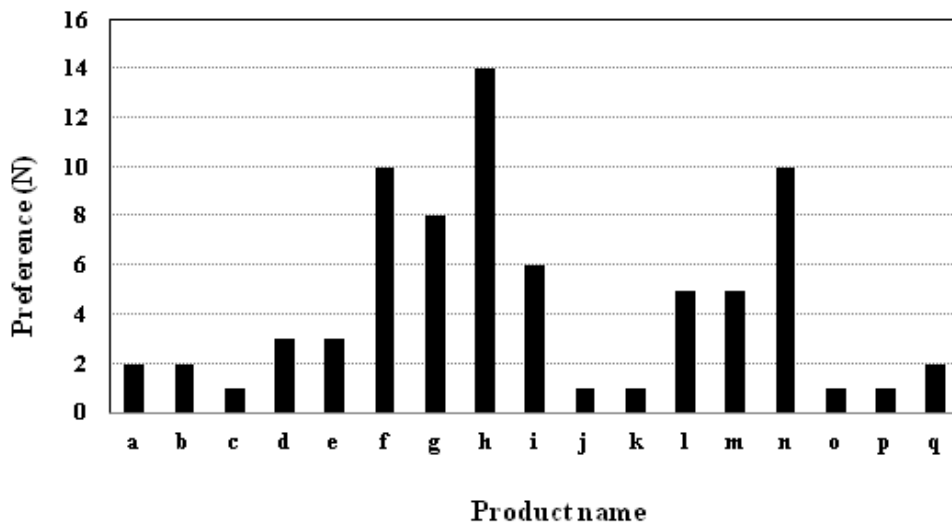
(가) 시중 유통제품 조사 결과 및 타겟 제품 선정

국내 시장에서 유통되는 발효소시지의 대부분은 수입을 통해서 판매가 되고 있다. 17종 중 국내에서 제조되는 제품은 존콕 델리미트의 이탈리아인 살라미(Italian salami), 어반나이프의 양장 살라미, 돈장 살라미, 초리조 돈장 살라미 4종이다. 수입되는 제품들은 주요 제조국이 미국, 헝가리, 스페인, 호주 등에서 수입이 되고 있으며, 직경은 18-70 mm 까지 다양한 규격의 형태를 지니고 있다. 직경에 따라서 얇은 스틱형태로 간단하게 간식형태로 먹을 수 있는 제품으로 진공포장되어 있거나 얇게 슬라이스되어 샌드위치나 샐러드용으로 활용할 수 있도록 한장씩 포개어져 진공포장되어 있는 제품, 소시지형태로 그대로 진공포장된 형태 등 다양하다. 외관은 지방입자를 2 mm 크기로 작게 커팅하거나 10 mm 크기로 굵게 커팅한 제품도 있다. 원료는 주로 돈육을 사용하나, 일부 제품에는 우육도 사용되고 있으며, 소금, 설탕 등 기본적인 맛을 내는 부재료 외에도 마늘, 후추 등의 향신료, 아질산나트륨 및 발효에 사용하는 스타터(starter culture)가 첨가되어 있었다. 일반적으로 발효소시지의 주재료는 고기와 지방이며, 이외에 중요한 첨가물로는 미생물을 위한 탄소원이 될 당분(sugar), 염지제(curing agent), 향신료(spices), 스타터(starter culture) 등이 있다(Kunz & Lee, 2003).

각 발효소시지의 선호도를 조사 결과는 <그림 3-4>에 나타내었다. 선호도 조사 결과, 4종의 제품을 선정하였다. 이베리코 살치촌 14명, 초리조 돈장 살라미, 로마노 살라미 슬라이스 10명, 이탈리아인 살라미 8명으로 나타났다. 이베리코 살치촌은 좋은 육종을 사용하여 만들어 맛품질이 좋으며, 육피 및 지방입자가 커 외관이 좋아 보인다는 평가를 받았고, 초리조

돈장살라미는 매운맛이 특징으로 천연장을 사용하여 제조함으로써 수제외관 형태로 고급스러워 보이고 한국적인 맛에 가깝다는 평가를 받았다. 로마노 살라미 슬라이스는 발효향이 좋으며, 주변에 후추가 토핑되어 있어 외관상 고급스러워 보이고 매운맛은 적당하여 좋은 평가를 받았다. 이탈리아 살라미는 전반적으로 마일드한 맛으로 발효향이 강한 살라미의 특징상 부담되지 않는 맛이었으며, 은은한 향과 고소한 향으로 무난한 평가를 받았다.

위와 같이 발효소시지의 제조방식은 지역마다 차이가 있으며, 기후 및 환경에 따라 제품의 풍미가 차이가 난다. 이런 결과를 토대로, 한국인의 입맛에 적합한 제품 개발을 위해서는 이국적인 향이 너무 강하거나, 산패취가 강하거나, 발효가 너무 많이 되어 거부감이 발생하지 않도록 원료육부터, 사용하는 부재료 및 스타터와 발효조건 등의 최적화가 필요할 것으로 보인다.



<그림 3-4> Results on preference of fermented sausages purchased on the domestic market.

* Product name: a. Peperoni Hot Rocket; b. Hot twiggy salami; c. Striker mild salame; d. Sheep casing salami; e. Pork casing salami; f. Chorizo salami; g. Italian salame; h. Iberico salchichon slice; i. Milano salame; j. Genoa salame; k. Hot Sopressata; l. Romano Salame; m. Milano salame; n. Romano Salami slice; o. Salchichon extra, p. Chorizo pamprola; q. Paprika Kolbasz

(나) 선정된 4 종의 유통제품에 대한 품질 특성 비교

이베리코 살치촌, 초리조 돈장 살라미, 로마노 살라미 슬라이스, 이탈리아 살라미에 대해 각각의 품질 특성을 비교하였다.

① 일반성분 및 염도 비교

<표 3-5>는 4 종의 시중 유통 제품에 대한 일반성분 및 염도를 분석한 결과이다. 수분함량은 28.25-40.71%로 나타났으며, 단백질함량은 22.24-27.69%, 지방함량은 22.48-30.49%, 회분함량은 3.04-5.43%, 염도는 2.01-3.96%의 범위로 폭넓게 나타나 각 제품에 따라 다양한 것을 볼 수 있었다. 특히, 지방입자가 커서 지방이 많아 보이는 이베리코 살치촌은 수분함량이 가장 낮은 반면, 지방함량과 단백질 함량이 높게 나타났으며, 초리조 돈장살라미와 로마노 살라미의 경우 수분함량이 가장 높고 단백질함량과 지방함량은 낮게 나타났다($p < 0.05$). 염도 또한 수입산인 로마노 살라미와 이베리코 살치촌이 국내산보다 높은 경향을 보였다($p < 0.05$).

Park 등(1997)은 다양한 starter culture 를 사용하여 제조한 발효소시지의 수분함량은 약 41.9-42.5%, 단백질은 27.8-31.2%, 지방은 21.4-24.3%, 염도는 4.4-5.0%를 나타내었다고 보고하였다. Ordonez 등(1999)은 발효소시지의 지방함량은 25~55% 정도로 나타났다고 보고하였으며, Wirth(1988)는 일반적으로 건조발효소시지의 경우 제조 시 약 32%의 지방을 첨가하고 4 주 후 숙성이 종료되면 약 40-50%의 지방을 함유한다고 보고하였다. 이처럼 발효소시지의 수분과 지방함량은 건조 조건과 시간에 따라 달라질 수 있으며(Kim 등, 2008), 발효소시지의 일반성분은 종류 및 국가별도 그 특징에 따라 다양함을 알 수 있다.

<표 3-5> Proximate compositions of four fermented sausages purchased on the domestic market

Parameters (%)	Products			
	Chorizo salami	Romano Salame	Italian salame	Iberico salchichon
Water content	40.20±3.67 ^a	40.71±3.98 ^a	38.44±3.77 ^b	28.25±3.01 ^c
Protein content	22.24±2.67 ^b	23.13±2.78 ^b	27.90±2.99 ^a	27.69±3.01 ^a
Fat content	25.09±3.04 ^{ab}	22.48±2.87 ^b	25.84±3.88 ^{ab}	30.49±3.05 ^a
Ash content	3.04±0.51	5.06±0.65	4.87±0.45	5.43±0.65
Saltinity	2.01±0.25 ^c	3.87±0.35 ^a	3.18±0.33 ^b	3.96±0.38 ^a

All values are mean±standard deviation of three replicates.

^{a-c} Means within a row with different letters are significantly different (p<0.05).

② pH 및 수분활성도 비교

<표 3-6>은 4종의 시중 유통 제품에 대한 pH와 수분활성도를 분석한 결과를 나타낸 것이다. pH는 4.90-5.14, 수분활성도는 0.80-0.88의 범위를 나타내어 일반성분과 같이 제품간의 편차가 큰 것을 확인할 수 있었다. 이것은 각각의 제품 특성이 제조공정 및 제품형태에 따라 다르다는 것을 나타내는 것이다. 국내에서 제조한 초리조 살라미와 이탈리아 살라미의 pH는 4.90으로 이베리코 살치춘 제품에 비해 낮게 나타났다(p<0.05). 수분활성도는 이베리코 살치춘이 다른 제품들에 비해 0.80으로 낮게 나타났다(p<0.05). 이 결과를 토대로 보았을 때, 연구원의 선호도에서도 가장 높게 나타났던 이베리코 살치춘이 pH가 높아 신맛이 적으며, 수분함량이 낮고 지방함량이 높아 전체적인 기호도 측면에서 좋은 평가를 보인 것으로 사료된다.

발효 소시지의 pH는 일반적으로 숙성 초기 젖산균의 발효에 의해 젖산이 생성되어 일정기간 동안 지속적으로 감소되며(Lücke, 1994), 이후 미생물의 단백질 분해 작용에 의한 펩타이드, 아미노산, 암모니아의 생성으로 인해 약간 상승하는 경향을 보인다(Klettnerand & List, 1978). 또한 산성의 pH가 발효 소시지 특유의 색깔 발현과 풍미의 형성뿐만 아니라, 유해 미생물의 억제에 매우 중요한 역할을 하며 18° C 이상에서 발효시 pH가 5.3 미만으로 단시간 내에 감소시켜 병원성 식중독균을 억제할 수 있다(Lücke, 1994). 여러 연구 논문들에 따르면, 이탈리아 발효 소시지의 경우 pH 5.62-5.73(Comi 등, 2005), 터키 발효 소시지의 경우 pH 4.72-4.82(Hampikyan & Ugur, 2007), 김치 발효 소시지는 pH 4.30-4.33(Kang 등, 2012)으로 나타났다.

<표 3-6> Physicochemical properties of four fermented sausages purchased on the domestic market

Parameters	Products			
	Chorizo salami	Romano Salame	Italian salame	Iberico salchichon
pH	4.90±0.41 ^b	4.97±0.53 ^{ab}	4.90±0.64 ^b	5.14±0.55 ^a
Water activity	0.88±0.09 ^a	0.88±0.09 ^a	0.88±0.08 ^a	0.80±0.09 ^b
TBA (mg/kg)	2.10±0.26 ^{bc}	1.95±0.24 ^c	2.30±0.25 ^b	3.18±0.33 ^a
VBN (mg%)	2.31±0.33 ^c	3.54±0.43 ^a	3.18±0.42 ^{ab}	2.97±0.38 ^b

All values are mean±standard deviation of three replicates.

^{a-c} Means within a row with different letters are significantly different (p<0.05).

③ 지질 산패도(TBA) 및 단백질 변패도(VBN) 비교

4종의 시중 유통 제품에 대한 지질산패도 및 단백질 변패도를 분석한 결과는 <표 3-6>에 나타내었다. 지질 산패도는 1.95-3.18 mg/kg으로 나타났으며, 지방함량이 높은 이베리코 살치촌이 3.18 mg/kg으로 지방함량이 적은 로마노 살라미보다 유의적으로 높게 나타났으나 (p<0.05), 지방 산패취는 발생하지 않았다. 단백질 변패도는 2.31-3.54 mg%로 나타났으며, 로마노 살라미가 가장 높았고, 이탈리아 살라미, 이베리코 살치촌, 초리조 살라미의 순으로 낮게 나타났다(p<0.05)

Turner 등 (1954)은 지방산패와 관능검사는 유의적인 관계가 있으며, 육에서 TBA 수치가 0.46 mg/kg 이하까지는 가식권으로 인정하고 1.2 mg/kg 이상일 때는 부패된 것으로 인정할 수 있다고 하였다. 또한 Brewer 등(1992)은 TBA 수치가 4.0 mg/kg 이상은 완전 산패된 것으로 평가하였다. 대표적으로 북유럽 및 남유럽 발효 소시지의 경우 0.04-0.30 mg MA/kg sausage(Zanardi 등, 2004), 네덜란드 발효 소시지의 경우 약 0.5-1.0 mg MA/kg sausage(Pelser 등, 2007), 터키 발효 소시지의 경우 약 0.9 mg MA/kg sausage(Bozkurt, 2006) 수준의 TBA 값을 나타내었으며, 이들 제품들이 장시간 발효하면서 비교적 낮은 수준의 지방산화물을 함유했던 이유는 강력한 항산화 효과를 가진 질산염, 아질산염, 복합 인산염, ascorbic acid 등의 첨가물을 제조에 이용했기 때문이다(Kang SM 등 2012). 본 연구에서 나타난 4종의 제품 역시 저장 중 발생하는 품질변화가 아직까지는 나타나지 않은 것으로 보인다.

④ 유산균수 측정 및 동정

타겟 제품별 사용된 스타터에 대한 분석 결과는 <표 3-7>에 나타내었다. 유통중인 제품들의 유산균수는 4.8×10^6 cfu/g에서 1.6×10^7 cfu/g으로 나타나 백만마리 이상의 많은 유산균을 함유하고 있는 것을 확인할 수 있었다. 탄소원의 이용성 차이로 동정하는 생화학적 방법인 API CHL kit로 1차 동정을 하였다. 이들 유산균을 동정한 결과, 돈장 초리조 살라미와 살치촌 이베리코 살라미는 *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus brevis*의 lactic acid bacteria 계열이었으며, 로마노 살라미 슬라이스와 이탈리아 살라미는 *Staphylococcus carnosus*의 color fixing and flavor producing bacteria 계열이었다.

일반적으로 문헌상의 발효소시지에 대한 유산균수는 그리스 발효소시지 8.4 Log CFU/g (Papamanoli 등, 2003), 이탈리아 발효소시지 8.3-8.6 Log CUF/g(Comi 등, 2005) 및 터키 발효소시지 7.0-7.3 Log cfu/g(Hampikyan & Ugur, 2007)로 나타났다. 지금까지 발효소시지에 이용되

는 스타터 미생물로는 *Pediococcus* SP. (Deivel & Niven, 1957), *Lactobacillus* sp.(Coretti, 1977), *Micrococcus* sp.(Nurmi, 1966), *Staphylococcus* sp.(Rheinbaben & Hadlok, 1979) 등이며, 단일종 또는 2종 이상의 혼합 균주로 발효소시지 제조에 이용되고 있다. 특히 구체적으로는 *Pediococcus acidilactis*나 *Lactobacillus plantarum*이 최근까지 대표적인 스타터 유산균으로서 발효소시지의 제조에 이용되어 왔다(Gokalp & Ockerman, 1985). 따라서, 산업화된 발효소시지 제조에 필요한 스타터는 산도 조절 기능 및 풍미 생성 기능을 포함한 혼합된 starter가 필요할 것으로 보인다.

<표 3-7> Lactic acid bacteria count and the scientific names of bacteria isolated from four fermented sausages purchased on the domestic market

Products	Lactica acid bacteria (cfu/g)	Scientific name
Chorizo salami	4.8×10 ⁶	<i>Lactobacillus plantarum</i>
Romano Salame	4.3×10 ⁶	<i>Staphylococcus carnosus</i>
Italian salame	5.1×10 ⁶	<i>Staphylococcus carnosus</i>
Iberico salchichon slice	16.0×10 ⁶	<i>Lactobacillus brevis</i>

⑤ 관능평가 결과

<표 3-8>는 선정된 4종의 발효소시지에 대한 관능평가 결과를 나타낸 것이다. 외관 및 색의 경우 이베리코 살치춘 살라미는 육과 및 지방입자가 커 외관이 고급스러워서 좋아 보인다는 평가를 받았고, 초리조 돈장 살라미는 천연장을 사용하여 제조함으로서 직접 수제로 만든 것과 같아서 좋은 평가를 받았다. 또한 로마노 살라미는 주변에 후추가 토핑되어 있어 고급스러워서 좋은 평가를 받았으며 국내에서 제조된 이탈리아 살라미는 지방입자가 작고 고르게 분포되어 있어 문안한 평가를 받았다(p>0.05). 풍미는 전반적으로 발효소시지 특유의 발효향이 느껴져 제품간의 유의차가 나타나지 않았다(p>0.05). 조직감은 발효와 건조도에 따라서 제품간의 차이가 일부 있었으나 관능적인 부분에서 유의적인 차이가 나타나지 않았다(p>0.05). 그러나 다즙성은 수분함량이 높았던 초리조 살라미와 로마노 살라미가 다른 2가지 제품에 비해 더 좋은 평가를 나타내었다(p<0.05). 전반적인 평가에서 이베리코 살치춘은 고급스러운 외관과 식감 및 발효 풍미가 좋고, 초리조 돈장살라미는 매운맛이 특징으로 천연장을 사용하여 제조함으로서 한국적인 맛에 가깝다는 평가를 받았다(p<0.05). 이탈리아 살라미 역시 전반적으로 마일드한 맛으로 발효향이 강한 살라미의 특징상 부담되지 않는 맛이었으며, 은은한 향과 고소한 향으로 무난한 평가를 받았다. 로마노 살라미 슬라이스는 매운맛은 적당하여 좋은 평가를 받았으나 다른 제품들에 비해 낮은 평가를 보였다(p<0.05).

Kunz 와 Lee(2003)의 보고에 따르면, 각 국가마다 선호하는 발효소시지의 특징이 다른데 각각 특징에 맞는 스타터를 다양하게 사용하고 기후 및 환경에 따라 제품의 풍미도 차이가 난다. 주로 높은 온도(30-45 °C)에서 짧은 시간 동안 발효시켜 신맛이 강한 소시지를 생산하는 것을 선호하는 미국의 경우, *Pediococcus acidilactici*와 같은 젖산균을 스타터로 이용하며, 유럽지역에서는 장기간의 숙성을 통해 맛과 향이 발달하고 pH 저하 또한 천천히 일어나는 것을 선호한다. 이처럼 각 국가마다 성향이 다르기 때문에 이런 결과를 토대로, 한국인의

입맛에 적합한 제품 개발을 위해서는 원료육부터, 사용하는 부재료 및 스타터와 발효조건 등의 최적화가 필요할 것으로 보인다.

<표 3-8> Sensory properties of four fermented sausages purchased on the domestic market

Parameters	Products			
	Chorizo salami	Romano salame	Italian salame	Iberico salchichon
Appearance	3.99±0.41	3.94±0.53	3.89±0.64	3.97±0.55
Flavor	3.88±0.49	3.86±0.43	3.88±0.39	3.90±0.53
Texture	3.68±0.54	3.66±0.47	3.76±0.41	3.78±0.45
Juiciness	3.80±0.26 ^a	3.85±0.24 ^a	3.50±0.25 ^b	3.48±0.33 ^b
Overall taste	3.93±0.33 ^a	3.74±0.43 ^b	3.86±0.42 ^{ab}	3.95±0.38 ^a

All values are mean±standard deviation of three replicates.

^{a, b} Means within a row with different letters are significantly different (p<0.05).

⑥ 타겟 제품별 지방산 분석 결과

발효소시지의 숙성 중에 육 자체 또는 미생물의 효소에 의하여 아미노산으로부터 일부 풍미 성분이 생성되기도 하지만 주로 지방이 분해되어 저급지방산, ketone, aldehyde 및 alcohol 등의 휘발성 물질을 생성하여 풍미의 증진에 크게 기여하는 것으로 알려져 있다(Halvarson, 1973). 따라서, 발효 초기와 발효 종료 후에 지방첨가에 따른 지방산 조성의 변화에 대해 알아볼 필요가 있다. <표 3-9>는 지방산 조성 분석 결과를 나타낸 것이다. 지방산 조성은 제품마다 차이가 있으나, palmitate, oleic acid, stearate, linoleate, eicosadienoic acid가 주로 많은 비율을 차지하는 것을 볼 수 있었다. Halvarson(1973)은 발효소시지의 제조 직후 formic acid, acetic acid, butyric acid를 검출하였으며, 숙성이 진행됨에 따라 acetic acid의 농도가 증가하였다고 보고하였으며, 불포화 지방산의 2차 분해에 의해 형성된 aldehyde류의 산화에 의해 휘발성 지방산이 생성된다고 보고(Hornstein와 Crowe, 1960)하였다.

<표 3-9> 타겟 제품별 지방산 조성 분석

Component Name	돈장초리조	로마노살라미	이탈리안살라미	이베리코살치존
Methyl octanoate	-	0.00098	-	0.00196
Methyl decanoate	0.00018	0.00055	-	0.00096
Methyl undecanoate	-	0.00023	-	0.00044
Methyl laurate	-	0.00037	-	0.00110
Methyl myristate	0.00136	0.00646	-	0.01383
Myristoleic acid methyl ester	-	0.00000	-	0.01454
Methyl pentadecanoate	-	0.00127	-	0.00305
Cis-10-pentadecanoic acid methyl ester	-	-	-	-
Methyl palmitate	0.01109	0.12302	0.00840	-
Methyl palmitoleate	0.01916	0.00612	-	0.00710
Methyl heptadecanoate	0.00214	0.00383	-	0.00871
Cis-10-heptadecanoic acid methyl ester	0.01963	0.01184	-	0.00453
Methyl stearate	0.01305	0.07147	0.00580	0.12626
Trans-9-elaidic acid methyl ester	0.00722	0.00534	0.00374	0.00741
Cis-9-oleic acid methyl ester	0.01324	0.10545	0.00216	0.08245
Linolelaidic acid methyl ester	-	-	-	-
Methyl linoleate	0.02634	0.01353	-	0.00302
Methyl arachidate	0.00328	0.00391	-	0.00802
Methyl eicosanoate	-	0.00634	-	0.00796
Methyl linolenate	-	0.00191	-	-
Cis-11,14-eicosadienoic acid methyl ester	0.03988	0.01555	-	0.00396
Methyl behenate	-	0.00245	0.04781	-
Cis-8,11,14-eicosatrienoic acid methyl ester	0.01704	-	-	0.00303
Methyl cis-5,8,11,14-eicosatetraenoic acid methyl ester	-	0.00202	0.05654	-
Methyl tricosanoate	-	0.00276	-	0.02050
Methyl lignocerate	0.01397	0.00419	-	0.01632
Methyl cis-5,8,11,14,7-eicosapentaenoate	0.00886	0.00257	0.07660	0.01417
Methyl nervonate	-	0.00381	0.37790	0.01819
Cis-4,7,10,13,16,19-docosahexaenoic acid methyl ester	-	0.00515	-	-

⑦ 개발 제품의 타겟 지표 설정 확정

이상의 타겟 제품 분석 결과를 토대로, 본 과제를 통해 개발하고자 하는 발효소시지의 타겟 지표를 확정하였다.

먼저, 상업적으로 이용가능한 스타터는 앞서 말한 2가지 기능을 포함한 스타터를 선정하였다. Bitec starter LD-20 (Frutarom, Germany)은 lactic acid bacteria 중 *Lactobacillus sakei*와 color and flavor forming bacteria 중 *Staphylococcus carnosus*가 혼합된 상업화된 starter culture로서 이 제품을 선정하였다.

맛 base는 시중에 가장 많이 유통되어 있는 일반적인 살라미인 밀라노 혹은 이탈리아인 살라미, 매운맛이 특징인 초리조 맛과 페퍼로니 타입 등 3종을 선정하여 개발하였다.

발효조건 설정을 위해서는 타겟 제품의 수분활성도와 수분함량, pH를 기준으로 건조 감량은 40%가 될 때까지 발효하였고, 그 때 종료하였다.

2. 상업화된 스타터를 이용한 발효소시지 제조기술 확보

가. 돈육 부위별 이화학적 특성 비교

발효소시지에 있어서 지방함량은 제품의 맛 품질 및 저장 중 지방 산패에 큰 영향을 미친다. 따라서, 돈육 부위별 이화학적 특성을 분석함으로써 발효소시지 제조에 투입하는 지방함량을 조절할 수 있다.

(1) 재료 및 방법

(가) 재료 준비

돼지고기 부위별 원료육은 도체 10두에서 각각 분리해내었고, 후지, 전지, 등심, 안심을 사용하였다.

(나) 일반성분 분석

시료의 일반성분 정량은 AOAC 법(2000)에 따라 수분함량은 105°C 상압건조법(FSJ-785D, Jisico, Seoul, Korea), 조단백질 함량은 Kjeldahl 법(Kjeltec 8400, Foss, Hillerød, Denmark), 조지방 함량은 Soxhlet 법(2050 Soxtec Avanti Extract Unit, Foss, Höganäs, Sweden), 조회분 함량은 550°C 에서 직접회화법(F62730-26, Thermo Scientific, IA, USA)으로 분석하였다.

(다) pH 측정

pH는 잘게 다진 시료 20 g 과 증류수 80 mL 를 비닐팩에 넣고 균질기를 이용하여 2분 동안 균질한 후 pH meter(Orion 3 star, Thermo electron corporation, MA, USA)로 측정하였다.

(2) 실험결과

<표 3-10>은 돈육 부위별 이화학적 특성을 비교한 표이다. 후지와 전지는 비교적 지방이 부위에 많아 7-10% 분포하고 있고, 단백질함량은 19-20%로 나타났다. 등심과 안심은 겉부분의 지방과 결체조직을 제거하고 분석하였을 때, 2-3%의 지방함량과 22-24%의 단백질 함량을 나타내었다. 등심보다 안심의 적색부위가 높아 좀 더 붉고 어두운 제품 제조를 위해서는 안심을 활용하는 것도 좋은 방법으로 보인다.

<표 3-10> 돈육의 부위별 이화학적 특성 비교

구분	수분함량(%)	조지방 함량(%)	조단백질 함량(%)	탄수화물 (%)	회분 (%)	pH
후지	70.67±0.23 ^a	7.21±0.15 ^b	19.93±1.29 ^b	1.19±0.68 ^b	1.01±0.01	6.07±0.71
전지	65.42±2.36 ^b	10.41±2.55 ^a	19.16±1.15 ^b	4.11±1.03 ^a	0.92±0.06	6.25±0.80
등심	72.27±0.26 ^a	3.15±0.35 ^c	22.94±0.70 ^a	0.40±0.11 ^b	1.25±0.03	6.11±0.91
안심	74.61±1.00 ^a	2.53±1.39 ^c	21.38±0.61 ^a	0.27±0.25 ^b	1.22±0.04	6.12±0.71

All values are mean±standard deviation of three replicates.

^{a-c} Means within a row with different letters are significantly different (p<0.05).

나. 발효소시지 3종 배합비 및 제조공정 테스트

(1) 재료 및 방법

(가) 원료 준비 및 계량

원료육과 부재료는 <표 3-11>과 같이 계량하여 준비하였다. 원료육은 지방함량에 맞춰 원료육을 준비하여 3 cm × 3 cm × 3 cm의 큐빅 형태로 잘라 냉동시켜 보관하였다. 해동시 쉽고 빠르게 해동하기 위해 준비하였다. 부재료는 배합비에 맞게 함께 계량하여 준비하였다. 살라미(salame)는 살라미용 시즈닝과 후추를 사용하였고, starter culture를 사용하여 다른 제품에 비해 발효과정 속도를 확인하고자 하였다. 초리조(chorizo)는 초리조용 복합향신료와 그릴향 시즈닝을 사용하여 독특한 풍미를 유지하고자 하였고, 페퍼로니(pepperoni)는 페퍼로니용 시즈닝을 사용하여 특유의 페퍼로니 맛을 구현하고자 하였다.

초핑, 커팅, 믹싱, 충전 설비는 온도가 낮게 유지되도록 아이스를 사용하여 미리 설비 표면 온도를 낮춰놓았다. 또한 표면에 물이 맺혀있지 않도록 깨끗하게 닦아놓았다.

(나) 제조 방법

원료육은 -4° C까지 해동시킨 후 스타터컬처를 제외한 부재료로 일차 혼합(mixing)을 실시하였다. 적당히 섞인 것을 확인하고 초퍼(chopper)에서 3mm 플레이트를 설치하고 분쇄하였다. 온도상승을 막기 위해 3구 플레이트에 나이프 1개만 설치하고 바로 3mm 플레이트를 설치하였다. 분쇄하여 나온 육의 온도는 -2° C정도이며, 스타터를 넣고 지방입자 및 육 입자가 으스러지지 않도록 믹서에서 혼합을 실시하였다. 천연장인 돈장(Ø20~22)을 충분히 수화시켜 놓은 후 일정 중량(150g)으로 충전하였다. 스틱에 걸어 스모크하우스에서 발효 및 건조를 실시하였다. <그림 3-5>는 발효소시지 제조공정을 나타낸 것이다. 발효 조건은 <표 3-12>와 같이 진행하였다. 2일까지는 22-24° C, 90-92% 조건으로 발효하였고, 스모킹 이후 3일차 부터는 15-16° C, 78-80% 조건으로 8일까지 발효를 실시하였다.

(다) 분석 방법

발효기간 동안 수분감량을 측정하였으며, 기존 무게 대비 감소한 무게로 측정하였다. pH는 초기부터 종료시기까지 지속적으로 pH를 분석하였다. 수분활성도 및 수분함량도 분석하여 최적 조건을 측정하였으며, 관능검사를 실시하였다.

pH는 잘게 다진 시료 20 g과 증류수 80 mL를 비닐팩에 넣고 균질기를 이용하여 2분 동안 균질한 후 pH meter(Orion 3 star, Thermo electron corporation, MA, USA)로 측정하였다.

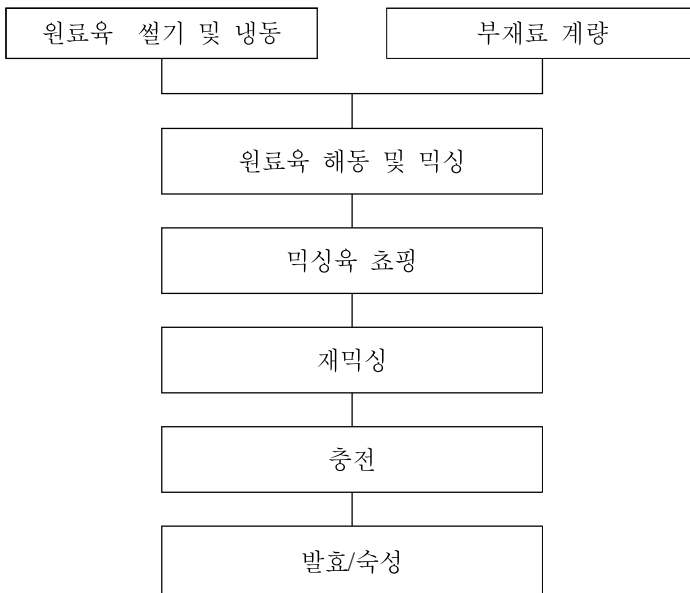
수분활성도는 잘게 다진 시료를 칭량기에 5 g의 샘플을 넣고 25±1° C 조건에서 수분활성도 측정기(RTD-200, Nobasina, Pfaffikon, Switzerland)에 넣은 후 평형이 될 때까지 기다린 후 값을 측정하였다.

수분함량은 AOAC법(2000)에 따라 105° C 상압건조법(FSJ-785D, Jisico, Seoul, Korea)으로 분석하였다.

<표 3-11> 발효소시지 3종 배합비

원료명	Salame (%)	Chorizo (%)	Pepperoni (%)	Temperature (°C)
Pork 90C/L	40.0	40.0	40.0	0
Pork 70C/L	60.0	60.0	60.0	-4
합계	100.0	100.0	100.0	
부재료명	Salame (%)	Chorizo (%)	Pepperoni (%)	
NPS(0.5% nitrite)	2.600	2.400	2.200	
Medditeran spice(살라미용)	0.500	-	-	
S1 spice(복합향신료)	1.000	-	-	
Sodium Ascorbate	0.050	0.050	0.050	
Black pepper 1/16	0.150	-	-	
Starter culture	0.025	-	-	
Corn syrup solid	1.200	1.000	0.700	
G2 spice(복합향신료)	-	1.000	-	
Grill beef seasoning	-	0.200	0.200	
American pepperoni liquid	-	-	0.300	
합계	5.525	4.650	3.450	

<그림 3-5> 발효소시지 제조 공정



<표 3-12> 발효소시지 발효 조건

조건	제조당일	12시간	24시간	스모킹(15분)	48시간	72시간	96시간
온도(°C)	22-24	22-24	22-24	24	22-24	15-16	15-16
습도(%)	90-92	90-92	90-92	-	90-92	78-80	78-80
조건	5일	6일	7일	8일			
온도	15-16	15-16	15-16	15-16			
습도	78-80	78-80	78-80	78-80			

(2) 결과 및 고찰

<표 3-13>은 발효소시지의 발효기간 동안 pH와 감량변화를 나타낸 것이며, <표 3-14>는 수분함량과 수분활성도를 분석한 결과이다. 발효초기 믹싱육의 pH는 살라미가 5.74, 초리조가 5.71, 페퍼로니가 5.63으로 나타났으며, 지속적으로 감소하면서 숙성 8일차에는 5.49, 5.45, 5.55로 각각 나타났다. 발효 숙성 중 감량은 지속적으로 감소하면서 숙성 8일차에 46.49- 48.63%로 50%에 가깝게 감량이 발생하였다. 수분활성도는 0.76 이하, 수분함량은 32.5%이하로 건조육포에 가까운 값을 나타내었다. 관능평가는 너무 건조가 과하게 발생하여 형태가 찌그러지고 딱딱하였다. pH도 떨어지지 않아 발효에 의한 시큼한 맛과 향도 나타나지 않았다.

이런 문제가 발생한 이유는 발효 숙성시 습도가 세팅치보다 실제로 너무 낮아 급속하게 건조가 발생하였기 때문에 발효가 진행되어 pH가 떨어지기 전에 건조만 과하게 발생하였기 때문이다. 과한 건조로 인해 수분활성도는 0.80이하까지 떨어졌으며, 수분함량은 30%로 낮게 나타났다. 한 가지 얻을 수 있었던 것은 이러한 방법으로도 건조육을 만들 수 있다는 것을 발견하였다.

그러나 건조가 많이 일어났지만, 발효는 적당하게 이루어진 것으로 보이며, 시큼한 맛이 부족하여 발효가 덜 된 것으로 느껴졌다. 살라미의 pH가 많이 떨어지지 않은 것은 Starter culture가 본연의 역할을 해주지 못했거나 발효조건이 맞지 않았을 수 있다. 혹은 배합에 사용한 당류인 콘시럽 솔리드가 부족하거나 starter culture가 콘시럽 솔리드를 이용하기 어려운 소재일 수 있다. 초리조는 맛이 밋밋하여 좀 더 매운맛을 강하게 강조할 필요가 있을 것으로 보였다.

일반적으로 살라미는 유산균이 당류를 이용해 증식하면서 pH가 낮아지고, 감량이 일어나면서 수분활성도 값이 서서히 낮아진다. 스타터가 첨가되지 않은 제품(초피조, 페퍼로니)은 공기 중 자연적인 유산균에 의해 발효가 서서히 진행된다. 처음 시작하는 발효소시지의 pH가 중요하며, 감량이 30%가 되는 시점에서 종료하게 되면 pH는 5.4 정도이고, 수분활성도는 0.85 정도이다.

<표 3-13> 발효소시지 3종에 대한 발효기간 중 pH, 감량 변화

구분	제품	당일	12 시간	24 시간	훈연 (15분)	48 시간	72 시간	96 시간	숙성 5일	숙성 6일	숙성 7일	숙성 8일
pH	살라미	5.74	5.72	5.70	5.63	5.59	5.58	5.57	5.55	5.52	5.50	5.49
	초리조	5.71	5.71	5.70	5.64	5.63	5.60	5.54	5.50	5.47	5.46	5.45
	페퍼로니	5.63	5.63	5.61	5.62	5.61	5.62	5.61	5.62	5.61	5.60	5.55
감량 (%)	살라미	0.00	2.50	4.50	7.30	12.40	19.30	23.20	27.80	35.60	41.40	46.68
	초리조	0.00	2.30	4.60	7.60	13.20	21.10	25.10	29.30	37.10	42.80	48.63
	페퍼로니	0.00	2.10	4.30	7.40	13.10	20.10	24.10	27.10	36.90	42.00	46.49

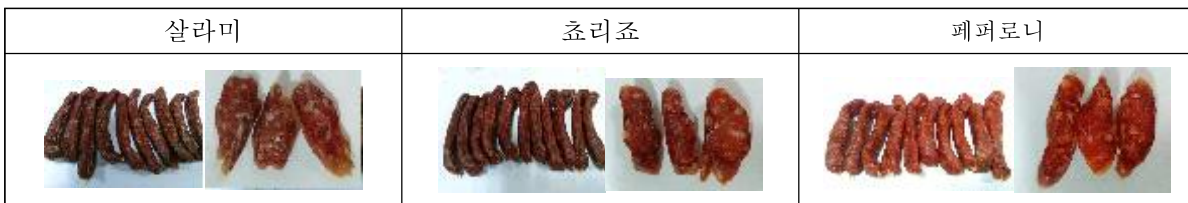
All values are means of three replicates.

<표 3-14> 발효소시지 3종에 대한 발효기간 중 수분활성도와 수분함량 변화

구분	제품	제조당일	숙성8일
수분활성도 (Aw)	살라미	0.963±0.094	0.759±0.089
	초리조	0.961±0.091	0.771±0.073
	페퍼로니	0.958±0.073	0.761±0.084
수분함량(%)	살라미	66.54±4.35	30.99±3.77
	초리조	65.35±3.76	31.12±2.78
	페퍼로니	67.51±4.88	30.95±3.322

All values are mean±standard deviation of three replicates.

<그림 3-6> 발효소시지 3종에 대한 제품 외관



다. 발효소시지 2종 배합비 및 제조공정 테스트

발효소시지 3종 중 페퍼로니는 향이 강하여 살라미와 초리조 2종의 배합을 개발하여 확정하고자 하였다.

(1) 재료 및 방법

(가) 원료 준비 및 계량

원료육과 부재료는 <표 3-15>와 같이 계량하여 준비하였다. 원료육은 지방함량에 맞춰 원료육을 준비하여 3 cm × 3 cm × 3 cm의 큐빅 형태로 잘라 냉동시켜 보관하였다. 해동시 쉽고 빠르게 해동하기 위해 준비하였다. 부재료는 배합비에 맞게 함께 계량하여 준비하였다.

초핑, 커팅, 믹싱, 충전 설비는 온도가 낮게 유지되도록 아이스를 사용하여 미리 설비 표면 온도를 낮춰놓았다. 또한 표면에 물이 맺혀있지 않도록 깨끗하게 닦아놓았다.

(나) 제조 방법

제조방법은 앞서 테스트와 동일한 방법으로 제조하였다. 단지, 충전은 굵기별로 발효조건을 세팅하기 위해 콜라겐케이싱 Ø24번과 화이버스케이싱 Ø40번을 사용하였다.

<표 3-15> 발효소시지 2종 배합비

원료명	Salame (%)	Chorizo (%)	Temperature (°C)
Pork 90C/L	40.0	40.0	0
Pork 70C/L	60.0	60.0	-4
합계	100.0	100.0	
부재료명	Salame (%)	Chorizo (%)	
NPS(0.5% nitrite)	2.600	2.400	
Medditeran spice(살라미용)	0.500	-	
S1 spice(복합향신료)	1.000	-	
Sodium Ascorbate	0.050	0.050	
Black pepper 1/16	0.150	-	
Starter culture	0.025	-	
Corn syrup solid	1.200	1.000	
G2 spice(복합향신료)	-	1.000	
Grill beef seasoning	-	0.200	
합계	5.525	4.650	

(2) 결과 및 고찰

콜라겐 케이싱으로 제조한 제품의 조직을 봤을 때, 스타터가 첨가된 제품이 좀 더 안정적으로 발효가 이루어졌으며, 발효과정 중 설비가 갑자기 온도가 상승되어 화이버스케이싱 충전 제품은 지방이 녹아 내려 품질이 떨어졌다. 살라미는 신맛이 적절한 수준이며, 호불호가 있을 것으로 예상되며, 초리조는 내부까지 건조 발효가 안되어 생고기 상태로 이루어졌으며, 매운맛이 부족하였다.

전반적으로 발효공정이 안정되지 않아 품질에 문제점이 나타나 테스트할 수 없어 다시 재테스트를 통해 공정 확정하고자 하였다.

라. 발효소시지 2종 배합비 및 제조공정 테스트

발효공정을 다시 세팅하고 이에 따라 살라미와 초리조 2종의 배합을 개발하여 확정하고자 하였다.

(1) 재료 및 방법

(가) 원료 준비 및 계량

원료육과 부재료는 <표 3-16>과 같이 계량하여 준비하였다.

(나) 살라미 제조 방법

<그림 3-7>은 발효소시지 제조공정을 나타낸 것이다. 원료육은 -4℃까지 해동시킨 후 스타터 컬처를 제외한 부재료로 일차 혼합(mixing)을 실시하였다. 적당히 섞인 것을 확인하고 초퍼(chopper)에서 3mm 플레이트를 설치하고 분쇄하였다. 온도상승을 막기 위해 3구 플레이트에 나이프 1개만 설치하고 바로 3mm 플레이트를 설치하였다. 분쇄하여 나온 육의 온도는 -2℃ 정도이며, 스타터를 넣고 지방입자 및 육 입자가 으스러지지 않도록 믹서에서 혼합을 실시하였

다. 충전은 제형(제품의 굵기)에 따라 콜라젠케이싱(Ø18 mm), 천연장인 돈장(Ø26~28 mm), 화이브러스케이싱(Ø40 mm)을 충분히 수화시켜 놓은 후 일정 중량(150g)으로 충전하였다. 스틱에 걸어 스모크하우스에서 발효 및 건조를 실시하였다. 발효 조건은 <표 3-17>과 같이 진행하였다. 2일까지는 22-24℃, 90-92% 조건으로 발효하였고, 스모킹 이후 3일차 부터는 15-16℃, 78-80% 조건으로 8일까지 발효를 실시하였다.

(다) 초리조 제조 방법

원료육은 -4℃까지 해동시킨 후 커터(cutter)에서 저속으로 2분간 3mm 규격으로 커팅을 실시하였다. 소금, 향신료, 스타터 킬처 동시에 넣고 분산시키면서 2mm 입자로 커팅을 실시한다(-3℃). 충전은 살라미와 동일하게 수행하였다.

* 발효시 주의 사항

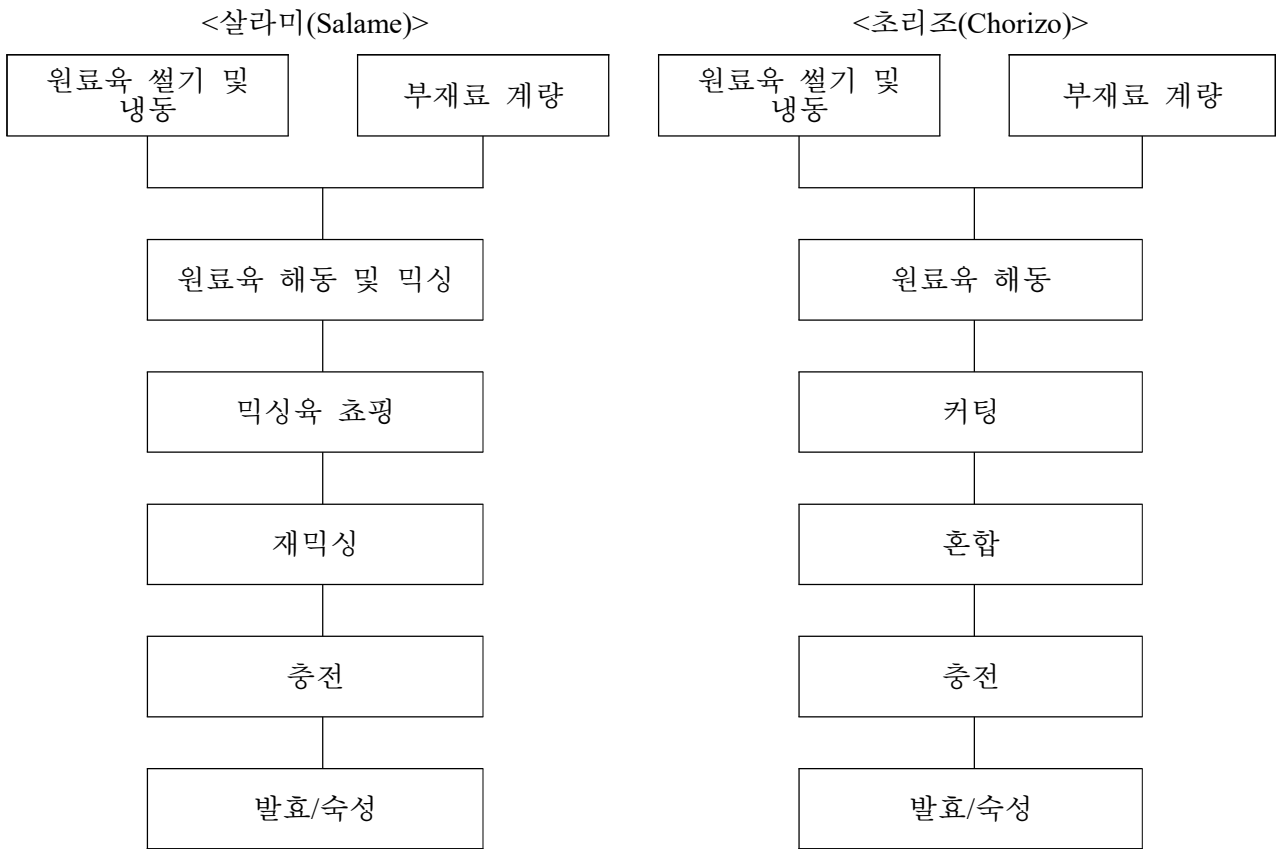
발효 숙성 시 습도가 낮아 건조가 너무 빨리 일어나면 외부와 내부 건조차이가 커 외부만 빠르게 건조되고 내부는 그대로 유지될 수 있기 때문에 습도 조절이 중요하다. 또한, 케이싱 굵기(제형)에 따라 습도 컨트롤 조건 다르게 관리해야하며 각각의 최적의 조건을 찾을 필요가 있다.

실제 습도와 온도 컨트롤이 스모크 챔버에서 정확하게 컨트롤 되지 않기 때문에, 온습도계를 챔버에 넣고 측정하면서 실제 습도와 온도를 컨트롤 하는 것이 품질 편차를 줄일 수 있다.

<표 3-16> 발효소시지 2종 배합비

원료명	Salame (%)	Chorizo (%)	Temperature (°C)
Pork 90C/L	40.0	40.0	0
Pork 70C/L	60.0	60.0	-4
합계	100.0	100.0	
부재료명	Salame (%)	Chorizo (%)	
NPS(0.5% nitrite)	2.600	2.400	
Medditeran spice(살라미용)	0.500	-	
S1 spice(복합향신료)	1.000	-	
Sodium Ascorbate	0.050	0.050	
Black pepper 1/16	0.150	-	
Starter culture	0.025	-	
Corn syrup solid	1.200	1.000	
G2 spice(복합향신료)	-	1.000	
Grill beef seasoning	-	0.200	
합계	5.525	4.650	

<그림 3-7> 발효소시지 2종의 제조 공정



<표 3-17> 발효소시지 발효 조건

조건	제조당일	12시간	24시간	스모킹 (15분)	48시간	72시간	96시간
온도(°C)	22-24	22-24	22-24	24	22-24	15-16	15-16
습도(%)	90-92	90-92	90-92	-	90-92	78-80	78-80
조건	5일	6일	7일	8일			
온도(°C)	15-16	15-16	15-16	15-16			
습도(%)	78-80	78-80	78-80	78-80			

(라)분석 방법

발효기간 동안 수분감량을 측정하였으며, 기존 무게 대비 감소한 무게로 측정하였다. 타겟 감량은 40%로 설정하였다.

pH는 초기부터 종료시기까지 지속적으로 pH를 분석하였다. 잘게 다진 시료 20 g과 증류수 80 mL를 비닐팩에 넣고 균질기를 이용하여 2분 동안 균질한 후 pH meter(Orion 3 star, Thermo electron corporation, MA, USA)로 측정하였다.

수분활성도는 잘게 다진 시료를 칭량기에 5 g의 샘플을 넣고 25±1° C 조건에서 수분활성도 측정기(RTD-200, Nobasina, Pfaffikon, Switzerland)에 넣은 후 평형이 될 때까지 기다린 후 값을 측정하였다.

수분함량은 AOAC법(2000)에 따라 105°C 상압건조법(FSJ-785D, Jisico, Seoul, Korea)으로 분석

하였다. 관능검사를 실시하였다.

관능검사는 연구원 25명을 대상으로 시료의 특성 및 목적을 설명하고 각각의 세부항목에 대한 기준이 확립될 때까지 훈련한 후 본 실험에 임하도록 하였다. 5점 기호 척도법을 이용하여 각 발효소시지에 대해 색 및 외관(1=매우 나쁘다, 5=매우 좋다), 풍미(1=매우 나쁘다, 5=매우 좋다), 조직감(1=매우 질기다, 5=매우 연하다), 다즙성(1=즙성이 매우 적다, 5=즙성이 매우 많다), 전체적인 맛(1=매우 나쁘다, 5=매우 우수하다)에 대하여 평점하고 그 평균치를 구하여 비교하였다.

(2) 결과 및 고찰

<표 3-18>은 발효소시지 2종 및 제형에 따른 발효기간 중 감량에 대해 측정한 결과이다. 발효 숙성 중 감량은 지속적으로 감소하는 추세를 보였으며, 얇은 콜라겐 케이싱은 숙성 5일차에 38%까지 떨어져서 종료하였고, 돈장케이싱은 숙성 8일째 43%까지 떨어져 종료하였으며, 화이버스케이싱은 12일차에 41%까지 떨어져 두께별로 발효조건은 다르게 처리해야 하는 것을 알 수 있었다.

<표 3-19>는 발효소시지 2종 및 제형에 따른 발효기간 중 pH에 대해 측정한 결과이다. 발효 초기 믹싱육의 pH는 살라미가 5.61, 초리조가 5.62으로 나타났으며, 지속적으로 감소하면서 살라미의 돈장케이싱은 5일차에 5.17, 8일차에 5.11로 종료하였고, 화이버스 케이싱은 5일차에 4.96, 8일차에는 4.78, 12일차에는 4.75로 나타났다. 초리조는 돈장케이싱이 5일차에 5.06, 8일차에 4.96으로 종료하였고, 화이버스 케이싱은 8일차에 4.76, 12일차에 4.72로 종료하였다.

살라미 최종 제품의 수분함량은 콜라겐 케이싱이 32.66%, 돈장케이싱이 35.39%, 화이버스 케이싱이 34.47%로 나타났으며, 초리조는 콜라겐 케이싱이 32.20%, 돈장케이싱이 32.70%, 화이버스 케이싱이 38.32%로 나타나 모두 40% 이하의 수분함량을 보였고, 수분활성도는 전체적으로 0.86 이하의 값을 나타내었다<표 3-20>. 돈장으로 제조한 발효소시지 2종에 대한 지방산 조성 비교 결과<표 3-21>, 초리조는 기존 타겟 제품과 유사한 경향을 보였으나, 살라미의 경우 불포화지방산이 많은 비율을 차지하여 제품마다 차이가 있는 것을 볼 수 있었다.

<표 3-18> 발효소시지 2종 및 제형에 따른 발효기간 중 감량 변화

(단위: %)

감량	케이싱	당일	0.5 일	1 일	1.5 일	2 일	3 일	5 일	8 일	12 일
살라미	콜라겐	0.00	13.68	20.00	23.68	29.47	33.68	37.89	-	-
	돈장	0.00	9.49	14.60	18.25	23.36	27.74	32.85	42.67	-
	화이버스	0.00	7.35	10.29	13.60	16.91	19.85	24.26	30.88	40.50
초리조	콜라겐	0.00	14.10	20.51	26.28	30.77	34.62	38.46	-	-
	돈장	0.00	10.08	15.50	18.99	24.03	28.68	33.33	43.46	-
	화이버스	0.00	6.98	10.85	14.34	17.83	20.93	25.58	31.78	41.76

All values are means deviation of three replicates.

<표 3-19> 발효소시지 2종 및 제형에 따른 발효기간 중 pH 변화

pH	케이싱	당일	0.5 일	1 일	1.5 일	2 일	3 일	5 일	8 일	12 일
살라미	콜라겐	5.61	-	-	-	-	-	-	-	-
	돈장	5.61	5.61	5.55	5.48	5.34	5.32	5.17	5.11	-
	화이버스	5.61	5.60	5.57	5.47	5.34	5.26	4.96	4.78	4.75
초리쵸	콜라겐	5.62	-	-	-	-	-	-	-	-
	돈장	5.62	5.61	5.55	5.47	5.32	5.26	5.06	4.96	-
	화이버스	5.62	5.61	5.54	5.48	5.30	5.11	4.85	4.76	4.72

All values are means of three replicates.

<표 3-20> 발효소시지 2종에 대한 발효기간 중 수분활성도와 수분함량 변화

구분	제형	수분(%)	Aw
살라미	콜라겐	32.66±2.56	0.835±0.067
	돈장	35.39±4.35	0.820±0.054
	화이버스	34.47±3.78	0.864±0.068
초리쵸	콜라겐	32.20±2.34 ^b	0.835±0.075
	돈장	32.70±3.41 ^b	0.856±0.089
	화이버스	38.32±3.52 ^a	0.861±0.087

All values are mean±standard deviation of three replicates.

^{a, b} Means within a row with different letters are significantly different (p<0.05).

<표 3-21> 돈장 케이싱으로 제조한 발효소시지 2종에 대한 지방산 조성의 비교

Component Name	살라미	초리조
Methyl octanoate	0.0004	0.0001
Methyl decanoate	0.0006	0.0005
Methyl undecanoate	0.0005	0.0006
Methyl laurate	0.0021	0.0017
Methyl myristate	0.0184	0.0126
Myristoleic acid methyl ester	-	0.0215
Methyl pentadecanoate	0.0267	-
Cis-10-pentadecanoic acid methyl ester	-	0.0134
Methyl palmitate	-	0.0630
Methyl palmitoleate	0.0203	0.0109
Methyl heptadecanoate	-	0.0277
Cis-10-heptadecanoic acid methyl ester	0.0100	0.0065
Methyl stearate	-	0.0379
Trans-9-elaidic acid methyl ester	0.0231	0.0129
Cis-9-oleic acid methyl ester	0.0028	0.0894
Linolelaidic acid methyl ester	0.0115	0.0023
Methyl linoleate	0.0338	0.0167
Methyl arachidate	0.0233	0.0103
Methyl eicosanoate	0.0208	0.0147
Methyl linolenate	0.0514	0.0407
Cis-11,14-eicosadienoic acid methyl ester	0.0117	0.0091
Methyl behenate	0.0590	0.0461
Cis-8,11,14-eicosatrienoic acid methyl ester	0.0036	0.0115
Methyl cis-5,8,11,14-eicosatetraenoic acid methyl ester	0.0151	0.0535
Methyl tricosanoate	0.0055	-
Methyl lignocerate	0.0114	0.0069
Methyl cis-5,8,11,14,7-eicosapentaenoate	0.0753	0.0475
Methyl nervonate	0.0040	0.0169
Cis-4,7,10,13,16,19-docosahexaenoic acid methyl ester	0.0183	0.0056

All values are means of three replicates.

마. 저장기간에 따른 품질 특성 변화 분석

살라미와 초리조 2종의 배합을 확정하여 180일 동안 저장 중 품질 변화를 분석하였다.

(1) 재료 및 방법

(가) 원료 준비 및 계량

원료육과 부재료는 <표 3-22>와 같이 계량하여 준비하였다.

(나) 살라미 제조 방법

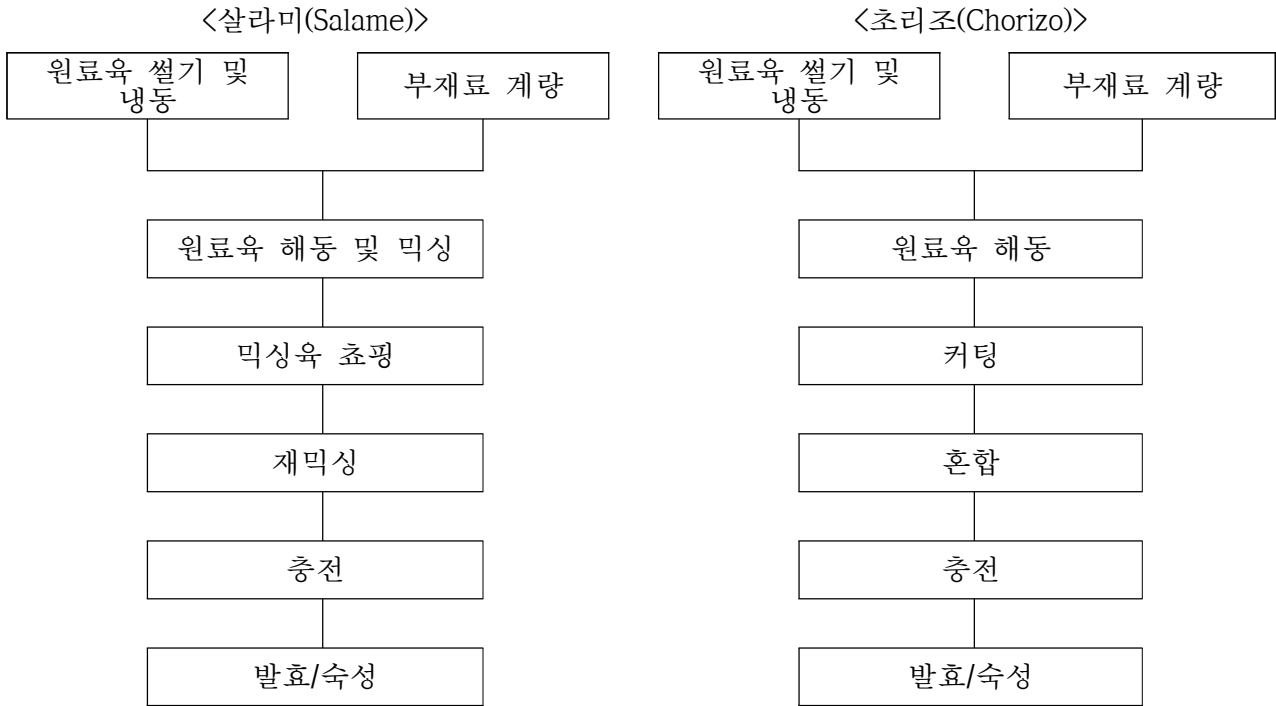
<그림 3-8>은 발효소시지 제조공정을 나타낸 것이다. 원료육은 -4℃까지 해동시킨 후 스타터 컬처를 제외한 부재료로 일차 혼합(mixing)을 실시하였다. 적당히 섞인 것을 확인하고 초퍼(chopper)에서 3mm 플레이트를 설치하고 분쇄하였다. 온도상승을 막기 위해 3구 플레이트에 나이프 1개만 설치하고 바로 3mm 플레이트를 설치하였다. 분쇄하여 나온 육의 온도는 -2℃ 정도이며, 스타터를 넣고 지방입자 및 육 입자가 으스러지지 않도록 믹서에서 혼합을 실시하였다. 충전은 제형(제품의 굵기)에 따라 콜라겐케이싱(Ø18), 천연장인 돈장(Ø26~28), 화이버러스 케이싱(Ø40)을 충분히 수화시켜 놓은 후 일정 중량(150g)으로 충전하였다. 스틱에 걸어 스모크 하우스에서 발효 및 건조를 실시하였다. 발효 조건은 <표 3-23>와 같이 진행하였다. 2일까지는 22-24℃, 90-92% 조건으로 발효하였고, 스모킹 이후 3일차 부터는 15-16℃, 78-80% 조건으로 8일까지 발효를 실시하였다.

(다) 초리조 제조 방법

원료육은 -4℃까지 해동시킨 후 커터(cutter)에서 저속으로 2분간 3mm 규격으로 커팅을 실시하였다. 소금, 향신료, 스타터 컬처 동시에 넣고 분산시키면서 2mm 입자로 커팅을 실시한다(-3℃). 충전은 살라미와 동일하게 수행하였다.

<표 3-22> 발효소시지 2종 배합비

원료명	Salame (%)	Chorizo (%)	Temperature (℃)
Pork 90C/L	40.0	40.0	0
Pork 70C/L	60.0	60.0	-4
합계	100.0	100.0	
NPS(0.5% nitrite)	2.600	2.400	
Medditeran spice(살라미용)	0.500	-	
S1 spice(복합향신료)	1.000	-	
Sodium Ascorbate	0.050	0.050	
Black pepper 1/16	0.150	-	
Starter culture	0.025	-	
Corn syrup solid	1.200	1.000	
G2 spice(복합향신료)	-	1.000	
Grill beef seasoning	-	0.200	
합계	5.525	4.650	



〈그림 3-8〉 발효소시지 2종 제조 공정

〈표 3-23〉 발효소시지 발효 조건

조건	제조당일	12시간	24시간	스모킹(15분)	48시간	72시간	96시간
온도(° C)	22-24	22-24	22-24	24	22-24	15-16	15-16
습도(%)	90-92	90-92	90-92	-	90-92	78-80	78-80
조건	5일	6일	7일	8일			
온도(° C)	15-16	15-16	15-16	15-16			
습도(%)	78-80	78-80	78-80	78-80			

(라) 분석 방법

저장기간 동안 저장 감량을 측정하였으며, 저장전 무게에서 저장기간 중 제품의 무게를 측정하여 뺀 값으로 계산하였다.

pH는 저장기간 동안 잘게 다진 시료 20 g과 증류수 80 mL를 비닐팩에 넣고 균질기를 이용하여 2분 동안 균질한 후 pH meter(Orion 3 star, Thermo electron corporation, MA, USA)로 측정하였다.

수분활성도는 잘게 다진 시료를 칭량기에 5 g의 샘플을 넣고 25±1° C 조건에서 수분활성도 측정기(RTD-200, Nobasina, Pfaffikon, Switzerland)에 넣은 후 평형이 될 때까지 기다린 후 값을 측정하였다.

Thiobarbituric acid(TBA)의 측정은 Tarladgis BG등(1960)의 방법을 이용하였다. 시료 10 g, 증류수 50 mL과 BHT 0.2 mL을 첨가하여 균질화한 후 TBA 수기에 47.5 mL 증류수와 4 N HCl 2.5 mL를 함께 넣은 후 증류기를 이용하여 증류액을 50 mL 를 포집하였다. 포집된 증류액 5 mL과 TBA 시약 5 mL를 시험관에 넣어 섞어준 후 100° C 에서 30분간 반응시켜준다. 반응이

끝난 시험관은 방냉 후 538 nm 에서 흡광도를 측정하여 계산하였다.

$$\text{TBA value (mg of malonaldehyde / 1 kg of meat)} = \text{측정값(O.D.)} \times 7.8 \text{ (factor)}$$

유산균수 측정은 시료 10 g과 멸균한 0.1%(w/v) peptone 용액 90 mL를 멸균백에 넣고, stomacher (Laboratory blender 400, Seward Co., West Sussex, UK)로 high speed에서 1분 동안 균질한 후 1 mL를 채취하여 0.1%(w/v) peptone 용액에 적정 희석 비율까지 희석하였다. 이후 젖산균수를 측정하기 위해 희석액을 0.02%(w/v) sodium azide를 첨가한 *Lactobacilli* MRS agar(Difco, BD biosciences, MI, USA)에 접종하여 37°C 에서 72시간 동안 배양하였다. 최종 결과는 colony가 30-300개인 희석 배수에서 계수한 후 시료 1 g당 Log CFU로 산출하였다. 배양된 유산균은 API CHL kit(BioMérieux, Marcy-l'Etoile, France)를 사용하여 동정하였다.

(2) 결과 및 고찰

저장 중 상업용 스타터를 이용한 발효소시지의 품질변화에 대해 <표 3-24>에 나타내었다. 저장감량은 지속적으로 감소하였으나, 최종 6개월 후에는 0.5% 밖에 감소하지 않았다. pH는 서서히 증가하여 5.1 정도에서 종료되었고, 수분활성도는 약간 감소하였으나, 큰 차이를 보이지 않았다. 지방 산패 정도는 지속적으로 증가하였으나, 산패취가 발생하지는 않았다. 최종 완제품이 pH가 낮고 수분활성도가 0.87이하를 보였을 때, 6개월 저장시 품질 변화는 크지 않을 것으로 사료된다.

Turner EW 등 (1954)은 지방산패와 관능검사는 유의적인 관계가 있으며, 육에서 TBA 수치가 0.46 mg/kg 이하까지는 가식권으로 인정하고 1.2 mg/kg 이상일 때는 부패된 것으로 인정할 수 있다고 하였고, Brewer MS 등 (1992)은 TBA 수치가 4.0 mg/kg 이상은 완전 산패된 것으로 평가하였다. 발효 소시지는 소금의 첨가, 낮은 수분 활성도, 높은 지방 함량 및 발효 온도로 인해 지방산화가 빨리 촉진되며 발효에 의한 낮은 pH는 근육lipase의 활성을 증가시켜 지방의 분해를 촉진시킨다(Kanner J 등 1991, Stahnke LH 1995), 따라서 발효 소시지의 종류에 따라 배합 조성과 제조 공정이 다르기 때문에, 지방산화물의 함량이 달라지게 된다(Kang SM 등 2012).

<표 3-24> 저장 중 상업용 스타터를 이용한 발효소시지의 품질 변화

항목	구분	당일	30일	60일	90일	120일	150일	180일
저장감량(%)	살라미	0.00	0.12	0.18	0.24	0.31	0.39	0.50
	초리조	0.00	0.11	0.17	0.23	0.30	0.38	0.52
pH	살라미	4.75	4.79	4.77	4.81	4.94	5.01	5.11
	초리조	4.72	4.75	4.73	4.79	4.92	5.02	5.12
수분활성도	살라미	0.864	0.867	0.871	0.862	0.868	0.856	0.854
	초리조	0.861	0.865	0.873	0.864	0.863	0.851	0.851
TBA(mg/kg)	살라미	0.23	0.32	0.42	0.56	0.60	0.76	0.81
	초리조	0.21	0.33	0.41	0.49	0.56	0.70	0.76
유산균수 (log cfu/g)	살라미	7.28	7.22	7.06	6.45	6.29	6.00	5.66
	초리조	7.44	7.10	7.00	6.55	6.24	5.94	5.46

All values are means of three replicates.

바. 상업화된 스타터를 이용한 발효소시지 제조 공정 확정

이상의 결과를 토대로, 한국인의 입맛에 맞는 적합한 타겟 제품을 설정하였고, 그 타겟 제품의 Aw, 수분함량, pH, 염도를 분석하여 최적화된 발효소시지 조건을 확보하였다. 맛에 대한 타겟은 밀라노 살라미 및 이탈리아인 살라미와 같은 마일드한 맛과 매운맛인 초리조를 선정하였다.

이를 기반으로 살라미와 초리조에 대한 배합비 및 제조공정을 확정하였다. 한국인에게 친숙한 생마늘 등 향신료를 첨가하였으며, 상업용 스타터는 *Lactobacillus sakei*, *Staphylococcus carnosus*를 사용하였다. 제조공정은 먼저 원료육을 냉동하여 -4°C로 유지하였다가 사용한다. 살라미는 미리 원료육과 소금 등 향신료를 첨가하여 미리 섞은 후 3mm 두께로 분쇄(grinding)한다. 그 후 추가로 스타터를 넣고 지방이 녹지 않도록 -2°C까지 혼합(Mixing)한다. 초리조는 원료육을 사일런트커터(silent cutter)에 넣고 3mm 굵기가 되도록 커팅하고 소금 등 부재료를 넣고 2mm 굵기에 -2°C까지 커팅(cutting)한다. 원하는 케이싱에 충전 후 각각의 케이싱 굵기에 맞게 발효를 시켜주며, 지방이 녹지 않도록 온도를 20도 이하로 유지시켜주며, 과도한 건조가 발생하지 않도록 습도를 1일에 1%씩 서서히 감소시키면서 충분히 내부 수분이 빠져나올 수 있도록 발효 및 숙성을 시킨다. 숙성이 완료되면 진공포장 등을 통해 지방산패 등이 더 발생하지 않도록 냉장보관 한다.

<주요 발효소시지 제조공정 요약>

- (1) 형태 유지 및 겉부분이 빠르게 건조되는 형태는 정확한 습도계를 사용한 컨트롤을 통해 해결
- (2) 완제품 포장 후 지방이 녹아내리지 않도록 등지방 사용 및 숙성시 온도를 18° C이하로 유지하는 것이 필요함
- (3) 제조 공정 확정
 - (가) 살라미: 원료 깎뚝썰기 -> 냉동(-4° C) -> 육 및 부재료 혼합초핑(-2° C) -> 믹싱(스타터 첨가) -> 충전 -> 훈연/발효/숙성
 - (나) 초리조: 원료 깎뚝썰기 -> 냉동(-4° C) -> 커팅(입자크기 2mm) -> 부재료 및 스타터 첨가 -> 온도 -2° C에서 종료 -> 충전 -> 훈연/발효/숙성
- (4) 제형별 발효/숙성 공정 확정
 - (가) 콜라겐 케이싱 (Ø18)

1 day	훈연	2 day	3 day	4 day	5 day
22°C / 92%	25°C / 15 분	20°C / 90%	15°C / 88%	15°C / 86%	15°C / 84%

(나) 돈장(Ø26/28)

1 day	훈연	2 day	3 day	4 day	5 day
22°C / 92%	25°C / 15 분	20°C / 90%	15°C / 88%	15°C / 86%	15°C / 84%
6 day	7 day	8 day	9 day		
15°C / 84%	15°C / 84%	15°C / 84%	15°C / 84%		

(3) 화이버스케이싱(Ø40)

1 day	훈연	2 day	3 day	4 day	5 day
22°C / 92%	25°C / 15 분	20°C / 90%	15°C / 88%	15°C / 86%	15°C / 84%
6 day	7 day	8 day	9 day	10 day	12 day
15°C / 84%	15°C / 84%	15°C / 84%	15°C / 84%	15°C / 84%	15°C / 84%

3. 스타터 후보균 및 부원료별 발효소시지 가공 적성 확립

가. 돈육 부위별 비율 및 부재료에 따른 발효소시지 공정 최적화

(1) 돈육 부위별 발효소시지의 품질특성

(가) 재료 및 방법

① 원료 준비 및 계량

원료육과 부재료는 <표 3-25>와 같이 계량하여 준비하였다. 원료육은 CJ제일제당 진천공장에서 사용하고 있는 돈육 등심과 목우촌 안심을 이용하였으며, 3cm × 3cm × 3cm의 큐빅 형태로 잘라 해동시 쉽고 빠르게 해동하기 위해 냉동시켜 보관하였다. 부재료는 배합비에 맞게 함께 계량하여 준비하였다. 초핑, 커팅, 믹싱, 충전 설비는 온도가 낮게 유지되도록 아이스를 사용하여 미리 설비 표면 온도를 낮춰놓았다. 또한 표면에 물이 맺혀있지 않도록 깨끗하게 닦아 놓았다.

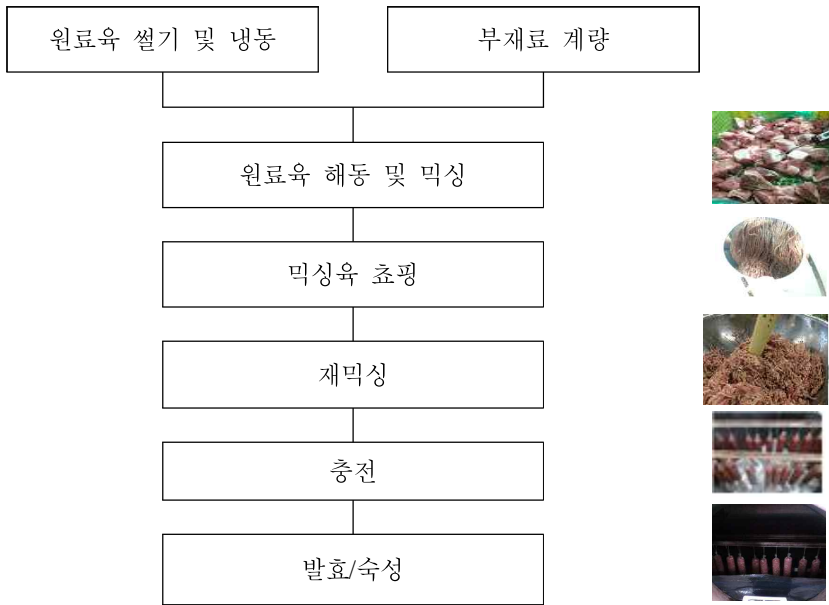
② 제조 방법

원료육은 -4° C까지 해동시킨 후 스타터컬처(*Lactobacillus sakei*, *Staphylococcus carnosus*)를 제외한 부재료로 일차 혼합(mixing)을 실시하였다. 섞인 것을 확인하고 초퍼(chopper)에서 3mm 플레이트를 설치하고 분쇄하였다. 온도상승을 막기 위해 3구 플레이트에 나이프 1개만 설치하고 바로 3mm 플레이트를 설치하였다. 분쇄하여 나온 육의 온도는 -2° C 정도이며, 스타터를 넣고 지방입자 및 육 입자가 으러지지 않도록 믹서에서 혼합을 실시하였다. 화이브러스 케이싱(Ø 40mm)을 충분히 수화시켜 놓은 후 일정 중량(200g)으로 충전하였다. 스틱에 걸어 스모크 하우스에서 발효 및 건조를 실시하였다. <그림 3-9>는 발효소시지 제조공정을 나타낸 것이다. 발효 조건은 2일까지는 22-24° C, 90-92% 조건으로 발효하였고, 스모킹 이후 3일차부터는 15-16° C, 78-80% 조건으로 12일까지 발효를 실시하였다.

<표 3-25> 발효소시지 부위별 배합비

원료명	등심(kg)	안심(kg)	온도(비고)
Pork lean meat	80.000	80.000	-2°C
Pork back fat	20.000	20.000	-4°C
원료육 합계	100.00	100.00	
항목	등심	안심	
NPS(0.5% nitrite)	2.500	2.500	
Medditeran spice	0.500	0.500	
S1 spice	1.000	1.000	
Sodium Ascorbate	0.050	0.050	
Black pepper 1/16	0.250	0.250	
Starter LD20(발효스타터)	0.025	0.025	
포도당	1.500	1.500	
생마늘	0.500	0.500	
부재료 합계	6.325	6.325	

<그림 3-9> 발효소시지 제조 공정



③ 분석 방법

발효기간 동안 수분감량을 측정하였으며, 기존 무게 대비 감소한 무게로 측정하였다. 타겟 감량은 40%로 설정하였다.

pH는 초기부터 종료시기까지 지속적으로 pH를 분석하였다. 잘게 다진 시료 20 g과 증류수 80 mL를 비닐팩에 넣고 균질기를 이용하여 2분 동안 균질한 후 pH meter(Orion 3 star, Thermo electron corporation, MA, USA)로 측정하였다.

수분활성도는 잘게 다진 시료를 칭량기에 5 g의 샘플을 넣고 $25 \pm 1^\circ \text{C}$ 조건에서 수분활성도 측정기(RTD-200, Nobasina, Pfaffikon, Switzerland)에 넣은 후 평형이 될 때까지 기다린 후 값을 측정하였다.

수분함량은 AOAC법(2000)에 따라 105°C 상압건조법(FSJ-785D, Jisico, Seoul, Korea)으로 분석하였다. 관능검사를 실시하였다.

조직감은 texture analyzer (TA-XT2i, Stable Micro Systems Ltd., Surrey, England)를 사용하여 실온에서 측정하였다. 샘플은 30mm 길이로 잘라서 중심부위를 측정하였고, 측정 조건은 pre-test speed 2.0 mm/s, post-test speed 5.0 mm/s, maximum load 2 kg, head speed 2.0 mm/s, distance 8.0 mm, force 5 g 이었으며, hardness (kg), springiness, cohesiveness, gumminess (kg), chewiness (kg)를 산출하였다.

(나) 결과 및 고찰

<표 3-26>은 등심 및 안심으로 제조한 발효소시지의 발효기간 중 감량에 대해 측정한 결과이다. 발효 숙성 중 감량은 지속적으로 감소하는 추세를 보였으며, 12일차에 41%까지 떨어져 발효를 종료하였다. <표 3-27>은 등심 및 안심으로 제조한 발효소시지의 발효기간 중 pH에 대해 측정한 결과이다. 발효초기 믹싱육의 pH는 등심이 5.61, 안심이 5.62으로 나타났으며, 지속적으로 감소하면서 등심은 12일차에 4.75, 안심이 4.72로 나타나 발효를 종료하였다. 최종 제품의 수분함량은 등심이 34.47%로 나타났으며, 안심은 33.32%로 나타나 모두 40% 이하의 수분함량을 보였고, 수분활성도는 전체적으로 0.87 이하의 값을 나타내었다<표 3-28>. 조직감에서는

등심으로 제조된 발효소시지의 경도(hardness)가 안심보다 조금 더 낮게 나타났다. 원료육의 근육 조직에서 차이가 있기 때문에 제품에서도 경도 차이가 있는 것으로 나타났다. 상업적으로 제조시 소비자자 원하는 조직감을 갖도록 하기 위해서는 원료육을 고려해서 제조하는 것이 중요할 것으로 보인다.

<표 3-26> 다른 원료육으로 제조된 발효소시지의 발효기간 중 감량 변화
(단위: %)

	당일	0.5 일	1 일	1.5 일	2 일	3 일	5 일	8 일	12 일
등심	0.00	7.35	10.29	13.60	16.91	19.85	24.26	30.88	40.50
안심	0.00	6.98	10.85	14.34	17.83	20.93	25.58	31.78	41.76

All values are means of three replicates.

<표 3-27> 다른 원료육으로 제조된 발효소시지의 발효기간 중 pH 변화

	당일	0.5 일	1 일	1.5 일	2 일	3 일	5 일	8 일	12 일
등심	5.61	5.60	5.57	5.47	5.34	5.26	4.96	4.78	4.75
안심	5.62	5.61	5.54	5.48	5.30	5.11	4.85	4.76	4.72

All values are means of three replicates.

<표 3-28> 다른 원료육으로 제조된 발효소시지의 수분활성도, 수분함량, 조직감 변화

Traits	원료육	
	등심	안심
수분함량(%)	34.47±4.34	33.32±3.24
Aw	0.864±0.083	0.861±0.075
Hardness (kg)	3.16±0.56	3.87±0.42
Springiness	0.87±0.08	0.88±0.09
Cohesiveness	0.48±0.03	0.45±0.05
Gumminess(kg)	1.78±0.33	1.95±0.35
Chewiness(kg)	1.32±0.01	1.45±0.04

All values are mean±standard deviation of three replicates.

^{a, b} Means within a row with different letters are significantly different (p<0.05).

(2) 지방함량에 따른 발효소시지 품질 비교

현재 국내에 유통되는 발효소시지는 지방함량이 높아 외관 품질이 떨어지며, 향과 맛이 자극적이거나 저장 중 지방산패취가 발생하기 때문에 국내 소비자를 만족시킬 수 있는 제품을 개발하기 위해서는 그에 맞는 기초 자료를 확보할 필요가 있다. 특히, 발효소시지는 일반적으로 약 30% 이상의 지방을 함유하는 육제품으로, 발효 및 건조 단계를 거치면서 발생하는 감량에 의해 지방함량과 염도는 상대적으로 증가하기 때문에 소비자들에게는 좋지 못한 평가를 받게 된다. 이로 인해, 발효소시지의 지방을 감소시키기 위한 연구가 지속적으로 진행되고 있는데, inulin(Mendoza, 2001), soy protein isolate(Kim 등, 2008)을 첨가하여 제조한 저지방 발효소시지에서 조직감이 향상되는 것을 확인하였고, linseed oil(Alejandre 등, 2016), sunflower oil(Mora-Gallego 등, 2016)과 같은 식물성유를 이용하여 동물성 지방을 대체한 연구를 통해 지방 대체 가능성을 확인하였다.

이처럼 지방함량은 제품 외관 및 맛에 영향을 미치기도 하지만, 산업적으로는 원가에 영향을 미칠 수 있기 때문에 이를 최적화할 필요가 있으며, 제품의 직경에 따라 제품 생산성에도 영향을 미칠 수 있으므로, 지방첨가량이 발효소시지 제조에 미치는 영향을 조사할 필요가 있다. 따라서 본 연구의 목적은 발효소시지에 적용되는 지방의 첨가량이 한국형 스타일의 발효소시지의 품질에 미치는 영향을 조사함으로써 향후 국내 소비자에게 적합한 발효소시지 제품 개발에 기초자료로 활용하고자 하였다.

(가) 재료 및 방법

① 원료 준비 및 계량

원료육과 부재료는 <표 3-29>와 같이 계량하여 준비하였다. 지방함량은 10, 20, 30% 타겟으로 설정하였고, 원료육은 지방함량에 맞춰 원료육을 준비하여 3 cm × 3 cm × 3 cm의 큐빅 형태로 잘라 냉동시켜 보관하였다. 해동시 쉽고 빠르게 해동하기 위해 준비하였다. 부재료는 배합비에 맞게 함께 계량하여 준비하였다.

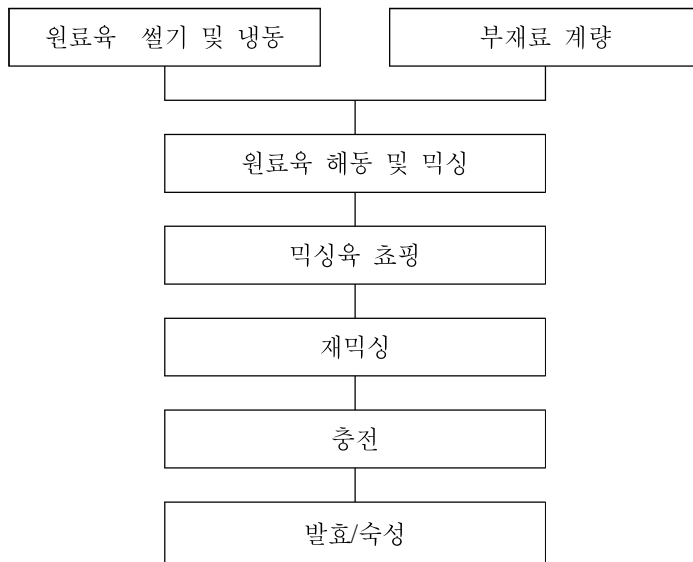
② 제조 방법

원료육은 -4° C까지 해동시킨 후 스타터컬처(*Lactobacillus sakei*, *Staphylococcus carnosus*)를 제외한 부재료로 일차 혼합(mixing)을 실시하였다. 적당히 섞인 것을 확인하고 초퍼(chopper)에서 3mm 플레이트를 설치하고 분쇄하였다. 온도상승을 막기 위해 3구 플레이트에 나이프 1개만 설치하고 바로 3mm 플레이트를 설치하였다. 분쇄하여 나온 육의 온도는 -2° C정도이며, 스타터를 넣고 지방입자 및 육 입자가 으스러지지 않도록 믹서에서 혼합을 실시하였다. 화이버스 케이싱(Ø 40mm)을 충분히 수화시켜 놓은 후 일정 중량(200g)으로 충전하였다. 스틱에 걸어 스모크하우스에서 발효 및 건조를 실시하였다. <그림 3-10>은 발효소시지 제조공정을 나타낸 것이다. 발효 조건은 <표 3-30>과 같이 진행하였다. 2일까지는 22-24° C, 90-95% 조건으로 발효하였고, 스모킹 이후 3일차 부터는 18° C, 80-85% 조건으로 21일까지 발효를 실시하였다.

<표 3-29> 지방함량에 따른 발효소시지 배합비

원료명	10% (kg)	20% (kg)	30% (kg)	Temperature (°C)
Pork lean meat	90.000	80.000	70.000	0
Back fat	10.000	20.000	30.000	-4
소계	100.000	100.000	100.000	
항목	Con	T1	T2	
NPS(0.5% nitrite)	2.500	2.500	2.500	
포도당	1.000	1.000	1.000	
Sodium Ascorbate	0.050	0.050	0.050	
Starter LD20	0.025	0.025	0.025	
Medditeran spice	0.300	0.300	0.300	
Siliana(German)	0.500	0.500	0.500	
레드페퍼(동방)	-	-	-	
Black pepper	0.200	0.200	0.200	
소계	4.575	4.575	4.575	
합계	104.575	104.575	104.575	

<그림 3-10> 발효소시지 제조 공정



<표 3-30> 발효소시지 발효 조건

조건	제조당일	0.5일	1일	스모킹(15분)	2일	3일	4일
온도(°C)	22-24	22-24	22-24	24	22-24	18	18
습도(%)	90-95	90-95	90-95	-	90-95	80-85	80-85
조건	5일	6일	7일	8일	9일	21일
온도	18	18	18	18	18	18	18
습도	80-85	80-85	80-85	80-85	80-85	80-85	80-85

③ 분석 방법

발효기간 동안 수분감량을 측정하였으며, 기존 무게 대비 감소한 무게로 측정하였다. 타겟 감량은 40%로 설정하였다.

pH는 초기부터 종료시기까지 지속적으로 pH를 분석하였다. 잘게 다진 시료 20 g과 증류수 80 mL를 비닐팩에 넣고 균질기를 이용하여 2분 동안 균질한 후 pH meter(Orion 3 star, Thermo electron corporation, MA, USA)로 측정하였다.

수분활성도는 잘게 다진 시료를 칭량기에 5 g의 샘플을 넣고 $25 \pm 1^\circ \text{C}$ 조건에서 수분활성도 측정기(RTD-200, Nobasina, Pfäffikon, Switzerland)에 넣은 후 평형이 될 때까지 기다린 후 값을 측정하였다.

수분함량은 AOAC법(2000)에 따라 105°C 상압건조법(FSJ-785D, Jisico, Seoul, Korea)으로 분석하였다. 관능검사를 실시하였다.

조직감은 texture analyzer (TA-XT2i, Stable Micro Systems Ltd., Surrey, England)를 사용하여 실온에서 측정하였다. 샘플은 30mm 길이로 잘라서 중심부위를 측정하였고, 측정 조건은 pre-test speed 2.0 mm/s, post-test speed 5.0 mm/s, maximum load 2 kg, head speed 2.0 mm/s, distance 8.0 mm, force 5 g 이었으며, hardness (kg), springiness, cohesiveness, gumminess (kg), chewiness (kg)를 산출하였다.

관능검사는 연구원 25명을 대상으로 시료의 특성 및 목적을 설명하고 각각의 세부항목에 대한 기준이 확립될 때까지 훈련한 후 본 실험에 임하도록 하였다. 5점 기호 척도법을 이용하여 각 발효소시지에 대해 색 및 외관(1=매우 나쁘다, 5=매우 좋다), 풍미(1=매우 나쁘다, 5=매우 좋다), 조직감(1=매우 질기다, 5=매우 연하다), 전반맛(1=매우 나쁘다, 5=매우 우수하다)에 대하여 평점하고 그 평균치를 구하여 비교하였다.

(나) 결과 및 고찰

<표 3-31>은 발효소시지의 지방함량에 따른 감량 변화를 나타낸 것이다. 지방함량은 발효소시지의 숙성중 감량에 영향을 미치지 않는 것으로 나타났다. 일반적으로 21일까지 40.5~41.76% 범위에서 감량이 나타났다. 이상의 결과는 30%의 무게감량에 고지방 발효소시지들은 14-21일에, 저지방 발효소시지들은 약 6-14일경에 도달하였다는 Kim 등(2008)의 결과와 동일한 가공시간에 지방함량이 낮을수록 무게감량이 높다고 보고한 Mugerza 등(2002)의 결과와 일치하였다. 또한 Mora-Gallego 등(2016)은 sunflower oil로 대체하여 지방함량을 감소시킨 발효소시지의 무게감량이 동일한 시간 숙성하였을 때 weight loss가 높았다고 보고하였다. 따라서 상업적인 조건에서 제품 제조를 위해 최적의 지방함량은 생산성과 원가 측면에서 중요하게 고려되어야 한다.

<표 3-32>는 지방함량에 따른 발효소시지의 pH 변화를 나타낸 것이다. 지방함량이 30%일 때 초기 pH는 5.96으로 높게 나타났으나, 발효가 지속되면서 발효시간에 따라 지방함량은 pH에 영향을 미치지 않는 것으로 나타났다. 최종 pH는 21일에 4.81~4.85로 나타났다. <표 3-33>은 발효소시지의 지방함량에 따른 발효초기와 종료시 일반성분, 염도, 수분활성도를 나타낸 것이다. 발효초기에는 수분함량이 56~58%, 지방함량이 19~22%, 단백질함량이 15~16%로 나타났으나, 발효 종료 후에는 수분이 26~34%까지 감소하면서, 지방과 단백질 함량이 증가한 것을 알 수 있었다. 염도는 큰 차이가 없었으며, 수분활성도는 초기 0.94에서 종료 후 0.87이하로 감소하면서 건조 숙성이 잘 이루어진 것으로 보인다.

<표 3-34>는 발효소시지의 지방함량에 따른 조직감을 비교한 것이다. 지방첨가량이 증가함에 따라 발효소시지의 hardness는 유의적으로 낮게 나타났다($p < 0.05$). Springiness는 지방첨가량이 증가하면서 함께 증가하는 경향을 보였으나 유의적인 차이는 나타나지 않았다($p > 0.05$). Kim 등(2008)과 Olivares 등(2010)은 발효소시지에서 지방함량이 감소함에 따라 hardness와 chewiness가 증가하였다고 보고하여 본 연구와 유사한 결과를 나타내었고, Mora-Gallego 등(2016)은 발효소시지의 texture는 소금함량보다 지방함량에 더 큰 영향을 받는다고 하여 발효소시지 제조 시 지방함량의 중요성을 강조하였다. 또한 Mora-Gallego 등(2014)은 저지방 발효소시지보다 sunflower oil로 대체한 발효소시지의 cohesiveness와 springiness가 증가하였다고 보고하여 발효소시지 대신 식물성유의 사용이 가능함을 보고하였다.

<표 3-35>는 발효소시지의 지방함량에 따른 관능적 특성을 비교한 것이다. 관능평가 결과는 20% 지방함량 처리구에서 전반적으로 좋은 평가를 받았다.

<표 3-36>은 발효소시지의 지방함량에 따른 발효초기와 종료시 지방산 조성에 대해 비교한 것이다. 발효소시지의 숙성 중에 육 자체 또는 미생물의 효소에 의하여 아미노산으로부터 일부 풍미성분이 생성되기도 하지만 주로 지방이 분해되어 저급지방산, ketone, aldehyde 및 alcohol 등의 휘발성 물질을 생성하여 풍미의 증진에 크게 기여하는 것으로 알려져 있다(Halvarson, 1973). 따라서, 발효 초기와 발효 종료 후에 지방첨가에 따른 지방산 조성의 변화에 대해 알아볼 필요가 있다. 발효가 이루어지면서 발효 초기와는 다른 지방산(Cis-10-pentadecanoic acid methyl ester)이 나타났고, methyl eicosanoate는 사라진 것으로 보아, 발효시 지방산 조성이 변화가 되어 맛품질에 영향을 주는 것을 알 수 있었다. Halvarson(1973)은 발효소시지의 제조 직후 formic acid, acetic acid, butyric acid를 검출하였으며, 숙성이 진행됨에 따라 acetic acid의 농도가 증가하였다고 보고하였으며, 불포화 지방산의 2차 분해에 의해 형성된 aldehyde류의 산화에 의해 휘발성 지방산이 생성된다고 보고(Hornstein. and Crowe, 1960)하였다. 본 연구에서도 발효 전과 후에 불포화지방산의 패턴이 달라져 제품의 풍미에 영향을 미쳤으며, 숙성 중 발생하는 휘발성 지방산들이 제품의 풍미형성에 영향을 끼치는 것으로 사료된다.

본 연구는 지방첨가량과 제품의 직경은 발효소시지의 품질에 영향을 미치는 요소라는 결과를 보였다. 실제로 시중에 유통되는 발효소시지는 원료육의 지방함량, 발효/숙성 조건, 직경 및 입자크기에 따라 다양하기 때문에 다양한 맛과 품질을 갖고 있어 우리나라에는 아직 정착하기 쉽지 않은 것이 현실이다. 산업계에서는 장시간 발효가 필요한 큰 직경의 발효소시지보다는 작은 직경의 발효소시지가 생산하기에 용이하며, 지방함량이 높다면 원가를 낮추는 데에도 효과적일 수 있다. 본 연구 결과를 토대로, 소비자가 원하는 지방함량과 제품형태에 대한 조사가 더 이루어질 필요가 있다.

<표 3-31> 발효소시지의 지방함량에 따른 발효기간 중 감량 변화
(단위: %)

지방함량	당일	0.5일	1일	2일	3일	4일	5일	8일	12일	16일	21일
10%	0.00	7.35	13.29	17.60	21.91	24.85	28.26	32.88	35.00	37.98	40.50
20%	0.00	6.98	13.85	17.34	21.83	24.93	28.58	32.78	35.40	38.24	41.76
30%	0.00	6.12	13.43	17.19	21.65	25.00	29.89	33.43	35.80	38.44	40.84

All values are means of three replicates.

<표 3-32> 발효소시지의 지방함량에 따른 발효기간 중 pH 변화

지방함량	당일	0.5일	1일	2일	3일	4일	5일	8일	12일	16일	21일
10%	5.86	5.60	5.47	5.35	5.26	5.11	5.05	4.90	4.85	4.76	4.81
20%	5.87	5.61	5.44	5.33	5.23	5.12	5.03	4.92	4.84	4.75	4.84
30%	5.96	5.65	5.49	5.38	5.30	5.18	5.08	4.95	4.86	4.80	4.85

All values are means of three replicates.

<표 3-33> 발효소시지의 지방함량에 따른 발효초기와 발효종료 시 일반성분, 염도, 수분활성도 비교

기간	처리구	수분(%)	조지방(%)	조단백질(%)	회분(%)	염도(%)	Aw
발효초기	10%	58.25	19.42 ^b	15.72	4.67	2.07	0.944
	20%	57.79	20.66 ^b	15.54	4.04	2.16 ^a	0.938
	30%	56.77	22.43 ^a	16.42 ^a	4.94	2.07 ^a	0.936
발효종료	10%	34.15 ^a	21.2 ^b	35.2 ^a	6.23	2.91	0.835
	20%	29.45 ^{ab}	35.3 ^{ab}	27.4 ^b	4.98	2.74	0.858
	30%	26.91 ^b	40.4 ^a	23.6 ^c	4.72	2.84	0.865

All values are means of three replicates.

^{a, b} Means within a row with different letters are significantly different ($p < 0.05$).

<표 3-34> 발효소시지의 지방함량에 따른 조직감 비교

항목	10%	20%	30%
Hardness (kg)	2.84±0.30	2.78±0.33	2.58±0.40
Springiness	0.90±0.09	0.91±0.09	0.92±0.08
Cohesiveness	0.46±0.05	0.51±0.07	0.50±0.05
Gumminess(kg)	1.31±0.24	1.42±0.24	1.29±0.34
Chewiness(kg)	1.18±0.02	1.29±0.02	1.19±0.04

All values are mean±standard deviation of three replicates.

^{a, b} Means within a row with different letters are significantly different (p<0.05).

<표 3-35> 발효소시지의 지방함량에 따른 관능평가 비교

	10%	20%	30%
전반맛	3.70±0.58 ^{ab}	3.90±0.43 ^a	3.50±0.44 ^b
색	3.70±0.76 ^b	3.80±0.49 ^a	3.70±0.45 ^b
풍미	3.80±0.54 ^b	3.90±0.38 ^a	3.90±0.52 ^a
조직감	3.90±0.67 ^b	4.10±0.39 ^a	4.00±0.49 ^{ab}

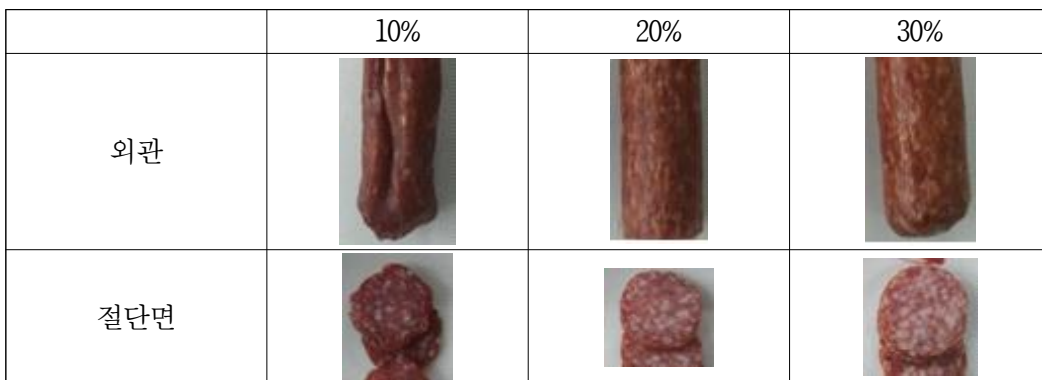
All values are mean±standard deviation of three replicates.

^{a, b} Means within a row with different letters are significantly different (p<0.05).

<표 3-36> 발효소시지의 지방함량에 따른 발효초기와 발효종료 시 지방산 변화 비교

Component Name	발효초기			발효종료		
	10%	20%	30%	10%	20%	30%
Methyl butyrate	0.0000	0.0486	0.0145	0.0076	0.0000	0.0124
Methyl myristate	0.0640	0.0823	0.0977	0.0838	0.1140	0.0944
Cis-10-pentadecanoic acid methyl ester	0.0000	0.0000	0.0000	1.0484	1.3996	1.1265
Methyl palmitate	0.7965	0.9633	1.1547	0.0000	0.0000	0.0000
Methyl palmitoleate	0.0602	0.0698	0.0718	0.0616	0.0807	0.0689
Methyl heptadecanoate	0.0137	0.0256	0.0338	0.0231	0.0329	0.0265
Cis-10-heptadecanoic acid methyl ester	0.0000	0.0135	0.0150	0.0000	0.0160	0.0000
Methyl stearate	0.3974	0.0493	0.5990	0.5413	0.7665	0.6055
Trans-9-elaidic acid methyl ester	0.0810	0.0962	0.1015	1.1327	1.6201	1.3747
Cis-9-oleic acid methyl ester	1.0541	1.3199	1.4134	0.0982	0.1207	0.1028
Methyl linoleate	0.1012	0.1469	0.0961	0.0374	0.0762	0.0916
Methyl eicosanoate	0.0213	0.0274	0.0297	0.0000	0.0000	0.0000
Cis-11,14-eicosadienoic acid methyl ester	0.0000	0.0000	0.0163	0.0152	0.0143	0.0245

All values are means of three replicates.



<그림 3-11> 발효소시지의 지방함량에 따른 외관 및 절단면 비교

(3) 부재료 변경에 따른 발효소시지의 관능적 특성 비교

유럽의 각 지역별 발효소시지 특성을 이해하고 품질을 비교하여 가장 한국인의 입맛에 적합한 배합을 찾아내기 위해 다양한 시즈닝을 활용하여 발효소시지를 제조하고 관능적 특성을 비교하였다.

(가) 재료 및 방법

① 원료 준비 및 계량

원료육과 부재료는 <표 3-37>과 같이 계량하여 준비하였다. Base 살라미는 가장 기본적인 살라미 풍미를 낼 수 있게 하였고, 독일1과 독일2는 Siliana 시즈닝과 후추, 그릴비프시즈닝으로 맛을 냈으며, 이탈리아와 헝가리 풍의 시즈닝을 사용하였다.

b. 제조 방법

제조방법은 <그림 3-10>과 같다.

<표 3-37> 각 국가별 특징을 갖는 부재료에 따른 발효소시지 배합비
(단위: kg)

원료명	Base	독일 1	독일 2	이탈리아	헝가리	Temperature (°C)
Pork lean meat	90.000	90.000	90.000	90.000	90.000	0
Back fat	10.000	10.000	10.000	10.000	10.000	-4
소계	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	
NPS(0.5% nitrite)	2.500	2.500	2.500	2.500	2.500	
포도당	1.500	1.500	1.500	1.500	1.500	
Sodium Ascorbate	0.050	0.050	0.050	0.050	0.050	
Starter LD20	0.025	0.025	0.025	0.025	0.025	
Medditeran spice	0.200	0.200	-	-	-	
Siliana(German)	-	0.500	0.250	-	-	
Italian	-	-	-	0.700	-	
Hungarian	-	-	-	-	1.300	
B-pepper(1/16)	-	-	0.200	-	-	
Grill beef seasoning	-	-	0.200	-	-	
소계	4.275	4.775	4.725	4.775	5.375	
합계	104.275	104.775	104.725	104.775	105.375	

c. 분석 방법

관능검사는 5점 척도법(1=매우 나쁨, 2=나쁨, 3=보통, 4= 좋음, 5= 아주좋음)으로 실시하였다.

나) 결과 및 고찰

<표 3-38>은 각 국가별 특징을 갖는 부재료에 따른 관능적 특성을 비교한 것이다. 전반적으로 숙성취가 부족하며, 신맛이 강하게 나타났고 헝가리안 타입의 매운맛이 깔끔하여 한국인의 입맛에 맞는 경향을 보였다(p<0.05). Medditeran spice와 Siliana를 사용한 숙성취에 Hungarian 시즈닝을 함께 섞을 때 가장 좋은 풍미를 가진 제품을 개발할 수 있을 것으로 보인다.

<표 3-38> 각 국가별 특징을 갖는 부재료에 따른 발효소시지의 관능평가 비교

항목	Base	독일1	독일2	이탈리아	헝가리
전반맛	3.53±0.43 ^c	3.83±0.26 ^a	3.75±0.39 ^b	3.66±0.35 ^{bc}	3.81±0.31 ^a
색	3.84±0.53	3.83±0.45	3.84±0.36	3.88±0.38	3.86±0.34
풍미	3.65±0.42 ^c	3.94±0.54 ^{ab}	3.81±0.47 ^b	3.69±0.31 ^c	3.98±0.29 ^a
조직감	3.76±0.35	3.79±0.27	3.81±0.41	3.71±0.44	3.82±0.32

All values are mean±standard deviation of three replicates.

^{a-c} Means within a row with different letters are significantly different (p<0.05).



<그림 3-12> 각 국가별 특징을 갖는 부재료에 따른 외관

(4) 후추, 고춧가루를 사용한 발효소시지의 품질 비교

한국인에게 적합한 후추, 고춧가루 등의 부재료를 사용하여 발효소시지의 품질을 비교하였다.

(가) 재료 및 방법

① 원료 준비 및 계량

원료육과 부재료는 <표 3-39>와 같이 계량하여 준비하였다.

② 제조 방법

지방의 크기를 적어보이게 하기 위해 제조공정은 <그림 3-13>과 같다. 지방부터 먼저 2mm 크기로 커팅한 후, 살코기와 부재료를 넣고 커팅하면서 최종 온도 -2° C까지 혼합하였다.

<표 3-39> 한국식 부재료를 사용한 발효소시지의 배합비

(단위: kg)

원료명	후추(kg)	고춧가루(kg)	Temperature (°C)
Pork lean meat	80.000	80,000	0
Back fat	20.000	20,000	-4
소계	100.000	100,000	
NPS(0.5% nitrite)	2.500	2,500	
포도당	1.000	1,000	
Sodium Ascorbate	0.050	0,050	
Starter LD20	0.025	0,025	
Medditeran spice	0.300	0,300	
Siliana(German)	0.500	0,500	
레드페퍼(동방)	0.500	-	
Black pepper	-	0,500	
소계	4.875	4,875	
합계	104.875	104,875	

③ 분석 방법

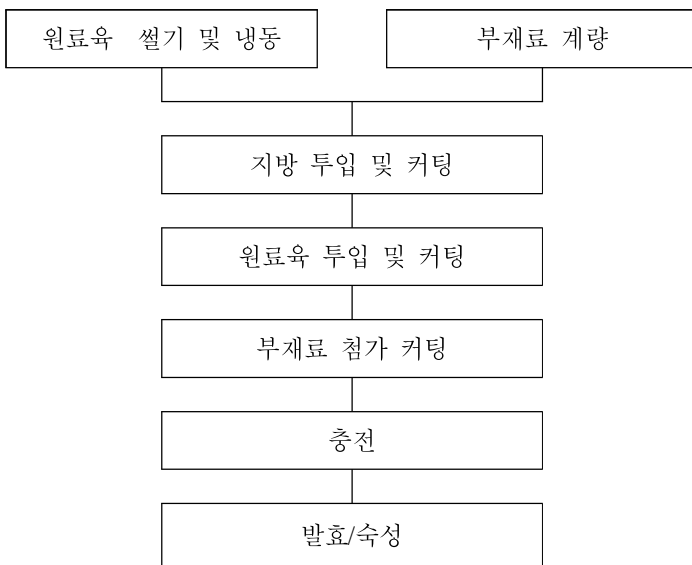
pH는 초기부터 종료시기까지 지속적으로 pH를 분석하였다. 잘게 다진 시료 20 g과 증류수 80 mL를 비닐팩에 넣고 균질기를 이용하여 2분 동안 균질한 후 pH meter(Orion 3 star, Thermo electron corporation, MA, USA)로 측정하였다.

수분활성도는 잘게 다진 시료를 칭량기에 5 g의 샘플을 넣고 25±1° C 조건에서 수분활성도 측정기(RTD-200, Nobasina, Pfaffikon, Switzerland)에 넣은 후 평형이 될 때까지 기다린 후 값을 측정하였다.

시료의 일반성분 정량은 AOAC법(2000)에 따라 수분함량은 105° C 상압건조법(FSJ-785D,

Jisico, Seoul, Korea), 조단백질 함량은 Kjeldahl 법(Kjeltec 8400, Foss, Hillerød, Denmark), 조지방 함량은 Soxhlet 법(2050 Soxtec Avanti Extract Unit, Foss, Höganäs, Sweden), 조회분 함량은 550°C에서 직접회화법(F62730-26, Thermo Scientific, IA, USA)으로 분석하였다.

관능검사는 연구원 25명을 대상으로 시료의 특성 및 목적을 설명하고 각각의 세부항목에 대한 기준이 확립될 때까지 훈련한 후 본 실험에 임하도록 하였다. 5점 기호 척도법을 이용하여 각 발효소시지에 대해 색 및 외관(1=매우 나쁘다, 5=매우 좋다), 풍미(1=매우 나쁘다, 5=매우 좋다), 조직감(1=매우 질기다, 5=매우 연하다), 전반맛(1=매우 나쁘다, 5=매우 우수하다)에 대하여 평점하고 그 평균치를 구하여 비교하였다.



<그림 3-13> 발효소시지 제조 공정

(나) 결과 및 고찰

<표 3-40>은 한국식 부재료를 사용한 발효소시지의 발효초기와 발효종료시 일반성분을 비교한 것이다. 발효초기에 비해 수분함량이 낮아졌고, 지방과 단백질 함량은 증가하였다. pH는 고춧가루를 첨가한 것이 더 낮게 나타나 후추보다 pH에 영향을 미친 것으로 사료된다. 관능평가 결과<표 3-41>, 두 제품의 선호도가 높았지만 한국인 입맛에는 고춧가루의 매운맛이 적절하였다.

<표 3-40> 한국식 부재료를 사용한 발효소시지의 발효초기와 발효종료시 일반성분 비교

기간	처리구	수분(%)	조지방(%)	조단백질(%)	회분(%)	Aw	pH
발효초기	후추	56.71	21.14	16.32	4.9	0.925	5.97
	고춧가루	57.94	22.26	16.48	2.74	0.945	5.96
발효종료	후추	28.06	35.05	28.12	4.87	0.859	4.98 ^a
	고춧가루	30.34	35.32	25.74	4.92	0.866	4.88 ^b

All values are means of three replicates.

^{a, b} Means within a row with different letters are significantly different (p<0.05).

<표 3-41> 한국식 부재료를 사용한 발효소시지의 관능평가 비교

	후추	고추가루
전반맛	3.84±0.45 ^b	3.96±0.43 ^a
색	3.80±0.41	3.81±0.41
풍미	3.85±0.36 ^b	3.91± 0.44 ^a
조직감	3.95±0.42	3.95±0.38

All values are mean±standard deviation of three replicates.

^{a, b} Means within a row with different letters are significantly different (p<0.05).

4. 우수 젖산균 스타터 후보균을 적용한 최적 발효 공정 확정

가. 젖산균 스타터 종류별 발효소시지의 이화학적 품질 특성

(1) 재료 및 방법

(가) 원료 준비 및 계량

앞선 테스트 결과를 토대로, 협동기관인 고려대학교에서 선정된 기능성 젖산균 스타터 4종을 확보하여 발효를 통한 품질을 비교하였다. 김치에서 분리한 유산균으로 GABA 생성능을 갖는 *Lactobacillus brevis* 계열의 PM03, Y8, KA20, O52를 발효에 사용하였다. pH 저하 및 풍미생성을 위해 상업용 균주인 *Lactobacillus kasei*, *Staphylococcus carnosus*의 복합 균주를 사용하였다. 원료육과 부재료는 <표 3-42>와 같이 계량하여 준비하였다. 원료육은 지방함량에 맞춰 원료육을 준비하여 3cm × 3cm × 3cm의 큐빅 형태로 잘라 냉동시켜 보관하였다. 해동시 쉽고 빠르게 해동하기 위해 준비하였다. 부재료는 배합비에 맞게 함께 계량하여 준비하였다. Medditeran spice와 Siliana 시즈닝을 사용하여 숙성취를 강화하였다.

초핑, 커팅, 믹싱, 충전 설비는 온도가 낮게 유지되도록 아이스를 사용하여 미리 설비 표면 온도를 낮춰놓았다. 또한 표면에 물이 맺혀있지 않도록 깨끗하게 닦아놓았다.

(나) 제조 방법

<그림 3-14>는 발효소시지 제조공정을 나타낸 것이다. 원료육은 지방부터 먼저 2mm 크기로 커팅한 후, 살코기를 넣고 커팅하면서 부재료를 투입하면서 최종 온도 -2° C까지 커팅하였다. 통기성 플라스틱 케이싱(Ø40)을 충분히 수화시켜 놓은 후 일정 중량(200g)으로 충전하였다. 스틱에 걸어 스모크하우스에서 발효 및 건조를 실시하였다. 발효 조건은 2일까지는 22-24° C, 90-92% 조건으로 발효하였고, 스모킹 이후 3일차부터는 18° C, 80-85% 조건으로 21일까지 발효를 실시하였다.

(다) 분석 방법

발효기간 동안 수분감량을 측정하였으며, 기존 무게 대비 감소한 무게로 측정하였다. 감량이 40%가 될 때를 기준으로 발효를 종료하였다.

pH는 잘게 다진 시료 20 g과 증류수 80 mL를 비닐팩에 넣고 균질기를 이용하여 2분 동안 균질한 후 pH meter(Orion 3 star, Thermo electron corporation, MA, USA)로 측정하였다.

수분활성도는 잘게 다진 시료를 칭량기에 5 g의 샘플을 넣고 25±1° C 조건에서 수분활성도 측정기(RTD-200, Nobasina, Pfaffikon, Switzerland)에 넣은 후 평형이 될 때까지 기다린 후 값을 측정하였다.

GABA 함량은 발효소시지 시료 3 g에 0.01 N HCl 3 ml 첨가하여 단백질을 제거 후 AQC reagent (Waters, USA)를 이용하여 유도체화한 것을 HPLC 분석에 사용하였다. column은 reverse-phase column (150×3.9 mm I.D. AccQ.Tag C18, Waters)를, U.V-spectrophotometric detector (254 nm) 제품을 이용하였다. 이동상은 A solution (140 mM Sodium acetate, 5.6 mM Triethylamine, pH 5.03)과 B solution (acetonitrile/distilled water = 60/40)의 gradient condition (initial 100% A: 35 min 67% A)에서 flow rate 1 ml/min, injection volume 20 µl의 조건으로 분석하였다.

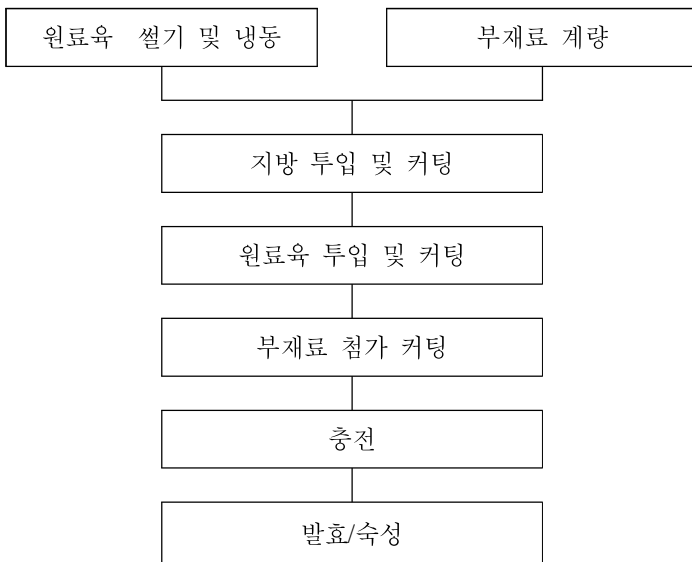
총균수 측정을 위한 배지로는 PCA(Plate count agar)를 젖산균 분리를 위한 배지로는 BCP(0.006% bromocresol purple)와 MRS (deMan Rogosa Sharpe) 배지를 사용하였다. 균수 측정

방법은 식품공전 미생물시험법에 따라 시료 25 g에 멸균 희석수 225 ml 첨가하여 희석한 다음 배지에 도말하여 35±2℃, 혐기적 조건에서 24시간 배양한 후 생성된 집락을 관찰하였다. BCP 평판배지에서 노랗게 배지를 변화시키고 MRS 평판배지에서 집락 주변을 투명하게 변화시키는 집락들을 2회 이상 분리하여 산 생성 여부를 확인하였다.

<표 3-42> GABA 생성 기능성 젖산균을 포함한 발효소시지 배합비

원료명	PM03	Y8	KA20	O52	Temperature(°C)
Pork lean meat	80.000	80.000	80.000	80.000	0
Back fat	20.000	20.000	20.000	20.000	-4
소계	100.000	100.000	100.000	100.000	
항목	PM03	Y8	KA20	O52	
NPS(0.5% nitrite)	2.500	2.500	2.500	2.500	
포도당	1.000	1.000	1.000	1.000	
Sodium Ascorbate	0.050	0.050	0.050	0.050	
Starter LD20	0.025	0.025	0.025	0.025	
Functional starter	0.015	0.015	0.015	0.015	
Medditeran spice	0.300	0.300	0.300	0.300	
Siliana(German)	0.500	0.500	0.500	0.500	
레드페퍼(동방)	0.500	0.500	0.500	0.500	
Black pepper(1/16)	0.500	0.500	0.500	0.500	
MSG(가바균 먹이)	0.200	0.200	0.200	0.200	
소계	5.590	5.590	5.590	5.590	
합계	105.590	105.590	105.590	105.590	

<그림 3-14> 발효소시지 제조 공정



(2) 결과 및 고찰

pH는 발효기간 동안 지속적으로 떨어져 21일차에 모든 처리구에서 4.66~4.80을 나타내었고, 수분활성도는 0.870~0.878로 나타나 건조숙성이 잘 이루어졌다. 총균수와 유산균수는 증가하거나 감소하는 추세를 나타내지 않아, 이 부분에 대해서는 더 연구가 필요해 보인다. PM03 처리구의 GABA 함량은 발효 6일째부터 급속하게 증가하면서, 21일차에서 최종 59.55mg/kg을 나타내었고 Y8이 다음으로 높게 나타나 39.23mg/kg을 보였다. 고려대학교의 발효 중 GABA 함량은 PM03 처리구가 64.22mg/kg, Y8이 55.84mg/kg으로 나타나 당사가 개발한 발효소시지의 GABA 함량보다는 높게 나타나, 발효숙성 조건 및 부재료 등에서 GABA 함량은 변화가 이루어지며, 최적 조건을 재설정할 필요가 있을 것으로 사료된다.

<표 3-43> GABA 생성 기능성 젖산균을 포함한 발효소시지의 pH 및 수분활성도 변화

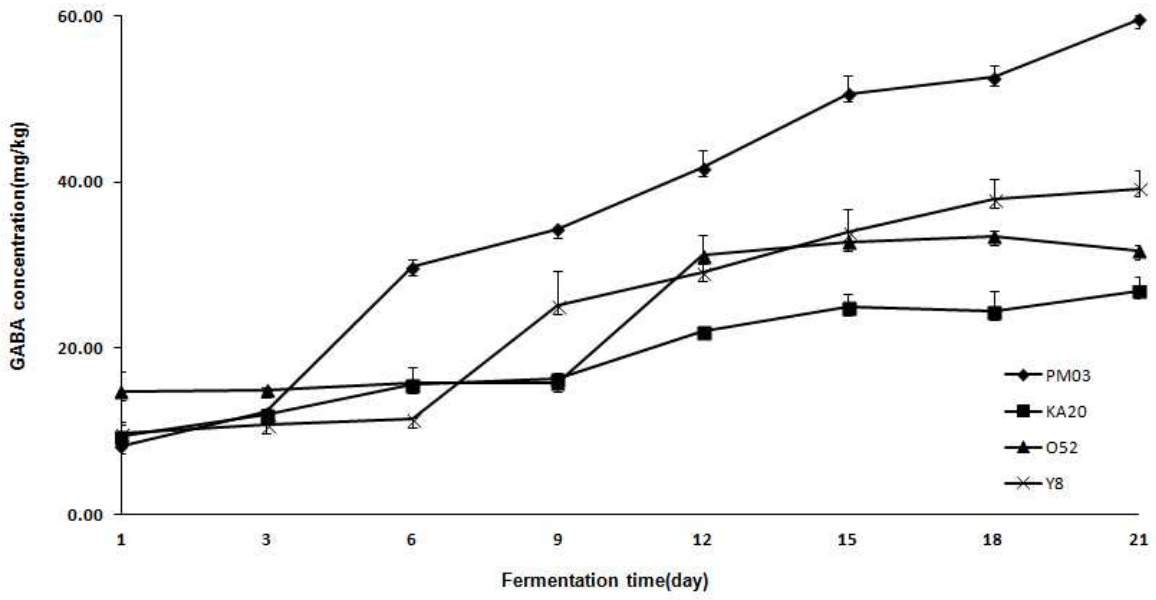
항목	처리구	1일차	3일차	5일차	9일차	12일차	15일차	18일차	21일차
pH	PM03	5.98	5.16	4.78	4.68	4.74	4.68	4.67	4.67
	KA20	5.97	5.22	4.80	4.71	4.75	4.71	4.70	4.66
	O52	6.06	5.18	4.79	4.66	4.76	4.67	4.70	4.70
	Y8	5.91	5.20	4.82	4.76	4.8	4.78	4.80	4.80
수분 활성도	PM03	0.962	0.957	0.935	0.924	0.913	0.881	0.886	0.871
	KA20	0.959	0.956	0.936	0.914	0.915	0.888	0.885	0.870
	O52	0.956	0.958	0.936	0.917	0.914	0.886	0.887	0.876
	Y8	0.960	0.958	0.937	0.912	0.913	0.880	0.888	0.878

All values are means of three replicates.

<표 3-44> GABA 생성 기능성 젖산균을 포함한 발효소시지의 총균수 및 유산균수 변화
(단위: log cfu/g)

항목	처리구	1일차	3일차	5일차	9일차	12일차	15일차	18일차	21일차
총균수	PM03	7.79	7.28	7.55	7.33	7.16	7.36	7.38	7.45
	KA20	7.68	7.73	7.66	7.30	7.47	7.68	7.17	7.50
	O52	7.56	7.59	7.63	7.63	7.76	7.78	7.60	7.77
	Y8	7.74	7.65	7.54	7.47	7.51	7.37	7.54	6.84
유산 균수	PM03	7.99	7.69	7.38	7.39	7.27	7.52	7.48	7.40
	KA20	7.99	7.86	7.73	7.17	7.52	7.65	7.34	7.56
	O52	8.03	7.92	7.79	7.84	7.76	7.80	7.65	7.70
	Y8	8.03	7.72	7.42	7.46	7.30	7.40	7.48	7.53

All values are means of three replicates.



<그림 3-15> GABA 생성 기능성 젖산균을 포함한 발효소시지의 GABA 함량 변화

나. 젖산균 스타터 종류별 발효소시지의 관능적 품질 특성

(1) 소비자 조사 준비

(가) 원료 준비 및 계량

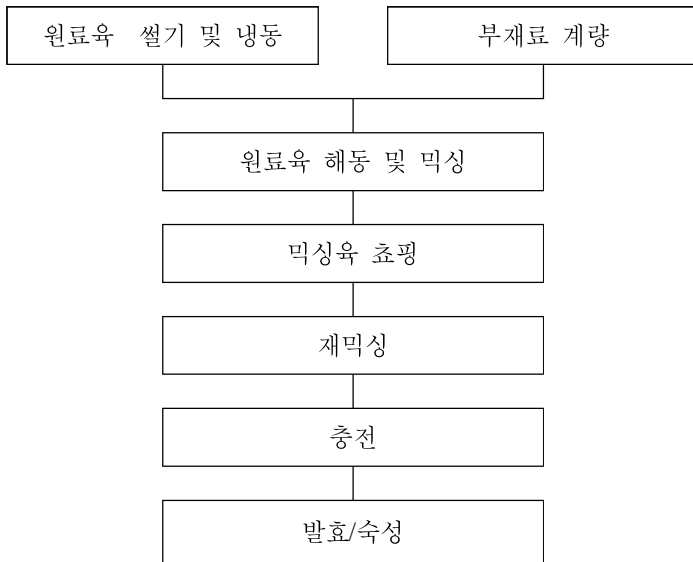
원료육과 부재료는 <표 3-45>와 같이 계량하여 준비하였다. 원료육은 지방함량에 맞춰 원료육을 준비하여 3 cm × 3 cm × 3 cm의 큐빅 형태로 잘라 냉동시켜 보관하였다. 해동시 쉽고 빠르게 해동하기 위해 준비하였다. 부재료는 배합비에 맞게 함께 계량하여 준비하였다.

원료육은 -4° C까지 해동시킨 후 스타터컬처(*Lactobacillus sakei*, *Staphylococcus carnosus*)를 제외한 부재료로 일차 혼합(mixing)을 실시하였다. 적당히 섞인 것을 확인하고 초퍼(chopper)에서 3mm 플레이트를 설치하고 분쇄하였다. 온도상승을 막기 위해 3구 플레이트에 나이프 1개만 설치하고 바로 3mm 플레이트를 설치하였다. 분쇄하여 나온 육의 온도는 -2° C정도이며, 스타터를 넣고 지방입자 및 육 입자가 으스러지지 않도록 믹서에서 혼합을 실시하였다. 화이버스 케이싱(Ø 40mm)을 충분히 수화시켜 놓은 후 일정 중량(200g)으로 충전하였다. 스틱에 걸어 스모크하우스에서 발효 및 건조를 실시하였다. <그림 3-16>은 발효소시지 제조공정을 나타낸 것이다. 발효 조건은 <표 3-46>과 같이 진행하였다. 2일까지는 22-24° C, 90-95% 조건으로 발효하였고, 스모킹 이후 3일차 부터는 18° C, 80-85% 조건으로 21일까지 발효를 실시하였다.

<표 3-45> 소비자조사용 발효소시지 배합비

원료명	배합량 (kg)	Temperature (°C)
Pork lean meat	80.000	0
Back fat	20.000	-4
소계	100.000	
항목	T1	
NPS(0.5% nitrite)	2.500	
포도당	1.000	
Sodium Ascorbate	0.050	
Starter LD20	0.025	
Medditeran spice	0.300	
Siliana(German)	0.500	
레드페퍼(동방)	-	
Black pepper	0.200	
소계	4.575	
합계	104.575	

<그림 3-16> 발효소시지 제조 공정



<표 3-46> 발효소시지 발효 조건

조건	제조당일	0.5일	1일	스모킹(15분)	2일	3일	4일
온도(°C)	22-24	22-24	22-24	24	22-24	18	18
습도(%)	90-95	90-95	90-95	-	90-95	80-85	80-85
조건	5일	6일	7일	8일	9일	21일
온도	18	18	18	18	18	18	18
습도	80-85	80-85	80-85	80-85	80-85	80-85	80-85

(나) 소비자조사 방법

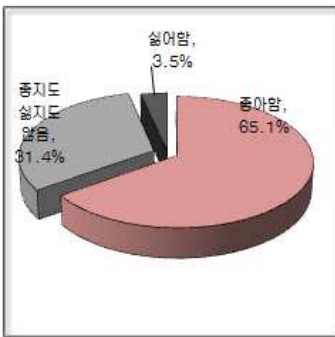
개발된 제품의 소비자 선호도를 조사하고자, 당사에서 진행하고 있는 패넬을 모집하여 발효 소시지에 대한 선호도를 조사하였다. 현재 시중에서 가장 한국적이고, 일반적인 S사의 이탈리아 살라미와 비교하였다. <표 3-45>는 조사방법을 나타낸 것이다. 소비자 유형은 <그림 3-16>과 같다. 소비자 조사는 <그림 3-17>과 같이 세팅하였고 발효소시지 자체만 먹는 것이 아니기 때문에 기본적인 무염크래커를 함께 제공하였다. 발효소시지를 전혀 취식하지 않는 소비자가 57%, 구매해 본 적이 없는 소비자는 67.4%로 생소한 제품이라 할 수 있다.

<표 3-45> 소비자 조사 방법

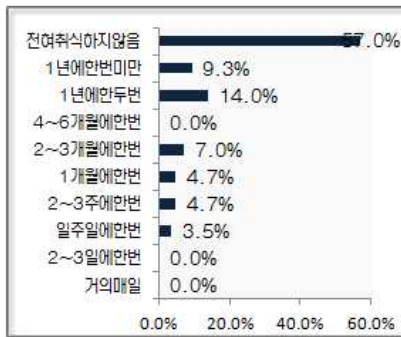
조사 유형: Blind Label Test (설문 제목: 발효소시지)
조사 대상: 만 25~49세 전업 주부 (random cell)
조사 표본: N= 86명
조사 장소: 식품연구소 Sensory Lab. Test
조사 기간: 2016.05.11
제공 방법: 크래커와 함께 제공함
제시 순서: sequence monadic
시식 순서: counter-balanced design에 따라 총 2가지 시식 유형(A형/B형)
발효소시지 정의설명: " 발효소시지란? 소고기나 돼지고기를 지방과 함께 곱게 갈아, 소금 등 맛을 내는 재료와 유산균을 가하여 혼합한 후 저온발효 시킨 제품으로, 셀러드, 샌드위치, 와인등과 함께 먹는 제품입니다"

<그림 3-16> 소비자 특성

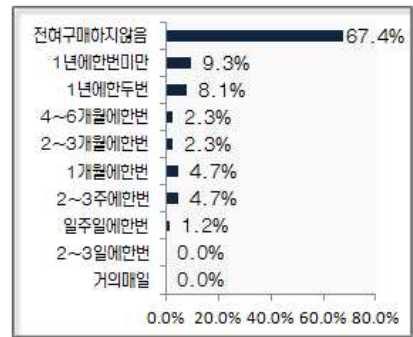
■ 평소 '소시지' 선호도



■ 평소 '발효소시지' 취식 빈도



■ 평소 '발효소시지' 구매 빈도



<그림 3-17> 소비자 조사를 위한 샘플 준비 및 소비자 조사 전경

	자사	S사
샘플 제시		
전경		

(2) 소비자 조사 결과 분석

소비자 조사 결과, 전반기호도 [S사] 5.78, [자사] 5.57 으로 나타나 (p<0.26), 자사의 전반기호도는 경쟁사 대비 동등 수준의 품질력을 갖는 것으로 평가되었다. 경쟁사 대비 낮은 품질력: 식감, 뒷맛, 쫄깃함, 부드러움을 나타내었고, 자사는 경쟁사 대비 부드러운 식감이 약하고 쫄깃

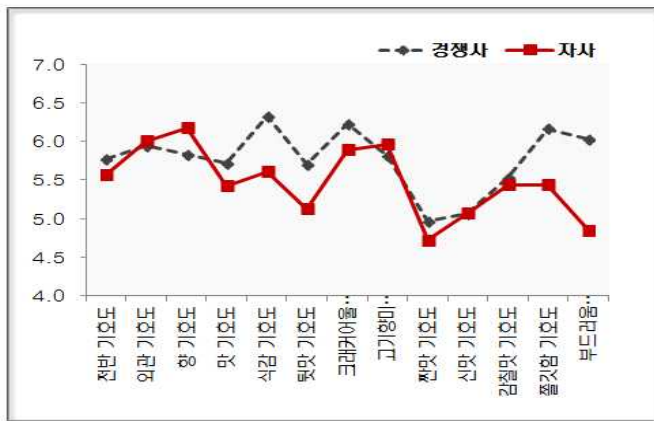
함이 강하게 발현되는 특징을 보였다. 소비자들은 경쟁사 제품은 쫄깃함과 부드러움이 적당히 발현되어 식감이 좋다고 인지된 반면, 자사는 쫄깃함이 너무 강하게 발현되어 질기고 딱딱하게 느껴져 부정적인 영향을 준 것으로 보인다. 향후 자사의 식감은 경쟁사의 방향으로 부드럽게 개선이 필요하였고, 자사는 짠맛과 신맛, 매운맛, 후추맛이 전반적으로 강하게 발현되어 소비자들에게 자극적으로 인지되는 것으로 평가되었다. 또한 평소 발효소시지를 먹어본 경험이 있는 소비자들도 경험하지 못한 소비자 대비 기호성이 높아지긴 했으나, 아직도 낮은 만족도를 보여 향후 맛 강도를 낮추어 자극적이지 않게 조율이 필요할 것으로 사료된다. 결과적으로 자사제품은 경쟁사 대비 전반기호도는 동등 수준이나 식감과 뒷맛에 대한 기호도가 더 낮게 평가되었고, 향후 식감을 부드럽게 개선하고 맛 강도를 낮추어 자극적이지 않도록 보완이 필요하였다.

<그림 3-18> 소비자 조사 결과 분석(전반기호도)



<그림 3-19> 소비자 기호도 Mean & 유의 차 분석

	경쟁사	자사	p-value
전반기호도	5.78	5.57	0.26
외관 기호도	5.94	6.00	0.72
향 기호도	5.83	6.17	0.09
맛 기호도	5.72	5.42	0.11
식감 기호도	6.33	5.60	0.00
뒷맛 기호도	5.70	5.13	0.00
크래커어울림 기호도	6.23	5.90	0.11
고기향미 기호도	5.81	5.97	0.49
짠맛 기호도	4.97	4.72	0.33
신맛 기호도	5.07	5.07	0.95
감칠맛 기호도	5.53	5.43	0.58
쫄깃함 기호도	6.16	5.43	0.00
부드러움 기호도	6.02	4.85	0.00



전반기호도와 세부 항목간의 상관 관계 분석

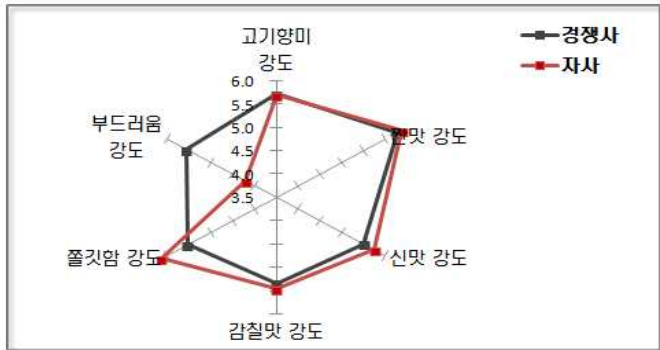
	외관	향	맛	식감	뒷맛	크래커 어울림	고기향미	짠맛	신맛	감칠맛	쫄깃함	부드러움
전반기호도	.269(**)	.465(**)	.809(**)	.524(**)	.694(**)	.593(**)	.564(**)	.472(**)	.460(**)	.586(**)	.383(**)	.355(**)

- 세부속성 기호도 평가결과 식감, 뒷맛, 쫄깃함 부드러움 속성은 경쟁사 대비 자사가 낮은 품질력을 보였으며, 그 외 속성들은 동등 수준의 품질력을 갖는 것으로 나타남.
- 전반기호도와 세부속성간에 상관관계를 분석한 결과 맛 속성과 가장 높은 연관성을 지님.

<그림 3-20> 강도평가 및 유의차 분석

■ 세부 속성 강도

	경쟁사	자사	p-value
고기향미 강도	5.71	5.69	0.86
짠맛 강도	6.26	6.37	0.50
신맛 강도	5.50	5.74	0.21
감칠맛 강도	5.34	5.47	0.44
쫄깃함 강도	5.52	6.13	0.01
부드러움 강도	5.55	4.21	0.00



- 세부속성 강도를 분석한 결과 고기향미, 짠맛, 신맛, 감칠맛은 경쟁사 대비 자사가 동등 수준의 강도로 발현됨.
- 반면 자사는 경쟁사 대비 쫄깃함이 강하고 부드러운 식감이 약하게 발현되는 것으로 평가됨.

다. 9대 영양성분 분석 결과

발효소시지 9대 영양성분 분석을 통해 향후 제품 개발시 소비자를 위해 조정해야 할 부분을 확인하고자 하였다. 공인기관 분석기관인 한국SGS(주)를 통해 분석하였으며, <표 3-46>과 같은 결과를 보였다. 분석결과, 나트륨의 수치가 높아 나트륨에 대한 저감화 방안이 필요하며, 지방 함량에 대한 조정을 통해 칼로리 및 전반적인 영양성분들을 확인할 필요가 있다.

<표 3-46> 각 발효소시지별 영양성분 분석 결과

시험항목	지방함량 30% 처리구	레드페퍼 처리구	PM03 처리구
열량(kcal/100g)	486	465	376
탄수화물(g/100g)	0.730	5.47	1.89
단백질(g/100g)	23.5	24.5	30.5
지방(g/100g)	43.1	38.3	27.4
당류(g/100g)	불검출	불검출	불검출
포화지방(g/100g)	16.2	14.2	9.70
트랜스지방(g/100g)	0.288	0.252	0.214
콜레스테롤(mg/100g)	71.9	68.1	68.6
나트륨(mg/100g)	1270	1290	1460

5. 한국형 발효소시지의 산업화 및 표준화

가. Pilot scale에서 확보된 한국형 발효소시지 제조공정을 최종 확정

(1) 지방첨가량과 케이싱 직경에 따른 발효소시지의 품질 특성 및 제형 선정

(가) 재료 및 방법

① 원료 준비 및 계량

돈육 후지와 돈지방은 CJ제일제당 진천공장에서 사용하는 국내산 돈육을 사용하였고, 사용전 30mm × 50mm × 10mm 굵기로 잘라서 중심온도가 -4° C 가 될 때까지 냉동시킨 후 사용하였다. 부재료는 소금, 포도당, 고추가루, 후추가루, 아스코르빈산나트륨, Medditeran spice, 아질산나트륨, starter culture(*Lactobacillus sakei*와 *Staphylococcus carnosus*; Bitec starter LD20; Frutarom; Germany)를 사용하였다. 배합비는 <표 3-47>에 나타내었다. 돈육후지(지방함량 5%)와 돈지방을 silent cutter에서 1단으로 커팅을 시작하고, 원료육의 사이즈가 5mm 정도일 때, 정제염 및 스파이스를 넣고 커팅 및 혼합하였다. 원료육의 사이즈가 3mm 정도에서 커팅을 종료하였다. 유화물은 콜라겐 케이싱(Ø 18 mm), 양장 케이싱(Ø 26 mm), 화이버스 케이싱(Ø 40 mm)에 각각 충전하였다. 숙성조건은 스모크하우스에서 발효 2일 동안 22-24° C, 습도 90-92%로 유지하였고, 약 24° C에서 15분 동안 훈연을 실시하였다. 숙성 3-20일까지 15-18° C, 78-80%의 습도를 유지하였다. 제조 후 0, 1, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 16, 20일에 시료를 채취하여 품질을 평가하였으며, 초기 무게로부터 약 40% 감량이 일어날 때 숙성을 종료하였다.

② 실험 방법

발효기간 동안 수분감량을 측정하였으며, 기존 무게 대비 감소한 무게로 측정하였다.

pH는 초기부터 종료시기까지 지속적으로 pH를 분석하였다. 잘게 다진 시료 20 g과 증류수 80 mL를 비닐팩에 넣고 균질기를 이용하여 2분 동안 균질한 후 pH meter(Orion 3 star, Thermo electron corporation, MA, USA)로 측정하였다.

수분활성도는 잘게 다진 시료를 칭량기에 5 g의 샘플을 넣고 25±1° C 조건에서 수분활성도 측정기(RTD-200, Nobasina, Pfäffikon, Switzerland)에 넣은 후 평형이 될 때까지 기다린 후 값을 측정하였다.

시료의 일반성분 정량은 AOAC법(2000)에 따라 수분함량은 105° C 상압건조법(FSJ-785D, Jisico, Seoul, Korea), 조단백질 함량은 Kjeldahl 법(Kjeltec 8400, Foss, Hillerød, Denmark), 조지방 함량은 Soxhlet 법(2050 Soxtec Avanti Extract Unit, Foss, Höganäs, Sweden), 조회분 함량은 550° C에서 직접회화법(F62730-26, Thermo Scientific, IA, USA)으로 분석하였다.

조직감은 texture analyzer (TA-XT2i, Stable Micro Systems Ltd., Surrey, England)를 사용하여 실온에서 측정하였다. 샘플은 30mm 길이로 잘라서 중심부위를 측정하였고, 측정 조건은 pre-test speed 2.0 mm/s, post-test speed 5.0 mm/s, maximum load 2 kg, head speed 2.0 mm/s, distance 8.0 mm, force 5 g 이었으며, hardness (kg), springiness, cohesiveness, gumminess (kg), chewiness (kg)를 산출하였다.

총균수 측정을 위한 배지로는 PCA(Plate count agar)를 젖산균 분리를 위한 배지로는 BCP(0.006% bromocresol purple)와 MRS (deMan Rogosa Sharpe) 배지를 사용하였다. 균수 측정 방법은 식품공전 미생물시험법에 따라 시료 25 g에 멸균 희석수 225 ml 첨가하여 희석한 다음 배지에 도말하여 35±2° C, 혐기적 조건에서 24시간 배양한 후 생성된 집락을 관찰하였다. BCP 평판배지에서 노랗게 배지를 변화시키고 MRS 평판배지에서 집락 주변을 투명하게 변화시키는

집락들을 2회 이상 분리하여 산 생성 여부를 확인하였다.

지방산 분석은 Folch 등(1957)의 방법에 따라 추출된 지방으로 분석에 이용하였다. 20 mg의 지질을 플라스크에 넣고 reflux관에 장착한 이후 10 mL 2 mM NaOH in methanol을 첨가하여 10분간 가열하여 비누화 과정을 거쳤으며, 이후 4% H₂SO₄ in methanol을 3 mL 가한 후 20분 동안 가열하면서 5분마다 vortexing을 실시하여 methylation을 시켰다. 방냉 이후 1 mL hexane을 가하여 지방산을 추출하고 이를 FID(flame ionization detector)가 장착된 GC(Agilent6890, Agilent Technologies Inc., Palo Alto, CA, USA)로 분석하였다. 분석조건은 column은 SP-2560(100 m×0.25mm I.D., 0.20 μm)를 이용하여 측정하였으며, 오븐온도는 80°C에서 단계 승온하여 200°C까지 측정하였으며, injection 및 detector 온도는 250°C 였으며, 이동상은 helium으로 20cm/s로 흘러주었으며, split ratio는 100:1로 1 μL 시료를 주입하여 분석하였다. 지방산 정량은 FAME(fatty acid methylester) standard 물질을 이용하여 동일 retention time을 확인하여 분석하였다.

전자코에 의한 향기 패턴 분석은 시료 1 g을 headspace vial(10 mL 용량)에 정량하여 PTFE/silicone septa와 aluminium cap으로 밀봉한 후 60°C/500 rpm의 agitator에서 incubation하였다. 이후 65°C syringe (HS 100 autosampler, Alpha MOS, France)로 headspace gas 2.5 mL를 채취하여 전자코(FOX 3000, Alpha MOS, France)의 injector에 주입하여 분석하였으며, 분석 시 설정한 carrier gas(고순도 air)의 flow rate는 300 mL/min이었다. 산출된 12개 sensor들의 반응 값은 Alpha soft program(Version 8.01 software, Alpha MOS)를 이용하여 PCA(principal component analysis)로 처리함으로써 패턴화시켜 2차원 그래프에 나타내어 분별도를 확인하였다. 전자코 분석조건은 <표 3-48>과 같다.

통계분석은 SAS program(Statistics Analytical System, ver. 9.12, SAS Inst., Cary, NC, USA)의 GLM (General Linear Model) procedure를 통하여 분석하였고, 처리구간의 평균간 비교는 Duncan의 다중검정을 통하여 유의성 검정(p<0.05)을 실시하였다.

<표 3-47> 다른 지방함량을 가진 발효소시지 배합비

Ingredients	Added fat levels (%)		
	10	20	30
Pork (5% fat content)	90.000	80.000	70.000
Back fat	10.000	20.000	30.000
Salt	2.485	2.485	2.485
Sodium nitrite	0.015	0.015	0.015
Glucose	1.000	1.000	1.000
Sodium Ascorbate	0.050	0.050	0.050
Starter culture	0.025	0.025	0.025
Medditeran spice	0.800	0.800	0.800
Red pepper	0.300	0.300	0.300
Black pepper	0.500	0.500	0.500

<표 3-48> 전자코 분석 조건

Parameters		Conditions
Headspace generation	Incubation temp.(°C)	50
	Incubation time (min)	20
Injector	Pretreatment (g)	3
	Injected volume (uL)	5000
	Injection speed(s)	250
	Injection temp.(°C)	200
	Injection duration(s)	15
Trap	Trap initial temp.(°C)	40
	Spilt(mL/min)	10
	Trapping duration(s)	60
	Trap final temp.(°C)	240
Column Temp.	Initial isotherm(°C)	40(2 s)
	Temperature program	2°C/s – 280°C(18 s)
	Acquisition duration(s)	140
Detector	Detector temp.(°C)	290
	Gain FID	12
	Time between 2 analysis	6min
	Trap final temp.(°C)	240

(나) 실험 결과

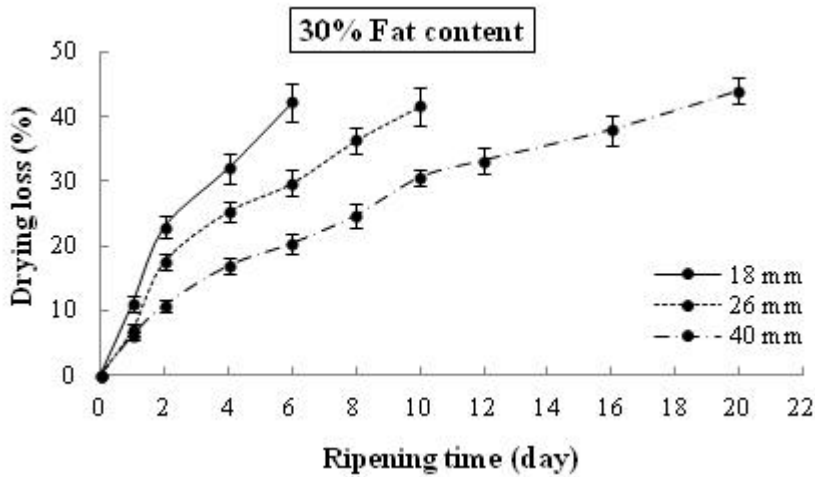
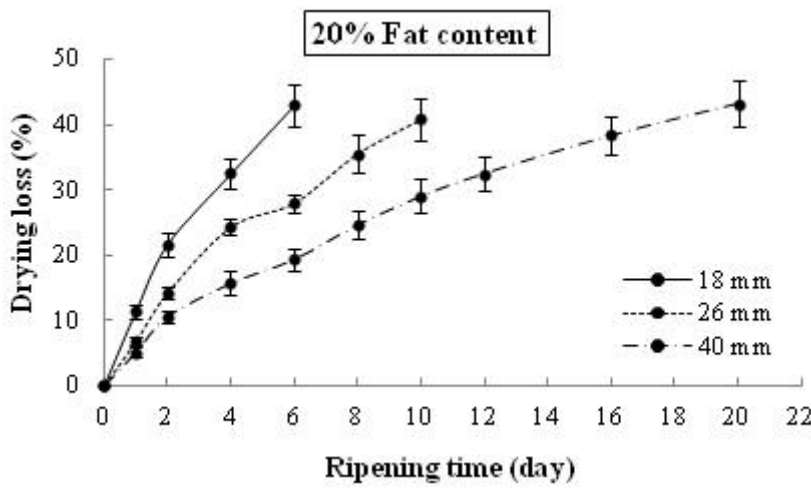
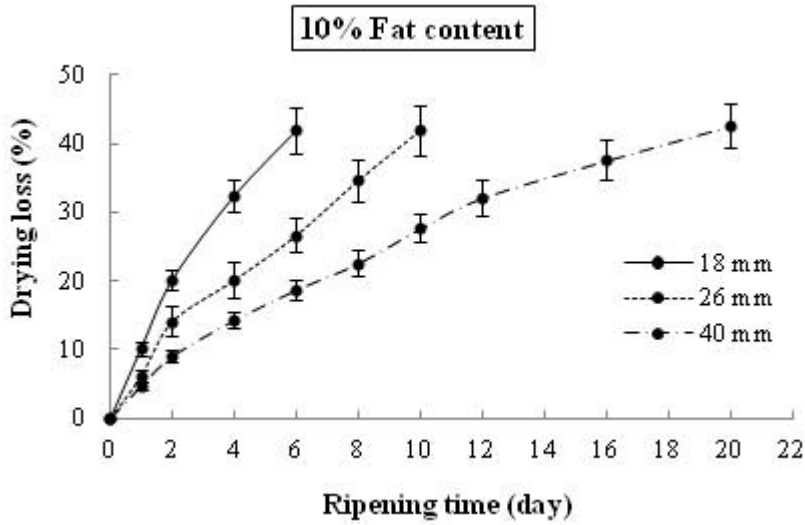
① 건조감량 변화

지방함량 및 직경에 따른 발효소시지의 숙성 중 건조 감량 변화에 대해 <그림 3-21>에 나타내었다. 지방을 10% 첨가한 처리구가 직경 18 mm 처리구에서 6일만에, 직경 26 mm 처리구에서 10일만에, 직경 40 mm 처리구에서 18일 만에 감량 40%에 도달하였다. 지방을 20%, 30% 첨가한 처리구는 직경 18 mm 처리구에서 8일만에, 직경 28 mm 처리구에서 12일만에, 직경 40 mm 처리구에서 20일만에 감량 40%에 도달하였다. 처리구마다 숙성기간이 경과함에 따라 약간의 차이는 있었지만, 동일한 직경에서는 지방함량이 적었을 때 수분감량이 빠르게 진행되는 것으로 나타났다($p < 0.05$). 직경 18 mm 처리구의 건조 감량은 숙성 1일째에 10.05-12.27%, 2일째에 19.95-25.23%, 4일째에 27.05-36.42%, 6일째에 34.93-41.93%, 8일째에 40.67-41.04%로 증가하였으며($p < 0.05$), 26 mm 처리구의 건조 감량은 숙성 1일째에 6.97-8.29%, 2일째에 13.56-16.15%, 6일째에 25.77-29.74%, 10일째에 35.76-40.10%, 12일째에 40.12-41.69%로 점차 증가하였다($p < 0.05$). 직경 40mm 처리구의 건조감량은 숙성 1일째에 5.10-6.77%, 4일째에 14.88-17.33%, 8일째에 24.70-26.72%, 12일째에 32.20-33.13%, 18일째에 38.15-41.64%, 20일째에 40.98-41.23%로 증가하는 경향을 보였다($p < 0.05$).

② pH 변화

살라미와 같은 발효소시지의 유통기한 연장은 숙성기간 중 낮은 수분활성도와 pH의 감소에 의해 유지된다. 특히, 수분활성도는 염 첨가와 제품의 탈수에 의해 낮아질 수 있다. 낮은 수분활성도와 pH는 발효와 건조하는 동안 부패 미생물의 성장을 저해한다(Leistner 등, 1981). <표 3-49>은 숙성기간 중 발효소시지의 pH 변화에 대해 나타낸 것이다. 모든 발효소시지의 pH는 발효초기 5.86-5.90 부터 시작해서 8일차까지 지속적으로 감소하였으며($p < 0.05$), 20일까지 발효한 소시지의 경우 서서히 감소하였다. 최종 pH는 지방 10% 첨가구가 지방 20%, 30% 첨가구보다 발효기간이 짧아서 유의적으로 높은 pH를 나타내었다($p < 0.05$). 또한 직경이 증가할수록 발효시간이 길어지기 때문에 pH가 낮게 나타났다($p < 0.05$).

발효 소시지의 pH는 일반적으로 숙성 초기 젖산균의 발효에 의해 젖산이 생성되어 일정기간 동안 지속적으로 감소되며, 이후 미생물의 단백질 분해 작용에 의한 펩타이드, 아미노산, 암모니아의 생성으로 인해 약간 상승하는 경향을 보인다. 또한 산성의 pH가 발효소시지 특유의 색깔 발현과 풍미의 형성뿐만 아니라, 유해 미생물의 억제에 매우 중요한 역할을 하며 18 °C 이상에서 발효하였을 때, pH가 5.3 미만으로 단시간 내에 감소되어 병원성 식중독균을 억제할 수 있다(Lucke, 1994; Kunz & Lee, 2003).



<그림 3-21> 지방첨가량과 다른 직경을 가진 케이싱으로 제조한 발효소시지의 건조감량 변화

<표 3-49> 지방첨가량과 다른 직경을 가진 케이싱으로 제조한 발효소시지의 pH 변화

Fat level	Casing diameter	Ripening periods (day)							
		0	2	4	6	8	10	18	20
10%	18 mm		5.34±0.07	5.16±0.07	5.08±0.04	-	-	-	-
	26 mm	5.86±0.12	5.48±0.07	5.30±0.09	5.16±0.08	5.07±0.08	5.01±0.04	-	-
	40 mm		5.47±0.09	5.25±0.08	5.12±0.09	5.03±0.05	4.95±0.04	4.81±0.04	-
20%	18 mm		5.40±0.10	5.18±0.06	5.06±0.10	4.99±0.08	-	-	-
	26 mm	5.89±0.15	5.50±0.11	5.35±0.06	5.15±0.07	5.05±0.04	4.96±0.08	-	-
	40 mm		5.44±0.11	5.30±0.12	5.18±0.08	5.09±0.06	4.98±0.08	4.81±0.08	4.76±0.07
30%	18 mm		5.41±0.09	5.17±0.08	5.04±0.07	4.97±0.08	-	-	-
	26 mm	5.90±0.14	5.49±0.10	5.28±0.09	5.13±0.08	5.04±0.09	4.99±0.06	-	-
	40 mm		5.49±0.12	5.28±0.12	5.15±0.10	5.07±0.08	4.95±0.09	4.80±0.07	4.75±0.06

All values are mean±standard deviation of three replicates.

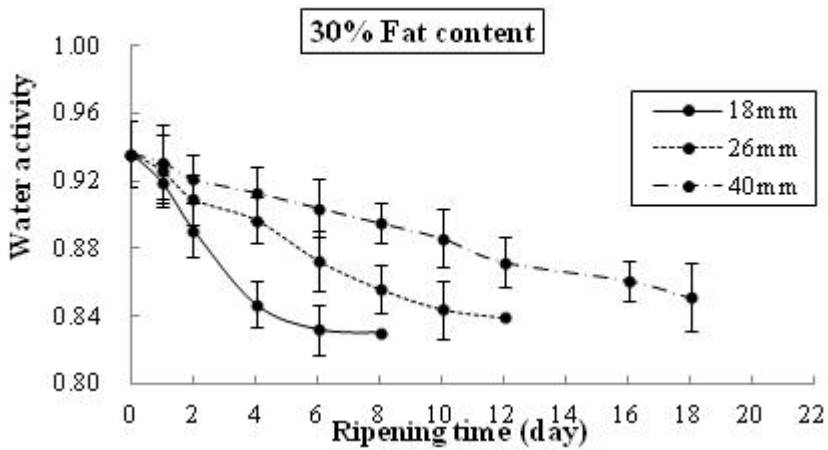
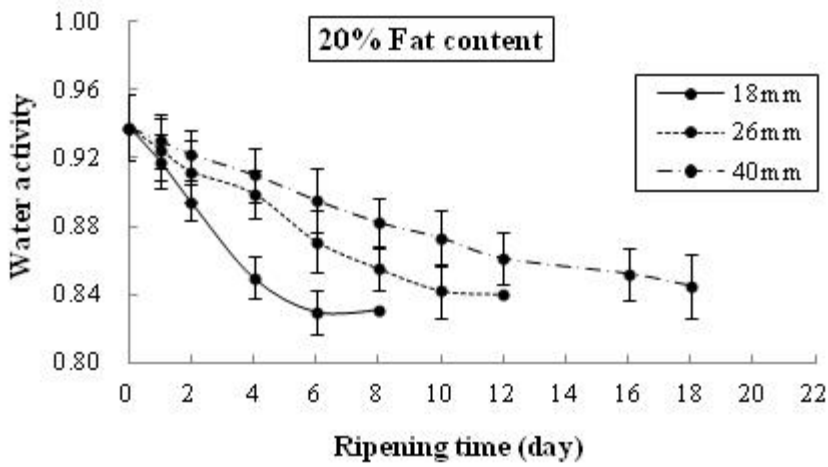
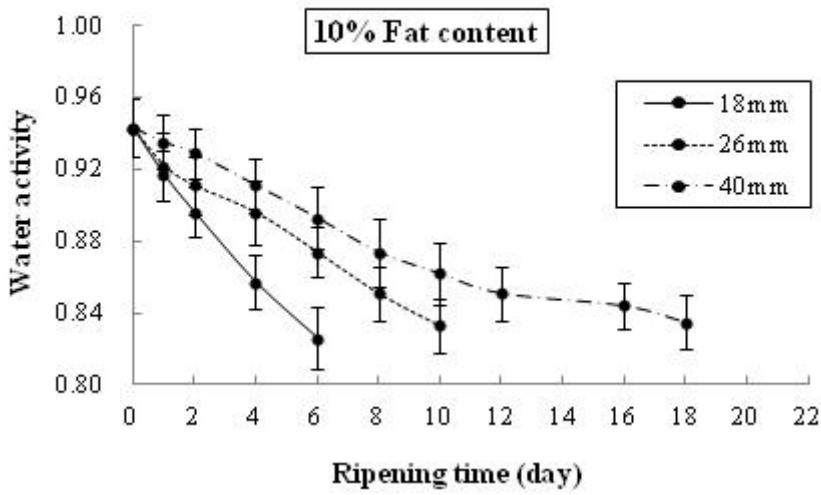
③ 수분활성도 변화

<그림 3-22>는 숙성기간 중 발효소시지의 수분활성도 변화에 대해 나타낸 것이다. 초기 수분활성도는 0.936-0.943 였으며, 10mm 직경 처리구는 2 일 이내, 26mm 직경 처리구는 4 일째에, 40mm 직경 처리구는 6 일째에 0.9 이하로 급격하게 떨어졌다($p < 0.05$). 이것은 소시지의 pH 가 수분활성도에 영향을 주기 때문인데, 발효가 진행됨에 따라 pH가 5.3으로 낮아지면서 육단백질의 isoelectric point에 가까워지고 단백질 변성이 일어나게 되어 water holding capacity이 저하되면서 소시지의 수분 증발이 촉진되기 때문이다(Kunz and Lee, 2003).

또한 최종적으로 전체 처리구에서 0.84 이하로 떨어져 병원성 미생물이 생존가능한 조건인 0.86 이하의 조건을 확보할 수 있었다(Marianski and Marianski, 2008). 지방 첨가량에 따라서는 같은 직경에서는 유의적인 차이가 나타나지 않았다($p > 0.05$).

④ 일반성분 비교

직경과 지방첨가에 따른 발효소시지의 일반성분 분석 결과는 <표 3-50>에 나타내었다. 전체적으로 발효 초기 일반성분은 수분함량 56.77-58.25%, 지방함량 19.42-22.43%, 단백질함량 15.42-15.72%, 회분함량 4.04-4.67% 이었다. 발효 종료 후 발효소시지는 처리구에 관계없이 수분함량 25.54-30.98%, 지방함량 22.76-35.67%, 단백질함량 26.60-38.20%, 회분함량 4.13-6.13%로 나타났다. 직경이 커질수록 수분함량이 높게 나타났으나($p < 0.05$), 지방, 단백질함량에 차이는 나타나지 않았다($p > 0.05$). 지방 첨가량이 증가함에 따라 수분함량은 유의적인 차이가 없었으나($p > 0.05$), 지방, 단백질함량은 유의적인 차이가 나타났다($p < 0.05$). 일반적으로 미국과 유럽 등지에서 생산되고 있는 발효소시지 및 발효햄의 수분함량은 35-45% 정도인 것으로 보고되고 있다(Zanardi E 등 2002). Kim 등(2008)은 발효소시지들의 숙성시간이 경과하면서 수분함량은 감소되는데 반해, 지방함량과 단백질 함량은 증가하였다고 보고하여 본 연구와 유사한 결과를 나타내었다. Mora-Gallego 등(2016)은 지방함량이 감소함에 따라 수분함량은 증가하였으나, 지방대신에 식물성유를 대체한 경우, 식물성유가 고기입자를 둘러싸서 수분함량이 오히려 증가하는 경향을 보였다고 하였다.



<그림 3-22> 지방첨가량과 다른 직경을 가진 케이싱으로 제조한 발효소시지의 수분활성도 변화

<표 3-50> 지방첨가량과 다른 직경을 가진 케이싱으로 제조한 발효소시지의 일반성분 비교

Fat level (%)	Before ripening	After ripening		
		Casing diameter		
		18 mm	26 mm	40 mm
Moisture				
10	58.25±6.87	25.54±2.43	27.41±2.78	30.85±3.12
20	57.79±5.45	26.45±2.89	28.56±3.02	30.98±3.54
30	56.77±7.98	26.91±3.43	28.09±3.33	30.02±2.46
Protein				
10	15.72±2.54	24.85±2.66 ^b	23.63±2.12 ^c	22.76±3.01 ^c
20	15.54±2.11	32.30±3.86 ^a	31.32±4.03 ^b	30.68±2.96 ^b
30	15.42±1.98	35.45±3.63 ^a	35.67±3.46 ^a	34.43±4.50 ^a
Fat				
10	19.42±2.34 ^c	28.60±2.35 ^c	27.76±3.31 ^c	26.60±3.40 ^c
20	20.66±3.24 ^b	31.40±4.03 ^b	30.84±4.66 ^b	29.14±3.98 ^b
30	22.43±3.87 ^a	38.20±3.43 ^a	36.80±3.99 ^a	36.20±4.02 ^a
Ash				
10	4.67±0.67	5.97±0.67	6.13±0.72	4.65±0.56
20	4.04±0.44	4.13±0.54	4.24±0.59	4.98±0.44
30	4.14±0.76	4.60±0.52	4.13±0.55	4.72±0.43
Salinity				
10	2.25±0.21	3.41±0.30 ^a	3.45±0.41 ^a	3.21±0.48 ^a
20	2.21±0.26	2.94±0.43 ^b	2.90±0.34 ^b	2.86±0.41 ^b
30	2.23±0.18	2.88±0.32 ^b	2.91±0.38 ^b	2.84±0.33 ^b

All values are mean±standard deviation of three replicates.

^{a-c} Means within a row with different letters are significantly different (p<0.05).

⑤ 지방산 조성 비교

발효소시지의 숙성 중에 육 자체 또는 미생물의 효소에 의하여 아미노산으로부터 일부 풍미성분이 생성되기도 하지만 주로 지방이 분해되어 저급지방산, ketone, aldehyde 및 alcohol 등의 휘발성 물질을 생성하여 풍미의 증진에 크게 기여하는 것으로 알려져 있다(Halvarson, 1973). 따라서, 발효 초기와 발효 종료 후에 지방첨가에 따른 지방산 조성의 변화에 대해 알아볼 필요가 있다. 직경과 지방첨가에 따른 발효소시지의 지방산 조성은 <표 3-51>에 나타내었다. 발효 초기 butyric acid, myristic acid, palmitic acid, heptadecanoic acid, stearic acid, oleic acid 등이 주로 생성되었으며, 발효 종료 후에는 myristic acid, cis-10 pentadecenoic acid, palmitoleic acid, elaidic acid, oleic acid, linoleic acid, eicosadienoic acid가 주로 발견되었다. 특히, 발효초기 포화지방산인 palmitic acid가 발효 후에는 발견되지 않았으며, 불포화지방산인 eicosenoic acid가 발효 후에는 발견되지 않았다. 또한 발효 후 불포화지방산인 oleic acid는 감소하고, elaidic acid와 eicosadienoic acid가 증가하는 것을 볼 수 있었다.

⑥ 조직감 비교

<표 3-52>은 직경과 지방첨가가 발효소시지의 texture 특성에 미치는 영향에 대해 나타낸 것이다. 지방첨가량이 증가함에 따라 발효소시지의 hardness는 유의적으로 낮게 나타났다($p < 0.05$). 그러나 직경이 큰 40mm 발효소시지에서는 감소하는 경향을 보였으나 유의적인 차이는 나타나지 않았다($p > 0.05$). 반면, springiness는 지방첨가량이 증가하면서 함께 증가하는 경향을 보였으나 유의적인 차이는 나타나지 않았다($p > 0.05$). 특히, 직경이 작은 18mm 발효소시지의 경우, 지방함량이 감소함에 따라 hardness, gumminess와 chewiness가 감소하는 경향을 보여($p < 0.05$), 직경이 작은 발효소시지의 경우 지방함량에 더 영향을 받는 것을 알 수 있었다. Kim 등(2008)과 Olivares 등(2010)은 발효소시지에서 지방함량이 감소함에 따라 hardness와 chewiness가 증가하였다고 보고하여 본 연구와 유사한 결과를 나타내었고, Mora-Gallego 등(2016)은 발효소시지의 texture는 소금함량보다 지방함량에 더 큰 영향을 받는다고 하여 발효소시지 제조시 지방함량의 중요성을 강조하였다. 또한 Mora-Gallego 등(2014)은 저지방 발효소시지보다 sunflower oil로 대체한 발효소시지의 cohesiveness와 springiness가 증가하였다고 보고하여 발효소시지 대신 식물성유의 사용이 가능함을 보고하였다.

<표 3-51> 지방첨가량에 따른 발효소시지의 지방산 조성 비교

Component Name(mg/g)	Before			After		
	10%	20%	30%	10%	20%	30%
Butyric acid (C4:0)	-	0.049	0.015	0.008	-	0.012
Mirystic acid (C14:0)	0.064	0.082	0.098	0.084	0.114	0.094
Cis-10-pentadecenoic acid (C15:1n10)	-	-	0.000	1.048	1.400	1.127
Palmitic acid (C16:0)	0.797	0.963	1.155	-	-	-
Palmitoleic acid (C16:1n7)	0.060	0.070	0.072	0.062	0.081	0.069
Heptadecanoic acid (C17:0)	0.014	0.026	0.034	0.023	0.033	0.027
Cis-10-heptadecenoic acid (C17:1n10)	-	0.014	0.015	-	0.016	-
Stearic acid (C18:0)	0.397	0.049	0.599	0.541	0.767	0.606
Elaidic acid (C18:1n9 <i>t</i>)	0.081	0.096	0.102	1.133	1.620	1.375
Cis-9-oleic acid (C18:1n9 <i>c</i>)	1.054	1.320	1.413	0.098	0.121	0.103
Linoleic acid (C18:2n6 <i>c</i>)	0.101	0.147	0.096	0.037	0.076	0.092
Eicosenoic acid (C20:1n9)	0.021	0.027	0.030	-	-	-
Eicosadienoic acid (C20:2n6)	-	-	0.016	0.015	0.014	0.025

All values are means of three replicates.

<표 3-52> 지방첨가량과 다른 직경을 가진 케이싱으로 제조한 발효소시지의 조직감 비교

Traits	Fat level (%)	Casing diameter		
		18 mm	26 mm	40 mm
Hardness (kg)	10	4.16±0.56 ^{ax}	3.67±0.42 ^{ay}	2.84±0.30 ^{cz}
	20	3.54±0.43 ^{bx}	3.32±0.41 ^{by}	2.78±0.33 ^{cz}
	30	3.28±0.39 ^{cx}	3.02±0.41 ^{cx}	2.58±0.40 ^{cy}
Springiness	10	0.87±0.08	0.88±0.09	0.90±0.09
	20	0.89±0.09	0.90±0.09	0.91±0.09
	30	0.90±0.08	0.93±0.08	0.92±0.08
Cohesiveness	10	0.48±0.03	0.45±0.05	0.46±0.05
	20	0.47±0.06	0.50±0.05	0.51±0.07
	30	0.46±0.07	0.47±0.06	0.50±0.05
Gumminess(kg)	10	1.98±0.33	1.65±0.35	1.31±0.24
	20	1.66±0.23	1.66±0.17	1.42±0.24
	30	1.50±0.23	1.42±0.23	1.29±0.34
Chewiness(kg)	10	1.72±0.01	1.45±0.04	1.18±0.02
	20	1.48±0.03	1.49±0.02	1.29±0.02
	30	1.35±0.04	1.32±0.03	1.19±0.04

All values are mean±standard deviation of three replicates.

^{a-c} Means within a column with different letters are significantly different (p<0.05).

^{x-z} Means within a row with different letters are significantly different (p<0.05).

⑦ 총균수 및 유산균수 측정

<표 3-53>는 직경과 지방첨가에 따른 발효소시지의 숙성 중 총균수와 유산균 함량을 나타내었다. 발효소시지의 유산균수와 총균수는 초기 4-5 log cfu/g 에서 발효 2 일째 7 log cfu/g 이상으로 급격한 균의 생장이 이루어졌고($p < 0.05$), 이후 총균수와 유산균수는 20 일차까지는 변화가 없었다($p > 0.05$). 또한 총균수와 유산균수가 유사한 수준을 보임으로써 대부분의 균들은 제조 직후에 접종한 유산균으로 판단된다. 지방첨가량에 따라서도 유의적인 차이가 나타나지 않았는데, 본 연구에서 사용한 starter culture 가 지방첨가량이나 발효소시지의 직경에 영향을 받지 않는 것으로 사료된다. Kurt(2016)는 40 mm 직경의 발효소시지를 숙성하는 동안 총균수와 유산균수에서 발효초기 5 log cfu/g 에서 8 log cfu/g 으로 증가하였으며, Kim 등(2008)은 2 일째 8 log cfu/g 수준으로 증가하여 본 연구와 유사한 결과를 보였다. 지금까지 발효소시지에 이용되는 스타터 미생물로는 주로 *Lactobacillus plantarum*, *Lac. pentosus*, *Lac. sakei*, *Lac. curvatus*, *Pediococcus pentosaceus*, *Ped. acidilactici* 등의 lactic acid bacteria 와 *Staphylococcus carnosus*, *Sta. xylosus*, *Micrococcus varians* 등의 catalase-positive cocci 가 발효소시지 제조를 위한 스타터로 사용되고 있으며(Leroy 등, 2006), 산업적으로는 본 연구에서 사용한 starter culture 와 같이 단일종 또는 2 종 이상의 혼합 균주로 발효소시지 제조에 이용되고 있다.

⑧ 전자코에 의한 향기 패턴 비교

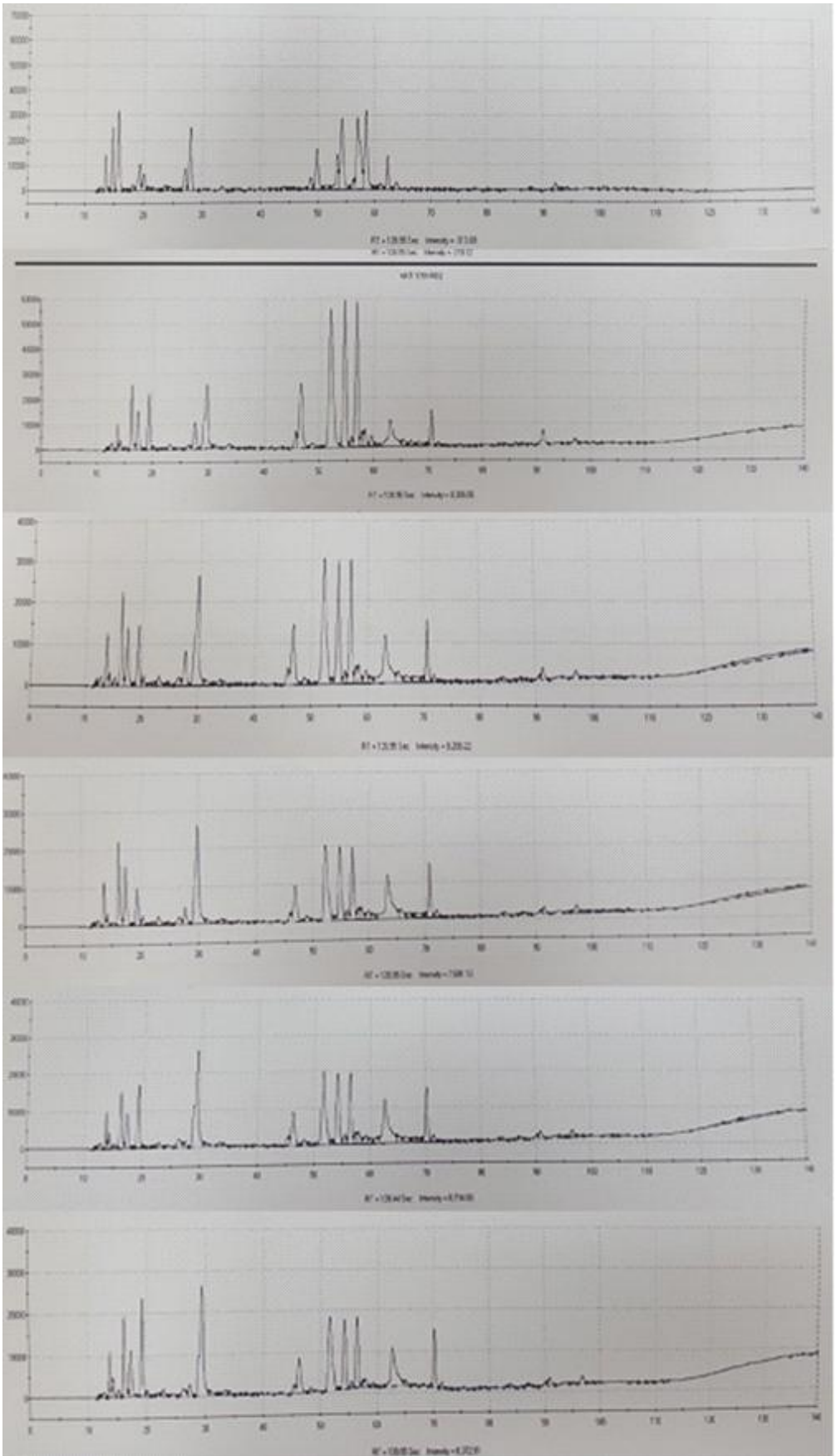
전자코(electronic nose)에 의한 발효 소시지의 향기 패턴은 <그림 3-23>에 나타내었다. 발효 소시지의 향기패턴은 지방첨가량과 직경에 따라 큰 차이는 나타나지 않았다. 발효 소시지의 향기는 제조 조건에 따른 지방산화물, 미생물 대사 물질, 탄수화물 및 아미노산 분해물과 관련 있으며, 특히, 이중 지방산화는 alcohol, aldehyde, hydrocarbon, ketone 등의 다양한 저분자 휘발성 화합물을 생성함으로써 향기에 직접적으로 영향을 미친다(Marco et al., 2006). 이를 통해 미루어 봤을 때, 향기 패턴의 차이는 스타터 컬처에 의한 발효효과가 지방 첨가량이 달라서 발생하는 지방산화효과보다 더 큰 것을 알 수 있었다. 주로 많이 나타난 물질은 dipropylene glycol methylether, 1-octanol, thrimethylthiazole, 1S(-)-a-pinene, Dimethyl sulfide, propan-2-one, ethanol, propenal, propanal의 순으로 나타났다.

본 연구는 지방첨가량과 제품의 직경은 발효소시지의 품질에 영향을 미치는 요소라는 결과를 보였다. 실제로 시중에 유통되는 발효소시지는 원료육의 지방함량, 발효/숙성 조건, 직경 및 입자크기에 따라 다양하기 때문에 다양한 맛과 품질을 갖고 있어 우리나라에는 아직 정착하기 쉽지 않은 것이 현실이다. 본 연구 결과를 토대로, 산업계에서는 장시간 발효가 필요한 큰 직경의 발효소시지보다는 작은 직경의 발효소시지가 생산하기에 용이하며, 지방함량이 높다면 원가를 낮추는 데에도 효과적일 수 있다. 따라서, 소비자가 원하는 지방함량 20% 수준과 제품형 태는 18mm 직경 정도로 제조함으로써 소비자가 간식형태로 쉽게 접근할 수 있는 방향으로 가는 것이 좋을 것으로 사료된다.

<표 3-53> 지방첨가량과 다른 직경을 가진 케이싱으로 제조한 발효소시지의 총균수 및 유산균수 변화

Fat level	Casing diameter	Ripening periods (day)								
		0	2	4	6	8	10	18	20	
TPC										
10%	18mm		7.28±0.17	7.99±0.24						
	26mm	5.56±0.11	7.30±0.17	7.89±0.28	7.99±0.28	8.01±0.24				
	40mm		7.42±0.19	7.97±0.29	8.05±0.25	8.03±0.24	7.99±0.29			
20%	18mm		7.11±0.20	7.89±0.20	7.97±0.31					
	26mm	5.79±0.12	7.39±0.21	7.75±0.27	7.89±0.24	7.95±0.28				
	40mm		7.55±0.21	8.01±0.28	8.08±0.26	7.95±0.28	7.84±0.27	7.81±0.33	7.56±0.15	
30%	18mm		7.03±0.29	7.91±0.27	7.98±0.33					
	26mm	5.68±0.11	7.35±0.21	7.78±0.28	7.80±0.29	7.90±0.26				
	40mm		7.49±0.22	7.99±0.30	8.05±0.18	8.00±0.29	7.89±0.31	7.73±0.26	7.72±0.22	
MRS										
10%	18mm	4.50±0.22	7.69±0.19	7.79±0.19	7.59±0.16					
	26mm		7.78±0.19	7.88±0.21	7.58±0.20	7.49±0.20	7.65±0.16			
	40mm		7.99±0.21	7.69±0.20	7.38±0.21	7.39±0.17	7.27±0.16	7.54±0.16		
20%	18mm	4.61±0.34	7.86±0.22	7.97±0.18	7.59±0.22	7.87±0.25				
	26mm		7.65±0.23	7.79±0.18	7.49±0.19	7.38±0.16	7.51±0.20			
	40mm		7.99±0.23	7.86±0.24	7.73±0.20	7.17±0.18	7.52±0.20	7.61±0.19	7.56±0.15	
30%	18mm	4.58±0.31	7.76±0.21	7.84±0.20	7.69±0.19	7.86±0.23				
	26mm		7.87±0.22	7.97±0.21	7.48±0.20	7.75±0.21	7.59±0.25			
	40mm		8.03±0.24	7.92±0.24	7.79±0.22	7.84±0.20	7.76±0.21	7.87±0.20	7.72±0.22	

All values are mean±standard deviation of three replicates.



대조구

지방 10%
직경 18mm

지방 20%
직경 18mm

지방 30%
직경 18mm

지방 30%
직경 26mm

지방 30%
직경 40mm

<그림 3-23> 발효소시지의 전자코 분석을 통한 향기패턴 비교

나. 확정된 제형을 가진 제품에 대한 소비자 조사

(1) 소비자조사 방법

개발된 제품의 소비자 선호도를 조사하고자, 외부조사 기관에 의뢰하여 타겟층을 모집하였고 그 인원을 대상으로 발효소시지에 대한 선호도를 조사하였다. 소비자들이 원하는 스낵형태의 제품은 어떤것인지 확인하고자 건조 타입 제품과 함께 조사하였다. <표 3-54>는 조사방법을 나타낸 것이다. 소비자 유형은 <그림 3-24>와 같다.

<표 3-54> 소비자 조사 방법

조사 유형: Blind Label Test (설문 제목: 발효소시지) 조사 대상: 20-39세 남성 조사 표본: N= 85명 조사 장소: 센소메트릭스/ Sensory Lab. Test 조사 기간: 2017년 5월 18일 제공 방법: 생취식으로 제공 제시 순서: Sequence monadic 발효소시지 정의설명: “ 발효소시지란? 소고기나 돼지고기를 지방과 함께 곱게 갈아, 소금 등 맛을 내는 재료와 유산균을 가하여 혼합한 후 저온발효 시킨 제품으로, 셀러드, 샌드위치, 와인등과 함께 먹는 제품입니다“ [p1] 돼지고기 95%, 쇠고기 5%, 정제염, 콘시럽솔리드, 포도당, 설탕, 향신료, 유산균 (0.02%) 직경 8mm / 건조 21도, 습도 90%에서 24시간, 21도, 습도 80%에서 24시간 [p2] 돼지고기 95%, 쇠고기 5%, 정제염, 콘시럽솔리드, 포도당, 설탕, 향신료, 유산균 (0.02%) 직경 16mm/ 건조 21도, 습도 90%에서 24시간, 21도, 습도 80%에서 48시간

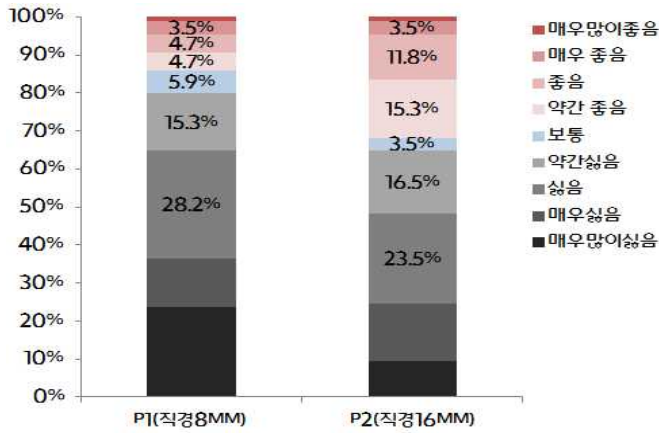
<그림 3-24> 소비자 특성



(2) 소비자 조사 결과 분석

전반기호도 분석결과, 직경이 8mm에 건조만 실시한 제품이 3.25, 직경 16mm에 발효 공정을 통해 제조한 제품이 4.07로 평가되었으며, 발효소시지가 더 높은 품질력을 갖는 것으로 평가되었다. 오픈문항 분석결과, 두 제품 모두 외관과 식감에 대한 부정적인 의견이 높게 도출되었다. 소비자들이 인지하기에는 외관이 두 제품 모두 강아지 간식같이 보이고 먹음직스러워 보이지 않는 것으로 인지하였고, 식감도 질기고 딱딱하여 먹기 어려운 것으로 인지하여 외관 및 조직감 개선이 필요하였으며, 전반기호도 top3%를 분석한 결과, p1은 9.4%, p2는 16.5%로 평가되었고, bottom3%는 p1 64.7%, p2 48.2%로 평가되어, 두 제품 모두 부정적인 응답이 매우 높게 평가되었다. 소비자 만족도를 높이기 위해서는 산미를 감소시키고, 지방이 흘러나오는 것을 방지할 필요가 있다.

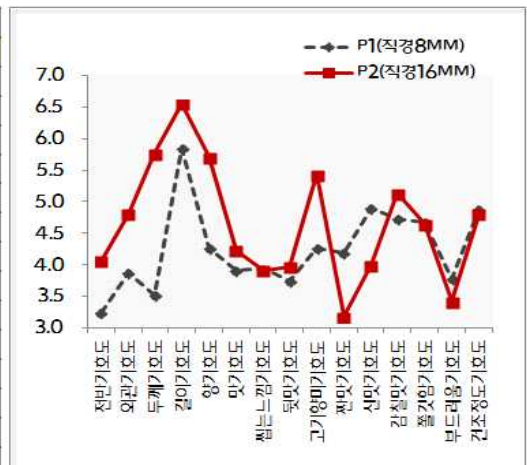
<그림 3-25> 소비자 조사 결과 분석(전반기호도)



<그림 3-26> 소비자 기호도 Mean & 유의 차 분석

■ 전반기호도 및 세부 속성기호도

	P1(직경8MM)	P2(직경18MM)	P-VALUE
전반기호도	3.25	4.07	0.01
외관기호도	3.88	4.81	0.00
두께기호도	3.53	5.76	0.00
길이기호도	5.84	6.55	0.01
향기호도	4.26	5.72	0.00
맛기호도	3.91	4.24	0.33
씹는느낌기호도	3.94	3.92	0.95
뒷맛기호도	3.74	3.98	0.44
고기향미기호도	4.27	5.44	0.00
짠맛기호도	4.20	3.19	0.00
신맛기호도	4.91	4.00	0.00
감칠맛기호도	4.73	5.14	0.22
쫄깃함기호도	4.67	4.65	0.95
부드러움기호도	3.78	3.42	0.28
건조정도기호도	4.87	4.81	0.86



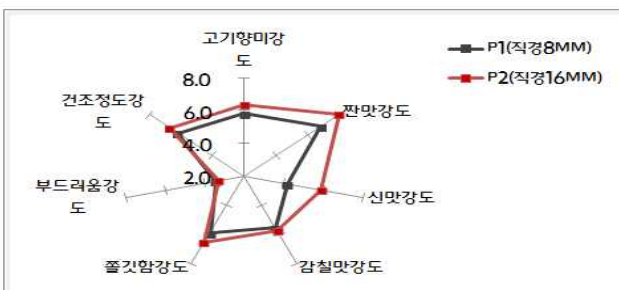
■ 전반기호도와 세부기호도 항목간의 상관 관계 분석

	외관	두께	길이	향	맛	씹는느낌	뒷맛	고기향미	짠맛	신맛	감칠맛	쫄깃함	부드러움	건조정도
전반기호도	.409*	.453*	.163	.469**	.786**	.612**	.504**	.550*	.374**	.274**	.532**	.571**	.513**	.432**

<그림 3-27> 강도평가 및 유의차 분석

■ 세부 속성강도

	P1(직경8MM)	P2(직경16MM)	P-VALUE
고기향미강도	5.81	6.34	0.07
짠맛강도	6.85	7.99	0.00
신맛강도	4.16	5.88	0.00
감칠맛강도	5.52	5.76	0.42
쫄깃함강도	5.87	6.56	0.03
부드러움강도	3.46	3.29	0.57
건조정도강도	6.19	6.71	0.04



- 세부속성강도 분석결과, 짠맛, 신맛, 쫄깃함, 건조정도 강도가 P1대비 P2가 더 강하게 발현되는 특징을 지님
- 감칠맛과 부드러움은 동등 수준으로 발현됨.
- 고기향미는 P<0.1 수준에서 P2가 강하게 발현되는 경향성을 보임.

다. 현장 scale로 적용시 문제점 검토 및 해결

(1) 선진 발효소시지 제조업체 벤치마킹

- 발효육제품 사업화 검토를 위한 선진사 벤치마킹 및 라인설계 검토를 위한 설비업체 방문

(가) 벤치마킹 목적

① 발효육제품 선진 제조사 Benchmarking

: 발효육제품 제조라인 구성, 설비, 관리 포인트 참조 및 작업운용 Know-how 인터뷰

- 독일 Houdek 社

-> 살라미 스틱 및 미니살라미 제품 제조 업체로서 콜라겐 케이싱보다 가는 직경의 형태 제품 생산

- 폴란드 SoKolow 社

-> 폴란드 육가공 1위 업체로서, 카바노치 타입의 반건조 소시지를 케이싱 없이 연속공정으로 생산하는 업체

- 이탈리아 Ermes Fontana 社

-> Parma 지방의 발효육제품 제조 업체로서, 다양한 살라미 및 발효햄 생산 / 현재 빠르게 성장하고 있는 업체

② 발효육제품 제조 설비 및 라인 검토

: 발효육제품 자동화 라인 공정 및 구축, 최적 설비에 대한 전문가 인터뷰 및 networking

- 이탈리아 Frigomeccanica 社

-> 발효설비 제조업체로서, 유럽, 아시아, 북아메리카 지역의 발효육제품 제조업체에 다수의 설비 공급

-> 공장 Capacity 및 면적에 따라 발효소시지 제조라인 설계 능력 등 기술력 우수함

③ 시장 조사

- 독일: Galleria, Victuals Market(메쯔거라이), REWE city, EDEKA Ernst

- 폴란드: Auchan, 편의점

- 이탈리아: Conad, Esselunga, Carrefour market, U2 supermercato, 전문매장, Crai supermercato

(나) 벤치마킹 배경

① 독일 : 가열 및 발효 육가공품이 가장 발달한 나라로, 향후 국내에 가장 접목하기 좋은 아이템을 찾기에 적합함

② 폴란드: 육가공 중에서도 중저가 육가공품을 대량생산하는 시스템이 갖춰져 있어 저가의 제품 생산이 가능함

③ 이탈리아: 기후 조건 등으로 인해 발효기술이 발달되어 있는 국가로서, 발효육제품에 대한 정보를 습득하기에 적합함

(다) 제조업체 벤치마킹 결과

① 독일 Houdek 社 방문 결과

- 미트스낵으로서 스틱형 살라미, 미니 살라미와 같은 제품의 국내 접목 가능성을 확인

함.

- 발효제품만 생산하기 때문에 무균실에 대한 의미는 없으며, 발효시 효율적인 라인 관리가 필요함.

② 폴란드 Sokolow 社 방문 결과

- 건조 제품 특성상 생산성 향상을 통해 원가경쟁력 확보할 수 있음.
- 라인 확대 및 충전 및 열처리시 효율적인 방법을 지속적으로 고민하여 라인에 적용하고 있음.

③ 이탈리아 Ermes Fontana 社 방문 결과

- 국내 소비 뿐만 아니라 활발한 수출 등으로 지속적으로 생산기지를 확장하고 있으며, 이를 토대로 우리나라의 상황에 맞는 발효육제품 시장에 대한 명확한 검토가 필요하고, 이를 통해 생산기지 설계 및 제품 라인업을 준비하여야 함.

(라) 발효육제품 제조 설비 및 라인 검토 결과

① 이탈리아 Frigomeccanica 社 방문 결과

- 발효설비 구축을 위해서는 발효룸 뿐만 아니라, 건조/숙성실이 함께 있어야 하며, balance 있게 라인을 설계하여야 함.
- 방문업체와의 유기적인 정보교류를 통해 국내에 맞는 발효육제품 시장 형태를 발굴하고 그에 맞게 라인을 설계할 필요.

(마) 발효육제품 및 일반 육가공 시장 조사 결과

① 독일 및 폴란드 시장 조사 결과

- 다양한 육가공제품이 공존하고 있으며, 발효육제품이 30~50% 정도 차지하고 있음. 육포와 같은 건조제품은 일부.
- Vegetarian 및 Vegan 을 위한 제품들이 다양함(살라미, 미트볼, 스테이크 등)

② 이탈리아 시장조사 결과

- 발효육제품이 70~80%를 차지함. 표기사항에 대한 독특한 문화가 있음(Gluten free, polyphosphate free).
- 육포와 같은 건조제품이 전무하며, Vegetarian 및 Vegan 을 위한 제품들이 다양함 (살라미, 미트볼, 스테이크 등)

(바) 향후 계획

- 발효설비 업체와 지속적인 정보교류를 통해 발효육제품 제조라인의 이해도 향상 및 자동화 라인 정보 확보
- 각 국가의 미트스낵 제품의 구체적인 분석(제형, 부재료, 포장 등) 및 향후 상품화 방향 설정

<표 3-55> 방문 업체별 세부 특징

업체명	생산공정 및 제조방법
Houdek 社	<p>< 공장 주요 사항 ></p> <ul style="list-style-type: none"> 원료육은 근막이 제거된 원료를 받아서 사용(냉장육)하며, 지방은 냉동하여 사용 전 큰 입자로 커팅하여 사용 -> 뼈나 이물 클레임은 미리 제거하고 S1, S2, S3 등 지방함량별 육을 별도로 사용함 육은 초핑하여 사용, 지방은 프로즌커터에서 굵은 입자로 커팅하고 커터에서 혼합(2~3 °C에서 종료) 지방입자가 매우 곱게 고르게 잘 분산되도록 하기 위해 충전기 앞부분에 Grinder head를 설치하여 밀도에 의해 입자가 몰리는 것을 방지하고 더 가는 입자로 갈아서 발효소시지 내부에 분산시킴 충전시 Alginate 용액을 사용하여 3중 충전(육>알지네이트용액>염화칼슘수용액)을 통해 무케이싱 제품 제조 (수용액은 4시간마다 염도 체크/알지네이트용액은 현장에서 커팅하여 제조) 기존 콜라겐 케이싱 대비 14mm 이하의 작은 스틱형 제품 제조 가능하며, 현재 가공 기술 발달로 꼬임형태의 제품까지 생산하고 있음 초기 발효룸5개(24 °C/84%),스모킹룸4개(저온스모킹), 건조 및 숙성룸15개(15~18 °C/78~80%) 일반 발효제품은 4~5일, 곰팡이 표면 분사한 제품은 14~15일 등으로차이가 있으며, 외기의 영향도 고려 발효제품만 생산하는 공장으로 무균실이필요없고, 한 숙성룸 안에 다양한 제품들이 함께 공존함. 설비로도 control 하지만, 전문가가 직접 만져보면서 매일 체크하고 있음
Sokolow 社	<p><공장 주요 사항></p> <ul style="list-style-type: none"> 근막 및 이물 클레임 - 미리 근분리된 원료육을 받고 그라인더에서 근 분리 및 충전에서 근막 및 뼈가 제어되기 때문에 이물질 이슈 없음 - 중간중간 금속검출기를 두고 있어 클레임에 대한 문제 없음 Chopping, mixing 및 cutting하는 룸과 충전하는 룸이 분리되어 있음(깔끔한 느낌) 지방함량이 많으나 8~13mm chopping 후 최종적으로 충전시 grinder head를 통해 가늘게 분산시킴 충전기(한트만社)는 총 11대, 8대는 alginate 용액으로 이중충진하여 케이싱 없이 충전 및 건조 진행, 알지네이트에 색상을 입힐 수 있어 스모킹 시간 줄일 수 있으며, 표면 색상 및 맛도 다양하게 조절할 수 있음 가늘게 충전하여 대차에 걸때 한번에 포장할 수 있는 양만큼만 충전하여 포장시 한 묶음씩 포장할 수 있도록 시스템화 직경 10mm 규격으로 건조만 하는 공정이므로, 건조실은 6T짜리 13대(슈레더社)로 운영하여 하루만에 만들어서 하루에 생산량이 모두 출고될 수 있도록 하는 시스템 운영 18 °C/70% -> 17 °C/75% -> 16 °C/65% 유통기한 60일 / MAP 포장 / 영국, 아일랜드, 미국 등으로 수출도 함
Ermes Fontana 社	<p><공장 주요 사항></p> <ul style="list-style-type: none"> 원료육은 이탈리아산 돼지를 사용하며, 프로슈토는 소금만으로 염지해서 발효를 시키기 때문에 스타터를 사용하지 않음 살라미의 경우, 스타터(크리스찬한센)를 사용하여 제조함 가공실(초핑, 믹싱, 커팅) 규모는 발효 및 숙성실에 비해 매우 협소함(초퍼, 커터, 믹

서, 인젝터, 텀블러 등 비치)

-> 발효소시지 특성상 가공하는 것 보다는 발효/숙성시키는 일정이 길기 때문에 발효/숙성품의 규모가 중요함

- 저온스모킹 공정으로 풍미 증진
- 레일이 설치되어 있고, 엘리베이터와도 레일이 연결되어 있어 1층, 2층으로 구획이 나누어져도 쉽게 이동이 가능하며, 레일에 매달린 제품별로 발효시간에 따라 바코드로 관리하여 각각의 발효시간에 따른 림이 정해져 있어 이동하면서 숙성됨
- Sugna(Leaflard)
 - 발효진행중인 뒷다리살 부분에 양념된 지방을 발라서 발효시 수분이동 등으로 촉촉함을 유지시키고 굳는 것을 방지
 - 삼겹부위 지방과 흑후추, 소금, 밀가루 등으로 혼합하여 표면에 발라줌

<그림 3-28> 유럽 발효육제품 시장 조사



독일 마켓내 vegetarian과 vegan 식품



vegan 용 살라미



발효육제품 매대 규모



미트스넵 매대 규모



Esselunga(대형 마트)



U2(슈퍼마켓)



La Prosciutteria(전문점)

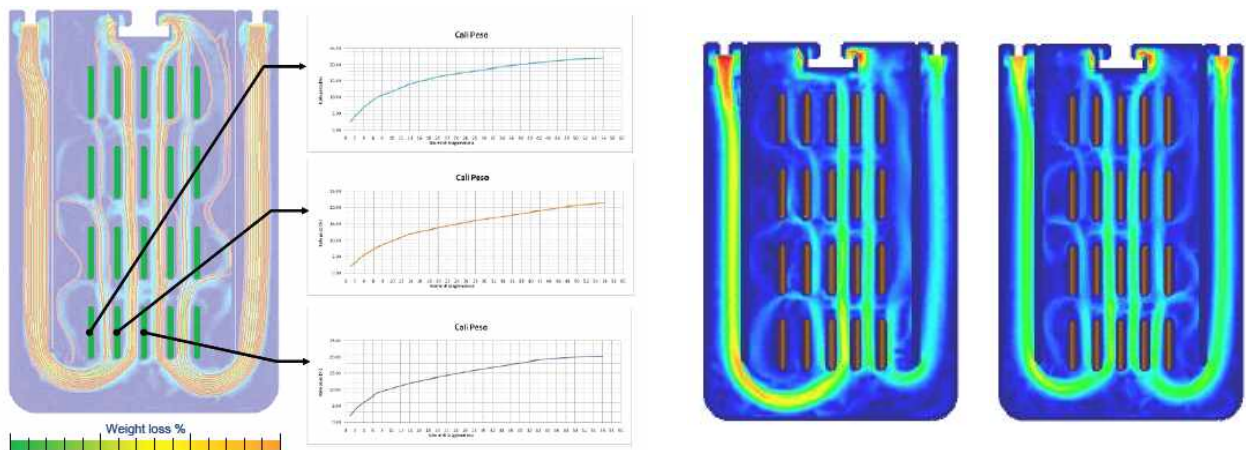
(2) Pilot과 현장의 차이점 분석 및 문제 발생가능성 분석

발효육제품 제조 기술에 있어 중요한 점은 일정한 품질을 유지하는 것과 긴 발효시간을 단축하여 생산성을 증대하는 것으로 볼 수 있다. 이에 대해 유럽의 발효육제품 제조회사들은 품질유지를 위한 숙성룸 설비업체와 더불어 생산성을 향상하기 위한 가공설비 업체들과 유기적인 연계를 통해 함께 기술을 개발하고 발전시키고 있다. 이에 반해 아직 우리나라는 일부 업체들이 개발하여 상품화하고 있으나 아직까지 걸음마 단계에 있으며, 국가기관 및 지방자치단체의 주관하에 소규모로 연구가 진행되고 있는 상황이다. 그러나 현재 국내 시장 상황을 보았을 때, 향후 발효육제품 시장은 우리나라의 육가공산업의 한 축이 될 수 있을 것으로 판단되나, 발효육제품의 상품화 및 성공적인 시장안착을 위해서는 우선적으로 소비자에게 가깝게 다가가기 위한 방안을 어떠한 맛과 어떠한 형태로 접근해야 하는지, 어떻게 활용할 수 있도록 해야 하는지, 어느 정도의 가격이 적당한지 등에 대해 다각적으로 연구할 필요가 있다.

Pilot과 현장의 차이점에 대해 분석하고 이를 통한 문제 발생가능성에 대해 점검해 보았다. 우선 발효룸(숙성설비)의 규모 및 성능이다. Pilot scale로 제조할 때에도 발효룸안에서 제품간 편차가 발생한다. 공기순환이 위치마다 다르기 때문에 공기순환이 잘 되는 부분은 빠르게 발효 건조가 이루어지지만, 순환이 잘 되지 않는 부분은 발효되기 보다는 부패가 되는 현상이 발생할 수 있기 때문에 균일한 공기흐름을 주는 것이 중요하다. 따라서, pilot 형태에서는 규모가 작아 고르게 발효숙성이 진행되겠지만, 현장 scale up 측면에서는 <그림 3-29>와 같이 공기흐름을 원활하게 할 수 있는 설비를 구축하는 것이 필요하다.

다음으로는 최적 생산 capacity의 설정이다. 발효실내 제품을 거치하는 양을 최적화할 필요가 있다. 너무 많은 양을 발효실내에 보관하게 되면 공기흐름이 좋지 못하고 설비는 온습도를 유지하지만 실제로 제품이 접촉할 수 있는 공기가 부족하게 때문에 불량 발생 가능성이 높다. 따라서, 가장 중요한 것은 발효실내 균일한 공기흐름을 통해 제품간의 편차가 없도록 하는 것이 가장 중요하다.

<그림 3-29> 발효룸 설비 업체가 제안하는 발효실내 공기흐름 측정 및 기술



(3) 발효소시지 산업화 가공공정 확정

이상의 결과를 토대로, 발효소시지의 산업화 가공공정을 확정하였다. 제조공정은 믹싱타입과 커팅타입으로 구분할 수 있으며, 제품의 형태에 따라 선택할 수 있다. 자세한 공정은 한국형 발효소시지의 제조방법 및 이에 의해 제조된 한국형 발효소시지(출원번호: 10-2016-0094954)에 나타내었지만, 자세히 설명하면 다음과 같다.

배합에 사용하는 최종 부재료를 선정하였다. 정제염(맛, 저장성), 아질산나트륨(발색, 보존성 기능), 아스코르빈산나트륨(지방산화방지), Medditeran spice seasoning(풍미향상), 포도당(맛, 스타터 먹이), Satarter culture(상업용 유산균, Lactobacillus sakei, Staphylococcus carnosus), MSG(맛, 기능성 GABA 생성 스타터 먹이), GABA 생성 균주(GABA 생성, Lactobacillus brevis, Weissella halotolerans, Pediococcus acidilactici), 후추/고추가루(맛, 풍미향상)를 사용하였다.

원료육의 지방첨가량은 발효소시지의 지방함량, 단백질함량, Texture, 관능 및 지방산 조성 등에 영향을 미친다. 20% 지방 첨가량을 타겟으로 제조하였을 때 가장 좋은 풍미를 나타내었기 때문에 지방함량은 20%를 타겟으로 확정하였다. 케이싱 직경은 발효소시지의 건조/숙성과정에 있어서 중요한 영향을 미친다. 발효소시지와 같이 장기간 발효가 필요한 제품의 경우, 낮은 가격으로 대량생산하기 위해서는 짧은 시간에 발효가 종료되는 직경을 선정하는 것이 중요하다. 현재 조건에서는 18mm 직경의 케이싱으로 제조하는 것이 좋다. 발효공정은 직경 18mm로 제조하였을 때, 5일동안 건조시 감량이 40%이상으로 나타나 5일 발효로 종료한다.

다만 믹싱과 커팅 제조공정에서 스타터를 첨가하는 순서만 잘 조정한다면 균일한 발효소시지 제조가 가능하다.

<발효소시지 산업화 세부 공정>

배합에 사용하는 최종 부재료의 선정

원료	기능
정제염	맛, 저장성 기능
아질산나트륨	발색, 보존성 기능
아스코르빈산나트륨	지방산화방지 기능
Medditeran spice	풍미 향상
포도당	맛, 스타터 먹이
Starter culture	유산균(상업용)
MSG	맛, 기능성 스타터 먹이
GABA 생성 균주	GABA 생성
후추/고추가루	맛, 풍미 향상

원료육의 지방 비율

제조시 투입하는 지방첨가량은 발효소시지의 지방함량, 단백질함량, Texture, 관능 및 지방산 조성 등에 영향을 미침.

지방함량 20%를 타겟으로 제조하였을 때, 관능평가에서 풍미, 소식감, 전반맛에서 가장 좋은 평가를 보였음.

케이싱 직경의 최적화

케이싱 직경은 발효소시지의 건조/숙성과정에 있어서 중요한 영향을 미침. 생산성측면에서도 건조기간이 짧아 대량생산하는데 있어 효과적임

당사에서는 현재 시장상황을 봤을때, 직경이 두꺼운 형태보다는 **얇은 직경 (직경 18mm)** 으로 스넥 형태의 제품으로 소기 성품화 방향을 설정

발효공정

직경 18mm의 제품으로 확정된 발효공정

1 day	훈련	2 day
22° C / 92%	25° C / 15분	20° C / 90%
3 day	4 day	5 day
18° C / 88%	18° C / 86%	16° C / 84%

〈발효소시지 산업화 제조공정도〉



6. 발효소시지 상품화 계획

가. 국내 발효소시지 시장 상황 및 법규 분석

(1) 국내 발효소시지 시장 상황

지난 2014년부터 지속적으로 과제 진행하면서 발효소시지 시장에 대해 조사하였다. 2014년보다 다양한 제품들과 다양한 업체들이 수입 판매하거나 자체 제작하여 판매하는 상황으로 시장은 성장하는 추세이다. 대표적인 사례들은 다음과 같다.

어반나이프(Urban knife)는 2013년 농림축산식품부의 중소식품 협력지원사업의 일환으로, 식육가공품 판매업(Metzgerei or Delicatessen) 시장개척으로 선정된 (주)KMCI에서 개발한 독일식 프리미엄 메쓰거라이 샵 브랜드이며, 모던아티즌(Morden Artisan: 유럽 정통기술, 제조방식, 장인정신을 현대적 포맷으로 재창조하는 육가공 전문가)이 만들어 맛과 품미가 뛰어난 고품질 육가공 제품을 한 곳에서 다양하게 만날 수 있는 프리미엄 신개념 델리카트슨이며, 수제육가공품 및 이를 이용한 다양한 메뉴를 접할 수 있다. 발효소시지로는 천연장으로 제조한 살라미, 매운맛 초리조 등을 직접 제조하여 판매하고 있고, 등심으로 제조한 Roh-쉐켄이 있다.

존쿡델리미트(Johncook delimeats)는 국내 최초 정통 델리미트(2005년)로서, 미국, 유럽의 델리샵(Delicatessen)에서 체험할 수 있는 정통 육제품과 다양한 메뉴를 즐길 수 있으며, 스페인 몬테사노사의 최고급 이베리코 하몽을 단독 계약 체결하여 맛있고 신선한 품질을 지닌 발효햄을 경험할 수 있는 장점이 있다. 수제 델리미트, 건조육, 베이컨 등은 국내에서 직접 제조하여 판매하고 있으며, 고품질의 발효소시지나 하몽 등은 우수한 품질의 제품을 판매하고 있다. 국내에서 직접 제조하는 이탈리아 살라미(Italian salame)와 육괴 및 지방입자가 큰 이베리코 살치존 슬라이스(Iberico Salchichon Slice), 초리조 살라미(Chorizo Salame) 등이 있고, 발효햄은 목심으로 제조한 코파(Coppa), 스페인 천혜의 자연지역인 엑스트라 마두리에서 방목된 상태 그대로 도토리를 먹고 자란 최고급 세르도 이베리코 돼지(흑돼지)로 만든 하몽(6000원/10g)과 스페인의 최급 세르도 이베리코 돼지(흑돼지, 3500원/10g), 몬테사노 전용목장에서 정성스럽게 키운 돼지(일반돼지)로 만든 스페인 정통하몽(2000원/10g)이 있다. 현재 성남시 분당구, 서울시 강남구, 수원시 영통구 등 고급스러운 제품에 대한 거부감이 없는 곳에 매장이 있다.

또한, 고급스러움을 추구하고 수입 식품류를 다양하게 취급하고 있는 신세계 SSG 마켓에서도 다양한 수입산 살라미, 초리조 제품과 발효햄 제품을 판매하고 있었다. 주변에 후추가 토폰된 Romano salame slice(미국산), 스페인산인 살치천(Salchichon)과 초리조(Chorizo), 헝가리산 파프리카 소시지 등이 있으며, 목심으로 만든 발효햄인 코파(Coppa), 후지로 만든 프로슈토(Prosciutto, Italian cured ham), 하몽(Jamon, Spain dry cured ham), 삼겹살로 만든 판세타(Pancetta, Dry cured bacon) 등 다양하게 판매되고 있다.

대형마트인 이마트, 홈플러스, 코스트코 등에서도 일반 소비자들에 잘 맞는 제품들을 수입해서 판매하고 있으며, CJ올리브영에서도 밀라노 살라미, 제노아 살라미, 로마노 살라미 등 다양한 맛을 가진 제품들을 판매하고 있다. 그 외에도 현대백화점, 신세계백화점, 롯데백화점 등 미국, 스페인, 이탈리아 등에서 수입한 발효육제품이 다양하게 판매되고 있다.

(2) 국내 관련 법규 분석

최근 정부의 침체된 육가공 산업 활성화를 위해 국내에서 생산 판매가 저조한 발효육제품류(생햄, 발효소시지)의 법적 기준을 마련하였다. 이번 개정에는 육가공품 소비 확대의 큰 걸림돌 중 하나였던 판매방식을 개선하는 내용도 포함되어 있다. 즉, 판매장에서 소비자가 원하는

양을 썰어서 판매할 수 있게 된 것이다. 이러한 개선조치로 소비자는 가족 구성원의 소비량에 맞추어 구매할 수 있으며, 생산 자는 육가공품의 크기와 제조방식에 얽매이지 않고 다양한 제품을 제조할 수 있게 된다. 육가공품 소비 증가로 그 동안 풀리지 않는 숙제처럼 여겨졌던 돼지고기 저지방 부위의 소비가 상당히 증가할 것으로 예상된다. 독일의 ‘메쓰그레이’는 ‘식육·가공품판매업’의 대표적인 형태로 국내 도입모델로 삼고 있다

발효소시지를 상품화 하기 위해서는 현재 우리나라의 생햄, 발효소시지에 대한 법적규격을 알아보고 그 규격에 맞출 필요가 있다(축산물 가공기준 및 성분 규격, 2013).

(가) 생햄

생햄은 식육가공품 및 포장육내에 햄 유형 안에 들어가며, 식육의 부위를 염지한 것이나 이에 식품첨가물 등을 첨가하여 저온에서 훈연 또는 숙성·건조한 것을 말한다(뼈나 껍질이 있는 것도 포함한다).

성분규격은 다음과 같다.

- ① 성상 : 고유의 색택을 가지고 이미·이취가 없어야 한다.
- ② 아질산 이온(g/kg) : 0.07이하
- ③ 타르색소 : 검출되어서는 아니된다.
- ④ 보존료(g/kg) : 다음에서 정하는 이외의 보존료가 검출되어서는 아니된다.

소르빈산	2.0이하(소르빈산으로서)
소르빈산칼륨	
소르빈산칼슘	

- ⑤ 세균수 : 음성이어야 한다(다만, 멸균식육가공품에 한한다).
- ⑥ 대장균 : n=5, c=2, m=10, M=100(다만, 생햄에 한한다)
- ⑦ 대장균군 : n=5, c=2, m=10, M=100
(다만, 비가열식육가공품은 제외하며 멸균 식육가공품의 경우 음성이어야 한다)

이상과 같은 규격에 기초하여 품질 관리를 위한 규격기준을 정할 필요가 있다.

(나) 발효소시지

발효소시지는 식육가공품 및 포장육내에 소시지 유형에 들어가며, 식육에 다른 식품 또는 식품첨가물을 첨가하여 저온에서 훈연 또는 훈연하지 않고 발효시켜 숙성 또는 건조처리한 것을 말한다.

가공기준은 건조는 수분 35%이하, 반건조는 수분 55%이하로 가공한 것을 말한다.

성분규격은 다음과 같다.

- ① 성상 : 고유의 색택을 가지고 이미·이취가 없어야 한다.
- ② 아질산 이온(g/kg) : 0.07이하
- ③ 보존료(g/kg) : 다음에서 정하는 이외의 보존료가 검출되어서는 아니된다.

소르빈산	2.0이하(소르빈산으로서)
소르빈산칼륨	
소르빈산칼슘	

- ④ 세균수 : 음성이어야 한다(다만, 멸균식육가공품에 한한다).
- ⑤ 대장균 : $n=5, c=2, m=10, M=100$ (다만, 발효소시지에 한한다)
- ⑥ 대장균군 : $n=5, c=2, m=10, M=100$

(다만, 비가열식육가공품은 제외하며 멸균 식육가공품의 경우 음성이어야 한다)

이상과 같은 규격에 기초하여 품질 관리를 위한 규격기준을 정할 필요가 있다.

나. 제품 컨셉 설정 및 제조원가 분석

(1) 제품 컨셉 설정

(가) 국내 시장성 분석

한국 육가공 시장에서의 발효 육제품은 가까운 미래에 있어 기회가 될 수 있다. 식품 소비자들의 mega trends에 부합하며 소비자의 needs가 삶의 질 향상, 새로운 맛, 용도를 추구하거나, 작은 사치를 통해 자신 스스로가 만족하는 형태로 변화하고 있기 때문이다. 유럽풍 발효제품은 수입 혹은 B2B용으로 다소 판매 되고 있으나, <그림 3-30>과 같이 snack type의 제품은 국내에 없기 때문이다. 해외 여행객의 증가와 그 곳에서 호텔 조식으로 나오는 발효소시지에 대한 경험도가 증가하기 때문에 좀 더 한국적인 방향의 맛으로 튜닝을 한다면 육가공 사업의 New Category로 성장이 가능할 것으로 보인다. 본 과제에서 발굴한 기능성 균주 확보를 통해 타 경쟁사가 접근하면 한단계 앞서가는 독자적인 기술 구축으로 상품화 전략을 수립하여 경쟁우위를 가져갈 수 있다.

<그림 3-30> 유럽의 발효소시지를 활용한 미트스낵



<콜라겐 케이싱을 사용한 제품>



<알지네이트로 케이싱을 대체한 제품>

(나) 제품 컨셉 설정

① SNACK형 발효소시지 타겟 제품 설정

본 과제 연구 결과, 발효소시지로서 굵은 직경으로 만들어 얇게 슬라이스하여 샌드위치로 먹는 형태는 아직 국내 소비자들에게는 접근하기 어렵다. 소비자에게 쉽게 다가갈 수 있도록 하기 위해서는 <그림 3-31>과 같이 간단히 섭취할 수 있는 간식, 운동 후 에너지 보충, 와인 및 맥주 안주, 야식 대응 등 개발이 필요하다.

<그림 3-31> 발효소시지 타겟제품 및 용도



② 발효소시지 상품화 및 포트폴리오

발효소시지 상품화를 위해서는 기본적으로 생산설비가 갖춰져야 하며, 소비시장이 형성되어 있어야 한다. 발효소시지는 아직 국내에서 시장규모가 거의 없어 사업적으로 접근하는데 있어 시간이 많이 소요된다. 또한 사업적으로 성과를 내야하므로 체계적인 상품화 프로세스를 통해 하나하나 검증을 통해 상품화가 진행되어야 한다. <그림 3-32>는 당사의 발효소시지를 산업화하기 위한 상품화 프로세스와 일정을 나타낸 것이다. 먼저 제품의 컨셉조사가 이루어져야 한다. 본 제품은 스낵형 간식 및 술안주 타입으로 24~35세의 직장인 타겟 소비자층을 선정하고 이들을 대상으로 컨셉만 제공하여 평가하는 조사를 통과하여야 한다. 또한, 2017년 12월까지 정량적인 소비자조사를 통해 당사의 타겟 기준을 넘어야 한다. 이 과정을 통과하면 드디어 신제품 준비보고 프로세스(NPD gate)로 넘어간다. 상품화를 앞당기기 위해 2017년 12월에 진행하도록 총력을 기울이고 있다. 생산을 위해서는 산업화 기지가 필요한데, 현재 국내에서 생산 가능한 기지 1-2곳을 검토 중에 있다. 그 생산기지는 당사의 오디트를 통과해야 시생산테스트가 가능하다. 2018년 3월까지 생산기지 검토를 완료하고, 시생산 진행하여 안전게이트, 유통기한 테스트(타겟 냉장 6개월), 소비자조사를 진행한다. 유통기한 테스트는 최소 240일까지 검증하여 유통중 제품품질 및 안전성 검사를 확보해야 최종 본생산이 가능하다. 2018년 말까지 제품 본생산이 가능하도록 준비를 완료할 계획이다.

상품화에 있어 발효소시지 한 품목만 출시해서는 판매시장이나 매출 등이 쉽게 형성되지 못하므로, <그림 3-32>와 같이 빠르게 제품의 확장(Exetension)과 향후 지속적인 포트폴리오 전략이 필요하다. 1차적으로 19년도에 간식형 타입으로 접근하며, 기능성 스타터를 적용한 제품 업그레이드와 다양한 flavor를 활용한 맛방향 다양화를 할 계획이며, 기능성 균주 확대 적용하고 기술력 확보를 토대로 프리미엄 발효소시지로 포트폴리오를 확대할 계획이다. 본 일정을 토대로 성실히 진행하되, 향후 시장 상황에 따른 회사의 정책 및 중장기적인 방향에 따라서 상업화의 일정이 변경되거나 혹은 과제가 Drop될 수 있다.

<그림 3-32> 발효소시지 상품화 일정 및 포트폴리오

	2017												2018												2019												2020						
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3	4	5	6	
정성적 소비자조사(간접)																																											
정량적 소비자조사(SCT)																																											
기술이전																																											
생신기지 검토 및 확보																																											
발효소시지 상품화 규정 정립																																											
18년 상품화계획 반영																																											
신제품준비보고(NPD Gate2)																																											
유통기한 확보																																											
출시확정 소비자조사(GGM)																																											
시생산 및 Design review2																																											
신규원료 및 원제품 안전게이트																																											
시생산 제품 품질점검																																											
표기문안 및 포장재 발주																																											
본생산 및 출시(2019년 6월)																																											
제품 Extension(기능성추가)																																											
당사보유 기능성균주 확대																																											
합성아질산나트륨 무첨가 확대																																											

신제품 출시 (2019년 6월)	2차 적용 (2019년 10월)	3차 적용 (2020년)	4차 적용 (2020년)
발효소시지 신제품 출시	기능성 스타터 적용 확대 맛방향 다양화	기능성 균주 확대 적용 수익성 강화	프리미엄 발효소시지 확대 제형 다변화
			
- 스틱형 타입(간식형)	- 직경 40mm 제형 - 원목 or 슬라이스 타입 - GABA 기능성 유산균 적용 - 샌드위치 및 샐러드용	- 당사 보유 기능성 유산균 접목 - CJLP133 및 CJLP243 균 적용한 기능성 강화	- 합성아질산나트륨 대체한 프리미엄급 발효소시지 확대
			
- 미니 비엔나 사이즈 (간식형)	- 매운맛 등 맛방향 다양화		- 제품 직경 및 지방입자 크기 등 제형 다변화 및 용도 다변화 제품으로 확대

* 본 일정은 당사의 정책 및 사업방향에 따라 산업화 일정이 조정될 수 있음

(2) 생산 제조원가 분석

발효소시지의 제조원가는 발효 및 숙성시간과 제품의 제형, 발효료의 성능 등에 따라 영향을 받는다. 원부재료비는 기본적으로 60%의 수율을 반영함으로서 산출이 가능하며, 원료육은 국내산 냉장 돈육(3,500 원/kg)과 돈지방(1,400 원/kg)을 기준으로 산출하였다. 포장재료비는 직경 18mm 셀룰로오스 케이싱(15.4 원/m)과 삼방필름(107 원/장)으로 산출하였고, 유틸리티 비용은 당사 진천 공장에서 생산하는 유사 제품을 기준으로 작성하였다. 인건비와 감가상각비, 경비는 생산기지와 생산방법에 따라 2가지 타입으로 추정하였다. 1안은 발효료가 갖춰진 중소기업에서 OEM 방식으로 생산하였을 때를 기준으로 산출하였으며, 2안은 당사에서 신규로 공장을 설립하여 라인을 새로 세팅하였을 때를 가정하여 임의로 각각 적용하였다.

개발제품의 생산기지에 따른 생산원가 비교 결과는 <표 3-56>과 같다.

<표 3-56> 생산기지에 따른 생산원가 비교

단위 :원/kg

항 목	생산방식별	
	OEM 생산 방식	신규라인 설치시
원재료비 ¹⁾ (원)	4,605.0	4,605.0
부재료비 ²⁾ (원)	119.8	119.8
포장비 ³⁾ (원)	41.0	41.0
유틸리티비(원)	176.5	176.5
인건비(원)	500	500
감가상각비(원)	300	2,083
기타경비(원)	100	200
생산원가*(원)	5,842.3	7,725.3

¹⁾ 돈육 뒷다리부위: 3,500 원/kg , 지방(돼지 등지방, 냉동): 1,400 원/kg
<CJ제일제당 2017년 7월 실적 자료 기준>

²⁾ 소금: 272.4 원/ kg, 포도당: 618.4 원/kg, MSG: 2,057.8 원/kg, 아스코르빈산나트륨: 8,825.1 원/kg, Medditera spice: 12,000 원/kg, Siliana: 15,000 원/kg, red pepper: 8,000 원/kg, black pepper: 8,000 원/kg, 스타터 킬처: 200,000 원/kg
<CJ제일제당 2017년 7월 실적 자료 기준/부재료 업체 공급단가 기준>

³⁾ 셀룰로오스 케이싱: 15.4 원/m, 삼방필름: 107 원/장

7. 젓산균 starter 후보균 분리 및 후보균 적용한 발효소시지 제조

가. 시료수집 및 미생물학적, 이화학적 특성 분석

발효소시지 제조에 적합한 젓산균 starter 후보균을 선별하기 위해 국내에서 판매되는 생햄과 김치를 수집하였다. 또한, 집적 발효소시지를 제조하여 젓산균 starter 후보균을 선별하였다. 국내에 수입 판매되고 있는 생햄 7종, 그리고 소규모마트와 재래시장에서 구입 한 김치 6종을 사용하였다. 본 실험에 사용된 시료의 제조원과 제품명은 <표 3-57>과 같다.

<표 3-57> 젓산균 starter 후보균 분리에 사용된 시료

제품류	제조원	제품명
생햄	HIJOS DE FELIPE MARTINEZ SA	Jamon cerrano Loncheado
	Esteban Espuna S.A	Cerrano
	EMBOTITS ESPINA S.A	SALCHICHON
	DANIELE INTERNATIONAL INC.	Prosciutto
	IDEALCOTTI DEIEF LLILUPPISRL	말레피 파르마 프로스큐토 슬라이스
김치	JOHN VOLPI & CO	트리오 코파 슬라이스
	JOHN VOLPI & CO	트리오 모르따텔라 슬라이스
	동원 F&B	양반포기김치
	종가집	포기김치
	한울	홍진경더포기김치
	CJ하선정	CJ하선정 통김치
	한복선	한복선 포기김치
조치원 전통시장	배추김치	

총균수 측정을 위한 배지로는 PCA(Plate count agar)를 젓산균 분리를 위한 배지로는 BCP(0.006% bromocresol purple)와 MRS (deMan Rogosa Sharpe) 배지를 사용하였다. 균수 측정 방법은 식품공전 미생물시험법에 따라 시료 25 g에 멸균 희석수 225 ml 첨가하여 희석한 다음 배지에 도말하여 35±2℃, 혐기적 조건에서 24시간 배양한 후 생성된 집락을 관찰하였다. BCP 평판배지에서 노랗게 배지를 변화시키고 MRS 평판배지에서 집락 주변을 투명하게 변화시키는 집락들을 2회 이상 분리하여 산 생성 여부를 확인하였다. 순수한 집락을 다시 MRS broth에 18 시간 배양한 후 배양액을 15% glycerol의 농도로 -70℃에서 저장하면서 실험에 사용하였다. 병원성미생물도 식품공전 미생물시험법에 따라 증균배지, 선택배지 등에 24~48시간 배양한 후 생성된 집락을 관찰하였다. 시료의 pH는 Stomacher(Lab-blender 400, Seward, England)에서 2분간 마쇄한 후 증류수 10배를 넣고 희석 및 여과하여 그 여액을 20mL 취하여 실온에서 pH meter (Thermo, USA)를 이용하여 측정하였다. 산도는 AOAC 방법을 따랐으며, pH를 측정한 여액에 0.1N NaOH 용액으로 pH 8.3이 될 때까지 적정 후 소비된 mL를 Lactic acid 함량(%)로 환산하여 계산하였다(AOAC 1995). 수분활성도는 수분활성도 측정기(Novasina, Switzerland)를 이용하여 측정하였다.

나. Starter 후보균의 선별 및 생리·화학적 특성

(1) 분리주의 형태학적·생리적 특성

미생물 염색법을 수행하여 예비 starter 균주의 morphology를 현미경 (Axioskop, ZEISS, Germany)를 이용하여 관찰하였다. Starter 후보균의 생리적 특성을 검토하고 동정하기 위해 catalase test, 당 분해력, gas 생성력, pH, 생육속도, 다양한 온도에서의 생육 특성을 수행하였다.

(가) Catalase test

Catalase test는 분리주를 broth에 24 시간 동안 배양한 후 배양액을 취해 slide glass에 1ml 정도를 적하한 후 3% H₂O₂를 반응시켜 거품 형성 여부를 관찰하였으며 거품이 형성되면 양성, 형성되지 않으면 음성으로 간주하였다.

(나) 당분해능

당분해능은 기본 peptone 배지에 최종농도가 1%가 되도록 당(glucose, lactose, maltose, raffinose, sucrose)을 첨가하고 지시약으로 0.004% bromocresol purple을 사용하여 35±2°C에서 24시간 배양 후 배지의 색이 변하는 것으로 나타내었다. 보라색의 배지가 노랗게 변하면 양성, 변하지 않으면 음성으로 나타내었다.

(다) Gas 생성력

Gas 생성력은 MRS broth에 durham tube를 넣고 분리주를 배양하여 24h 후 gas 생성 여부를 관찰하였다.

(라) 생육속도

생육속도는 각각의 분리주를 35±2°C에 배양하여 24 시간 후에 생성되는 균체량을 spectrophotometer (UV-1601, SHIMADZU)를 이용하여 측정하였다. 준비된 MRS broth에 분리주를 접종한 후 각각 다른 온도 20°C에서 1~7일 간 배양하여 생육 특성을 관찰하였다.

(2) 분리주의 항균활성 실험

(가) 시료 전처리

1차 분리주의 항균활성을 측정하기 위해 분리주를 MRS broth에 35±2°C에서 24시간 배양 후 4°C로 냉장시켰다. 산에 의한 pH와 H₂O₂가 항균활성 결과에 미치는 영향을 배제하기 위해 0.1 M의 NaOH를 이용하여 pH를 7.0으로 조정하였으며 catalase를 50 U/ml을 첨가하여 1 시간 동안 35±2°C에서 반응시켰다. 반응시킨 후 5000g, 4°C에서 10분간 원심분리한 후 상층액을 취하여 동결건조기를 이용하여 동결 건조시킨 후 50 mM sodium phosphate buffer를 이용하여 10배 농축시켜 조시험액으로 하였다. 조 시험액은 4°C에 보관하면서 실험에 사용하였다. 대조구로는 MRS broth를 동량 취하여 같은 방법으로 전처리하여 사용하였다.

(나) ADT 수행

분리주들의 항균활성을 확인하기 위해 agar diffusion test (ADT)를 수행하였다. 시험균주는 그람양성균으로 *Listeria monocytogenes*(KCTC3710), *Staphylococcus aureus*(KCTC1916)을 그람

음성균으로 *E. coli* O157:H7(KCTC1039), *Bacillus cereus*(KCTC1012)를 이용하였다. 우선 paper disc (Whatman, ϕ 8 mm)에 시료를 80 μ l를 적하하여 무균 상태에서 건조시킨 후 시험균주가 도달된 배지 위에 올려놓고 $35 \pm 2^\circ\text{C}$ 에서 24 시간 이내에 paper disc 주변에 저해환이 형성되는 것으로 항균활성 여부를 판단하였다.

(3) 젖산균 스타터 후보균의 건강기능 특성 검토

(가) γ -aminobutyric acid(GABA)생성 균주 선별

국내 시판 중인 김치로부터 젖산균을 분리하여 실험에 사용하였다. 김치에서 분리한 젖산균의 GABA 생산성 시험을 위해 rapid screening media (Lactobacilli MRS broth supplemented with 1% L-Glutamic acid, 0.005% pyridoxal phosphate, 0.001% BCP and 1.6% agar)를 이용하여 배지의 색변화를 보인 집락을 1차 선별하였다. 1차 선별된 균주들은 silica gel TLC plate (Kieselgel 60, F254, 0.2 mm, Merck, Germany)에 표준물질 GABA (Sigma)와 함께 분리주의 배양물을 2 μ l씩 전개시켜 spot이 크고 진한 밴드를 보인 균주들을 GABA 생산균주로 선별하였다.

(나) GABA 생산균주의 동정

선별된 분리주의 동정을 위해 발효능력시험(fermentation potential test)과 16S ribosomal DNA (rRNA) sequence analysis를 실시하였다. 당 발효능력을 확인하기 위해 API 50 CH strip과 API 50 CHL Medium (bioMerieux, sa 69280 Marcy l'Etoile, France)을 이용하였으며, 결과는 24, 48시간 후에 확인하였다. 분리주의 genomic DNA는 genomic DNA isolation kit (Intron, Sungnam, Korea)를 이용하여 분리하였으며, bacteria의 16S ribosomal DNA에 특이적인 primer를 이용하여 polymerase chain reaction (PCR)을 수행하였다. PCR condition은 35 cycle (1 min at 94°C , 1 min at 58°C , 2 min at 72°C)과 elongation의 1 cycle (7 min at 72°C)로 이루어졌으며 16S rDNA sequencing 결과를 이용하여 gene bank의 blast 검색을 통해 GABA 생산 균주를 동정하였다.

(다) GABA 생산성의 정량적 확인

분리주의 GABA 생산성은 정량적 확인을 위해 HPLC (Waters)를 사용하였으며 분리주의 배양물을 원심분리(3,500 rpm, 20 min)하여 0.2 μ m membrane filter로 여과한 후 10배로 희석한 것을 sample로 이용하였다. 이것을 0.01 N HCl을 이용하여 단백질 제거 후 AQC reagent (Waters, USA)를 이용하여 유도체화한 것을 HPLC 분석에 사용하였다. column은 reverse-phase column (150 \times 3.9 mm I.D. AccQ.Tag C18, Waters)를, U.V-spectrophotometric detector (254 nm) 제품을 이용하였다. 이동상은 A solution (140 mM Sodium acetate, 5.6 mM Triethylamine, pH 5.03)과 B solution (acetonitrile/distilled water = 60/40)의 gradient condition (initial 100% A: 35 min 67% A)에서 flow rate 1 ml/min, injection volume 20 μ l의 조건으로 분석하였다.

(라) 항콜레스테롤 활성 균주 선별

내산성이 우수하다고 알려진 *Lac. acidophilus* ATCC43121(Gilliand, 1989; Gilliland 등, 1985; Grunewald, 1982)를 양성 대조균으로 사용하여 비교 분석을 통한 우수한 균주를 찾고자 하였다. 인공위액을 제조하기 위해 우선 MRS broth배지에 3M HCl을 첨가하여 최종 pH 2.5로 조정 한 후 가압멸균을 실시하였다. 0.22 μ m pore size filter를 이용하여 멸균한 pepsin을 최종농도가

1,000 unit/ml이 되도록 배지에 첨가하여 제조하였다. MRS broth에 24시간 배양한 균주 1×10^9 CFU/ml에서 내산 배지의 1%인 100 μ l(1×10^8 CFU)을 접종하여 37°C에서 0, 3시간 동안 배양하였다. 배양 후 100 μ l를 취해 MRS agar plate에 접종하여 37°C에서 48시간 배양 후 생균을 counting하였다.

(4) 예비 starter 분리주의 안정성 검증을 위한 효소활성

(가) Hemolytic activity를 측정

7% sheep blood가 첨가된 agar plate에 $35 \pm 2^\circ\text{C}$ 에 배양하여 24 시간 후 저해환 형성유무를 측정하였다.

(나) Biogenic amine (BA) 생성능

BA의 정량분석은 HPLC를 이용하여 분석하였다. 우선 세포의 decarboxylase를 유도하기 위해 0.1%와 1%의 pre-amino acid 배지에 2번 계대배양 후 1% pre-amino acid가 첨가된 배지에 1일 배양 후 전처리를 하였다. 배양액 1 ml에 0.4 M perchloric acid 9 ml을 첨가하여 진탕 후 원심 분리하고 0.45 μ m로 여과 멸균한 시료 1 ml에 다시 2 N sodium hydroxide와 sodium bicarbonate, dansyl chloride를 넣고 40°C에서 45분간 반응시켰다. 반응 후 25% ammonium hydroxide로 정용하여 여과 후 분석에 이용하였다. 분석기기는 Waters 996 photodiode array detector와 Millenium 2010 software가 장착된 Waters 2690 separation module을 column은 Nova-Pal C18, 4 μ m, 150 by 3.9 mm (Waters)를 이용하였으며 이동상은 0.1 M ammonium acetate (Sol A)와 acetonitrile (Sol B)을 농도구배를 주어 분석하였다. 용매흐름속도는 1 ml/min이었으며 254 nm에서 검출하였다.

(5) 선별된 예비 starter의 동정

최종적으로 선별된 분리주들을 분류하기 위해 API kit를 이용하였다. 이용된 API kit는 API 50 CH, (BioMerieux, France)를 이용하였으며, 다시 최종 동정은 PCR을 이용하여 16S rDNA를 증폭하여 sequence를 분석한 후 gene bank blast에 비교하여 동정하였다.

(6) 선별한 발효소시지 Starter 후보균의 적용 (Lab scale)

(가) 발효소시지 제조

대한민국의 충청남도에서 도축한 돈육(후지), 우유와 지방을 구입하여 사용하였다. 후지, 우유 및 지방은 3cm \times 5cm로 세절한 후 -20°C 에 동결 한 뒤 각 재료를 <표 3-58>의 비율로 혼합하였다. 발효소시지는 스타터 후보균 첨가균과 상업용 스타터(CHR. HANSEN, BacterfermTM C-P-77S) 첨가균으로 나누어 fibrous casing(40mm)에 충전 후 chamber에서 발효 및 숙성하였다.

<표 3-58> 발효소시지 제조 비율

Materials	Weight ratio (%)
Lean beef	20.0
Lean pork	60.0
Pork back fat	20.0
NPS(0.7% nitrite)	1.61
MSG	0.20
Glucose	0.50
Spice	1.15
Starter culture	0.03

(나) 제조한 발효소시지의 미생물학적 특성 분석

총균수 측정을 위한 배지로는 PCA(Plate count agar)를 젖산균 분리를 위한 배지로는 BCP(0.006% bromocresol purple)와 MRS (deMan Rogosa Sharpe) 배지를 사용하였다. 균수 측정 방법은 식품공전 미생물시험법에 따라 시료 25 g에 멸균 희석수 225 ml 첨가하여 희석한 다음 배지에 도말하여 35±2°C, 혐기적 조건에서 24시간 배양한 후 생성된 집락을 관찰하였다. BCP 평판배지에서 노랗게 배지를 변화시키고 MRS 평판배지에서 집락 주변을 투명하게 변화시키는 집락들을 2회 이상 분리하여 산 생성 여부를 확인하였다. 순수한 집락을 다시 MRS broth에 18시간 배양한 후 배양액을 15% glycerol의 농도로 -70°C에서 저장하면서 실험에 사용하였다. 병원성미생물도 식품공전 미생물시험법에 따라 증균배지, 선택배지 등에 24~48시간 배양한 후 생성된 집락을 관찰하였다.

• *Escherichia coli*

검체 25 g에 225 ml의 EC broth를 가하여 1 분간 균질화하고 37°C에서 24 시간 증균 배양하였다. EMB agar에 접종한 후, 37°C에서 24 시간 배양하여 녹색의 금속성 광택을 확인되면 순수분리 배양된 5개 집락을 TSI agar에 접종한 후, 37°C에서 24 시간 배양하였다. 가스 생성을 확인한 후 TSA에 접종하여 37°C에서 24 시간 배양한 후 생성여부를 확인하였다.

• *Listeria monocytogenes*

검체 25 g에 225 ml의 Listeria 증균배지를 가하여 1 분간 균질화하고 30°C에서 24 시간 증균 배양 하였다. 증균배양액을 Oxford agar에 streaking하고 30°C에서 24 시간 배양하였다. 검은색의 의심집락을 형성하는 집락을 0.6% yeast extract가 포함된 Tryptic soy agar에 접종하여 30°C에서 24 시간 배양 하였다. 그람염색 후 그람양성 간균이 확인되면 hemolysis, motility, catalase 시험하고, CAMP test에서 *S. aureus*(ATCC 25923)에서 양성, *Rhodococcus equi*(ATCC 6939)에서 음성을 확인하였다.

• *Salmonella* spp.

검체 25 g에 225 ml의 펩톤수를 가하여 1 분간 균질화하고 35°C에서 24 시간 1차 증균 배양한 후 100 µl의 1차 증균액을 10 ml의 Rappaport-Vassiliadis 배지에 접종하여 42°C에서 24 시간 2차 증균 배양하였다. 증균 배양액을 MacConkey agar에 streaking하여 37°C에서 24 시간 배양하여 검은색의 의심집락 형성을 확인하였다.

• *Staphylococcus aureus*

검체 25 g에 10% NaCl을 첨가한 225 ml의 TSB를 더하여 1 분간 균질화하고 37°C에서 24 시간 증균 배양하였다. Baird-Parker agar에 streaking하여 37°C에서 24 시간 배양하고, 투명한 띠로 둘러싸인 광택이 있는 검정색 의심집락을 형성하는 콜로니를 보통한천배지에 옮겨 37°C에서 24 시간 배양한 후 그람

염색을 실시하여 포도상의 배열을 갖는 그람양성 구균임을 확인하고 응고 시험을 실시하여 일정 시간이 지나 응고 반응을 보이는지(양성인지) 확인하였다.

- *Clostridium perfringens*

희석수를 이용해 균질화한 시험용액 1 ml를 Cooked Meat 배지의 아랫부분에 접종하여 혐기적 조건으로 37°C에서 24 시간 증균 배양한 후 TSC agar에 증균 배양액을 접종하여 37°C에서 24 시간 혐기배양하고, 불투명한 환을 가지는 황회색 집락을 확인하였다.

(다) 제조한 발효소시지의 이화학적 특성 분석

시료의 pH는 Stomacher(Lab-blender 400, Seward, England)에서 2분간 마쇄한 후 증류수 10 배를 넣고 희석 및 여과하여 그 여액을 20ml 취하여 실온에서 pH meter (Thermo, USA)를 이용하여 측정하였다. pH를 측정한 여액에 0.1N NaOH 용액으로 pH 8.3이 될 때까지 적정 후 소비된 ml를 Lactic acid 함량(%)로 환산하여 계산하였다(AOAC 1995). 수분활성도는 수분활성도 측정기(Novasina, Switzerland)를 이용하여 측정하였다.

(라) 제조한 발효소시지의 GABA 함량 확인

발효소시지 시료 3 g에 0.01 N HCl 3 ml 첨가하여 단백질을 제거 후 AQC reagent (Waters, USA)를 이용하여 유도체화한 것을 HPLC 분석에 사용하였다. column은 reverse-phase column (150×3.9 mm I.D. AccQ.Tag C18, Waters)를, U.V-spectrophotometric detector (254 nm) 제품을 이용하였다. 이동상은 A solution (140 mM Sodium acetate, 5.6 mM Triethylamine, pH 5.03)과 B solution (acetonitrile/distilled water = 60/40)의 gradient condition (initial 100% A: 35 min 67% A)에서 flow rate 1 ml/min, injection volume 20 µl의 조건으로 분석하였다.

(마) Biogenic amine (BA) 생성능

발효소시지 시료 3 g에 0.4 M perchloric acid 27 ml을 첨가하여 진탕 후 원심분리하고 0.45 µm로 여과 멸균한 시료 1 ml에 다시 2 N sodium hydroxide와 sodium bicarbonate, dansyl chloride를 넣고 40°C에서 45분간 반응시켰다. 반응 후 25% ammonium hydroxide로 정용하여 여과 후 분석에 이용하였다. 분석기기는 Waters 996 photodiode array detector와 Millennium 2010 software가 장착된 Waters 2690 separation module을 column은 Nova-Pak C18, 4 µm, 150 mm (Waters)를 이용하였으며 이동상용매는 0.1 M ammonium acetate 와 고정상용매 acetonitrile의 농도구배를 주어 분석하였다. 용매흐름속도는 1 ml/min이었으며 254 nm에서 검출하였다.

다. 실험 결과

(1) 시료수집 및 미생물학적, 이화학적 특성 분석

<표 3-59> 수집한 시료의 미생물학적, 이화학적 특성 분석

시료	시료 개수	pH	a _w	총균수	젖산균수
생햄	5	5.60-5.84	0.931-0.960	5.59×10 ⁶ -6.84×10 ⁷	2.48×10 ⁶ -2.70×10 ⁷
발효소시지	2	4.92-5.80	0.897-0.910	3.51×10 ⁶ -5.25×10 ⁷	3.68×10 ⁶ -5.46×10 ⁷
김치	6	4.30-5.42	0.900-0.911	4.61×10 ⁸ -8.72×10 ⁸	2.45×10 ⁸ -3.62×10 ⁸

제조한 발효소시지, 시판되는 생햄과 김치시료를 채취하여 미생물 검사를 실시하였다. 그 결과 생햄의 총균수는 5.59×10⁶-6.84×10⁷ CFU/g 범위를 나타내었고, 발효소시지의 경우 3.51×10⁶-5.25×10⁷ CFU/g, 김치의 경우 4.61×10⁸-8.72×10⁸ CFU/g을 나타내었다. 젖산균의 경우 생햄, 발효소시지와 김치에서 각각 2.48×10⁶-2.70×10⁷ CFU/g, 3.68×10⁶-5.46×10⁷ CFU/g, 2.45×10⁸-3.62×10⁸ CFU/g 범위를 나타내었다. 병원성미생물을 분석 한 결과 식품에서 검출되어서는 안되는 *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens*는 시판되는 시료와 제조한 발효소시지 모두에서 검출되지 않았다.

이화학적 특성을 분석한 결과 생햄, 발효소시지와 김치에서 각각 pH 값은 pH 5.60-5.84, pH4.92-5.80, pH4.30-5.42의 범위를 나타내었고, 수분활성도의 경우 생햄, 발효소시지와 김치에서 각각 0.931-0.960, 0.897-0.910, 0.900-0.911을 나타내는 것을 확인하였다. 이상과 같이 시료에서 분리된 젖산균 총 300주를 1차 분리주로 하였다.

(2) Starter 후보균의 선별 및 생리·화학적 특성

(가) 분리주의 형태학적·생리적 특성 결과

Catalase test에서는 분리주 300주 모두 음성이었으며, 그람염색 시험에서 그람 양성, micro-morphology는 쌍구균 또는 단구균으로 나타났다. 상대적으로 강한 특성을 보이는 40주의 당 분해능 및 gas 생성을 검토하였으며 그 결과는 <표 3-60>과 같다. 또한, 20℃, 37℃의 온도 범위에서 생육 가능한 것으로 확인 되었으며 그 결과는 <표 3-61>과 같다.

이들 중 다음 온도 범위에서 다른 균주들에 비해 상대적으로 높은 OD값과 낮은 pH 값을 갖는 균주들을 선별한 후, NaCl (2%, 3%, 4%)을 첨가한 MRS broth에 접종하여 48시간 배양 후 OD값과 pH를 측정하여 균주들의 내염성을 확인 하였다. 그 결과는 <표 3-62>, <표 3-63>과 같다.

<표 3-60> 24시간 배양 후 분리주의 생리·화학적 특성

Strains	· Acid formation from					Gas from glucose
	Glucose	Lactose	Maltose	Raffinose	Sucrose	
GH-1	+	+	+	+	+	+
GH-2	+	+	+	+	+	+
GH-3	+	+	+	+	+	+
GH-4	+	+	+	+	+	+
GH-5	+	+	+	+	+	+
GH-6	+	+	+	+	+	+
GH-7	+	+	+	+	+	+
GH-8	+	+	+	+	+	+
GH-9	+	+	+	+	+	+
GH-10	+	+	+	+	+	+
GH-11	+	+	+	+	+	+
GH-12	+	+	+	+	+	+
GH-13	+	+	+	+	+	+
GH-14	+	+	+	+	+	+
GH-15	+	+	+	+	+	+
GH-16	+	+	+	+	+	+
GH-17	+	+	+	+	+	+
GH-18	+	+	+	+	+	+
GH-19	+	+	+	+	+	+
GH-20	+	+	+	+	+	+
GH-21	+	+	+	+	+	+
GH-22	+	+	+	+	+	+
GH-23	+	+	+	+	+	+
GH-24	+	+	+	+	+	+
GH-25	+	+	+	+	+	+
GH-26	+	+	+	+	+	+
GH-27	+	+	+	+	+	+
GH-28	+	+	+	+	+	+
GH-29	+	+	+	+	+	+
GH-30	+	+	+	+	+	+
GH-31	+	+	+	+	+	+
GH-32	+	+	+	+	+	+
GH-33	+	+	+	+	+	+
GH-34	+	+	+	+	+	+
GH-35	+	+	+	+	+	+
GH-36	+	+	+	+	+	+
GH-37	+	+	+	+	+	+
GH-38	+	+	+	+	+	+
GH-39	+	+	+	+	+	+
GH-40	+	+	+	+	+	+

<표 3-61> 분리주의 생육속도 및 pH 생성능

Strains	20℃		37℃	
	O.D	pH	O.D	pH
GH-1	2.013	4.31	2.150	4.15
GH-2	1.031	5.01	1.597	4.46
GH-3	1.272	5.11	1.421	4.59
GH-4	0.310	6.04	1.498	4.64
GH-5	0.257	6.02	1.589	4.68
GH-6	0.281	5.99	1.547	4.60
GH-7	0.236	6.04	1.559	4.63
GH-8	0.245	5.98	1.553	4.63
GH-9	1.079	5.21	1.513	4.64
GH-10	0.935	5.26	1.726	4.39
GH-11	1.833	4.49	2.047	4.28
GH-12	0.825	5.31	1.755	4.41
GH-13	0.924	5.29	1.696	4.43
GH-14	1.079	5.21	1.606	4.46
GH-15	1.272	5.02	1.686	4.52
GH-16	1.312	4.96	1.670	4.42
GH-17	1.165	5.09	1.531	4.47
GH-18	1.258	5.02	1.954	4.29
GH-19	1.167	5.09	1.713	4.35
GH-20	1.233	5.11	1.806	4.35
GH-21	1.371	4.89	1.579	4.46
GH-22	1.025	5.21	1.574	4.43
GH-23	1.988	4.40	2.051	4.21
GH-24	0.253	6.05	1.676	4.36
GH-25	0.220	6.03	1.691	4.35
GH-26	0.266	5.98	1.715	4.36
GH-27	0.195	6.10	1.699	4.42
GH-28	0.195	6.08	1.595	4.50
GH-29	0.200	6.07	1.623	4.42
GH-30	0.982	5.29	1.676	4.36
GH-31	1.015	5.25	1.759	4.44
GH-32	0.212	6.11	1.546	4.49
GH-33	0.208	6.28	1.351	4.81
GH-34	1.112	5.45	1.936	4.73
GH-35	1.235	5.45	1.138	5.45
GH-36	1.225	5.44	1.129	5.46
GH-37	1.431	5.26	1.237	5.24
GH-38	0.831	5.63	1.017	5.42
GH-39	1.212	5.42	1.097	5.45
GH-40	0.716	5.74	0.846	5.49

<표 3-62> 분리주의 염도별 생육속도 및 pH 생성능(37°C)

Strains	37°C							
	2% NaCl		3% NaCl		4% NaCl		Control	
	O.D	pH	O.D	pH	O.D	pH	O.D	pH
GH-1	2.113	4.18	2.013	4.35	1.991	4.41	2.150	4.15
GH-2	1.333	5.31	1.313	5.39	1.211	5.45	1.597	4.46
GH-3	1.351	5.15	1.224	5.45	1.013	5.68	1.421	4.59
GH-4	1.501	4.78	1.133	5.53	1.051	5.61	1.498	4.64
GH-5	1.499	4.88	1.373	5.11	1.231	5.32	1.589	4.68
GH-6	1.473	4.91	1.429	4.97	1.366	5.08	1.547	4.60
GH-7	1.553	4.64	1.233	5.32	1.009	5.71	1.559	4.63
GH-8	1.387	5.35	1.222	5.41	1.010	5.79	1.553	4.63
GH-9	1.498	4.75	1.371	4.83	1.127	5.48	1.513	4.64
GH-10	1.661	4.41	1.558	4.55	1.319	4.71	1.726	4.39
GH-11	1.979	4.43	1.918	4.45	1.901	4.51	2.047	4.28
GH-12	1.713	4.48	1.652	4.53	1.238	4.93	1.755	4.41
GH-13	1.558	4.51	1.481	4.59	1.301	4.62	1.696	4.43
GH-14	1.313	4.65	1.259	4.73	1.112	4.78	1.606	4.46
GH-15	1.371	4.61	1.223	4.79	1.035	4.88	1.686	4.52
GH-16	1.199	4.73	1.108	4.81	0.961	4.94	1.670	4.42
GH-17	1.451	4.54	1.333	4.66	1.117	4.77	1.531	4.47
GH-18	1.911	4.48	1.905	4.50	1.883	4.58	1.954	4.29
GH-19	1.666	4.44	1.558	4.51	1.317	4.65	1.713	4.35
GH-20	1.757	4.40	1.611	4.55	1.444	4.61	1.806	4.35
GH-21	1.501	4.53	1.413	4.63	1.308	4.70	1.579	4.46
GH-22	1.437	4.57	1.222	4.78	1.116	4.89	1.574	4.43
GH-23	1.997	4.43	1.988	4.47	1.893	4.53	2.051	4.21
GH-24	1.551	4.42	1.447	4.53	1.233	4.67	1.676	4.36
GH-25	1.613	4.38	1.523	4.49	1.418	4.55	1.691	4.35
GH-26	1.559	4.48	1.458	4.59	1.332	4.71	1.715	4.36
GH-27	1.317	4.53	1.213	4.64	1.105	4.89	1.699	4.42
GH-28	1.525	4.58	1.315	4.77	1.031	5.01	1.595	4.50
GH-29	1.603	4.53	1.491	4.88	1.133	4.78	1.623	4.42
GH-30	1.677	4.35	1.573	4.51	1.151	4.77	1.676	4.36
GH-31	1.531	4.59	1.401	4.66	1.100	4.89	1.759	4.44
GH-32	1.418	4.61	1.328	5.11	1.213	5.18	1.546	4.49
GH-33	1.117	5.03	1.213	5.01	1.281	5.04	1.251	5.01
GH-34	1.380	5.11	1.583	5.08	1.379	5.12	1.214	5.05
GH-35	1.380	5.12	1.459	4.30	1.363	4.54	1.379	4.63
GH-36	1.361	5.03	1.379	4.52	1.173	4.59	1.860	5.14
GH-37	1.108	4.62	1.205	4.63	1.358	4.67	1.312	4.70
GH-38	1.112	4.73	1.378	4.81	1.955	4.68	1.421	4.76
GH-39	1.469	4.75	1.380	4.84	1.382	4.88	1.875	4.94
GH-40	1.531	4.04	1.346	4.34	1.437	4.97	1.241	4.99

<표 3-63> 분리주의 염도별 생육속도 및 pH생성능(20℃)

Strains	20℃							
	2% NaCl		3% NaCl		4% NaCl		Control	
	O.D	pH	O.D	pH	O.D	pH	O.D	pH
GH-1	2.010	4.32	2.006	4.35	1.925	4.41	2.013	4.31
GH-2	1.131	5.01	1.031	5.18	0.981	5.28	1.031	5.01
GH-3	1.117	5.18	1.027	5.25	0.915	5.33	1.272	5.11
GH-4	0.315	6.03	0.305	6.08	0.299	6.05	0.310	6.04
GH-5	0.265	6.05	0.263	6.05	0.258	6.08	0.257	6.02
GH-6	0.241	6.00	0.238	6.01	0.222	6.09	0.281	5.99
GH-7	0.244	6.03	0.233	6.05	0.218	6.05	0.236	6.04
GH-8	0.251	6.01	0.245	6.05	0.233	6.05	0.245	5.98
GH-9	1.053	5.38	1.007	5.49	0.815	5.61	1.079	5.21
GH-10	1.010	5.44	0.974	5.55	0.788	5.69	0.935	5.26
GH-11	1.799	4.51	1.657	4.63	1.559	4.69	1.833	4.49
GH-12	0.826	5.32	0.755	5.39	0.633	5.44	0.825	5.31
GH-13	0.888	5.41	0.777	5.49	0.633	5.53	0.924	5.29
GH-14	0.934	5.44	0.824	5.54	0.733	5.61	1.079	5.21
GH-15	1.123	5.31	0.983	5.45	0.818	5.51	1.272	5.02
GH-16	1.235	5.08	1.115	5.11	1.003	5.19	1.312	4.96
GH-17	1.155	5.03	1.038	5.15	0.955	5.23	1.165	5.09
GH-18	1.155	5.18	1.135	5.22	1.118	5.25	1.258	5.02
GH-19	1.003	5.25	0.878	5.35	0.711	5.41	1.167	5.09
GH-20	1.111	5.29	0.935	5.39	0.813	5.45	1.233	5.11
GH-21	1.237	4.99	1.113	5.06	1.031	5.21	1.371	4.89
GH-22	0.988	5.35	0.855	5.44	0.717	5.57	1.025	5.21
GH-23	1.818	4.57	1.799	4.63	1.701	4.70	1.988	4.40
GH-24	0.256	6.03	0.256	6.04	0.256	6.03	0.253	6.05
GH-25	0.223	6.08	0.223	6.05	0.223	6.08	0.220	6.03
GH-26	0.275	6.00	0.275	6.00	0.275	6.01	0.266	5.98
GH-27	0.205	6.11	0.205	6.12	0.205	6.13	0.195	6.10
GH-28	0.203	6.15	0.203	6.15	0.203	6.15	0.195	6.08
GH-29	0.200	6.11	0.200	6.11	0.200	6.11	0.200	6.07
GH-30	0.963	5.35	0.823	5.44	0.725	5.51	0.982	5.29
GH-31	1.003	5.28	0.999	5.33	0.831	5.41	1.015	5.25
GH-32	0.215	6.13	0.215	6.13	0.215	6.13	0.212	6.11
GH-33	0.218	6.30	0.218	6.30	0.218	6.30	0.208	6.28
GH-34	0.259	6.10	0.224	6.08	0.254	6.02	0.167	6.21
GH-35	0.244	6.09	0.913	6.22	0.213	6.21	0.200	6.24
GH-36	0.209	6.08	0.211	6.23	0.213	6.22	0.371	5.69
GH-37	0.219	6.09	0.178	6.21	0.219	6.22	0.164	5.97
GH-38	0.225	6.07	0.201	6.23	0.213	6.21	0.168	6.23
GH-39	0.228	6.08	0.194	6.23	0.242	6.26	0.201	6.22
GH-40	0.220	6.08	0.206	6.23	0.189	6.23	0.237	6.24

(나) 분리주의 병원성 미생물에 대한 항균활성

<표 3-64> 분리주의 병원성미생물에 대한 항균활성

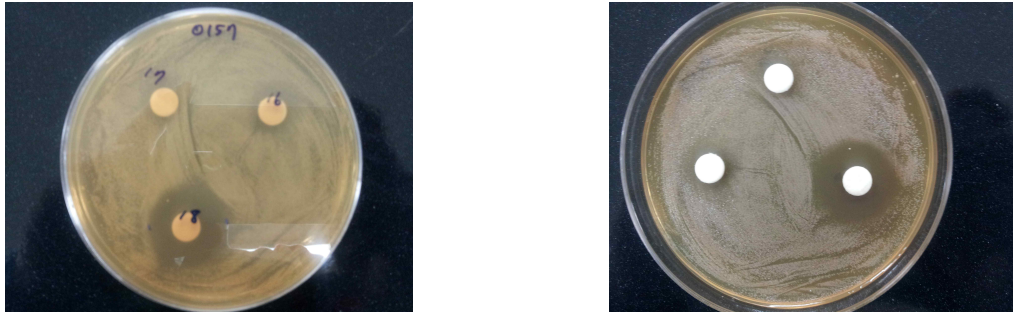
[inhibition zone diameter (mm)]

Strains	Test microorganisms ¹⁾			
	EO	BC	LM	SA
GH-1	20.00 ± 0.00	ND	ND	20.60 ± 0.94
GH-2	ND	ND	ND	ND
GH-3	ND	ND	ND	ND
GH-4	ND	ND	ND	ND
GH-5	14.00 ± 0.01	ND	ND	ND
GH-6	18.00 ± 0.01	ND	ND	ND
GH-7	20.00 ± 0.01	ND	ND	ND
GH-8	ND	ND	ND	ND
GH-9	ND	ND	ND	ND
GH-10	ND	ND	ND	ND
GH-11	ND	25.00 ± 0.00	ND	ND
GH-12	ND	ND	ND	ND
GH-13	ND	ND	ND	ND
GH-14	ND	ND	ND	ND
GH-15	ND	ND	ND	ND
GH-16	ND	ND	ND	ND
GH-17	ND	ND	ND	ND
GH-18	ND	ND	ND	ND
GH-19	ND	ND	ND	ND
GH-20	ND	ND	ND	ND
GH-21	ND	ND	ND	ND
GH-22	ND	ND	ND	ND
GH-23	14.67 ± 0.47	23.00 ± 0.03	ND	17.00 ± 0.00
GH-24	ND	ND	ND	ND
GH-25	ND	ND	ND	ND
GH-26	ND	ND	ND	ND
GH-27	ND	11.00 ± 0.01	ND	ND
GH-28	ND	ND	ND	ND
GH-29	ND	ND	ND	ND
GH-30	ND	24.00 ± 0.03	ND	ND
GH-31	ND	ND	ND	ND
GH-32	ND	ND	ND	ND
GH-33	ND	ND	ND	ND
GH-34	ND	ND	ND	12.00 ± 0.01
GH-35	ND	ND	ND	13.00 ± 0.01
GH-36	ND	ND	ND	ND
GH-37	ND	ND	ND	ND
GH-38	ND	ND	ND	14.00 ± 0.01
GH-39	ND	ND	ND	ND
GH-40	ND	ND	ND	ND

¹⁾EO: *Escherichia coli* O157:H7(KCTC1039); BC: *Bacillus cereus*(KCTC1012);

LM: *Listeriamonocytogenes*(KCTC3710); SA: *Staphylococcus aureus*(KCTC1916)

²⁾Mean ± standard deviation



<그림 3-33> GH-1 균주의 *E. coli* O157:H7에 대한 항균활성

선별된 젓산균 40주의 항균활성시험 수행 결과 일부 균주에서 *E. coli* O157:H7과 *Bacillus cereus* 및 *Staphylococcus aureus*에 대하여 강한 활성을 나타내는 것을 확인할 수 있었다. GH-1 균주의 경우 *E. coli* O157:H7과 *Staphylococcus aureus*에 대하여 각각 20.00 ± 0.00 mm, 20.60 ± 0.94 mm 정도의 저해환 (inhibition zone)을 형성하는 것이 관찰되었고, GH-11과 GH-30 균주의 경우에는 *Bacillus cereus*에 대하여 각각 25.00 ± 0.00 mm, 24.00 ± 0.03 mm 정도의 저해환이 관찰되었다.

※ 균주의 성장능, pH 저하능, 내염성 실험, 항균활성 실험을 통해 총 300 주의 젓산균 중 7 주를 우수 스타터 후보균으로 선별하였다.

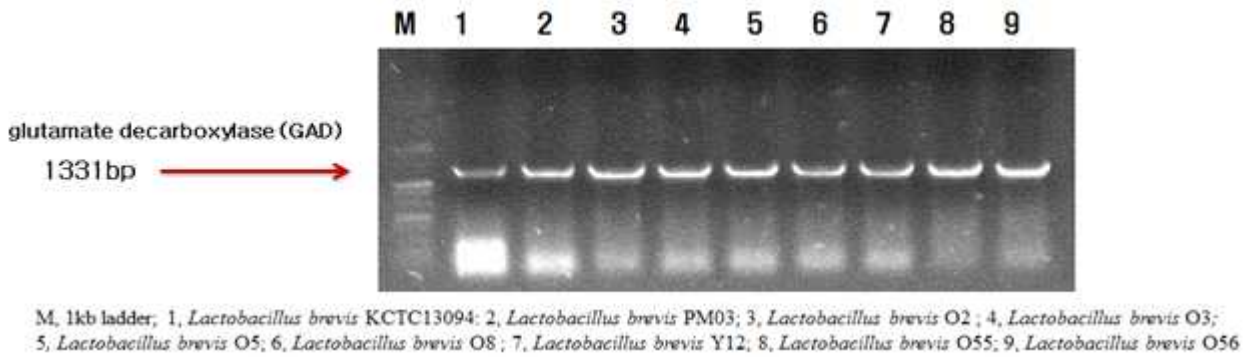
(3) 젓산균 스타터 후보균의 건강기능 특성 검토

(가) γ -aminobutyric acid(GABA)생성 균주 선별

제조한 발효소시지와 김치에서 분리한 균주 8종의 균주의 GAD gene를 확인하였고(그림 3-34) HPLC을 이용하여 정량적 분석결과 그 중에서 가장 높은 함량을 지닌 Y8균주를 GABA 생산성 우수 균주로 최종 선별하였다.

<표 3-65> 분리주의 GABA 함량 정량분석 결과

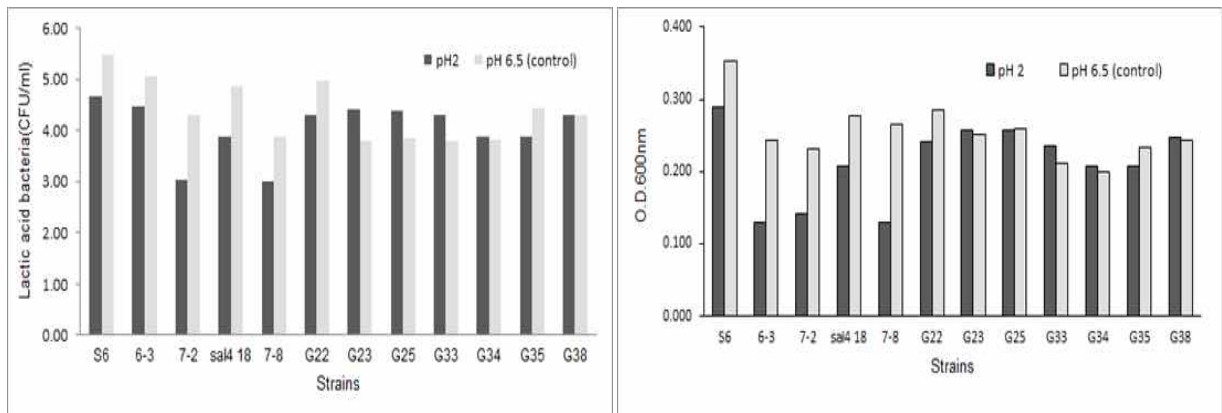
Strains	GABA ($\mu\text{g/ml}$)
Y64	3.27 ± 0.23
H15	36.37 ± 3.27
O12	31.39 ± 3.85
Y8	42.50 ± 1.70
Y39	18.55 ± 0.85
H7	20.58 ± 1.76
O2	20.12 ± 6.81
O56	14.47 ± 2.69



<그림 3-34> GABA생성균주의 glutamate decarboxylase(GAD) gene 확인

(나) 항콜레스테롤 활성 균주 선별

내산성이 우수하다고 알려진 *Lac. acidophilus*(ATCC43121)를 양성 대조균으로 사용하여 비교 분석을 통한 내산성이 우수한 균주를 선별하였다.



<그림 3-35> 내산성이 우수한 균주선별

(4) 분리주의 안전성 시험(Hemolysis test, BA)

(가) hemolysis test와 Biogenic amines (BA) 검출시험

생햄과 제조한 발효소시지 및 김치에서 분리한 젖산균에 대한 안전성을 확인하기 위해 hemolysis test와 BA 검출시험을 실시하였다. Hemolysis test에서는 선정된 9종의 균주 모두 γ -용혈성을 나타내었다(data not shown) BA 검출시험에 대한 결과는 <표 3-66>과 같다.

<표 3-66> 분리주의 biogenic amines 생성량

Starter candidates	Biogenic amines (µg/ml)							
	Trp ¹⁾	Phe	Put	Cad	His	Tyr	Spd	Spm
GH-1	ND ³⁾	ND	ND	ND	ND	1.28±0.02 ²⁾	ND	ND
GH-5	1.80±0.42	3.89±0.86	ND	ND	ND	4.02±0.12	ND	ND
GH-6	1.50±0.10	3.80±0.22	ND	ND	0.08±0.02	13.01±0.02	ND	ND
GH-7	2.10±0.03	5.01±1.77	0.04±0.01	ND	ND	9.02±0.01	ND	ND
GH-11	3.33±0.01	2.88±0.01	ND	ND	ND	13.01±0.17	2.11±0.08	ND
GH-23	1.98±0.02	2.24±0.45	ND	ND	2.82±0.08	11.02±0.07	ND	ND
GH-30	ND	ND	ND	ND	ND	15.21±0.11	0.02±0.00	ND
Y08	ND	ND	ND	ND	ND	16.37±0.41	3.00±0.02	ND
H15	ND	ND	ND	ND	ND	7.62±0.25	ND	ND

¹⁾Trp: tryptamine, Phe: β-phenylethylamine, Put: putrescine, Cad: cadaverine, His: histamine, Tyr: tyramine, Spd: spermidine, Spm: spermine

²⁾Mean±standard deviation

³⁾Not detected

분리한 젖산균 9주에 대해 BA함량을 측정된 결과 타이라민 함량의 경우 GH-1 균주에서 1.28±0.02 µg/ml 검출되었고, 나머지 후보균으로부터의 타이라민 함량은 각각 4.02, 13.01, 9.02, 13.01, 11.02, 15.21, 16.37, 7.62 µg/ml 검출되는 것을 확인하였으며 기타 아민의 경우 그 함량이 5 µg/ml 이하인 것으로 확인되었다. 위의 실험을 통해 선별한 9주의 우수 스타터 후보균은 발효소시지에 대한 적용이 적합하다고 사료된다.

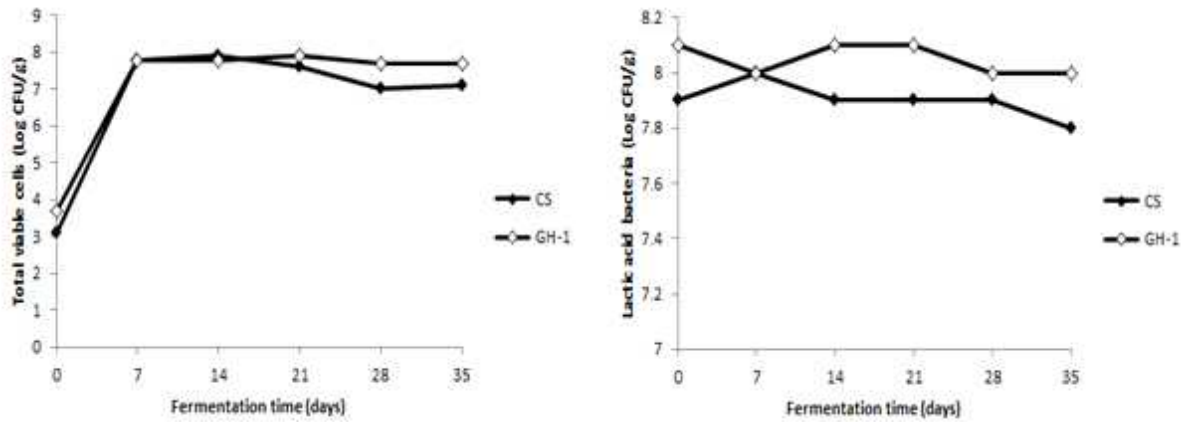
(5) 우수 후보균주의 동정

균주의 성장능, pH 저하능, 내염성 실험, 항균활성 실험을 통해 총 7주를 젖산균 우수 스타터 후보균의 동정실험에서 API kit를 이용한 결과는 *Pediococcus acidilactici*가 99.6%의 상동성을 갖는 것으로 나타났으며, 16S rDNA sequence analysis의 결과 *Pediococcus acidilactici*가 99%의 상동성을 보여 두 가지 방법의 유사성을 보였다.

GABA 생성균주의 동정실험에서 API kit를 이용한 결과는 *Lactobacillus brevis*가 99.6%의 상동성을 갖는 것으로 나타났으며, 16S rDNA sequence analysis의 결과 *Lactobacillus brevis*가 99%의 상동성을 보여 두 가지 방법의 유사성을 보였다.

(6) 선별한 starter 후보균의 적용(*in situ* test)

(가) 우수 스타터 후보균을 적용한 발효소시지의 미생물학적 변화



<그림 3-36> 우수 스타터 후보균을 적용한 발효소시지의 미생물학적 변화

GH-1균주를 적용한 실험군의 경우, 발효기간 동안 총 균수는 발효 개시일로부터 35일까지 $3.7 \times 10^3 \log \text{CFU/g}$ 으로부터 $8.1 \times 10^7 \log \text{CFU/g}$ 으로 증가하였고, 이후 숙성 28일 부터 발효기간이 끝나는 시점까지 총균수는 거의 변화가 없었다. CS(상업용 스타터<CHR. HANSEN, Bacterferm™ C-P-77S>) 균주를 적용한 발효소시지의 경우 발효 개시일로부터 7일까지 $3.1 \times 10^3 \log \text{CFU/g}$ 으로부터 $7.9 \times 10^7 \log \text{CFU/g}$ 으로 증가하였고, 21일후에 약 $7.60 \times 10^7 \log \text{CFU/g}$ 을 나타내었다. GH-1균주를 적용한 발효소시지의 젖산균수는 발효 개시일로부터 발효가 끝나는 35일까지 평균 $8.0 \times 10^7 \log \text{CFU/g}$ 을 나타내었고 발효기간이 끝나는 시점까지 젖산균수는 거의 변화가 없었다. 또한, CS(상업용 스타터<CHR. HANSEN, Bacterferm™ C-P-77S>) 균주를 적용한 발효소시지의 경우도 발효 개시일로부터 35일까지 평균 $7.8 \times 10^7 \log \text{CFU/g}$ 을 나타내었다.

(나) 우수 스타터 후보균을 적용한 발효소시지의 병원성 미생물

발효소시지 제조 시 병원성미생물(Coliform, *Escherichia coli* O157:H7, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*)이 검출 될 가능성이 있다. 이를 확인하기 위해 GH-1 균주, CS(상업용 스타터<CHR. HANSEN, Bacterferm™ C-P-77S>) 균주를 적용한 각각의 발효소시지의 발효 및 숙성기간 동안 병원성미생물을 확인한 결과 스타터 후보균을 적용한 실험군과 상업용 스타터를 적용한 대조군에서 병원성미생물이 모두 검출되지 않는 것을 확인하였다. 그 결과는 표 11과 같다.

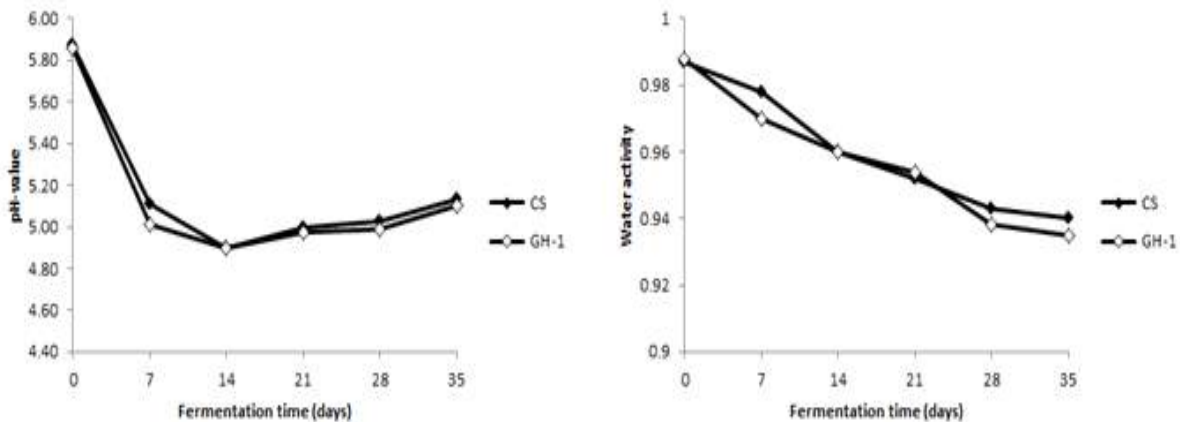
<표 3-67> 제조한 발효소시지의 발효기간 동안 병원성 미생물 검출 결과

Test microorganisms	Fermentation days					
	0	7	14	21	28	35
CO ¹⁾	ND ²⁾	ND	ND	ND	ND	ND
EO	ND	ND	ND	ND	ND	ND
SS	ND	ND	ND	ND	ND	ND
SA	ND	ND	ND	ND	ND	ND
LM	ND	ND	ND	ND	ND	ND

¹⁾CO: Coliform; EO: *Escherichia coli* O157:H7; SS: *Salmonella* spp.; SA: *Staphylococcus aureus*; LM: *Listeria monocytogenes*

²⁾ND : not detected

(다) 우수 스타터 후보균을 적용한 발효소시지의 이화학적 변화



<그림 3-37> 우수 스타터 후보균을 적용한 발효소시지의 이화학적 변화

GH-1 균주를 적용한 발효소시지의 pH값은 발효 개시일부터 14일까지 pH 5.86에서 pH 4.90으로 감소하는 것을 확인하였고 이후 숙성 21일부터 pH 값이 pH 4.97에서 발효시점이 끝나는 35일까지 pH 5.10으로 다소 증가하는 것을 확인하였다. CS(상업용 스타터<CHR. HANSEN, BacterfermTM C-P-77S>) 균주를 적용한 발효소시지의 경우 발효 개시일 부터 14일까지 pH 5.87에서 pH 4.90으로 감소하는 것을 확인하였고 이후 숙성 21일부터 pH 값이 pH 5.00에서 발효시점이 끝나는 35일까지 pH 5.13으로 다소 증가하는 것을 확인하였다. aw의 경우 두 실험군 모두 발효 개시일부터 발효시점이 끝나는 35일까지 지속적으로 감소하는 것을 확인하였다.

(라) 제조한 발효소시지의 Biogenic amines (BAs)

GH-1 균주를 적용한 실험군의 경우 발효 및 숙성기간 동안 11.14 mg/kg의 타이라민이 검출되었다. CS균주를 적용한 실험군에서는 각각 5.02 mg/kg의 타이라민이 검출되는 것을 확인 하였다. 기타 아민의 경우 그 함량이 5 mg/kg 이하인 것으로 확인되었다. 그 결과는 표 12와 같다.

<표 3-68> 우수 스타터 후보균을 적용한 발효소시지의 발효기간 동안 바이오제닉아민 생성량 (mg/kg)

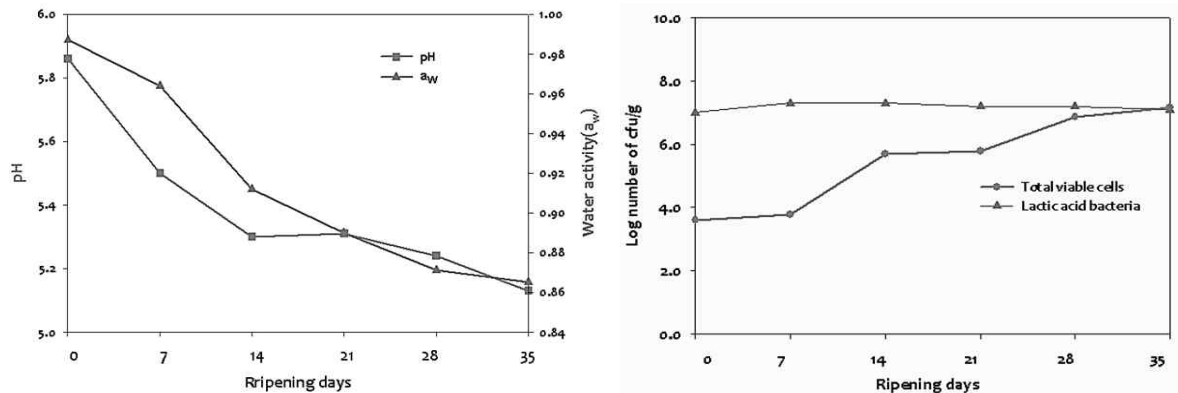
Samples	Biogenic amines							
	Trp ¹⁾	Phe	Put	Cad	His	Tyr	Spd	Spm
GH-1 균주를 적용한 발효소시지	ND	ND	ND	4.14±4.65 ²⁾	ND ³⁾	11.14±0.94	ND	ND
CS균주를 적용한 발효소시지	ND	ND	ND	N.D	N.D	5.02±1.16	ND	ND

¹⁾Trp: tryptamine, Phe: β-phenylethylamine, Put: putrescine, Cad: cadaverine, His: histamine, Tyr: tyramine, Spd: spermidine, Spm: spermine

²⁾Mean±standard deviation

³⁾Not detected

(마) GABA생성 Y8균주를 적용한 발효소시지의 이화학적·미생물학적 변화



<그림 3-38> GABA생성 Y8균주를 적용한 발효소시지의 이화학적·미생물학적 변화

Y8균주를 적용하여 제조한 발효소시지의 경우 pH값은 발효 개시일로부터 14일까지 pH 5.60에서 pH 5.30으로 감소하는 것을 확인하였고 이후 숙성 21일부터 pH 값이 pH 5.35에서 발효시점이 끝나는 35일까지 pH 5.20으로 지속적으로 감소하는 것을 확인하였다. aw의 경우 발효 개시일로부터 발효시점이 끝나는 35일까지 지속적으로 감소하는 것을 확인하였다. 발효기간 동안 총균수는 발효 개시일로부터 35일까지 3.8×10^3 log CFU/g으로부터 8.7×10^7 log CFU/g으로 증가하였고, 이후 숙성 28일 부터 발효기간이 끝나는 시점까지 총균수는 거의 변화가 없었다. 젖산균의 경우 발효 개시일로부터 발효시점이 끝나는 35일까지 평균 7.7×10^7 log CFU/g으로 지속되는 것을 확인하였다.

(바) GABA생성 Y8균주를 적용한 발효소시지의 GABA 함량

<표 3-69> 제조한 발효소시지의 발효기간 동안 GABA 함량 변화

		(mg/kg)					
Sample	Fermentation days	0	7	14	21	28	35
Y8 균주 적용한 발효소시지		0.29±0.26	42.71±2.83	66.61±3.93	61.32±3.68	58.00±2.13	59.92±1.09

Y8균주를 적용하여 제조한 발효소시지의 GABA 함량은 발효 개시일부터 발효 14일까지 0.29±0.26 mg/kg에서 66.61±3.93 mg/kg으로 증가하는 것을 확인 하였다. 발효 28일에는 GABA 함량이 다소 감소되는 것을 확인 하였지만 발효시점이 끝나는 35일 까지 지속적으로 유지되는 것을 확인하였다.

8. 기능성 젖산균 스타터 후보균 분리 및 건강기능 특성 검토

가. 시료수집 및 미생물학적, 이화학적 특성 분석

발효소시지 제조에 적합한 기능성 젖산균 스타터 후보균을 선별하기 위해 국내에서 판매되는 김치를 수집하였다. 또한, 직접 발효소시지를 제조하여 기능성 젖산균 스타터 후보균을 선별하였다. 국내에 수입 판매되고 있는 생햄 7종 그리고 재래시장에서 구입한 김치 6종을 사용하였다. 본 실험에 사용된 시료의 제조원과 제품명은 <표 3-69>과 같다.

<표 3-69> 기능성 젖산균 스타터 후보균 분리에 사용된 시료

제품류	제조원	제품명
생햄· 발효소시지	HIJOS DE FELIPE MARTINEZ SA	Jamon cerrano Loncheado
	Esteban Espuna S.A	Cerrano
	EMBOTITS ESPINA S.A	SALCHICHON
	DANIELE INTERNATIONAL INC.	Prosciutto
	IDEALCOTTI DEIEF LLILUPPISRL	말레피 파르마 프로스큐토 슬라이스
	JOHN VOLPI & CO	트리오 코파 슬라이스
김치	JOHN VOLPI & CO	트리오 모르따렐라 슬라이스
	조치원 전통시장(A)	배추김치
	조치원 전통시장(B)	배추김치
	조치원 전통시장(C)	배추김치
	조치원 전통시장(D)	나박김치
	조치원 전통시장(E)	동치미
	조치원 전통시장(F)	배추김치

총균수 측정을 위한 배지로는 PCA (Plate count agar)를 젖산균 분리를 위한 배지로는 BCP (0.006% bromocresol purple)와 MRS (deMan Rogosa Sharpe) 배지를 사용하였다. mL균수 측정 방법은 식품공전 미생물시험법에 따라 시료 25 g에 멸균 희석수 225 mL 첨가하여 희석한 다음 배지에 도말하여 35±2℃, 혐기적조건 에서 24시간 배양한 후 생성된 집락을 관찰하였다. BCP 평판배지에서 노랗게 배지를 변화시키고 MRS 평판배지에서 집락 주변을 투명하게 변화시키는 집락들을 2회 이상 분리하여 산 생성 여부를 확인하였다. 순수한 집락을 다시 MRS broth 에 18 시간 배양한 후 배양액을 60% glycerol의 농도로 -70℃에서 저장하면서 실험에 사용하였다. 병원성미생물도 식품공전 미생물시험법에 따라 증균배지, 선택배지 등에 24~48시간 배양한 후 생성된 집락을 관찰하였다. 시료의 pH는 Stomacher (Lab-blender 400, Seward, England)에서 2분간 마쇄한 후 증류수 10배를 넣고 희석 및 여과하여 그 여액을 20 mL 취하여 실온에서 pH meter (Thermo, USA)를 이용하여 측정하였다. 산도는 AOAC 방법을 따랐으며, pH를 측정한 여액에 0.1 N NaOH 용액으로 pH 8.3이 될 때까지 적정 후 소비된 mL를 Lactic acid 함량(%)로 환산하여 계산하였다(AOAC 1995). 수분활성도는 수분활성도 측정기 (Novasina, Switzerland)를 이용하여 측정하였다.

나. 젖산균 스타터 후보균의 건강기능 특성검토

(1) γ -aminobutyric acid(GABA)생성 균주 선별

국내 시판 중인 식해로부터 젖산균을 분리하여 실험에 사용하였다. 식해에서 분리한 젖산균의 GABA 생산성 시험을 위해 rapid screening media (Lactobacilli MRS broth supplemented with 1% L-Glutamic acid, 0.005% pyridoxal phosphate, 0.001% BCP and 1.6% agar)를 이용하여 배지의 색변화를 보인 집락을 1차 선별하였다. 1차 선별된 균주들은 silica gel TLC plate (Kieselgel 60, F254, 0.2 mm, Merck, Germany)에 표준물질 GABA (Sigma)와 함께 분리주의 배양물을 2 μ l씩 전개시켜 spot이 크고 진한 밴드를 보인 균주들을 GABA 생산균주로 선별하였다.

(2) GABA 생산균주의 동정

선별된 분리주의 동정을 위해 발효능력시험 (fermentation potential test)과 16S ribosomal DNA (rRNA) sequence analysis를 실시하였다. 당 발효능력을 확인하기 위해 API 50 CH strip과 API 50 CHL Medium (bioMerieux, sa 69280 Marcy l'Etoile, France)을 이용하였으며, 결과는 24, 48시간 후에 확인하였다. 분리주의 genomic DNA는 genomic DNA isolation kit (Intron, Sungnam, Korea)를 이용하여 분리하였으며, bacteria의 16S ribosomal DNA에 특이적인 primer를 이용하여 polymerase chain reaction (PCR)을 수행하였다. PCR condition은 35 cycle (1 min at 94°C, 1 min at 58°C, 2 min at 72°C)과 elongation의 1 cycle (7 min at 72°C)로 이루어졌으며 16S rDNA sequencing 결과를 이용하여 gene bank의 blast 검색을 통해 GABA 생산 균주를 동정하였다.

(3) GABA 생산성의 정량적 확인

분리주의 GABA 생산성은 정량적 확인을 위해 HPLC (Waters)를 사용하였으며 분리주의 배양물을 원심분리 (3,500 \times g, 20 min)하여 0.2 μ m membrane filter로 여과한 후 10배로 희석한 것을 sample로 이용하였다. 이것을 0.01 N HCl을 이용하여 단백질을 제거 후 AQC reagent (Waters, USA)를 이용하여 유도체화한 것을 HPLC 분석에 사용하였다. column은 reverse-phase column (150 \times 3.9 mm I.D. AccQ.Tag C18, Waters)를, U.V-spectrophotometric detector (254 nm) 제품을 이용하였다. 이동상은 A solution (140 mM Sodium acetate, 5.6 mM Triethylamine, pH 5.03)과 B solution (acetonitrile/distilled water = 60/40)의 gradient condition (initial 100% A: 35 min 67% A)에서 flow rate 1 ml/min, injection volume 20 μ l의 조건으로 분석하였다.

(4) 항콜레스테롤 활성 균주 선별

• 내산성 측정

내산성이 우수하다고 알려진 *Lac. acidophilus* ATCC4962 (Gilliand, 1989; Gilliand 등, 1985; Grunewald, 1982)를 양성 대조균으로 사용하여 비교 분석을 통한 우수한 균주를 선별하고자 하였다. 인공위액을 제조하기 위해 우선 MRS broth배지에 3 M HCl을 첨가하여 최종 pH 2.5로 조정된 후 가압멸균을 실시하였다. 0.22 μ m pore size filter를 이용하여 멸균한 pepsin을 최종농도가 1,000 unit/mL이 되도록 배지에 첨가하여 제조하였다. MRS broth에 24시간 배양한 균주 1×10^9 CFU/mL에서 배지의 1%인 100 μ l (1×10^8 CFU)을 접종하여 37°C에서 0, 3시간 동안 배양하였다. 배양 후 100 μ l를 취해 MRS agar plate에 접종하여 37°C에서 48시간 배양 후 생균을

counting하였다.

- 내담즙성 측정

내산성 실험과 동일하게 *Lac. acidophilus* ATCC43121이 대조균으로 이용되어 비교 분석을 통한 내담즙성이 우수한 균주를 선별하고자 하였다. 담즙염인 oxgall 0.3%, 0.5%를 각각 첨가한 MRS broth배지를 가압멸균 하여 제조 하였다. MRS broth에 24시간 배양한 균주 1×10^9 CFU/mL에서 배지의 1%인 100 μ l (1×10^8 CFU/mL)을 접종하여 37°C 에서 24시간 동안 배양하였다. 배양 후 100 μ l를 취해 MRS agar plate에 접종하여 37°C 에서 48시간 배양 후 생균을 counting하였다.

- 콜레스테롤 저하능 측정

내산성과 내담즙성이 우수한 균주를 선별하여 1% lipids cholesterol (Sigma Co, St. Louis, MO, USA) 첨가한MRS broth with bile salts (MRSO)배지에 균주를 접종하였다. 상층액 내 잔존 cholesterol 정량은 Rudel과 Morris가 사용한 o-phthalaldehyde 방법을 이용하여 550 nm에서 흡광도를 측정 하였다.

- 장 부착능 측정 (*In vitro*)

Caco-2 human epithelial (ATCC number: HTB-37) cells에 대한 부착능 실험은 6-well plate에 2×10^5 cell/well을 초기 접종하여 14일 동안 배양하였으며 10 mL MRS broth배지에서 24시간 배양한 젯산균 1 mL을 취하여 2,000 \times g, 4°C 에서 10분간 원심분리 하여 균체를 수집하였다. 수집된 균체를 0.1M PBS에 shaking 한 후 2,000 \times g, 4°C 에서 10분간 원심분리 하여 재차 균체를 수집하였으며 이 과정을 3회 실시 하였다. 6-well plate에 균체 1.2×10^8 CFU/mL을 접종한 후 Fetal bovine serum (FBS, Gibco)를 첨가한 세포배양액을 사용하여 37° C, 5% 이산화탄소 배양기에서 2시간 배양하였다. 부착되지 않은 유산균은 0.1M PBS를 이용하여 3회 씻어 내었고 100 μ l를 취해 MRS agar plate에 접종하여 37°C 에서 48시간 배양 후 생균을 counting하였다.

- 동물실험 (*In vivo*)

콜레스테롤 저하능 및 장 부착능을 가지는 균주를 선별하여 BALB/c mice (Samtako Bio, Korea)에 정상식이섭취군, 고지방식이섭취군, 고지방식이에 균주를 경구투여 한 군으로 구분하여 7주간 표준 환경조건에서 식이군에 따라 사육하면서 체중변화량, 식이효율 (Food efficiency ratio. FER) 등을 측정하였다. 식이제조는 soybean oil을 첨가하여 제조하였고 정상식은 soybean oil을 제외하고 제조하였다<표 3-70>. 쥐에서 취한 1 mL blood sample을 1.5 mL eppendorf tube에 옮겨 30분 간 얼음에 보관하여 연고시키고 20분 동안 4°C 에서 2,000 \times g로 원심분리하여 혈청을 분리하였다. 분리한 혈청에서 total cholesterol, high density lipoprotein(HDL)cholesterol, low density lipoprotein(LDL)cholesterol을 Cobas C111 cholesterol analyzer(Roche, Swizerland)의 total cholesterol, HDL, LDL kit을 이용하여 측정하였다.

<표 3-70> 동물실험 고지방식이 제조 비율

Ingredients	Control (g/kg)
Casein	200.0
Sucrose	100.0
Dextrose	132.0
Corn Starch	398.0
Cellulose	50.0
Soybean oil	70.0
L-Cystine	3.0
Choline bitartrate	2.5
<i>tert</i> -Butylhydroquinone	0.014
Mineral mix	35.0
Vitamin mix	10.0

다. 기능성 젖산균 스타터 후보균의 안정성 검증을 위한 효소활성

(1) Biogenic amine (BA) 생성능

BA의 정량분석은 HPLC를 이용하여 분석하였다. 우선 세포의 decarboxylase를 유도하기 위해 0.1%와 1%의 pre-amino acid 배지에 2번 계대배양 후 1% pre-amino acid가 첨가된 배지에 1일 배양 후 전처리를 하였다. 배양액 1 mL에 0.4 M perchloric acid 9 mL을 첨가하여 진탕 후 원심분리하고 0.45 μ m로 여과 멸균한 시료 1 mL에 다시 2 N sodium hydroxide와 sodium bicarbonate, dansyl chloride를 넣고 40°C에서 45분간 반응시켰다. 반응 후 25% ammonium hydroxide로 정용하여 여과 후 분석에 이용하였다. 분석기기는 Waters 996 photodiode array detector와 Millenium 2010 software가 장착된 Waters 2690 separation module을 column은 Nova-Pak C18, 4 μ m, 150 by 3.9 mm (Waters)를 이용하였으며 이동상은 0.1 M ammonium acetate (Sol A)와 acetonitrile (Sol B)을 농도구배를 주어 분석하였다. 용매 흐름속도는 1 ml/min이었으며 254 nm에서 검출하였다.

라. 선별된 기능성 젖산균 스타터 후보균의 동정

선별된 기능성 젖산균 스타터 후보균 동정은 PCR을 이용하여 16S rDNA를 증폭하여 sequence를 분석한 후 gene bank blast에 비교하여 동정하였다.

마. 선별된 기능성 젖산균 스타터 후보균의 적용 (Lab scale)

(1) 발효소시지 제조

대한민국의 충청남도 조치원에서 도축한 돈육 (후지), 우유과 지방을 구입하여 사용하였다. 후지, 우유 및 지방은 3cm×3cm로 세절한 후 -20°C에 동결 한 뒤 각 재료를 표 3의 비율로 혼합하였다. 발효소시지는 기능성 젖산균 스타터 후보균 첨가균과 상업용 스타터 (CHR. HANSEN, Bacterferm™ C-P-77S) 첨가균으로 나누어 fibrous casing (40 mm)에 충전 후 chamber에서 발효 및 숙성하였다.

<표 3-71> 발효소시지 제조 비율

Materials	Weight ratio (%)
Lean beef	20.0
Lean pork	60.0
Pork back fat	20.0
NPS(0.7% nitrite)	1.61
MSG	0.20
Glucose	0.50
Spice	1.15
Starter culture	0.03

(2) 제조한 발효소시지의 미생물학적 특성 분석

총균수 측정을 위한 배지로는 PCA(Plate count agar)를 젖산균 분리를 위한 배지로는 BCP(0.006% bromocresol purple)와 MRS (deMan Rogosa Sharpe) 배지를 사용하였다. 균수 측정 방법은 식품공전 미생물시험법에 따라 시료 25 g에 멸균 희석수 225 ml 첨가하여 희석한 다음 배지에 도달하여 35±2°C, 혐기적 조건에서 24시간 배양한 후 생성된 집락을 관찰하였다. BCP 평판배지에서 노랗게 배지를 변화시키고 MRS 평판배지에서 집락 주변을 투명하게 변화시키는 집락들을 2회 이상 분리하여 산 생성 여부를 확인하였다. 순수한 집락을 다시 MRS broth에 18 시간 배양한 후 배양액을 15% glycerol의 농도로 -70°C 에서 저장하면서 실험에 사용하였다. 병원성미생물도 식품공전 미생물시험법에 따라 증균배지, 선택배지 등에 24~48시간 배양한 후 생성된 집락을 관찰하였다.

• *Escherichia coli*

검체 25 g에 225 ml의 EC broth를 가하여 1 분간 균질화하고 37°C 에서 24 시간 증균 배양하였다. EMB agar에 접종한 후, 37°C 에서 24 시간 배양하여 녹색의 금속성 광택을 확인되면 순수분리 배양된 5개 집락을 TSI agar에 접종한 후, 37°C 에서 24 시간 배양하였다. 가스 생성을 확인한 후 TSA에 접종하여 37°C 에서 24 시간 배양한 후 생성여부를 확인하였다.

• *Listeria monocytogenes*

검체 25 g에 225 ml의 Listeria 증균배지를 가하여 1 분간 균질화하고 30°C 에서 24 시간 증균 배양 하였다. 증균배양액을 Oxford agar에 streaking하고 30°C 에서 24 시간 배양하였다. 검은색의 의심집락을 형성하는 집락을 0.6% yeast extract가 포함된 Tryptic soy agar에 접종하여 30°C 에서 24 시간 배양 하였다. 그람염색 후 그람양성 간균이 확인되면 hemolysis, motility, catalase 시험하고, CAMP test에서 *S. aureus*(ATCC 25923)에서 양성, *Rhodococcus equi*(ATCC 6939)에서 음성을 확인하였다.

• *Salmonella* spp.

검체 25 g에 225 ml의 펩톤수를 가하여 1 분간 균질화하고 35°C 에서 24 시간 1차 증균 배양한 후 100 µl의 1차 증균액을 10 ml의 Rappaport-Vassiliadis 배지에 접종하여 42°C 에서 24 시간 2차 증균 배양하였다. 증균 배양액을 MacConkey agar에 streaking하여 37°C 에서 24 시간 배양하여 검은색의 의심집락 형성을 확인하였다.

- *Staphylococcus aureus*

검체 25 g에 10% NaCl을 첨가한 225 ml의 TSB를 더하여 1 분간 균질화하고 37°C에서 24 시간 증균 배양하였다. Baird-Parker agar에 streaking하여 37°C에서 24 시간 배양하고, 투명한 띠로 둘러싸인 광택이 있는 검정색 의심집락을 형성하는 콜로니를 보통한천배지에 옮겨 37°C에서 24 시간 배양한 후 그람

염색을 실시하여 포도상의 배열을 갖는 그람양성 구균임을 확인하고 응고 시험을 실시하여 일정 시간이 지나 응고 반응을 보이는지(양성인지) 확인하였다.

- *Clostridium perfringens*

희석수를 이용해 균질화한 시험용액 1 ml를 Cooked Meat 배지의 아랫부분에 접종하여 혐기적 조건으로 37°C에서 24 시간 증균 배양한 후 TSC agar에 증균 배양액을 접종하여 37°C에서 24 시간 혐기배양하고, 불투명한 환을 가지는 황회색 집락을 확인하였다.

(3) 제조한 발효소시지의 이화학적 특성 분석

시료의 pH는 Stomacher(Lab-blender 400, Seward, England)에서 2분간 마쇄한 후 증류수 10 배를 넣고 희석 및 여과하여 그 여액을 20ml 취하여 실온에서 pH meter (Thermo, USA)를 이용하여 측정하였다. pH를 측정된 여액에 0.1N NaOH 용액으로 pH 8.3이 될 때까지 적정 후 소비된 ml를 Lactic acid 함량(%)로 환산하여 계산하였다(AOAC 1995). 수분활성도는 수분활성도 측정기(Novasina, Switzerland)를 이용하여 측정하였다.

바. 부원료에 첨가에 따른 발효소시지 특성 검토

(1) 잣·호두분말 제조

본 실험에 사용된 잣과 호두는 경기도 가평, 충청북도 영동 농협에서 구입한 후 건조 후 분쇄기(HMF-3250S, Hanil, Korea)를 이용하여 30초간 분쇄를 실시하고 육제품에 적용하기에 적합하도록 분말화 하였다. 제조된 잣과 호두분말은 각각 PE/Nylon film(107 µm, Kirin Chemical Co., Kimhae, Korea)에 진공포장하여 -20°C에서 보관하며 사용하였다.

(2) 잣·호두분말 적용한 소시지 제조

위의 서술한 마)의 방법과 동일하게 제조하였다.

(3) 부원료 첨가한 발효소시지의 미생물학적·이화학적 특성 분석

위의 서술한 마)의 방법과 동일하게 제조하였다.

사. 실험 결과

(1) 시료수집 및 미생물학적, 이화학적 특성 분석

<표 3-72> 수집한 시료의 미생물학적, 이화학적 특성 분석

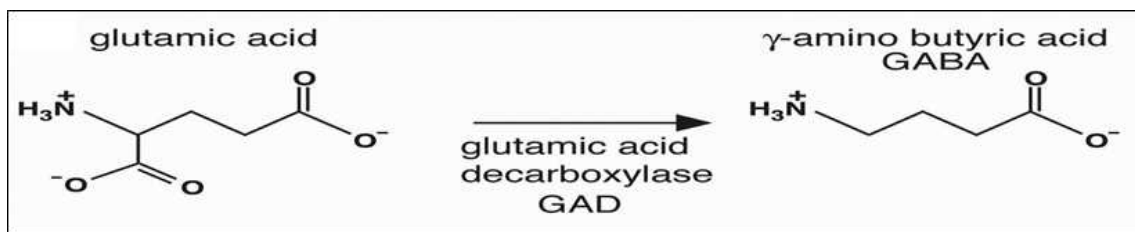
시료	시료개수	pH	a _w	총균수	젖산균수
생햄	7	5.60-5.84	0.931-0.960	5.59×10 ⁶ -6.84×10 ⁷	2.48×10 ⁶ -2.70×10 ⁷
발효소시지	2	4.92-5.80	0.897-0.910	3.51×10 ⁶ -5.25×10 ⁷	3.68×10 ⁶ -5.46×10 ⁷
김치	6	4.20-5.42	0.900-0.911	4.61×10 ⁸ -8.72×10 ⁸	2.45×10 ⁸ -3.62×10 ⁸

제조한 발효소시지, 시판되는 생햄과 김치시료를 채취하여 미생물 검사를 실시하였다. 그 결과 생햄의 총균수는 5.59×10⁶-6.84×10⁷ CFU/g 범위를 나타내었고, 발효소시지의 경우 3.51×10⁶-5.25×10⁷ CFU/g, 김치의 경우 4.61×10⁸-8.72×10⁸ CFU/g을 나타내었다. 젖산균의 경우 생햄, 발효소시지와 김치에서 각각 2.48×10⁶-2.70×10⁷ CFU/g, 3.68×10⁶-5.46×10⁷ CFU/g, 2.45×10⁸-3.62×10⁸ CFU/g 범위를 나타내었다. 병원성미생물을 분석 한 결과 식품에서 검출되어서는 안 되는 *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*는 시판되는 시료와 제조한 발효소시지 모두에서 검출되지 않았다.

이화학적 특성을 분석한 결과 생햄, 발효소시지와 김치에서 각각 pH 값은 pH 5.60-5.84, pH 4.92-5.80, pH 4.20-5.42의 범위를 나타내었고, 수분활성도의 경우 생햄, 발효소시지와 김치에서 각각 0.931-0.960, 0.897-0.910, 0.900-0.911을 나타내는 것을 확인하였다. 이상과 같이 시료에서 분리된 젖산균 총 300주를 1차 분리주로 하였다.

(2) 젖산균 스타터 후보균의 건강기능 특성 검토

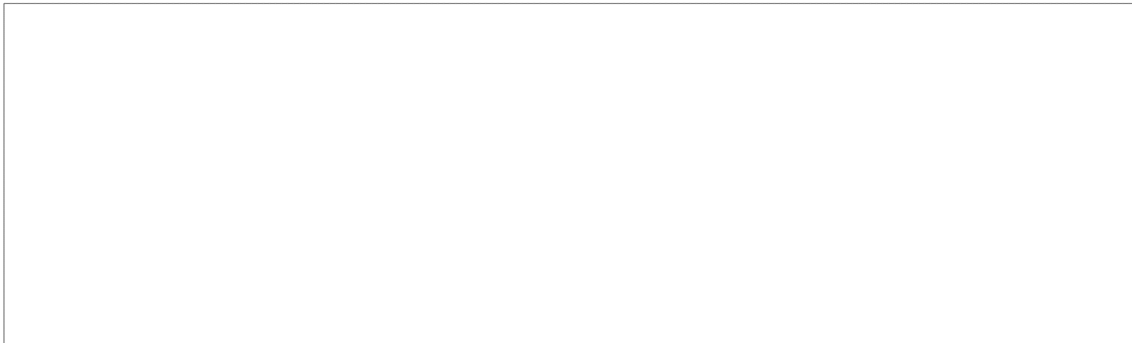
(가) γ -aminobutyric acid(GABA)생성 균주 선별



<그림 3-39> Glutamic acid을 이용하여 생성되는 γ -aminobutyric acid(GABA)

GABA는 전구체 glutamic acid을 이용하여 Glutamate decarboxylase(GAD) 효소를 발현하고 최종물질인 GABA가 생성된다. 따라서 생햄, 제조한 발효소시지와 김치에서 분리한 균주의 GAD gene를 확인하였으나 생햄과 제조한 발효소시지에서는 GAD gene를 확인할 수 없었다. GABA을 생성하는 *Lactobacillus brevis* KCTC3498과 식품미생물제어공학 연구실에서 분리하여 보관중인 *Lactobacillus brevis* PM03을 양성 대조균으로 사용하여 김치에서 분리한 균주의 GAD gene을 확인하였으며 Y2, Y8, O8, O55, O52, H1, H42, H41, H9, H46, KA20균주 등 총 11균주

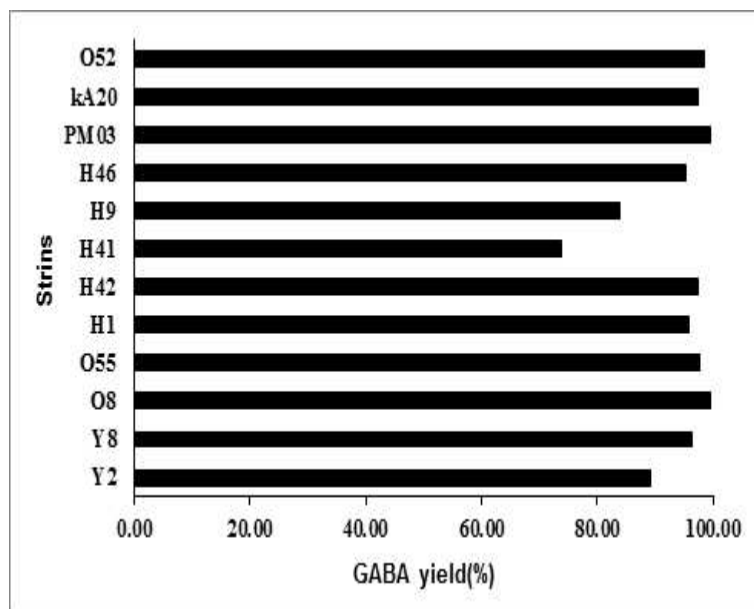
를 선별 하였다(그림 3-40).



Amplified products using specific primer set; 1, 1kb ladder; 2, *Lactobacillus brevis* KCTC3498; 3, *Lactobacillus brevis* PM03 4, *Lactobacillus brevis* Y8 4, *Lactobacillus brevis* H1 5, *Lactobacillus brevis* H42; 6, *Lactobacillus brevis* O8 7, *Lactobacillus brevis* H46; 8, *Lactobacillus brevis* O55; 9, *Lactobacillus brevis* Y2

<그림 3-40> GABA생성균주의 glutamate decarboxylase(GAD) gene 확인

1% MSG가 첨가된 MRS배지에서의 conversion yield를 비교하였으며 그 결과 O8균주는 99.55% conversion yield를 보인 반면, H41균주의 경우 73.79%나타났다(그림 3-41). 분리균주들의 GABA 함량은 식품미생물제어공학 연구실에서 분리하여 보관중인 *Lactobacillus brevis* PM03을 양성 대조균으로 HPLC를 이용하여 분석 하였다. PM03균주는 $62.07 \pm 0.83 \mu\text{l/mL}$ 의 높은 GABA함량을 생성하였는데 H42, H46, KA20균주 또한 65.15 ± 0.55 , 64.91 ± 0.72 , $64.59 \pm 0.61 \mu\text{l/mL}$ 의 높은 GABA을 생성하는 것을 분석하였고 conversion yield이 낮은 H41균주를 제외하고 Y2균주를 포함하여 최종 10균주를 선별하였다(표 3-73).



<그림 3-41> GABA생성균주의 Conversion yields

<표 3-73> 분리주의 GABA 함량 정량분석 결과

Strains	GABA concentration ($\mu\text{l/mL}$)	Strains	GABA concentration ($\mu\text{l/mL}$)
KCTC3498 ¹⁾	15.09 \pm 0.39	O52 ²⁾	49.73 \pm 3.80
Y1	23.58 \pm 1.52	O12	13.26 \pm 3.80
Y2	34.25 \pm 1.35	J10	9.82 \pm 0.18
Y4	23.65 \pm 1.59	H33	22.67 \pm 1.59
Y12	17.74 \pm 0.43	H1	47.60 \pm 2.20
Y19	18.69 \pm 1.82	H7	16.30 \pm 1.55
Y39	19.89 \pm 2.66	H11	19.46 \pm 1.82
Y8	39.00 \pm 1.36	H19	28.26 \pm 1.29
Y50	23.33 \pm 0.18	H42	65.15 \pm 0.55
Y51	20.96 \pm 0.75	H43	3.16 \pm 0.45
Y55	25.86 \pm 3.05	H41	34.42 \pm 1.52
Y64	6.04 \pm 0.23	H9	51.21 \pm 3.03
O2	19.15 \pm 0.87	H65	16.20 \pm 1.57
O3	20.08 \pm 1.30	H15	28.45 \pm 0.94
O5	23.33 \pm 1.56	H45	13.34 \pm 2.28
O8	41.44 \pm 0.19	H46	64.91 \pm 0.72
O55	47.97 \pm 0.38	KA20 ³⁾	64.59 \pm 0.61
O56	16.20 \pm 0.71	PM03	62.07 \pm 0.83

¹⁾*Lactobacillus brevis*

²⁾*Pediococcus acidilactici*

³⁾*Weissella halotolerans*

(나) 항콜레스테롤 활성 균주 선별

• 내산성 균주 선별

Probiotics는 가져야 할 특성이 여러 가지 있는데, 이중에서도 중요한 특성 중 하나가 산에 대한 내성이 높아야 한다는 점이다. 구강을 통해 섭취되는 probiotics는 위를 거쳐 최종 목적 부위인 장에 도달하게 된다. 순수한 위액의 pH는 1.4-2.0 정도로 대부분 미생물은 여기서 사멸하게 된다. 이러한 점을 감안하여 분리한 균주를 대상으로 pH 2.0로 조절한 MRS 배지에 3시간 배양하여 생균을 counting하였고 내산성이 우수하다고 알려진 *Lac. acidophilus*(ATCC4962)를 양성 대조균으로 사용하여 비교 분석을 통한 내산성이 우수한 균주를 선별하였다. Sal4.18균주 외 11균주는 pH 6.5 MRS배지에서 배양한 젖산균생존율이 유사함을 확인하였다(표 3-74).

<표 3-74> 분리주의 내산성 측정

Strains	Lactic Acid Bacteria (log CFU/mL)		Strains	Lactic Acid Bacteria (log CFU/mL)	
	pH 2.0	pH 6.5		pH 2.0	pH 6.5
H3	2.31	3.47	G33	3.77	3.80
H7	2.34	3.48	G34	3.88	3.80
H19	3.40	3.60	G38	2.43	4.44
H39	2.39	3.45	G41	3.36	4.28
H52	2.41	3.45	G42	4.16	4.90
S6	2.59	3.94	G43	4.02	4.99
6-3	2.92	3.97	G44	4.13	4.94
7-2	3.06	3.52	G45	4.40	5.16
Sal4.18	3.49	3.53	G46	4.35	4.98
J27	2.55	2.57	G47	4.29	5.69
7-8	2.83	2.80	G48	4.28	5.63
G22	2.25	2.24	G49	4.52	5.60
G23	3.66	3.80	G50	4.43	4.91
G25	3.33	3.27	B4	2.05	4.05
Y2	3.88	3.93	P12	2.24	4.59
P8	3.60	3.67	R8	4.49	4.50
B9	3.60	3.65	ATCC4962	6.88	6.58

• 내담즙성 균주 선별

십이지장으로 분비되는 담즙에 대해서도 내성을 가져야 소장에도 도달하여 생존을 할 수 있다. 담즙에 대한 내성을 가지는 균주를 선별하기 위해 분리한 균주를 대상으로 각각 oxgall 0.3%, oxgall 0.5% 첨가된 MRS배지에서 24시간 배양 후 생균을 counting하였고 내담즙성이 우수하다고 알려진 *Lac. acidophilus*(ATCC4962)를 양성 대조균으로 사용하여 비교 분석을 통한 내산성이 우수한 균주를 선별하였다. 위의 내산성 활성을 가지는 균주를 대상으로 시험한 결과 G25, G33, G34, 7-8균주는 담즙성에 대한 내성이 없는 것을 알 수 있었고 H19 균주는 oxgall 0.3% 첨가된 MRS배지에서만 생존하는 것을 알 수 있었다. Sal4.18, J27, Y2, P8, B9, R8균주 등 5균주를 내담즙성을 가지는 균주로 선별하였다(표 3-75).

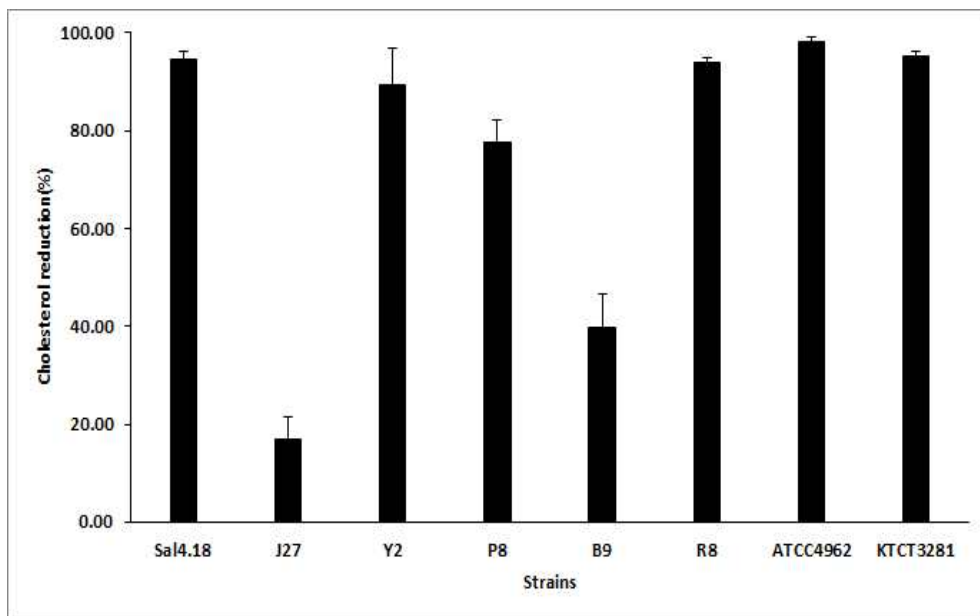
<표 3-75> 분리주의 내담즙성 측정

Strains	Lactic Acid Bacteria (log CFU/mL)		Strains	Lactic Acid Bacteria (log CFU/mL)	
	Oxgall 0.3%	Oxgall 0.5%		Oxgall 0.3%	Oxgall 0.5%
H19	7.54	3.50	G34	ND	ND
6-3	6.43	6.99	Y2	7.39	7.30
Sal4.18	7.84	7.61	P8	7.09	6.80
J27	6.38	6.31	B9	8.00	7.98
7-8	3.06	2.96	R8	6.42	7.00
G25	ND ¹⁾	ND	ATCC4962	6.48	7.80
G33	ND	ND			

¹⁾Not detected

- 콜레스테롤 저하 균주 선별

내산성과 내담즙성 시험을 통해 우수한 균주를 선별하여 1% lipids cholesterol (Sigma Co, St. Louis, MO, USA) 첨가한 MRS broth with bile salts(MRSO)배지에 균주를 접종하였다. 상층액 내 잔존 cholesterol 정량은 Rudel과 Morris가 사용한 o-phthalaldehyde 방법을 이용하여 550 nm에서 흡광도를 측정 하였고 우수하다고 알려진 *Lac. acidophilus*(ATCC4962)와 *Bifidobacterium bifidum*(KCTC3281) 균주를 양성 대조균으로 사용하여 비교 분석을 통한 콜레스테롤 저하가 우수한 균주를 선별하였다. J27균주와 B9균주는 20.21%, 35.11%의 값으로 콜레스테롤 저하능이 낮은 것을 확인 하였고 반면에 Sal4.18균주는 94.41%, R8균주는 93.88%, Y2균주는 94.68%의 값으로 콜레스테롤저하능이 우수한 균주임을 확인 하였다. 또한 양성대조균인 ATCC4962와 KCTC3281은 각각 98.94%, 95.74%을 나타내었는데 Sal4.18, R8, Y2균주는 KCTC3281의 콜레스테롤 저하능과 유사하게 측정되었음을 확인할 수 있었다(그림 3-42).



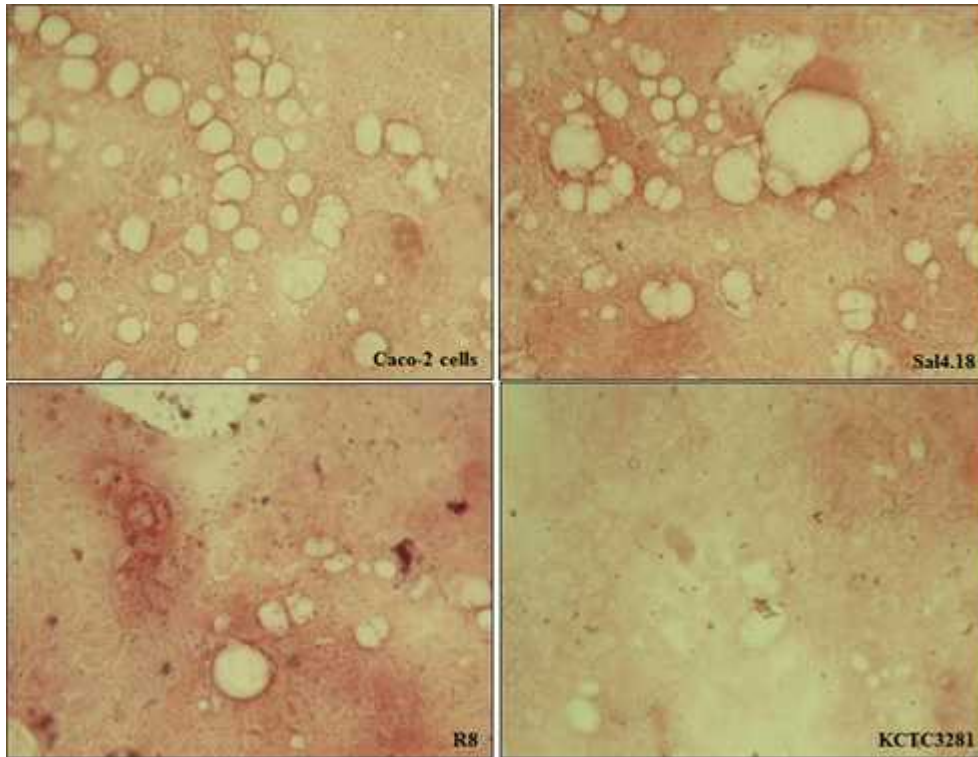
<그림 3-42> 분리주의 콜레스테롤 저하능 측정

- 장 부착능 측정

콜레스테롤 저하능이 우수한 균주, 양성대조균 *Lac. acidophilus*(ATCC4962)와 *Bifidobacterium bifidum*(KCTC3281)에 Caco-2 human epithelial (ATCC number: HTB-37) cells에 대한 부착능 실험은 표 8과 같다. Sal4.18균주는 Caco-2 human epithelial cell에 5.7×10^7 CFU/mL의 부착능이 측정되었고 KCTC3281균주와 유사한 값을 나타내었다. 반면에 P8균주는 3.0×10^5 CFU/mL의 부착능이 측정 되어 다른 균주에 비해 장 부착능이 낮다는 것을 확인하였다. 또한 균주가 Caco-2 human epithelial cell에 부착한 것은 현미경으로 확인하였다(그림 3-43).

<표 3-76> 콜레스테롤 저하능균주의 장 부착능

Strains	Lactic Acid Bacteria (log CFU/mL)	
	초기균수	부착된 균수
Sal4.18	1.2×10^8	5.7×10^7
YC2	1.2×10^8	3.3×10^6
P8	1.2×10^8	3.0×10^5
R8	1.2×10^8	9.6×10^6
ATCC4962	1.2×10^8	8.8×10^6
KCTC3281	1.2×10^8	4.8×10^7



<그림 3-43> 콜레스테롤 저하능균주의 장 부착능

• 동물실험 (*In vivo*)

동물실험군은 일반식이군(ND), 고지방식이군(HD), 고지방식이와 양성대조군 (HD-B), 고지방식이와 분리군 (HD-Y), 고지방식이와 분리군 (HD-H) 등 5군으로 구분하여 7주 동안 실험되었다.

<표 3-77> 실험동물 분류군

Groups	Diet
ND	Normal diet
HD	Hypercholesterolemic diet (Cholesterol 1.0%)
HD-B	Hypercholesterolemic diet (Cholesterol 1.0%)+ <i>Bifidobacterium bifidum</i> (KCTC3281)
HD-Y	Hypercholesterolemic diet (Cholesterol 1.0%)+ <i>Lb.curvatus</i>
HD-H	Hypercholesterolemic diet (Cholesterol 1.0%)+ <i>Pedicoccus acidilactici</i>

<표 3-78> 실험동물 군의 체중, 체중증가량, 식이섭취량 및 식이효율

Groups ¹⁾	ND	HD	HD-B	HD-Y	HD-H
Initial body weight(g)	15.64±0.18	16.53±0.27	16.68±0.40	16.36±0.57	16.92±0.64
Final body weight (g)	21.36±0.98	23.73±0.94	23.52±0.61	23.14±0.38	23.83±1.10
Cummulative BW gain (g/day)	0.14±0.03	0.17±0.02	0.16±0.02	0.15±0.03	0.16±0.03
Food intake (g/day)	2.14±0.76	2.31±0.52	2.11±0.42	2.27±0.39	2.22±0.38
FER ²⁾	0.12±0.07	0.15±0.09	0.15±0.08	0.12±0.08	0.11±0.09

¹⁾ND, normal diet group; HD, hypercholesterolemic diet group (Cholesterol 1.0 %); HD-B, hypercholesterolemic diet + *Bifidobacterium bifidum* (KCTC3281); HD-Y, hypercholesterolemic diet + *Lb.curvatus*; HD-H, hypercholesterolemic diet + *Pedicoccus acdilactici*

²⁾FER(food efficiency ratio) = Body weight gain for experimental period (g/day)/Food intake for experimental period (g/day)

Values represent the mean±S.D., n=7

7주 간 고지방 식이를 섭취시킨 BALB/c mice의 체중 변화량을 조사한 결과, 정상식이군(ND)은 약 5.72 g, 고지방식이군(HD)은 7.20 g, 고지방식이에 양성대조군 *Bifidobacterium bifidum* (KCTC3281)를 경구투여한(HD-B), 고지방식이에 *Lb.curvatus* 경구투여한(HD-Y)와 고지방식이에 *Pedicoccus acdilactici* 경구투여한(HD-H)섭취시킨 군은 각각 6.84 g, 6.78 g, 6.91 g을 나타냄으로써 HD-B, HD-Y, HD-H군의 체중 증가량은 HD군에 비하여 약 5%, 6%, 4% 감소하였다(표 10). 한편, 식이섭취량은 각 군 간의 유의적인 차이는 보이지 않았으나, 식이효율은 HD군이 가장 높았고, *Bifidobacterium bifidum* (KCTC3281)를 경구투여한 HD-B군의 식이효율이 유의적으로 감소함을 알 수 있었다.

<표 3-79> 동물실험 군의 혈액분석

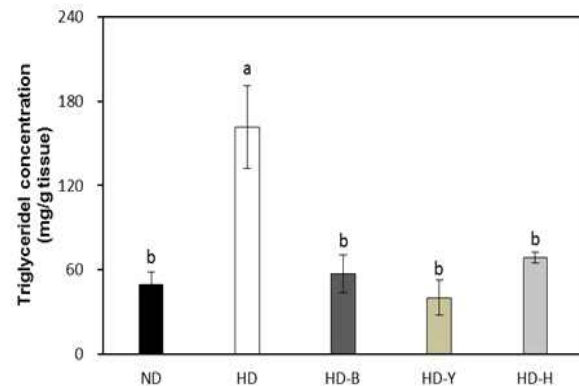
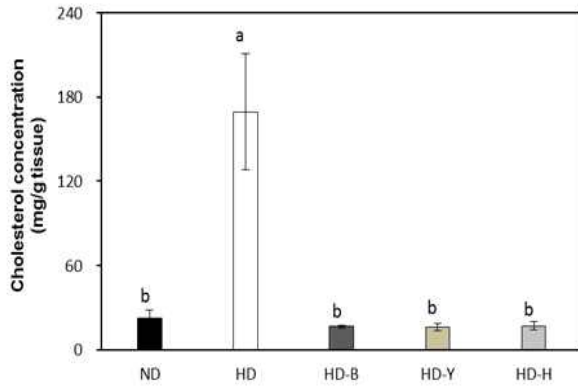
Groups ¹⁾	ND	HD	HD-B	HD-Y	HD-H
HDL (mg/dl)	65.49±11.40	55.82±13.03	54.06±10.99	59.31±21.52	47.63±15.17
LDL (mg/dl)	5.43±2.29	33.58±4.45	18.34±5.73	26.35±20.07	13.92±5.32
TG (mg/dl)	70.29±21.85	84.94±13.13	45.35±11.46	50.81±13.38	48.87±15.53
TC (mg/dl)	68.19±16.79	87.70±0.02	67.92±18.62	53.12±17.66	60.98±17.17
AST (U/L)	93.94±46.49	167.01±9.81	159.45±31.36	154.90±34.60	145.22±30.28
ALT (U/L)	52.44±45.82	59.18±41.95	64.34±57.69	125.95±18.82	74.62±37.54

¹⁾ND, normal diet group; HD, hypercholesterolemic diet group (Cholesterol 1.0 %); HD-B, hypercholesterolemic diet + *Bifidobacterium bifidum* (KCTC3281); HD-Y, hypercholesterolemic diet + *Lb.curvatus*; HD-H, hypercholesterolemic diet + *Pedicoccus acdilactici*

Values represent the mean ± S.D., n=7

7주 간 사육한 BALB/c mice의 혈청분석은 표1과 같다. 고지방식이를 섭취한 HD군에 비해 콜레스테롤저감화 군주를 경구투여 한 HD-B, HD-Y, HD-H의 LDL값은 감소하였다(표 11). 또한 혈액과 간에서의 총 콜레스테롤 함량과 중성지방 함량이 감소하는 동일한 결과가 보여졌다(그

림 3-44, 3-45). 따라서 분리균주 *Lb.curvatus*, *Pedicoccus acidilactici* 분리균주가 콜레스테롤 저하능 효과가 있다고 사료된다.



<그림 3-44> mice 간에서의 총 콜레스테롤 함량

<그림 3-45> mice 간에서의 총 Triglyceride 함량

(다) 기능성 젖산균스타터 후보균의 Biogenic amines (BAs) 생성능

<표 3-80> 기능성 젖산균스타터 후보균의 biogenic amines 생성량

Starter candidates	Biogenic amines ($\mu\text{g/mL}$)							
	Trp ¹⁾	Phe	Put	Cad	His	Tyr	Spd	Spm
Sal4.18	ND ³⁾	ND	ND	ND	ND	1.28±0.02 ²⁾	ND	ND
YC2	1.80±0.42	ND	ND	ND	ND	4.02±0.12	ND	ND
P8	1.50±0.10	ND	ND	ND	ND	13.01±0.02	ND	ND
R8	ND	ND	ND	ND	ND	9.02±0.01	ND	ND
Y2	ND	2.88±0.01	ND	ND	ND	13.01±0.17	2.11±0.08	ND
Y8	ND	2.24±0.45	ND	ND	2.82±0.08	11.02±0.07	ND	ND
O8	ND	ND	ND	ND	ND	15.21±0.11	ND	ND
O55,	ND	ND	ND	ND	ND	16.37±0.41	3.00±0.02	ND
O52	ND	ND	ND	3.89±0.86	ND	7.62±0.25	ND	ND
H1	ND	ND	ND	3.80±0.22	ND	6.85±2.00	ND	ND
H42	ND	ND	ND	4.01±1.77	ND	ND	ND	ND
H9	ND	ND	ND	2.88±0.01	ND	ND	ND	ND
H46	ND	ND	ND	2.24±0.45	ND	ND	ND	ND
KA20	ND	ND	ND	ND	ND	17.29±4.39	ND	ND

¹⁾Trp: tryptamine, Phe: β -phenylethylamine, Put: putrescine, Cad: cadaverine, His: histamine, Tyr: tyramine, Spd: spermidine, Spm: spermine

²⁾Mean±standard deviation

³⁾Not detected

분리한 젖산균 14주에 대해 바이오제닉 아민 생성능을 측정된 결과 타이라민 함량의 경우 Sal4.18 균주에서 1.28±0.02 $\mu\text{g/mL}$ 검출되었고, 나머지 후보균의 타이라민 함량은 각각 4.02,

13.01, 9.02, 13.01, 11.02, 15.21, 16.37, 7.62, 6.85, 17.29 $\mu\text{g/mL}$ 검출되는 것을 확인하였으며 기타 아민의 경우 그 함량이 5 $\mu\text{g/mL}$ 이하인 것으로 확인되었다. 위의 실험을 통해 선별한 9주의 우수 스타터 후보균은 발효소시지에 대한 적용이 적합하다고 사료된다.

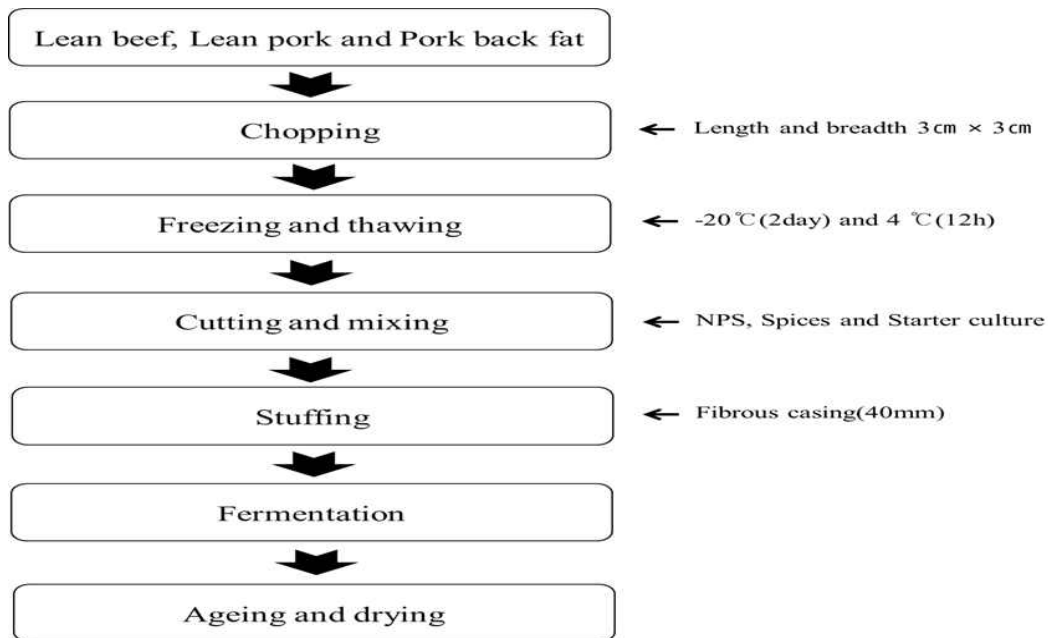
(라) 기능성 젖산균스타터 후보균의 동정

GABA 생성균주의 동정은 API kit와 16S rDNA sequence analysis이 이용하였다. 이용한 결과는 *Pediococcus acidilactici*, *Lactobacillus brevis*, *Weissella halotolerans*가 99%의 상동성을 보여 두 가지 방법의 유사성을 보였다. 장부착능 균주의 동정실험에서 API kit를 이용한 결과는 *Lactobacillus curvatus*와 *Pediococcus acidilactici*가 99.6%의 상동성을 갖는 것으로 나타났으며, 16S rDNA sequence analysis의 결과 *Lactobacillus brevis*가 99%의 상동성을 보여 두 가지 방법의 유사성을 보였다.

아. 기능성 젖산균스타터 후보균의 적용(Lab scale)

(1) 발효소시지 제조

대한민국의 충청남도 조치원에서 도축한 돈육(후지), 우육과 지방을 구입하여 사용하였다. 후지, 우육 및 지방은 3cm×3cm로 세절한 후 -20℃에서 2일 동안 동결하였다. GABA 생성균주를 적용한 발효소시지는 기능성 젖산균 스타터 후보균 첨가균과 상업용 스타터 (CHR. HANSEN, Bacterferm™ C-P-77S)를 혼합하여 fibrous casing (40 mm)에 충전 후 chamber에서 발효 및 숙성 하였다(그림 3-46).



<그림 3-46> 발효소시지 제조과정

(2) 1차선별한 GABA생성균주 적용한 발효소시지의 GABA 함량

GABA함량이 30 mg/kg 생성하는 10균주를 1차선별 하였다. 이들 균주를 각각 발효소시지에 적용하여 발효28일까지의 GABA함량을 분석하였다. Y8, KA20, O52균주를 각각 적용한 발효소시지의 GABA 함량은 Y2균주 외 6균주보다 높게 생성되는 것을 확인하였다. 따라서 Y8, KA20, O52균주를 GABA 고생성균주로 선별하였다.

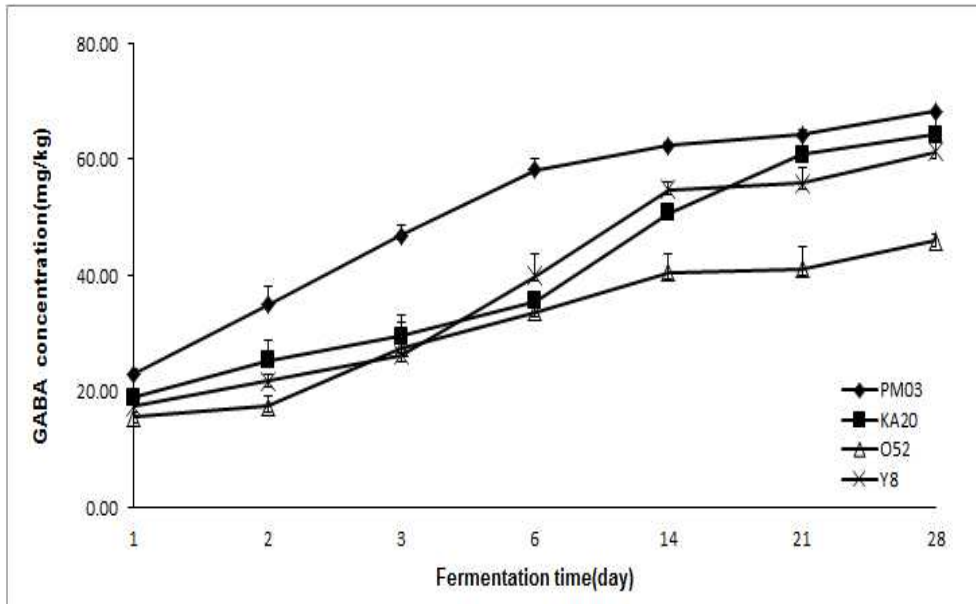
<표 3-81> 1차선별한 GABA생성균주 적용한 발효소시지의 GABA 함량 변화

(mg/kg)

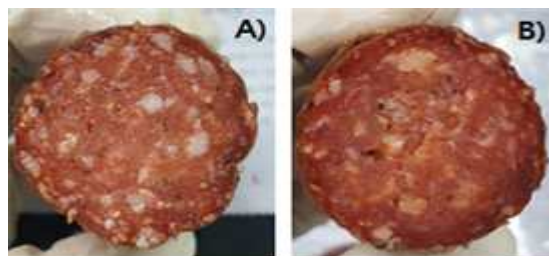
Strians	Fermentation days						
	1	2	3	6	14	21	28
Y8	17.42±2.74 ²⁾	21.86±1.18	26.25±5.71	39.97±3.68	54.87±1.25	55.84±2.68	61.30±2.61
KA20	19.07±1.10	25.32±3.59	29.56±3.52	34.65±1.70	50.75±1.11	60.80±3.70	64.30±3.89
O52	15.02±1.19	17.41±1.93	27.57±2.48	33.76±1.11	40.52±3.16	41.10±3.98	46.02±1.04
Y2	6.63±1.37	13.74±0.47	13.89±0.69	16.94±2.06	22.21±0.69	25.43±6.86	25.72±1.36
O8	8.27±3.53	13.65±0.93	15.40±0.90	17.52±0.63	17.43±2.24	17.41±3.22	17.99±2.82
O55	9.64±2.41	11.25±1.71	16.07±2.35	18.32±2.85	21.68±1.44	22.03±1.21	23.93±1.35
H1	7.39±0.76	11.24±1.69	14.50±4.58	16.89±0.84	22.44±2.51	24.21±1.87	24.92±0.06
H42	12.98±0.49	16.35±0.49	16.30±2.98	17.03±0.64	17.68±0.37	18.31±3.50	18.74±2.18
H9	9.87±4.33	17.01±2.55	15.58±0.34	20.08±1.25	19.80±5.60	19.83±6.48	22.56±0.47
H46	15.91±3.71	16.12±0.86	19.02±5.00	19.24±4.63	19.22±5.19	19.66±0.94	20.52±3.40

(3) 최종 선별한 GABA생성균주 적용한 발효소시지의 GABA 함량

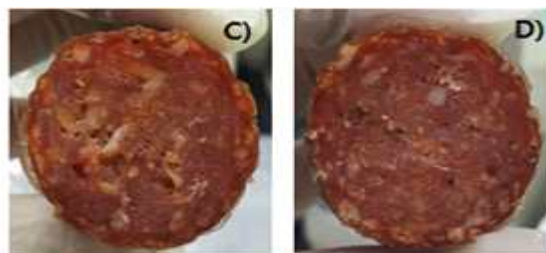
KA20, O52, Y8균주의 GABA함량은 64.59±0.61, 49.73±3.80, 39.00±1.36 μl/mL 으로서 고생성균주로 분리 하였다. 이들 균주를 각각 발효소시지에 적용하여 발효28일까지의 GABA함량을 분석하였다. 선행연구에서 사용한 GABA생성균주 PM03균주를 양성대조균으로 하여 제조한 발효소시지의 GABA 함량은 발효 1일부터 발효 28일까지 23.10±0.74 mg/kg에서 68.26±0.11 mg/kg으로 증가하는 것을 확인 하였다. 또한 KA20균주 적용한 발효소시지 GABA 함량은 발효 1일부터 발효 28일까지 19.07±1.10 mg/kg에서 64.30±3.89 mg/kg으로 증가하는 것을 확인 하였고 PM03 균주를 적용한 발효소시지와 비슷한 함량을 생성하는 것을 확인하였다. 그러나 O52균주 적용한 발효소시지 GABA 함량은 발효 1일부터 발효 28일까지 15.55±0.43 mg/kg에서 46.02±1.04 mg/kg으로 다른 균주들에 비해 낮게 측정 되었다. 반면에 균주의 GABA함량이 낮았던 Y8균주는 발효소시지에 적용한 결과 GABA 함량은 발효 1일부터 발효 28일까지 17.42±2.74 mg/kg에서 61.30±2.61 mg/kg으로 증가하는 것을 확인 하였다.



<그림 3-47> 발효소시지의 GABA함량



<그림 3-48> PM03균주(A), KA20균주(B) 적용한 발효소시지의 단면도

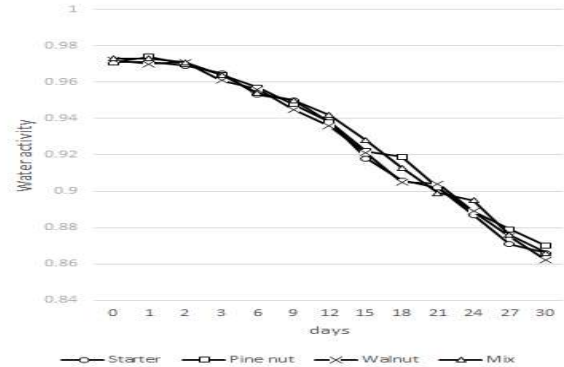
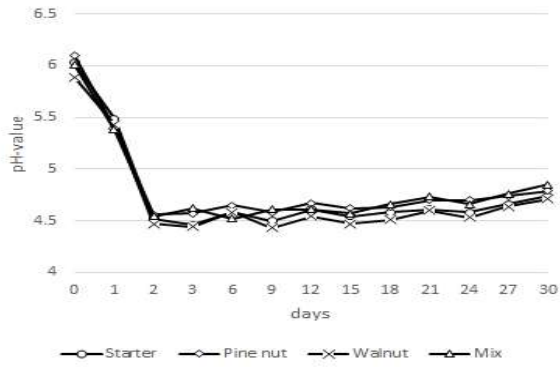


<그림 3-49> O52균주(C), Y8균주(D) 적용한 발효소시지의 단면도

자. 부원료에 첨가에 따른 발효소시지 특성 검토

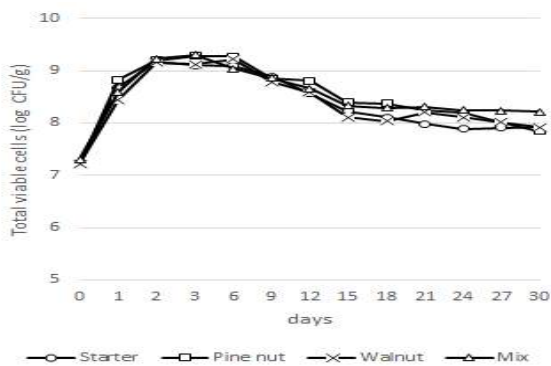
(1) 잣, 호두를 첨가하여 이화학적·미생물학적 특성 및 안전성 평가

부원료 첨가로 된장과 고추장 등 한국전통 장류를 첨가하여 제조 하였으나 된장 첨가 발효 소시지는 제조과정 부터 생성되는 불쾌취로 인해 제외하였고(3차년도에서 된장함량을 줄여서 시행 할 예정) 고추장은 당이 함유되어 파우더형태로 제조하는 것에 어려움이 있어 제외하였다. 관능평가 시 발효소시지의 씹힘성을 부각시키고자 잣과 호두를 각각 첨가한 실험군과 잣과 호두 혼합첨가 한 실험군을 제조하였다.



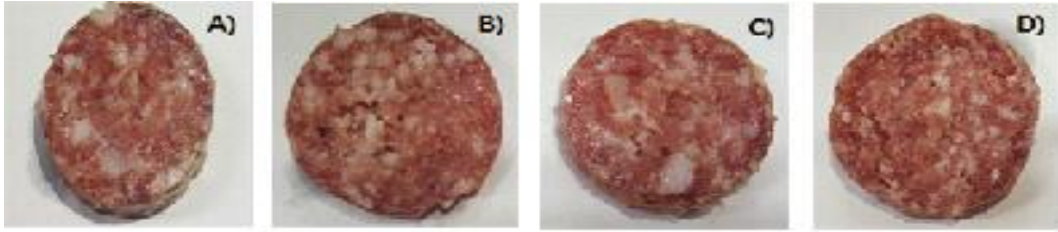
<그림 3-50> 잣, 호두를 첨가한 발효소시지의 이화학적 변화

상업용스타터를 적용한 발효소시지, 잣, 호두, 잣과 호두를 혼합 적용한 발효소시지균주의 경우 pH값은 발효 개시일부터 2일까지 pH 6.10-5.89에서 pH 4.56-4.47으로 감소하는 것을 확인하였고 이후 숙성 21일부터 pH 값이 pH 4.73-4.60에서 발효시점이 끝나는 30일까지 pH 4.85-4.71으로 지속적으로 증가하는 것을 확인하였다. a_w 의 경우 발효 개시일 부터 발효시점이 끝나는 35일까지 지속적으로 감소하는 것을 확인하였다.



<그림 3-51> 잣, 호두를 첨가한 발효소시지 미생물학적 변화

발효기간 동안 총 균수는 발효 개시일로부터 6일까지 3.8×10^7 log CFU/g으로부터 8.7×10^9 log CFU/g으로 증가하였고, 이후 숙성 21일 부터 발효기간이 끝나는 시점까지 총균수는 거의 변화가 없었다. 젖산균의 경우 총균수와 마찬가지로 발효 개시일로부터 6일까지 평균 7.7×10^9 log CFU/g으로 증가하였고, 이후 숙성 18일 부터 발효기간이 끝나는 시점까지 평균 8.1×10^8 log CFU/g 이후 지속되는 것을 확인하였다.



<그림 3-52> Starter(A), 잣(B), 호두, 잣•호두 적용한 발효소시지의 단면도

1주 간격으로 바이오제닉아민 함량을 측정한 결과 타이라민 함량이 증가하는 경향을 보였다. 모든 시료에서 히스타민은 생성되지 않았으나, 기존의 발효소시지의 바이오제닉아민 함량보다 높은 경향을 보여 재 실험을 통해 분석 할 예정이다(3차년도).

<표 3-82> 잣·호두를 첨가한 발효소시지의 biogenic amines 생성량

Samples	Weeks	Biogenic Amines (mg/kg)							
		Trp ¹⁾	Phe	Put	Cad	His	Tyr	Spd	Spm
Starter 첨가 발효 소시지	0	16.90± 0.21	ND	ND	ND	ND	23.80± 0.14	13.02± 0.16	49.85± 1.54
	1	16.35± 4.56	20.82± 3.24	ND	ND	ND	43.93± 3.12	14.25± 0.22	18.35± 6.75
	2	18.85± 1.44	33.28± 8.25	ND	ND	ND	52.47± 0.99	15.22± 0.51	19.16± 2.36
	3	14.38± 8.46	43.70± 8.24	ND	ND	ND	56.25± 5.78	15.65± 0.24	15.79± 6.57
	4	16.70± 3.42	47.00± 6.87	ND	36.23± 0.39	ND	51.00± 2.34	15.09± 0.01	67.63± 4.95
잣 첨가 발효 소시지	0	16.20± 0.49	ND	18.23±6.4 8	ND	ND	23.32± 0.33	12.95± 1.11	52.32± 0.39
	1	13.02± 3.73	20.28± 1.20	ND	ND	ND	41.65± 2.55	13.71± 0.34	99.90± 7.09
	2	15.55± 1.16	35.18± 2.08	ND	ND	ND	63.89± 7.63	14.67± 0.44	14.27± 3.11
	3	13.21± 1.51	40.61± 1.21	ND	ND	ND	62.29± 7.69	14.78± 0.12	16.23± 1.26
	4	16.74± 3.76	66.70± 3.66	ND	41.90± 8.00	ND	67.87± 2.57	14.39± 0.46	11.46± 3.23
호두 첨가 발효 소시지	0	8.71± 0.16	N.D	21.51± 1.83	ND	ND	25.03± 0.11	13.87± 0.38	57.93± 6.76
	1	11.50± 0.69	N.D	ND	ND	ND	47.45±0.4 7	15.61± 0.07	15.00± 2.55
	2	16.73± 0.69	N.D	ND	36.68± 0.65	ND	57.86± 4.58	17.28± 1.32	14.39± 2.20
	3	17.77± 1.42	N.D	ND	39.65± 0.65	ND	69.07± 8.49	17.88± 0.49	20.94± 5.79
	4	13.23± 0.28	N.D	ND	42.78± 0.03	N.D	69.14± 0.19	19.98± 0.60	24.55± 1.53
잣· 호두 첨가 발효 소시지	0	N.D	13.40± 0.71	18.05± 1.38	ND	ND	23.96± 0.38	13.37± 0.49	56.25± 2.79
	1	N.D	22.65± 1.22	11.30± 1.09	N.D	ND	46.28± 0.33	16.15± 0.64	12.19± 6.64
	2	N.D	3058± 3.66	ND	ND	ND	61.44± 7.52	16.49± 1.04	19.77± 6.37
	3	N.D	30.40± 0.46	ND	41.46± 1.02	ND	64.49± 1.34	14.38± 0.56	13.65± 6.42
	4	N.D	33.34± 4.25	21.04± 3.65	39.76± 3.61	ND	89.99± 8.23	17.90± 0.88	27.39± 4.21

¹⁾Trp: tryptamine, Phe: β-phenylethylamine, Put: putrescine, Cad: cadaverine, His: histamine, Tyr: tyramine, Spd: spermidine, Spm: spermine

²⁾Mean±standard deviation

³⁾Not detected

9. 부원료에 첨가에 따른 발효소시지 특성 검토 (Lab scale)

가. 부원료 제조

(1) 배추김치분말 제조

본 실험에 사용된 김치는 조치원 전통시장에서 배추김치를 담근 날에 구입한 것 (pH 5.6)으로 $15 \pm 1^\circ\text{C}$ 에서 2일간 발효시킨 후 $4.0 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 에서 10일동안 (pH 4.2) 숙성보관 후 60°C 에서 12시간동안 열풍건조기(INBD-150E, Hansung, Korea)를 이용하여 건조를 실시하였다. 건조 후 분쇄기(HMF-3250S, Hanil, korea)를 이용하여 30초간 분쇄를 실시하고 육제품에 적용하기에 적합하도록 분말화 하였다. 제조된 김치분말은 PE/Nylon film($107 \mu\text{m}$, Kirin Chemical Co., Kimhae, Korea)에 진공포장하여 -20°C 에서 보관하며 사용하였다.

(2) 된장분말 제조

본 실험에 사용된 된장은 충청남도 조치원 전통시장에서 재래식된장을 구입 후 60°C 에서 12시간동안 열풍건조기(INBD-150E, Hansung, Korea)를 이용하여 건조를 실시하였다. 건조 후 분쇄기(HMF-3250S, Hanil, korea)를 이용하여 30초간 분쇄를 실시하고 육제품에 적용하기에 적합하도록 분말화 하였다. 제조된 된장분말은 PE/Nylon film($107 \mu\text{m}$, Kirin Chemical Co., Kimhae, Korea)에 진공포장하여 -20°C 에서 보관하며 사용하였다.

(3) 마늘분말 제조

본 실험에 사용된 마늘은 충청남도 조치원 전통시장에서 구입한 후 60°C 에서 12시간동안 열풍건조기(INBD-150E, Hansung, Korea)를 이용하여 건조를 실시하였다. 건조 후 분쇄기(HMF-3250S, Hanil, korea)를 이용하여 30초간 분쇄를 실시하고 육제품에 적용하기에 적합하도록 분말화 하였다. 제조된 마늘분말은 PE/Nylon film($107 \mu\text{m}$, Kirin Chemical Co., Kimhae, Korea)에 진공포장하여 -20°C 에서 보관하며 사용하였다.

(4) 잣·호두분말 제조

본 실험에 사용된 잣과 호두는 경기도 가평, 충청북도 영동 농협에서 구입한 후 건조 후 분쇄기(HMF-3250S, Hanil, korea)를 이용하여 30초간 분쇄를 실시하고 육제품에 적용하기에 적합하도록 분말화 하였다. 제조된 잣과 호두분말은 각각 PE/Nylon film($107 \mu\text{m}$, Kirin Chemical Co., Kimhae, Korea)에 진공포장하여 -20°C 에서 보관하며 사용하였다.

나. 선별된 부원료의 적용 (Lab scale)

(1) 발효소시지 제조

대한민국의 충청남도 조치원에서 도축한 돈육 (후지), 우육과 지방을 구입하여 사용하였다. 후지, 우육 및 지방은 $3\text{cm} \times 3\text{cm}$ 로 세절한 후 -20°C 에 동결 한 뒤 각 재료를 표 1의 비율로 혼합하였다. 부원료(마늘, 김치, 된장, 잣, 호두)는 원료육의 0.5%, 1.0%, 2.0% 등을 첨가 하였다. 발효소시지는 기능성 젖산균 스타터 후보균 첨가균과 상업용 스타터 (CHR. HANSEN, Bacterferm™ C-P-77S) 첨가균을 혼합하여 사용하였고 fibrous casing (40 mm)에 충전 후 chamber에서 발효 및 숙성하였다.

<표 3-83> 발효소시지 제조 비율

Materials	Weight ratio (%)
Lean beef	20.0
Lean pork	60.0
Pork back fat	20.0
NPS(0.7% nitrite)	1.61
MSG	0.20
Glucose	0.50
Spice	1.15
Starter culture	0.03

(2) 제조한 발효소시지의 미생물학적 특성 분석

총균수 측정을 위한 배지로는 PCA(Plate count agar)를 젖산균 분리를 위한 배지로는 BCP(0.006% bromocresol purple)와 MRS (deMan Rogosa Sharpe) 배지를 사용하였다. 균수 측정 방법은 식품공전 미생물시험법에 따라 시료 25 g에 멸균 희석수 225 ml 첨가하여 희석한 다음 배지에 도말하여 35±2°C, 혐기적 조건에서 24시간 배양한 후 생성된 집락을 관찰하였다. BCP 평판배지에서 노랗게 배지를 변화시키고 MRS 평판배지에서 집락 주변을 투명하게 변화시키는 집락들을 2회 이상 분리하여 산 생성 여부를 확인하였다. 순수한 집락을 다시 MRS broth에 18 시간 배양한 후 배양액을 15% glycerol의 농도로 -70°C 에서 저장하면서 실험에 사용하였다. 병원성미생물도 식품공전 미생물시험법에 따라 증균배지, 선택배지 등에 24~48시간 배양한 후 생성된 집락을 관찰하였다.

• *Escherichia coli*

검체 25 g에 225 ml의 EC broth를 가하여 1 분간 균질화하고 37°C 에서 24 시간 증균 배양하였다. EMB agar에 접종한 후, 37°C 에서 24 시간 배양하여 녹색의 금속성 광택을 확인되면 순수분리 배양된 5개 집락을 TSI agar에 접종한 후, 37°C 에서 24 시간 배양하였다. 가스 생성을 확인한 후 TSA에 접종하여 37°C 에서 24 시간 배양한 후 생성여부를 확인하였다.

• *Listeria monocytogenes*

검체 25 g에 225 ml의 Listeria 증균배지를 가하여 1 분간 균질화하고 30°C 에서 24 시간 증균 배양 하였다. 증균배양액을 Oxford agar에 streaking하고 30°C 에서 24 시간 배양하였다. 검은색 의 의심집락을 형성하는 집락을 0.6% yeast extract가 포함된 Tryptic soy agar에 접종하여 30°C 에서 24 시간 배양 하였다. 그람염색 후 그람양성 간균이 확인되면 hemolysis, motility, catalase 시험하고, CAMP test에서 *S. aureus*(ATCC 25923)에서 양성, *Rhodococcus equi*(ATCC 6939)에서 음성을 확인하였다.

• *Salmonella* spp.

검체 25 g에 225 ml의 펩톤수를 가하여 1 분간 균질화하고 35°C 에서 24 시간 1차 증균 배양한 후 100 μl의 1차 증균액을 10 ml의 Rappaport-Vassiliadis 배지에 접종하여 42°C 에서 24 시간 2차 증균 배양하였다. 증균 배양액을 MacConkey agar에 streaking하여 37°C 에서 24 시간 배양하여 검은색의 의심집락 형성을 확인하였다.

• *Staphylococcus aureus*

검체 25 g에 10% NaCl을 첨가한 225 ml의 TSB를 더하여 1 분간 균질화하고 37°C에서 24 시간 증균 배양하였다. Baird-Parker agar에 streaking하여 37°C에서 24 시간 배양하고, 투명한 띠로 둘러싸인 광택이 있는 검정색 의심집락을 형성하는 콜로니를 보통한천배지에 옮겨 37°C에서 24 시간 배양한 후 그람염색을 실시하여 포도상의 배열을 갖는 그람양성 구균임을 확인하고 응고 시험을 실시하여 일정 시간이 지나 응고 반응을 보이는지(양성인지) 확인하였다.

• *Clostridium perfringens*

희석수를 이용해 균질화한 시험용액 1 ml를 Cooked Meat 배지의 아랫부분에 접종하여 혐기적 조건으로 37°C에서 24 시간 증균 배양한 후 TSC agar에 증균 배양액을 접종하여 37°C에서 24 시간 혐기배양하고, 불투명한 환을 가지는 황회색 집락을 확인하였다.

(3) 제조한 발효소시지의 이화학적 특성 분석

시료의 pH는 Stomacher(Lab-blender 400, Seward, England)에서 2분간 마쇄한 후 증류수 10 배를 넣고 희석 및 여과하여 그 여액을 20ml 취하여 실온에서 pH meter (Thermo, USA)를 이용하여 측정하였다. pH를 측정된 여액에 0.1N NaOH 용액으로 pH 8.3이 될 때까지 적정 후 소비된 ml를 Lactic acid 함량(%)로 환산하여 계산하였다(AOAC 1995). 수분활성도는 수분활성도 측정기(Novasina, Switzerland)를 이용하여 측정하였다. 염도 측정 방법은 식품공전 식염 측정 시험법에 따라 시료 1 g을 취한 후 수욕상에서 증발건고한 후 회화시켜 이를 물에 녹이고 다시 물을 가하여 500 mL로 한 후 여액을 10 mL에 크롬산칼륨시액을 미량 가한 후 0.02 N 질산은 액으로 적정하여 염도를 산출 하였다. 제조한 소시지의 건조감량은 제조직후의 중량과 경시적 측정시의 중량의 차를 백분율로 계산하여 나타내었다.

(4) 색도 측정

육색은 Colorimeter (Chroma meter CR-300, Minolta, Japan)를 사용하여 명도(lightness)를 나타내는 CIE L값, 적색도(redness)를 나타내는 CIE a값과 황색도(yellowness)를 나타내는 CIE b값을 측정하였다. 이때의 표준색 L값은 97.18, a값은 -0.08, b값은 +1.87이고 백색 표준판을 사용하여 측정 하였다.

(5) 조직감 측정

소시지의 조직감은 Texture analyzer (TA-XT2i, Stable Micro System Ltd., Surrey, UK)를 이용하여 측정하였다. 두께가 16 mm인 시료를 높이 25 mm로 절단한 후 plate 중앙에 평행하게 놓고 두 번 찢러 나타난 curve를 이용하고 분석 계산하여 경도(hardness, N), 탄력성(springiness), 응집성(cohesiveness), 겹성(gumminess, N), 씹음성(chewiness, N) 등을 구했다. 이때의 분석조건은 stroke, 2 kg, test speed, 2.0 mm/s, probe (0.25 mm diameter), distance, 8 mm으로 설정 하였다.

(6) 지방산패도 측정

소시지의 지질산패도는 Witte *et al.* (1970)의 2-thiobarbituric acid reactive substance(TBARS) 방법을 이용하여 측정하였다. 시료 10 g, 냉장한 10% perchloric acid 15 mL 및 3차 증류수 25 mL를 넣은 후 마쇄 후 10,000 rpm으로 10초간 균질화한 다음 균질물은 filter paper를 사용하

여 여과하였다. 여과액 5 mL와 0.02 M TBA 용액 5 mL를 넣어 잘 혼합한 후, 냉암소에서 16시간 냉각한 다음 spectrophotometer (UV-1601, SHIMADZU)를 이용하여 529 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 얻어진 TBA 수치는 시료 1 kg당 mg malondialdehyde(mg MAD/kg sample)으로 표시하였다.

(7) 관능검사

발효소시지의 관능 평가는 10명의 패널요원을 선발하여 시료에 대한 충분한 지시와 용어, 평가기준 등을 숙지시킨 루 실시하였다. 제조된 소시지를 높이 10 mm로 절단하고 풍미, 맛, 씹힘성, 다즙성 및 전체적인 기호도의 관능적 속성에 따라 7점 만점으로 평점하고 그 평균치를 구하여 비교하였다. 각 항목별 7점은 가장 우수함으로 나타내고 1점은 가장 열악한 상태로 나타내었다.

다. 제조한 발효소시지의 GABA 함량 확인

발효소시지 시료 3 g에 0.01 N HCl 3 ml 첨가하여 단백질을 제거 후 AQC reagent (Waters, USA)를 이용하여 유도체화한 것을 HPLC 분석에 사용하였다. column은 reverse-phase column (150×3.9 mm I.D. AccQ.Tag C18, Waters)를, U.V-spectrophotometric detector (254 nm) 제품을 이용하였다. 이동상은 A solution (140 mM Sodium acetate, 5.6 mM Triethylamine, pH 5.03)과 B solution (acetonitrile/distilled water = 60/40)의 gradient condition (initial 100% A: 35 min 67% A)에서 flow rate 1 ml/min, injection volume 20 µl의 조건으로 분석하였다.

라. 제조한 발효소시지의 Biogenic amine (BA) 함량분석

발효소시지 시료 3 g에 0.4 M perchloric acid 27 ml을 첨가하여 진탕 후 원심분리하고 0.45 µm로 여과 멸균한 시료 1 ml에 다시 2 N sodium hydroxide와 sodium bicarbonate, dansyl chloride를 넣고 40°C에서 45분간 반응시켰다. 반응 후 25% ammonium hydroxide로 정용하여 여과 후 분석에 이용하였다. 분석기기는 Waters 996 photodiode array detector와 Millennium 2010 software가 장착된 Waters 2690 separation module을 column은 Nova-Pak C18, 4 µm, 150 mm (Waters)를 이용하였으며 이동상용매는 0.1 M ammonium acetate 와 고정상용매 acetonitrile의 농도구배를 주어 분석하였다. 용매흐름속도는 1 ml/min이었으며 254 nm에서 검출하였다.

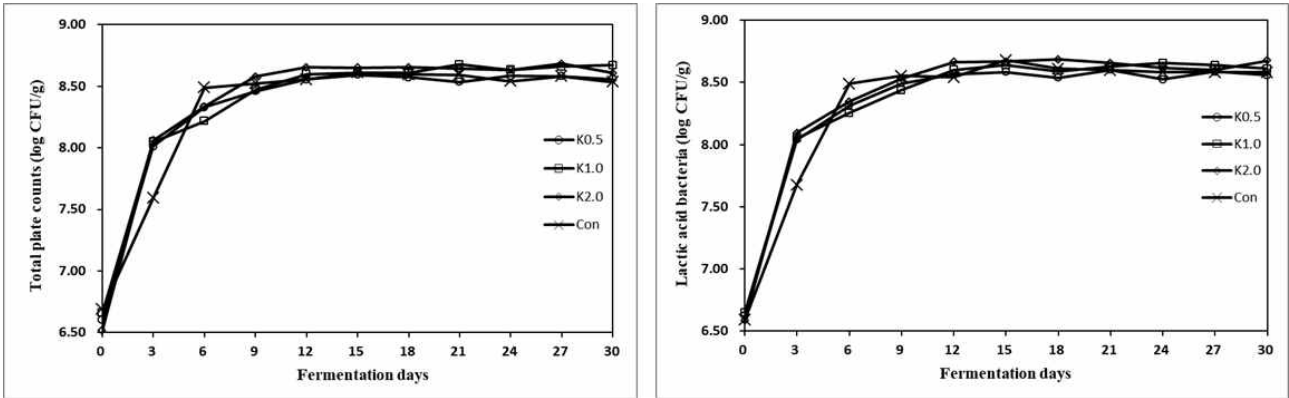
마. 제조한 발효소시지의 콜레스테롤 함량분석

콜레스테롤 분석을 위한 지방의 추출은 Folch *et al.* (1957) 방법에 따라 지질을 추출하고, 추출된 지방은 Zanardi *et al.* (2000)의 방법에 따라 추출한 지질 0.1 g에 비누화 시약 5 mL와 1 mL internal standard (5 α -cholesteae 0.5 mg)를 넣고 시료를 균질화하여 마개를 한 다음 60% KOH 8 mL와 Sol A 40 mL (ehanol : methanol: isopropylalchol = 90:5:5)를 넣고 100°C에서 환류냉각관이 부착된 상태에서 1시간 가열 후 냉각하고 벤젠 층으로 흡수시킨 후 1N KOH 200 mL, 0.5N KOH 40 mL, 증류수 순으로 pH 7 정도가 될 때까지 수세하였다. 이후 감압 농축하여 internal standard(scoraren)으로 녹여 GC로 분석하였다. GC (14A, Shimadzu, Japan) 분석조건은 column SPB-1, 0.53 mm i.d × 30m × 2.65 µm film thickness, detector는 Flame ionization detector (FID) 검출하였다.

바. 실험 결과

(1) 부원료에 첨가에 따른 발효소시지 특성 검토 (Lab scale)

(가) 배추김치분말을 첨가하여 제조한 발효소시지의 미생물학적 변화



<그림 3-53> 배추김치분말 첨가한 발효소시지의 미생물학적 변화

발효기간 동안 상업용스타터를 적용한 Control그룹의 총 균수는 발효 개시일로부터 3일까지 2.1×10^6 log CFU/g으로부터 1.4×10^9 log CFU/g으로 증가하였고, 이후 숙성 12일 부터 발효기간이 끝나는 시점까지 총 균수는 거의 변화가 없었다. 젖산균의 경우 총 균수와 마찬가지로 발효 개시일로부터 3일까지 3.9×10^6 log CFU/g으로부터 1.7×10^9 log CFU/g으로 증가하였고, 이후 숙성 15일 부터 발효기간이 끝나는 시점까지 평균 3.4×10^8 log CFU/g 수준을유지하는 것을 확인하였다. 배추김치분말을 0.5, 1.0, 2.0%와 상업용스타터를 혼합 적용한 발효소시지의 경우 총 균수는 발효 개시일로부터 3일까지 평균 4.0×10^6 log CFU/g으로부터 2.0×10^9 log CFU/g으로 증가하였고, 이후 숙성 12일부터 발효기간이 끝나는 시점까지 총 균수는 거의 변화가 없었다. 젖산균의 경우 총 균수와 마찬가지로 발효 개시일로부터 3일까지 평균 4.6×10^6 log CFU/g 으로부터 1.9×10^9 log CFU/g으로 증가하였고, 이후 숙성 15일부터 발효기간이 끝나는 시점까지 평균 1.2×10^9 log CFU/g 수준을 유지하였다. 육제품에서 검출되어서는 안되는 *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens* 등의 병원성미생물은 검출되지 않았다.

(나) 배추김치분말을 첨가하여 제조한 발효소시지의 이화학적 특성

<표 3-84> 배추김치분말 첨가한 발효소시지의 건조감량

Experimental groups ¹⁾	Fermentation days									
	3	6	9	12	15	21	24	27	30	
Control	12.6	20.7	26.6	33.4	38.0	38.5	39.1	42.0	43.0	
K0.5	16.5	23.7	29.4	33.9	35.3	37.0	38.6	40.6	42.1	
K1.0	12.2	23.8	30.2	33.3	35.2	37.6	38.4	40.4	41.2	
K2.0	13.7	23.5	31.0	33.2	35.5	36.1	38.6	40.8	41.5	

¹⁾Control; sausage without kimchi powder, K0.5; sausage with 0.5% kimchi powder, K1.0; sausage with 1.0% kimchi powder K2.0; sausage with 2.0% kimchi powder

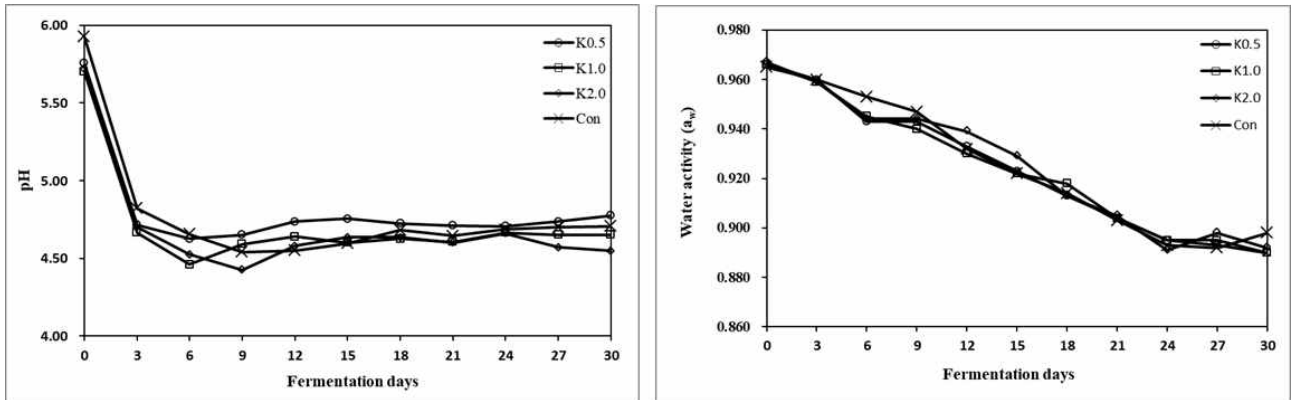
제조한 발효소시지의 건조감량을 확인한 결과, Control은 제조 24일차에 건조감량 약 40%에 도달하였다. 반면에 배추김치분말 첨가군은 27일차에 40%에 도달하였다.

<표 3-85> 배추김치분말 첨가한 발효소시지의 염도

Experimental groups ¹⁾	Salinity (%)
Control	8.2±0.57
K0.5	8.4±0.14
K1.0	8.2±0.85
K2.0	8.5±0.42

¹⁾Control; sausage without kimchi powder, K0.5; sausage with 0.5% kimchi powder, K1.0; sausage with 1.0% kimchi powder K2.0; sausage with 2.0% kimchi powder

제조한 발효소시지의 염도 측정 결과 대조군(Control)은 8.2%의 염도가 측정되었고 배추김치분말을 첨가한 발효소시지그룹의 염도는 8.2~8.5% 수치로 대조군(Control)과 비슷한 수치로 측정되었다.



<그림 3-54> 배추김치분말 첨가한 발효소시지의 pH, a_w 변화

상업용스타터를 적용한 Control그룹의 pH값은 발효 개시일부터 3일까지 pH 5.93에서 pH 4.82로 급격하게 감소하는 것을 확인하였고 이후 숙성 15일부터 pH 값이 pH 4.60에서 발효시점이 끝나는 30일까지 pH 4.71으로 지속적으로 증가하는 것을 확인하였다. 배추김치분말을 0.5, 1.0, 2.0%와 상업용스타터를 혼합 적용한 발효소시지의 경우 pH값은 발효 개시일부터 3일까지 pH 5.70-5.76에서 pH 4.67-4.72로 감소하는 것을 확인하였고 이후 숙성 12일부터 pH 값이 pH 4.58-4.74에서 발효시점이 끝나는 30일까지 pH 4.55-4.78로 지속적인 값을 유지하는 것을 확인하였다. a_w의 경우 Control그룹과 실험군은 동일하게 발효 개시일 부터 발효시점이 끝나는 30일까지 지속적으로 감소하는 것을 확인하였다.

(다) 색도·물성·지방산패도 평가

발효소시지의 육색은 숙성동안 첨가한 nitrite와 nitrate가 분해되어 nitric oxide가 형성되고 육단백질인 myoglobin과 결합하여 nitric oxide myoglobin 형태로 발색에 영향을 준다 (Horsey, 1956). 배추김치분말의 첨가비율에 따른 소시지의 색도를 비교한 결과는 <표 3-86>에 나타내었

다. 명도를 나타내는 CIE L 값은 대조구가 다른 처리구에 비해 유의적 차이가 없었다. 그러나 적색도를 나타내는 CIE a 값과 황색도를 나타내는 CIE b 값은 김치분말의 첨가량이 증가함에 따라 처리구간의 유의적으로 증가하는 경향을 보였다.

<표 3-86> 배추김치분말 첨가한 발효소시지의 색도평가

Experimental groups ¹⁾	Color parameter		
	CIE L* (lightness)	CIE a* (redness)	CIE b* (yellowness)
Control	25.23±0.72 ^a	5.75±0.15 ^c	5.87±0.34 ^d
K0.5	20.66±0.56 ^b	7.50±0.12 ^c	6.53±0.23 ^c
K1.0	19.95±0.19 ^b	7.73±0.14 ^b	8.24±0.06 ^b
K2.0	19.05±0.17 ^c	8.23±0.10 ^a	9.77±0.08 ^a

¹⁾Control; sausage without kimchi powder, K0.5; sausage with 0.5% kimchi powder, K1.0; sausage with 1.0% kimchi powder K2.0; sausage with 2.0% kimchi powder

²⁾Results are expressed as the means ± standard deviation. ^{a-c}means with different letters within a row are significantly different at $p < 0.05$ as determined by Duncan's multiple-range test.

배추김치분말 첨가 발효소시지의 물성평가는 <표 3-87>에 나타내었다. 육제품의 조직감은 함유된 지방이나 수분량 원료육의 상태 첨가물의 종류 등에 따라서 달라질 수 있고 또 가공 중의 가열온도의 차이에 의한 단백질의 열변성정도가 달라져서 조직성 특성이 다르게 나타날 수 있다고 하였다. 경도는 대조구(Control)가 김치분말 첨가 소시지에 비해 현저하게 낮았다 ($p < 0.05$). 탄력성과 씹힘성은 대조구(Control) 보다 유의적으로 높게 측정 되었다. 이는 소시지 제조 시 첨가한 배추김치분말에 의해서 증가 한 것으로 사료된다. 반면에, 응집성과 겹성은 모든 시료에서 유의적 차이가 없었다.

<표 3-87> 배추김치분말 첨가한 발효소시지의 물성평가

Experimental groups ¹⁾	Hardness	Springiness	Cohesiveness	Gumminess	Chewiness
Control	2.23±0.09 ^c	0.84±0.07 ^b	0.50±0.06	1.39±0.25	1.04±0.15 ^b
K0.5	2.95±0.54 ^b	0.86±0.02 ^{ab}	0.50±0.05	1.26±0.09	1.12±0.04 ^b
K1.0	3.31±0.36 ^b	0.90±0.07 ^{ab}	0.53±0.04	1.44±0.08	1.35±0.22 ^{ab}
K2.0	4.56±0.15 ^a	0.95±0.06 ^a	0.51±0.01	1.30±0.05	1.58±0.33 ^a

¹⁾Control; sausage without kimchi powder, K0.5; sausage with 0.5% kimchi powder, K1.0; sausage with 1.0% kimchi powder K2.0; sausage with 2.0% kimchi powder

²⁾Results are expressed as the means ± standard deviation. ^{a-d}means with different letters within a row are significantly different at $p < 0.05$ as determined by Duncan's multiple-range test.

저장 기간이 경과함에 따라 TBARS 값은 모든 군에서 유의적으로 증가하는 경향이었으나, 배추김치분말 첨가군(K0.5, K1.0, K2.0)은 대조군(Control)보다는 유의하게 낮은 증가율을 보였다.

발효 4주째는 대조군(Control)이 1.88 mg MAD/kg으로 가장 높은 TBARS 값을 나타내었고, 배추김치분말 첨가군들(K0.5, K1.0, K2.0)은 각각 1.75, 1.48, 1.31 mg MAD/kg으로 대조군(N)에 비해 유의적으로 낮은 TBARS값을 나타내었다. 모든 소시지의 TBARS값은 발효기간이 끝났을 때 대조군(Control)보다 훨씬 낮았다. 즉, 배추김치분말이 발효소시지의 지질 산화물을 보호할 수 있다는 것을 나타낸다.

<표 3-88> 배추김치분말 첨가한 발효소시지의 지방산패도

Experimental groups ¹⁾	Fermentation weeks				
	0	1	2	3	4
Control	0.59±0.15 ^{a2)}	0.98±0.00 ^a	1.16±0.06 ^a	1.54±0.17 ^a	1.88±0.03 ^a
K0.5	0.28±0.01 ^b	0.87±0.05 ^b	1.02±0.02 ^{bc}	1.44±0.02 ^{ab}	1.75±0.03 ^b
K1.0	0.59±0.00 ^a	0.86±0.03 ^b	1.08±0.00 ^{ab}	1.19±0.00 ^{bc}	1.48±0.00 ^c
K2.0	0.31±0.04 ^b	0.71±0.00 ^c	0.98±0.00 ^c	1.09±0.01 ^c	1.31±0.00 ^c

¹⁾Control; sausage without kimchi powder, K0.5; sausage with 0.5% kimchi powder, K1.0; sausage with 1.0% kimchi powder K2.0; sausage with 2.0% kimchi powder

²⁾Results are expressed as the means ± standard deviation. ^{a-c}means with different letters within a row are significantly different at $p < 0.05$ as determined by Duncan's multiple-range test.

(라) 안전성평가(BA)

제조한 발효소시지의 바이오제닉 아민 함량을 측정한 결과 Control그룹의 타이라민 함량의 경우 3.15±0.10 mg/kg 검출되었고, 배추김치분말을 첨가한 발효소시지 그룹의 타이라민 함량은 각각 26.05±0.13, 26.03±0.59, 25.56±1.87 mg/kg 검출되는 것을 확인하였다. 히스타민은 Control그룹에서는 검출되지 않았으며 배추김치분말을 첨가한 발효소시지 그룹의 히스타민 함량은 각각 4.43±0.05, 4.50±0.44, 3.57±0.06 mg/kg으로 확인되었다. 기타 아민의 경우 Control 그룹과 배추김치분말을 첨가한 발효소시지 모두 그 함량이 10 mg/kg 이하인 것으로 확인되었다.

<표 3-89> 배추김치분말 첨가한 발효소시지의 바이오제닉아민 함량

(mg/kg)

Experimental groups ¹⁾	Biogenic amines							
	Trp ²⁾	Phe	Put	Cad	His	Tyr	Spd	Spm
Control	3.15±0.10 ³⁾	1.87±0.29	5.51±0.11 ^b	N.D ⁴⁾	N.D	18.06±2.84 ^b	6.54±1.82 ^{ab}	1.77±0.19 ^c
K0.5	3.14±0.20	2.20±0.26	6.50±0.44 ^a	3.06±0.06 ^a	4.43±0.05 ^a	26.05±0.13 ^a	4.66±1.56 ^{ab}	5.53±0.79 ^a
K1.0	3.02±0.06	2.67±0.60	5.76±0.13 ^{ab}	2.94±0.06 ^a	4.50±0.44 ^a	26.03±0.59 ^a	7.85±0.47 ^a	1.24±0.05 ^c
K2.0	2.97±0.00	2.80±0.43	5.85±0.30 ^{ab}	1.65±0.04 ^b	3.57±0.06 ^b	25.56±1.87 ^a	4.02±0.20 ^b	3.63±0.66 ^b

¹⁾Control; sausage without kimchi powder, K0.5; sausage with 0.5% kimchi powder, K1.0; sausage with 1.0% kimchi powder K2.0; sausage with 2.0% kimchi powder

²⁾Trp: tryptamine, Phe: β -phenylethylamine, Put: putrescine, Cad: cadaverine, His: histamine, Tyr: tyramine, Spd: spermidine, Spm: spermine

³⁾Results are expressed as the means ± standard deviation. ^{a-c}means with different letters within a row are significantly different at $p < 0.05$ as determined by Duncan's multiple-range test.

⁴⁾Not detected

(마) 관능적 특성 비교

배추김치분말을 첨가한 발효소시지의 관능평가는 <표 3-90>에 나타내었다. 색상은 대조군(Control)보다 배추김치분말 첨가군들(K0.5, K1.0, K2.0)이 유의적인 차이를 보였으며 지방산패도와 관련 있는 이취(Off-flavor)는 배추김치분말 첨가군들(K0.5, K1.0, K2.0)은 대조군(Control)보다 낮은 점수를 받았으며, 유의적인 차이를 확인하였다. 특히, 배추김치분말 2.0%를 첨가한 발효소시지의 맛, 다즙성 그리고 전체적인 기호도가 높게 평가되었다.

<표 3-90> 배추김치분말 첨가한 발효소시지의 관능평가

Experimental groups ¹⁾	Color	Flavor	Odour	Taste	Chewiness	Juiciness	Overall preference
Control	4.40±0.84 ^b	5.00±1.05	3.80±0.79 ^a	5.20±1.66 ^b	4.10±1.66 ^b	4.80±1.48 ^b	5.00±1.94 ^b
K0.5	5.10±0.88 ^{ab}	4.60±1.17	3.30±0.67 ^{ab}	5.80±0.79 ^{ab}	5.50±0.97 ^a	5.70±0.48 ^{ab}	5.90±0.74 ^b
K1.0	5.30±1.06 ^a	4.60±1.17	3.10±0.57 ^b	5.80±0.63 ^{ab}	5.10±0.88 ^b	5.70±0.95 ^{ab}	5.60±0.84 ^{ab}
K2.0	5.60±0.84 ^a	4.90±1.20	2.90±0.74 ^b	6.00±0.82 ^a	5.20±0.63 ^a	5.80±0.80 ^a	6.20±0.63 ^a

¹⁾Control; sausage without kimchi powder, K0.5; sausage with 0.5% kimchi powder, K1.0; sausage with 1.0% kimchi powder K2.0; sausage with 2.0% kimchi powder

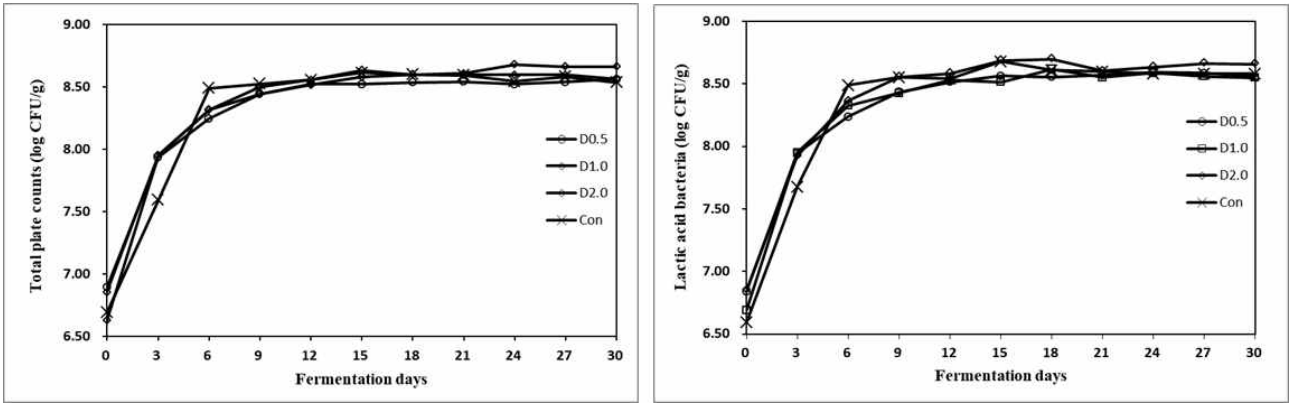
²⁾Results are expressed as the means ± standard deviation. ^{a-b}means with different letters within a row are significantly different at $p < 0.05$ as determined by Duncan's multiple-range test.

(2) 된장분말을 첨가하여 제조한 발효소시지

발효기간 동안 상업용스타터를 적용한 Control그룹의 총 균수는 발효 개시일로부터 3일까지 2.1×10^6 log CFU/g으로부터 1.4×10^9 log CFU/g으로 증가하였고, 이후 숙성 12일 부터 발효기간이 끝나는 시점까지 총 균수는 거의 변화가 없었다. 젖산균의 경우 총 균수와 마찬가지로 발효 개시일로부터 3일까지 3.9×10^6 log CFU/g으로부터 1.7×10^9 log CFU/g으로 증가하였고, 이후 숙성 15일 부터 발효기간이 끝나는 시점까지 평균 3.4×10^8 log CFU/g 수준을 유지하는 것을 확인하였다. 된장분말을 0.5, 1.0, 2.0%와 상업용스타터를 혼합 적용한 발효소시지의 경우 총 균수는 발효 개시일로부터 3일까지 평균 6.4×10^6 log CFU/g으로부터 1.9×10^9 log CFU/g으로 증가하였고, 이후 숙성 12일부터 발효기간이 끝나는 시점까지 총 균수는 거의 변화가 없었다. 젖산균의 경우 총 균수와 마찬가지로 발효 개시일로부터 3일까지 평균 6.0×10^6 log CFU/g으로부터 1.5×10^9 log CFU/g으로 증가하였고, 이후 숙성 15일부터 발효기간이 끝나는 시점까지 평균 1.2×10^9 log CFU/g 수준을 유지하였다.

육제품에서 검출되어서는 안되는 *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens* 등의 병원성미생물은 검출되지 않았다.

(가) 된장분말을 첨가하여 제조한 발효소시지의 미생물학적 특성



〈그림 3-54〉 된장분말 첨가한 발효소시지의 미생물학적 변화

(나) 된장분말을 첨가하여 제조한 발효소시지의 이화학적 특성

제조한 발효소시지의 건조감량을 확인한 결과, Control은 24일차, 된장분말을 첨가한 발효소시지군은 제조 21일차에 건조감량 약 40%에 도달하였다. 된장분말을 첨가한 소시지는 된장분말 첨가량에 상관없이 건조함량이 진행되었다.

〈표 3-91〉 된장분말 첨가한 발효소시지의 건조감량

Experimental groups ¹⁾	Fermentation days									
	3	6	9	12	15	21	24	27	30	
Control	12.6	20.7	26.6	33.4	38.0	38.5	39.1	42.0	43.0	
D0.5	14.2	22.8	32.5	34.4	37.0	41.2	42.3	43.7	46.7	
D1.0	17.7	22.5	27.8	31.8	33.8	37.7	38.5	41.0	43.7	
D2.0	13.4	23.5	30.6	35.5	37.6	40.4	41.1	37.6	45.5	

¹⁾Control; sausage without *Doenjang* powder, D0.5; sausage with 0.5% *Doenjang* powder, D1.0; sausage with 1.0% *Doenjang* powder D2.0; sausage with 2.0% *Doenjang* powder

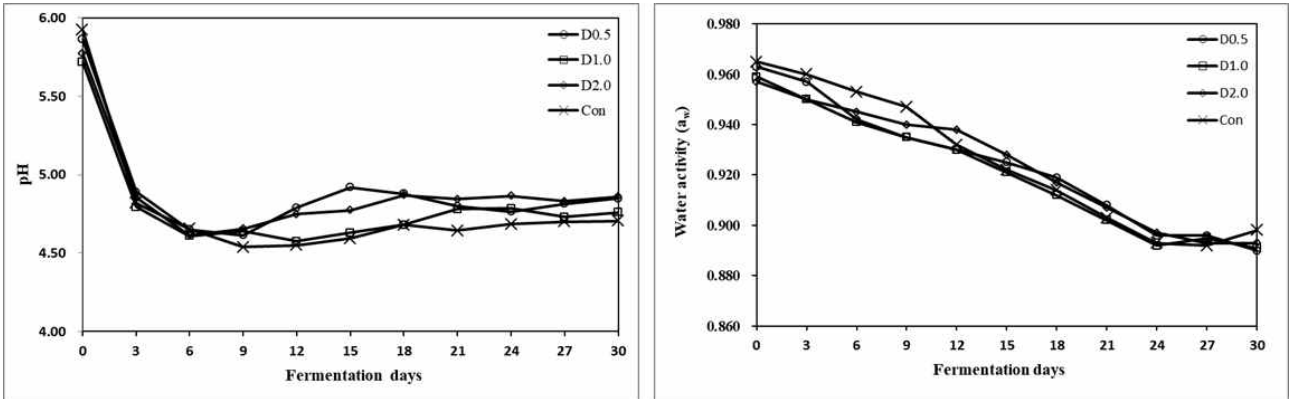
〈표 3-92〉 된장분말 첨가한 발효소시지의 염도

Experimental groups ¹⁾	Salinity (%)
Control	8.2±0.57
D0.5	16.6±0.85
D1.0	18.4±0.49
D2.0	19.6±0.57

¹⁾Control; sausage without *Doenjang* powder, D0.5; sausage with 0.5% *Doenjang* powder, D1.0; sausage with 1.0% *Doenjang* powder D2.0; sausage with 2.0% *Doenjang* powder

제조한 발효소시지의 염도 측정 결과 대조군(Control)은 8.2%의 염도가 측정되었고 된장분말을 첨가한 발효소시지그룹의 염도는 16.6~19.6% 수치로 측정되었다. 된장은 염도가 높은 식품

으로써 된장을 첨가하여 제조한 발효소시지의 염도 역시 높게 측정되어진 것으로 사료된다.



<그림 3-55> 된장분말 첨가한 발효소시지의 pH, a_w 변화

상업용스타터를 적용한 Control그룹의 pH값은 발효 개시일부터 3일까지 pH 5.93에서 pH 4.82로 급격하게 감소하는 것을 확인하였고 이후 숙성 15일부터 pH 값이 pH 4.60에서 발효시점이 끝나는 30일까지 pH 4.71으로 지속적으로 증가하는 것을 확인하였다. 된장분말을 0.5, 1.0, 2.0%와 상업용스타터를 혼합 적용한 발효소시지의 경우 pH값은 발효 개시일부터 3일까지 pH 5.72-5.87에서 pH 4.80-4.89로 감소하는 것을 확인하였고 이후 숙성 12일부터 pH 값이 pH 4.58-4.79에서 발효시점이 끝나는 30일까지 pH 4.76-4.86로 지속적인 값을 유지하는 것을 확인하였다. a_w의 경우 Control그룹과 실험군은 동일하게 발효 개시일 부터 발효시점이 끝나는 30일까지 지속적으로 감소하는 것을 확인하였다.

(다) 색도·물성·지방산패도 평가

<표 3-93> 된장분말 첨가한 발효소시지의 색도평가

Experimental groups ¹⁾	CIE L* (lightness)	CIE a* (redness)	CIE b* (yellowness)
Control	25.23±0.72 ^{a2)}	5.75±0.15	5.87±0.34
D0.5	25.02±0.17 ^a	5.79±0.08	5.97±0.09
D1.0	23.97±0.20 ^b	5.82±0.07	5.98±0.09
D2.0	23.42±0.24 ^b	5.76±0.06	6.01±0.10

¹⁾Control; sausage without *Doenjang* powder, D0.5; sausage with 0.5% *Doenjang* powder, D1.0; sausage with 1.0% *Doenjang* powder D2.0; sausage with 2.0% *Doenjang* powder

²⁾Results are expressed as the means ± standard deviation. ^{a-b}means with different letters within a row are significantly different at $p < 0.05$ as determined by Duncan's multiple-range test.

된장분말의 첨가비율에 따른 소시지의 색도를 비교한 결과는 <표 3-93>에 나타내었다. 명도를 나타내는 CIE L 값은 대조구와 0.5%를 첨가한 처리구 사이에는 차이가 없었으나 다른 처리

구들은 유의적으로 낮은 값을 보였다. 적색도를 나타내는 CIE a 값과 황색도를 나타내는 CIE b 값은 된장분말을 첨가하여도 유의적 차이를 보이지 않았다.

<표 3-94> 된장분말 첨가한 발효소시지의 물성평가

Experimental groups ¹⁾	Hardness	Springiness	Cohesiveness	Gumminess	Chewiness
Control	2.23±0.09 ^b	0.84±0.07	0.50±0.06	1.39±0.25 ^{ab}	1.04±0.15 ^b
D0.5	2.17±0.26 ^b	0.81±0.06	0.56±0.04	1.15±0.26 ^b	1.18±0.17 ^b
D1.0	2.37±0.18 ^b	0.81±0.06	0.51±0.02	1.29±0.13 ^b	1.04±0.09 ^b
D2.0	3.49±0.34 ^a	0.89±0.08	0.50±0.04	1.75±0.30 ^a	1.61±0.27 ^a

¹⁾Control; sausage without *Doenjang* powder, D0.5; sausage with 0.5% *Doenjang* powder, D1.0; sausage with 1.0% *Doenjang* powder D2.0; sausage with 2.0% *Doenjang* powder

²⁾Results are expressed as the means ±standard deviation.^{a-b}means with different letters within a row are significantly different at $p<0.05$ as determined by Duncan's multiple-range test.

된장분말 첨가 발효소시지의 물성평가는 <표 3-94>에 나타내었다. 육제품의 조직감은 함유된 지방이나 수분량 원료육의 상태 첨가물의 종류 등에 따라서 달라질 수 있고 또 가공 중의 가열온도의 차이에 의한단백질의 열변성정도가 달라져서 조직성 특성이 다르게 나타날 수 있다고 하였다. 경도는 대조구(Control)가 된장분말 첨가 소시지에 비해 현저하게 낮았다 ($p<0.05$). 겹성과 씹힘성은 대조구(Control)보다 유의적으로 높게 측정 되었다. 반면에, 응집성과 탄력성은 모든시료에서 유의적차이가 없었다.

<표 3-95> 된장분말 첨가한 발효소시지의 지방산패도

Experimental groups ¹⁾	Fermentation weeks				
	0	1	2	3	4
Control	0.59±0.15 ^{a2)}	0.98±0.00 ^b	1.16±0.06 ^b	1.54±0.17 ^b	1.88±0.03 ^b
D0.5	0.34±0.01 ^b	0.92±0.02 ^b	1.19±0.02 ^b	1.55±0.02 ^b	1.82±0.01 ^b
D1.0	0.54±0.00 ^{ab}	1.10±0.01 ^{ab}	1.70±0.00 ^a	1.76±0.00 ^{ab}	1.83±0.01 ^b
D2.0	0.71±0.00 ^a	1.52±0.31 ^{ab}	1.79±0.04 ^a	1.88±0.03 ^a	2.00±0.05 ^a

¹⁾Control; sausage without *Doenjang* powder, D0.5; sausage with 0.5% *Doenjang* powder, D1.0; sausage with 1.0% *Doenjang* powder D2.0; sausage with 2.0% *Doenjang* powder

³⁾Results are expressed as the means ±standard deviation.^{a-b}means with different letters within a row are significantly different at $p<0.05$ as determined by Duncan's multiple-range test.

저장 기간이 경과함에 따라 TBARS 값은 모든 군에서 유의적으로 증가하는 경향이었으나, 된장분말 첨가군(D0.5, D1.0)은 대조군(Control)과 유의하게 낮은 증가율을 보였다. 발효 4주째는 된장분말 첨가군, D2.0이 2.00 mg MAD/kg으로 가장 높은 TBARS 값을 나타내었고, 된장분말 첨가군(D2.0)은 2.00 mg MAD/kg으로 대조군(Control)에 비해 유의적으로 높은 TBARS값을 나타

내었다.

(라) 안전성평가(BA)

<표 3-96> 된장분말 첨가한 발효소시지의 바이오제닉아민 함량

(mg/kg)

Experimental groups ¹⁾	Biogenic amines							
	Trp ²⁾	Phe	Put	Cad	His	Tyr	Spd	Spm
Control	3.15±0.10 ³⁾	1.87±0.29 ^c	5.51±0.11	N.D ⁴⁾	N.D	18.06±2.84 ^b	6.54±1.82 ^a	1.77±0.19 ^c
D0.5	3.91±1.38	3.66±0.01 ^a	6.08±0.74	1.07±0.02 ^{ab}	2.78±0.17 ^a	33.63±5.66 ^{ab}	2.79±0.26 ^b	4.84±0.19 ^a
D1.0	4.54±0.41	2.23±0.16 ^{bc}	5.92±0.02	1.77±0.76 ^a	2.58±0.09 ^{ab}	42.93±5.61 ^a	1.65±0.15 ^b	3.19±0.34 ^b
D2.0	2.99±0.00	2.54±0.18 ^b	5.74±0.06	2.19±0.36 ^a	2.31±0.03 ^b	43.63±9.17 ^a	1.81±0.06 ^b	1.13±0.09 ^d

¹⁾Control; sausage without *Doenjang* powder, D0.5; sausage with 0.5% *Doenjang* powder, D1.0; sausage with 1.0% *Doenjang* powder D2.0; sausage with 2.0% *Doenjang* powder

²⁾Trp: tryptamine, Phe: β-phenylethylamine, Put: putrescine, Cad: cadaverine, His: histamine, Tyr: tyramine, Spd: spermidine, Spm: spermine

³⁾Results are expressed as the means ± standard deviation. ^{a-d}means with different letters within a row are significantly different at $p < 0.05$ as determined by Duncan's multiple-range test.

⁴⁾Not detected

제조한 발효소시지의 바이오제닉 아민 함량을 측정한 결과 Control그룹의 타이라민 함량의 경우 18.06 ± 2.84 mg/kg 검출되었고, 된장분말을 첨가한 발효소시지 그룹의 타이라민 함량은 각각 33.63 ± 5.66 , 42.93 ± 5.61 , 43.63 ± 9.17 mg/kg 검출되는 것을 확인하였다. 히스타민은 Control 그룹에서는 검출되지 않았으며 된장분말을 첨가한 발효소시지그룹에서는 각각 2.78 ± 0.17 , 2.58 ± 0.09 , 2.31 ± 0.03 수준으로 확인되었다. 기타 아민의 경우 Control그룹과 된장분말을 첨가한 발효소시지 모두 그 함량이 10 mg/kg 이하인 것으로 확인되었다.

(마) 관능검사

된장분말을 첨가한 발효소시지의 관능평가는 <표 3-97>에 나타내었다. 색상은 대조군(Control)과 된장분말 첨가군 모든 실험군에서 유의적인 차이를 보이지 않았으며 지방산패도와 관련 있는 이취(Off-flavor)는 된장분말 첨가군은 대조군(Control)보다 높은 점수를 받았으며, 유의적인차이를 확인하였다. 그러나 된장분말 첨가군의 불쾌취는 지방산패도와와의 연관성보다는 된장 특유의 향기로 인한 생성으로 사료된다. 된장분말 첨가군은 불쾌취로 인해 전체적인 기호도에서도 낮은 점수를 보였다.

<표 3-97> 된장분말 첨가한 발효소시지의 관능평가

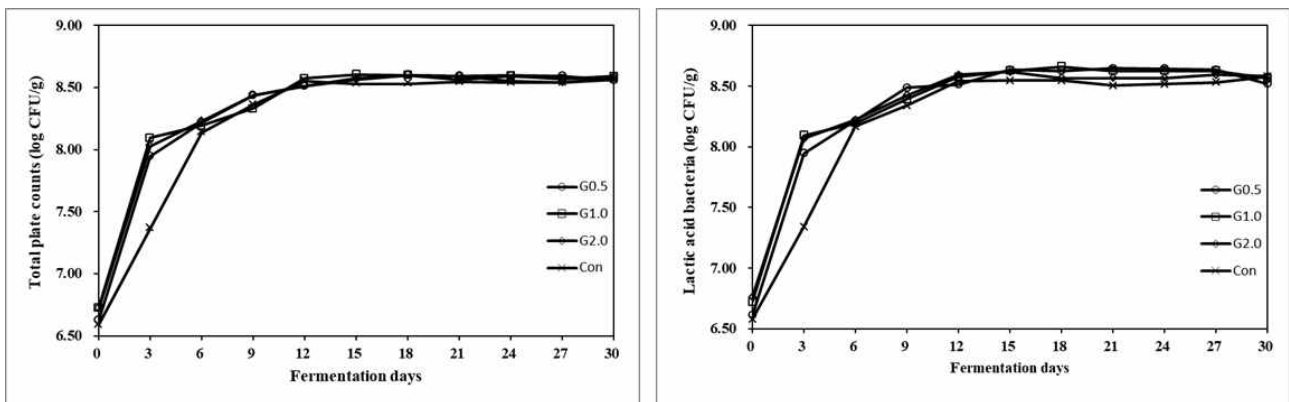
Experimental groups ¹⁾	Color	Flavor	Odour	Taste	Chewiness	Juiciness	Overall preference
Control	4.40±0.84 ²	5.00±1.05 ^a	3.80±0.79 ^b	5.20±0.92 ^a	4.10±1.66	4.80±1.48	5.00±1.94 ^a
D0.5	4.40±0.52	4.50±0.53 ^{ab}	3.20±0.63 ^b	4.70±0.95 ^{ab}	4.30±0.95	5.00±0.82	4.70±0.48 ^{ab}
D1.0	4.50±0.53	3.90±0.99 ^{bc}	4.80±1.32 ^a	4.20±0.79 ^b	4.40±1.43	5.10±0.99	4.30±0.67 ^{ab}
D2.0	4.50±0.71	3.10±0.88 ^c	5.10±0.99 ^a	3.90±0.74 ^b	4.40±0.84	5.00±0.67	3.70±0.67 ^b

¹Control; sausage without *Doenjang* powder, D0.5; sausage with 0.5% *Doenjang* powder, D1.0; sausage with 1.0% *Doenjang* powder D2.0; sausage with 2.0% *Doenjang* powder

²Results are expressed as the means ± standard deviation. ^{a-b}means with different letters within a row are significantly different at $p < 0.05$ as determined by Duncan's multiple-range test.

(3) 마늘분말을 첨가하여 제조한 발효소시지

(가) 마늘분말을 첨가하여 제조한 발효소시지의 미생물학적 특성



<그림 3-56> 마늘분말 첨가한 발효소시지의 미생물학적 변화

발효기간 동안 상업용스타터를 적용한 Control그룹의 총 균수는 발효 개시일로부터 3일까지 2.1×10^6 log CFU/g으로부터 1.4×10^9 log CFU/g으로 증가하였고, 이후 숙성 12일 부터 발효기간이 끝나는 시점까지 총 균수는 거의 변화가 없었다. 젖산균의 경우 총 균수와 마찬가지로 발효 개시일로부터 3일까지 3.9×10^6 log CFU/g으로부터 1.7×10^9 log CFU/g으로 증가하였고, 이후 숙성 15일 부터 발효기간이 끝나는 시점까지 평균 3.4×10^8 log CFU/g 수준을유지하는 것을 확인하였다. 마늘분말을 0.5, 1.0, 2.0%와 상업용스타터를 혼합 적용한 발효소시지의 경우 총 균수는 발효 개시일로부터 3일까지 평균 2.9×10^6 log CFU/g으로부터 1.6×10^9 log CFU/g으로 증가하였고, 이후 숙성 15일부터 발효기간이 끝나는 시점까지 총 균수는 거의 변화가 없었다.

젖산균의 경우 총 균수와 마찬가지로 발효 개시일로부터 3일까지 평균 4.0×10^6 log CFU/g으로부터 1.5×10^9 log CFU/g으로 증가하였고, 이후 숙성 15일부터 발효기간이 끝나는 시점까지 평균 6.5×10^8 log CFU/g 수준을 유지하였다.

육제품에서 검출되어서는 안되는 *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens* 등의 병원성미생물은 검출되지 않았다.

(나) 마늘분말을 첨가하여 제조한 발효소시지의 이화학적 특성

<표 3-98> 마늘분말 첨가한 발효소시지의 건조감량

Experimental groups ¹⁾	Fermentation days								
	3	6	9	12	15	21	24	27	30
Control	12.6	20.7	26.6	33.4	38.0	38.5	39.1	42.0	43.0
G0.5	10.4	18.9	29.6	31.4	33.7	36.7	39.7	40.4	43.3
G1.0	10.9	19.3	24.2	29.0	33.1	37.1	38.9	40.1	41.9
G2.0	10.9	20.7	25.6	34.1	36.7	38.0	40.7	43.8	44.9

¹⁾Control; sausage without garlic powder, G0.5; sausage with 0.5% garlic powder, G1.0; sausage with 1.0% garlic powder G2.0; sausage with 2.0% garlic powder

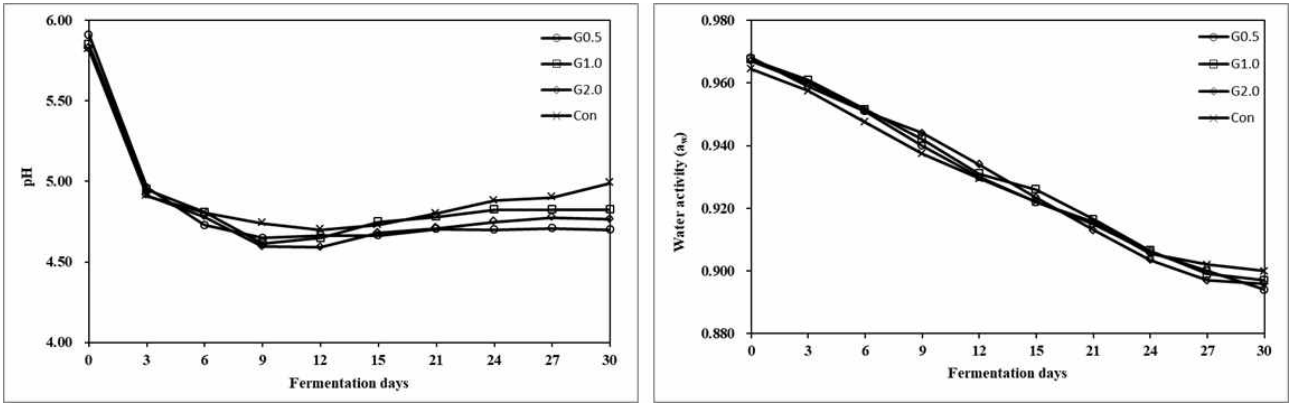
제조한 발효소시지의 건조감량을 확인한 결과, Control은 24일차, 마늘분말을 첨가한 발효소시지군은 제조 24일차에 건조감량 약 40%에 도달하였다. 된장분말을 첨가한 소시지는 된장분말 첨가량에 상관없이 건조함량이 진행되었다.

<표 3-99> 마늘분말 첨가한 발효소시지의 염도

Experimental groups ¹⁾	Salinity (%)
Control	8.2±0.57
G0.5	8.1±0.42
G1.0	8.0±0.85
G2.0	8.2±0.49

¹⁾Control; sausage without garlic powder, G0.5; sausage with 0.5% garlic powder, G1.0; sausage with 1.0% garlic powder G2.0; sausage with 2.0% garlic powder

제조한 발효소시지의 염도 측정 결과 대조군(Control)은 8.2%의 염도가 측정되었고 마늘분말을 첨가한 발효소시지그룹의 염도는 8.0~8.2% 수치로 측정되었다. 대조군(Control)과 마늘첨가군의 염도는 유의적 차이가 나타나지 않았다.



<그림 3-57> 마늘분말 첨가한 발효소시지의 pH, a_w 변화

상업용스타터를 적용한 Control그룹의 pH값은 발효 개시일부터 3일까지 pH 5.82에서 pH 4.91로 급격하게 감소하는 것을 확인하였고 이후 숙성 15일부터 pH 값이 pH 4.73에서 발효시점이 끝나는 30일까지 pH 4.99으로 지속적으로 증가하는 것을 확인하였다. 마늘분말을 0.5, 1.0, 2.0%와 상업용스타터를 혼합 적용한 발효소시지의 경우 pH값은 발효 개시일부터 3일까지 pH 5.83-5.91에서 pH 4.92-4.96로 감소하는 것을 확인하였고 이후 숙성 12일부터 pH 값이 pH 4.59-4.67에서 발효시점이 끝나는 30일까지 pH 4.70-4.83로 지속적인 값을 유지하는 것을 확인하였다. a_w의 경우 Control그룹과 실험군은 동일하게 발효 개시일 부터 발효시점이 끝나는 30일까지 지속적으로 감소하는 것을 확인하였다.

(다) 색도·물성·지방산패도 평가

마늘분말의 첨가비율에 따른 소시지의 색도를 비교한 결과는 <표 3-100>에 나타내었다. 마늘 첨가군은 다른 첨가물과 다르게 CIE L, CIE a, CIE b 값이 대조구와 처리구 사이에 유의적인 차이가 없었다.

<표 3-100> 마늘분말 첨가한 발효소시지의 색도평가

Experimental groups ¹⁾	CIE L* (lightness)	CIE a* (redness)	CIE b* (yellowness)
Control	25.23±0.72 ²⁾	5.75±0.15	5.87±0.34
G0.5	25.08±0.18	5.77±0.05	6.07±0.09
G1.0	25.16±0.16	5.73±0.03	5.99±0.10
G2.0	25.08±0.12	5.77±0.06	5.96±0.13

¹⁾Control; sausage without garlic powder, G0.5; sausage with 0.5% garlic powder, G1.0; sausage with 1.0% garlic powder G2.0; sausage with 2.0% garlic powder

²⁾Results are expressed as the means ±standard deviation. means with different letters within a row are significantly different at $p < 0.05$ as determined by Duncan's multiple-range test.

마늘분말 첨가 발효소시지의 물성평가는 <표 3-101>에 나타내었다. 경도는 대조구(Control)가 마늘분말 첨가 소시지에 비해 현저하게 낮았다 ($p < 0.05$). 탄력성, 점성 그리고 씹힘성은 대조구(Control)보다 유의적으로 높게 측정 되었다. 반면에, 응집성은 모든시료에서 유의적차이가 없었다.

<표 3-101> 마늘분말 첨가한 발효소시지의 물성평가

Experimental groups ¹⁾	Hardness	Springiness	Cohesiveness	Gumminess	Chewiness
Control	2.23±0.09 ^{c2)}	0.84±0.07 ^b	0.50±0.06	1.39±0.25 ^{ab}	1.04±0.15 ^b
G0.5	2.62±0.48 ^{bc}	0.97±0.08 ^a	0.46±0.01	1.19±0.19 ^b	1.14±0.09 ^b
G1.0	2.87±0.24 ^{ab}	0.88±0.09 ^{ab}	0.47±0.04	1.38±0.23 ^{ab}	1.20±0.10 ^b
G2.0	3.28±0.41 ^a	0.98±0.05 ^a	0.49±0.04	1.59±0.08 ^a	1.55±0.10 ^a

¹⁾Control; sausage without garlic powder, G0.5; sausage with 0.5% garlic powder, G1.0; sausage with 1.0% garlic powder G2.0; sausage with 2.0% garlic powder

²⁾Results are expressed as the means ±standard deviation. ^{a-b}means with different letters within a row are significantly different at $p < 0.05$ as determined by Duncan's multiple-range test.

저장기간이 경과함에 따라 TBARS 값은 모든 군에서 유의적으로 증가하는 경향이었으나, 마늘분말 첨가군(G0.5, G1.0)은 대조군(Control)과 유의하게 낮은 증가율을 보였다. 발효 4주째는 마늘분말 첨가군, G2.0이 1.91 mg MAD/kg으로 가장 높은 TBARS 값을 나타내었다.

<표 3-102> 마늘분말 첨가한 발효소시지의 지방산패도

Experimental groups ¹⁾	Fermented weeks				
	0	1	2	3	4
Control	0.59±0.15 ^a	0.98±0.00 ^c	1.16±0.06 ^b	1.54±0.17 ^b	1.88±0.03 ^{ab}
G0.5	0.27±0.00 ^b	0.82±0.01 ^d	1.10±0.01 ^b	1.54±0.05 ^b	1.80±0.02 ^c
G1.0	0.49±0.01 ^a	1.09±0.00 ^b	1.59±0.01 ^a	1.76±0.01 ^{ab}	1.85±0.01 ^{bc}
G2.0	0.69±0.01 ^a	1.32±0.02 ^a	1.64±0.06 ^a	1.82±0.03 ^a	1.91±0.00 ^a

¹⁾Control; sausage without garlic powder, G0.5; sausage with 0.5% garlic powder, G1.0; sausage with 1.0% garlic powder G2.0; sausage with 2.0% garlic powder

²⁾Results are expressed as the means ±standard deviation. ^{a-d}means with different letters within a row are significantly different at $p < 0.05$ as determined by Duncan's multiple-range test.

(라) 안전성평가(BA)

제조한 발효소시지의 바이오제닉 아민 함량을 측정한 결과 Control그룹의 타이라민 함량의 경우 18.06 ± 2.84 mg/kg 검출되었고, 마늘분말을 첨가한 발효소시지 그룹의 타이라민 함량은 각각 18.71 ± 2.23 , 18.03 ± 0.41 , 21.27 ± 1.80 mg/kg으로 검출되었다. 히스타민은 Control 그룹은 검출되지 않았고 마늘분말을 첨가한 발효소시지 그룹은 각각 2.02 ± 0.12 , 1.90 ± 0.20 , 4.77 ± 1.26 mg/kg 으로 확인되었다. 기타 아민의 경우 Control그룹과 된장분말을 첨가한 발효소시지 모두 그 함량이 10 mg/kg 이하인 것으로 확인되었다.

<표 3-103> 마늘분말 첨가한 발효소시지의 바이오제닉아민 함량

(mg/kg)

Experimental groups ¹⁾	Biogenic amines							
	Trp ²⁾	Phe	Put	Cad	His	Tyr	Spd	Spm
Control	$3.15 \pm 0.10^{bc3)}$	1.87 ± 0.29	5.51 ± 0.11^b	N.D ⁴⁾	N.D	18.06 ± 2.84	6.54 ± 1.82^a	1.77 ± 0.19
G0.5	3.31 ± 0.02^{ab}	2.07 ± 0.11	5.61 ± 0.05^b	1.40 ± 0.26^a	2.02 ± 0.12^b	18.71 ± 2.23	2.65 ± 0.33^P	4.12 ± 1.83
G1.0	3.41 ± 0.08^a	2.74 ± 0.94	6.23 ± 0.21^a	1.61 ± 0.12^a	1.90 ± 0.20^b	18.03 ± 0.41	2.23 ± 0.04^b	1.60 ± 0.41
G2.0	3.04 ± 0.04^c	2.62 ± 0.65	5.72 ± 0.01^b	1.04 ± 0.04^a	4.77 ± 1.26^a	21.27 ± 1.80	2.21 ± 0.02^b	1.50 ± 0.70

¹⁾Control; sausage without garlic powder, G0.5; sausage with 0.5% garlic powder, G1.0; sausage with 1.0% garlic powder G2.0; sausage with 2.0% garlic powder

²⁾Trp: tryptamine, Phe: β -phenylethylamine, Put: putrescine, Cad: cadaverine, His: histamine, Tyr: tyramine, Spd: spermidine, Spm: spermine

³⁾Results are expressed as the means \pm standard deviation.^{a-c}means with different letters within a row are significantly different at $p < 0.05$ as determined by Duncan's multiple-range test.

⁴⁾Not detected

(마) 관능검사

<표 3-104> 마늘분말 첨가한 발효소시지의 관능평가

Experimental groups ¹⁾	Color	Flavor	Odour	Taste	Chewiness	Juiciness	Overall preference
Control	4.40 ± 0.84	5.00 ± 1.05	3.80 ± 0.79	$5.20 \pm 0.92^{a2)}$	4.10 ± 1.66	4.80 ± 1.48	5.00 ± 1.94
G0.5	4.60 ± 0.84	4.80 ± 1.32	3.80 ± 0.79	4.70 ± 0.82^{ab}	4.50 ± 1.18	4.70 ± 0.82	4.10 ± 1.10
G1.0	4.60 ± 0.97	5.10 ± 1.20	3.20 ± 0.63	5.00 ± 0.82^a	4.60 ± 0.97	4.80 ± 0.79	4.80 ± 1.14
G2.0	4.70 ± 0.95	4.80 ± 1.32	3.20 ± 0.63	4.20 ± 0.79^b	4.70 ± 0.82	$4.70 \pm 0.9a$	4.30 ± 1.57

¹⁾Control; sausage without garlic powder, G0.5; sausage with 0.5% garlic powder, G1.0; sausage with 1.0% garlic powder G2.0; sausage with 2.0% garlic powder

²⁾Results are expressed as the means \pm standard deviation.^{a-b}means with different letters within a row are significantly different at $p < 0.05$ as determined by Duncan's multiple-range test.

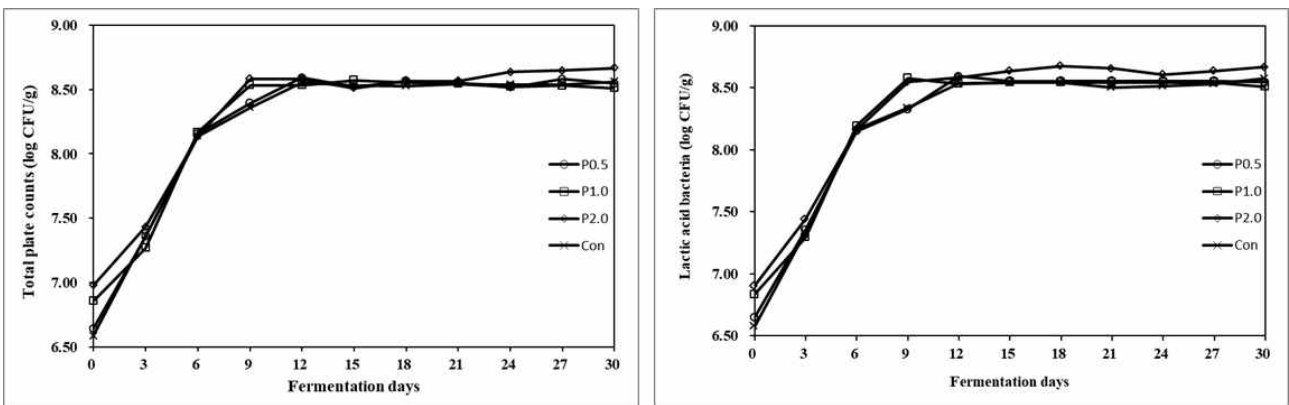
마늘분말을 첨가한 발효소시지의 관능평가는 <표 3-104>에 나타내었다. 색상, 향, 불쾌취, 씹힘성, 다즙성 그리고 전체적인 기호도는 대조군(Control)과 마늘분말 첨가군 모든 실험군에서 유의적인 차이를 보이지 않았다. 맛의 평가항목에서 마늘분말 2.0% 첨가군의 시료는 관능패널 대부분은 마늘의 뽀은맛을 느껴 다른 처리구 보다 낮은 점수로 측정하였다.

(4) 잣분말을 첨가하여 제조한 발효소시지

(가) 잣분말을 첨가하여 제조한 발효소시지의 미생물학적 특성

발효기간 동안 상업용스타터를 적용한 Control그룹의 총 균수는 발효 개시일로부터 3일까지 2.1×10^6 log CFU/g으로부터 1.4×10^9 log CFU/g으로 증가하였고, 이후 숙성 12일 부터 발효기간이 끝나는 시점까지 총 균수는 거의 변화가 없었다. 젖산균의 경우 총 균수와 마찬가지로 발효 개시일로부터 3일까지 3.9×10^6 log CFU/g으로부터 1.7×10^9 log CFU/g으로 증가하였고, 이후 숙성 15일 부터 발효기간이 끝나는 시점까지 평균 3.4×10^8 log CFU/g 수준을유지하는 것을 확인하였다. 잣분말을 0.5, 1.0, 2.0%와 상업용스타터를 혼합 적용한 발효소시지의 경우 총 균수는 발효 개시일로부터 3일까지 평균 2.2×10^6 log CFU/g으로부터 2.7×10^9 log CFU/g으로 증가하였고, 이후 숙성 12일부터 발효기간이 끝나는 시점까지 총 균수는 거의 변화가 없었다. 젖산균의 경우 총 균수와 마찬가지로 발효 개시일로부터 3일까지 평균 2.3×10^6 log CFU/g으로부터 2.6×10^9 log CFU/g으로 증가하였고, 이후 숙성 15일부터 발효기간이 끝나는 시점까지 평균 4.4×10^8 log CFU/g 수준을 유지하였다.

육제품에서 검출되어서는 안되는 *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens* 등의 병원성미생물은 검출되지 않았다.



<그림 3-58> 잣분말 첨가한 발효소시지의 미생물학적 변화

(나) 잣분말을 첨가하여 제조한 발효소시지의 이화학적 특성

제조한 발효소시지의 건조감량을 확인한 결과, Control은 24일차, 잣분말을 첨가한 발효소시지군은 제조 27일차에 건조감량 약 40%에 도달하였다.

제조한 발효소시지의 염도 측정 결과 대조군(Control)은 8.2%의 염도가 측정되었고 잣분말을 첨가한 발효소시지그룹의 염도는 8.2~8.4% 수치로 측정되었다. 대조군(Control)과 잣분말 첨가군의 염도는 유의적 차이가 나타나지 않았다.

<표 3-105> 잣분말 첨가한 발효소시지의 건조감량

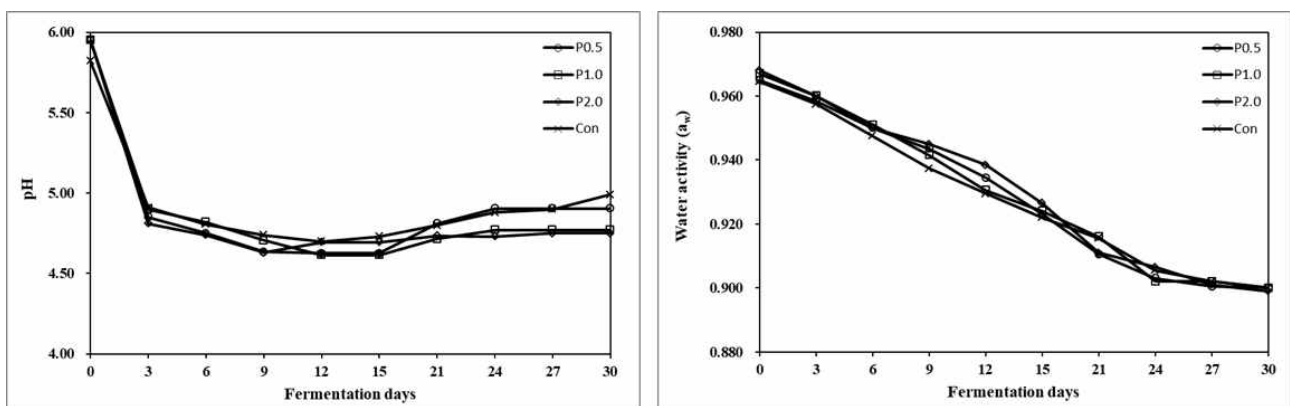
Experimental groups ¹⁾	Fermentation days								
	3	6	9	12	15	21	24	27	30
Control	12.6	20.7	26.6	33.4	38.0	38.5	39.1	42.0	43.0
P0.5	11.9	19.2	28.8	32.0	35.0	37.1	37.3	40.4	41.7
P1.0	10.4	17.0	26.2	30.3	33.5	35.2	37.8	40.0	41.3
P2.0	10.1	17.9	27.6	31.4	33.1	35.2	37.4	40.6	41.2

¹⁾Control; sausage without pine nut powder, P0.5; sausage with 0.5% pine nut powder, P1.0; sausage with 1.0% pine nut powder P2.0; sausage with 2.0% pine nut powder

<표 3-106> 잣분말 첨가한 발효소시지의 염도

Experimental groups ¹⁾	Salinity (%)
Control	8.2±0.57
P0.5	8.3±0.49
P1.0	8.4±0.35
P2.0	8.2±0.57

¹⁾Control; sausage without pine nut powder, P0.5; sausage with 0.5% pine nut powder, P1.0; sausage with 1.0% pine nut powder P2.0; sausage with 2.0% pine nut powder



<그림 3-59> 잣분말 첨가한 발효소시지의 pH, a_w 변화

상업용스타터를 적용한 Control그룹의 pH값은 발효 개시일부터 3일까지 pH 5.82에서 pH 4.91로 급격하게 감소하는 것을 확인하였고 이후 숙성 15일부터 pH 값이 pH 4.73에서 발효시 점이 끝나는 30일까지 pH 4.99으로 지속적으로 증가하는 것을 확인하였다. 잣분말을 0.5, 1.0,

2.0%와 상업용스타터를 혼합 적용한 발효소시지의 경우 pH값은 발효 개시일부터 3일까지 pH 5.95-5.96에서 pH 4.81-4.90로 감소하는 것을 확인하였고 이후 숙성 12일부터 pH 값이 pH 4.62-4.70에서 발효시점이 끝나는 30일까지 pH 4.75-4.91로 지속적인 값을 유지하는 것을 확인하였다. a_w 의 경우 Control그룹과 실험군은 동일하게 발효 개시일 부터 발효시점이 끝나는 30일까지 지속적으로 감소하는 것을 확인하였다.

(다) 색도·물성·지방산패도 평가

잣분말을 첨가하여도 명도를 나타내는 CIE L 값은 대조구와 처리구 사이에 유의적 차이가 없었다. 적색도를 나타내는 CIE a 값과 황색도를 나타내는 CIE b 값 또한 대조구와 처리구 사이에 유의적인 차이가 없었다.

육제품의 조직감은 함유된 첨가물의 종류 에 따라서 달라질 수 있다. 그러나 잣분말을 첨가한 발효소시지의 경도, 탄력성 그리고 응집성에서는 대조구(Control)와 유의적차이가 나타나지 않았다. 점성과 씹힘성은 대조구(Control)보다 유의적으로 높게 측정 되었다.

<표 3-107> 잣분말 첨가한 발효소시지의 색도평가

Experimental groups ¹⁾	CIE L* (lightness)	CIE a* (redness)	CIE b* (yellowness)
Control	25.23±0.72 ²⁾	5.75±0.15	5.87±0.34
P0.5	25.1±0.43	5.72±0.08	5.99±0.11
P1.0	25.05±0.16	5.70±0.03	5.97±0.06
P2.0	24.97±0.27	5.69±0.06	5.97±0.11

¹⁾Control; sausage without pine nut powder, P0.5; sausage with 0.5% pine nut powder, P1.0; sausage with 1.0% pine nut powder P2.0; sausage with 2.0% pine nut powder

²⁾Results are expressed as the means ±standard deviation. ^{a-b}means with different letters within a row are significantly different at $p < 0.05$ as determined by Duncan's multiple-range test.

<표 3-108> 잣분말 첨가한 발효소시지의 물성평가

Experimental groups ¹⁾	Hardness	Springiness	Cohesiveness	Gumminess	Chewiness
Control	3.30±0.59 ²⁾	0.95±0.06	0.95±0.06	1.64±0.35 ^a	1.58±0.33 ^a
P0.5	2.74±0.38	0.87±0.11	0.87±0.02	1.18±0.18 ^b	1.01±0.05 ^b
P1.0	2.79±0.50	0.80±0.10	0.80±0.05	1.36±0.30 ^{ab}	1.09±0.29 ^b
P2.0	3.02±0.40	0.91±0.10	0.91±0.04	1.36±0.20 ^{ab}	1.24±0.26 ^{ab}

¹⁾Control; sausage without pine nut powder, P0.5; sausage with 0.5% pine nut powder, P1.0; sausage with 1.0% pine nut powder P2.0; sausage with 2.0% pine nut powder

²⁾Results are expressed as the means ±standard deviation. ^{a-b}means with different letters within a row are significantly different at $p < 0.05$ as determined by Duncan's multiple-range test.

<표 3-109> 잣분말 첨가한 발효소시지의 지방산패도

Experimental groups ¹⁾	Fermentation weeks				
	0	1	2	3	4
Control	0.59±0.15 ^{b2)}	0.98±0.00 ^c	1.16±0.06 ^c	1.54±0.17 ^c	1.88±0.03 ^d
P0.5	0.43±0.00 ^b	0.92±0.02 ^d	1.51±0.02 ^b	2.00±0.05 ^b	2.61±0.05 ^c
P1.0	0.83±0.00 ^a	1.31±0.01 ^b	1.56±0.02 ^b	2.32±0.02 ^a	2.92±0.02 ^b
P2.0	0.96±0.01 ^a	1.56±0.02 ^a	1.75±0.03 ^a	2.47±0.04 ^a	3.58±0.02 ^a

¹⁾Control; sausage without pine nut powder, P0.5; sausage with 0.5% pine nut powder, P1.0; sausage with 1.0% pine nut powder P2.0; sausage with 2.0% pine nut powder

²⁾Results are expressed as the means ± standard deviation. ^{a-b}means with different letters within a row are significantly different at $p < 0.05$ as determined by Duncan's multiple-range test.

저장 기간이 경과함에 따라 TBARS 값은 모든 군에서 유의적으로 증가하는 경향이었으나, 잣분말 첨가군(P0.5, P1.0, P2.0)은 대조군(Control)보다 유의하게 높은 증가율을 보였다. 발효 4주째는 대조군(Control)이 1.88 mg MAD/kg으로 가장 낮은 TBARS 값을 나타내었고, 잣분말 첨가군들(P0.5, P1.0, P2.0)은 각각 2.61 2.92, 2.98 mg MAD/kg으로 대조군(N)에 비해 유의적으로 높은 TBARS 값을 나타내었다. 육제품의 TBARS 값은 2 mg MAD/kg 이하로 설정되어있는데, 잣분말 첨가군(P0.5, P1.0, P2.0)의 TBARS 값은 2 mg MAD/kg 이상으로 측정되어 적합하지 않음을 확인하였다.

(라) 안전성평가(BA)

<표 3-110> 잣분말 첨가한 발효소시지의 바이오제닉아민 함량

(mg/kg)

Experimental groups ¹⁾	Biogenic amines							
	Trp ²⁾	Phe	Put	Cad	His	Tyr	Spd	Spm
Control	3.15±0.10 ^{b3)}	1.87±0.29 ^b	5.51±0.11	N.D ⁴⁾	N.D	18.06±2.84 ^c	6.54±1.82 ^a	1.77±0.19 ^b
P0.5	3.50±0.06 ^b	2.41±0.95 ^{ab}	5.56±0.19	1.25±0.04 ^a	4.56±0.84 ^{ab}	31.27±0.53 ^b	3.48±0.34 ^{ab}	2.43±0.12 ^{ab}
P1.0	5.19±0.25 ^a	3.66±0.01 ^a	5.53±0.02	1.30±0.20 ^a	4.79±0.12 ^a	31.83±3.56 ^b	2.72±1.46 ^b	2.96±0.54 ^a
P2.0	4.76±0.15 ^a	1.81±0.20 ^b	5.77±0.49	1.27±0.10 ^a	3.43±0.12 ^b	39.28±2.73 ^a	3.14±0.25 ^b	2.75±0.11 ^a

¹⁾Control; sausage without pine nut powder, P0.5; sausage with 0.5% pine nut powder, P1.0; sausage with 1.0% pine nut powder P2.0; sausage with 2.0% pine nut powder

²⁾Trp: tryptamine, Phe: β-phenylethylamine, Put: putrescine, Cad: cadaverine, His: histamine, Tyr: tyramine, Spd: spermidine, Spm: spermine

³⁾Results are expressed as the means ± standard deviation. ^{a-b}means with different letters within a row are significantly different at $p < 0.05$ as determined by Duncan's multiple-range test.

⁴⁾Not detected

제조한 발효소시지의 바이오제닉 아민 함량을 측정한 결과 Control그룹의 타이라민 함량의

경우 18.06 ± 2.84 mg/kg 검출되었고, 잣분말을 첨가한 발효소시지 그룹의 타이라민 함량은 각각 31.27 ± 0.53 , 31.83 ± 3.56 , 39.28 ± 2.73 mg/kg 으로 검출되었다. 히스타민은 잣분말을 첨가한 발효소시지 그룹에서 각각 4.56 ± 0.84 , 4.79 ± 0.12 , 3.43 ± 0.12 mg/kg 으로 검출되었다. 기타 아민의 경우 Control그룹과 잣분말을 첨가한 발효소시지 모두 그 함량이 10 mg/kg 이하인 것으로 확인되었다.

(마) 관능검사

<표 3-111> 잣분말 첨가한 발효소시지의 관능평가

Experimental groups ¹⁾	Color	Flavor	Odour	Taste	Chewiness	Juiciness	Overall preference
Control	4.40±0.84	5.00±1.05 ^a	3.80±0.84 ^b	5.20±0.92 ^a	4.10±1.66	4.80±1.48	5.00±1.94 ^a
P0.5	4.50±1.08	4.50±1.08 ^{ab}	4.20±1.14 ^{ab}	3.30±1.83 ^b	5.00±1.63	4.20±0.92	4.00±1.63 ^{ab}
P1.0	4.50±0.97	3.60±0.97 ^b	4.40±0.97 ^a	3.00±1.41 ^b	4.40±1.17	4.30±0.67	3.20±1.48 ^b
P2.0	4.50±0.97	3.60±1.07 ^b	4.50±0.97 ^a	3.40±1.07 ^b	4.50±0.53	4.10±0.74	3.70±1.49 ^{ab}

¹⁾Control; sausage without pine nut powder, P0.5; sausage with 0.5% pine nut powder, P1.0; sausage with 1.0% pine nut powder P2.0; sausage with 2.0% pine nut powder

²⁾Results are expressed as the means ± standard deviation. ^{a-b}means with different letters within a row are significantly different at $p < 0.05$ as determined by Duncan's multiple-range test.

지방산패도와 관련 있는 이취(Off-flavor)는 잣분말 첨가군들(P0.5, P1.0, P2.0)은 대조군(Control)보다 높은 점수를 받았으며, 유의적인차이를 확인하였다. 특히 잣분말을 첨가한 발효소시지의 맛은 함량과 상관없이 대조군(Control)보다 낮은 점수를 받았으며, 유의적인차이를 확인하였다.

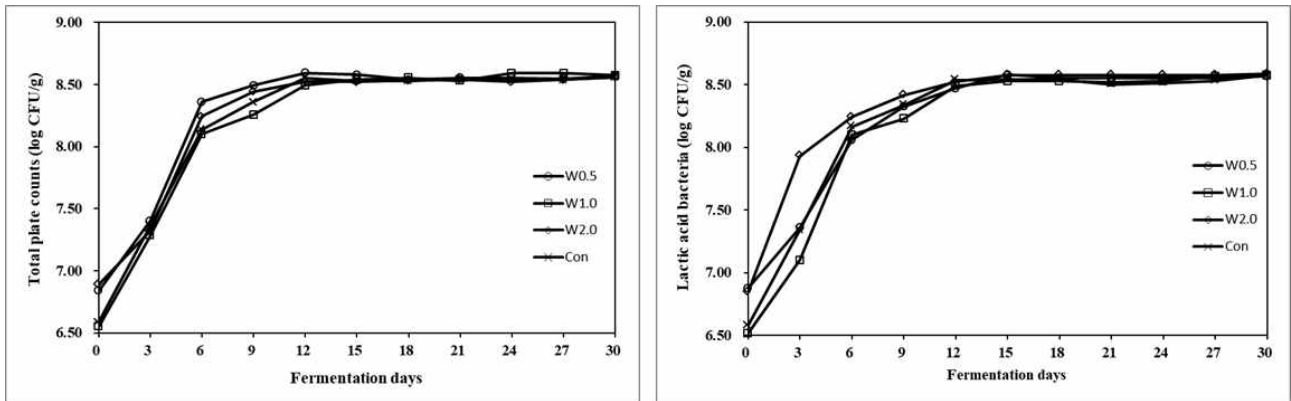
(5) 호두분말을 첨가하여 제조한 발효소시지

(가) 호두분말을 첨가하여 제조한 발효소시지의 미생물학적 특성

발효기간 동안 상업용스타터를 적용한 Control그룹의 총 균수는 발효 개시일로부터 3일까지 2.1×10^6 log CFU/g으로부터 1.4×10^9 log CFU/g으로 증가하였고, 이후 숙성 12일 부터 발효기간이 끝나는 시점까지 총 균수는 거의 변화가 없었다. 젖산균의 경우 총 균수와 마찬가지로 발효 개시일로부터 3일까지 3.9×10^6 log CFU/g으로부터 1.7×10^9 log CFU/g으로 증가하였고, 이후 숙성 15일 부터 발효기간이 끝나는 시점까지 평균 3.4×10^8 log CFU/g 수준을유지하는 것을 확인하였다. 호두분말을 0.5, 1.0, 2.0%와 상업용스타터를 혼합 적용한 발효소시지의 경우 총 균수는 발효 개시일로부터 3일까지 평균 1.1×10^6 log CFU/g으로부터 1.6×10^9 log CFU/g으로 증가하였고, 이후 숙성 15일부터 발효기간이 끝나는 시점까지 총 균수는 거의 변화가 없었다. 젖산균의 경우 총 균수와 마찬가지로 발효 개시일로부터 3일까지 평균 2.6×10^6 log CFU/g으로부터 1.6×10^9 log CFU/g으로 증가하였고, 이후 숙성 15일부터 발효기간이 끝나는 시점까지 평균 5.5×10^8 log CFU/g 수준을 유지하였다.

육제품에서 검출되어서는 안되는 *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp.,

Staphylococcus aureus, *Clostridium perfringens* 등의 병원성미생물은 검출되지 않았다.



<그림 3-60> 호두분말 첨가한 발효소시지의 미생물학적 변화

(나) 이화학적 특성

제조한 발효소시지의 건조감량을 확인한 결과, Control은 24일차, 된장분말을 첨가한 발효소시지군은 제조 27일차에 건조감량 약 40%에 도달하였다. 된장분말을 첨가한 소시지는 된장분말 첨가량에 상관없이 건조함량이 진행되었다.

<표 3-112> 호두분말 첨가한 발효소시지의 건조감량

Experimental groups ¹⁾	Fermentation days									
	3	6	9	12	15	21	24	27	30	
Control	12.6	20.7	26.6	33.4	38.0	38.5	39.1	42.0	43.0	
W0.5	11.2	18.9	27.1	30.5	33.9	36.9	38.5	40.8	42.9	
W1.0	10.5	19.2	28.8	32.7	36.1	36.1	36.1	41.0	42.7	
W2.0	9.2	18.5	28.7	33.8	36.4	36.4	38.5	40.5	42.5	

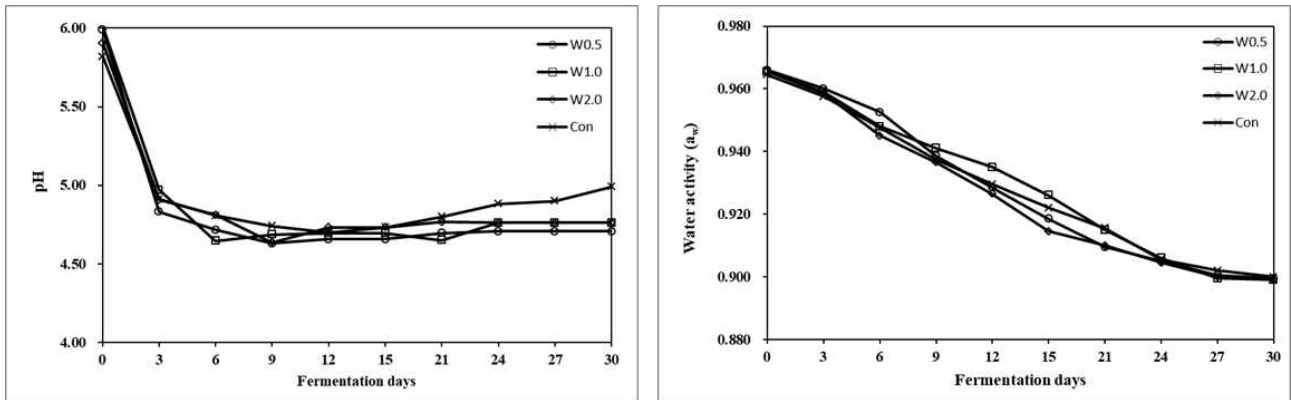
¹⁾Control; sausage without walnut powder, W0.5; sausage with 0.5% walnut powder, W1.0; sausage with 1.0% walnut powder W2.0; sausage with 2.0% walnut powder

<표 3-113> 호두분말 첨가한 발효소시지의 염도

Experimental groups ¹⁾	Salinity (%)
Control	8.2±0.57
W0.5	8.2±0.64
W1.0	8.0±0.28
W2.0	8.2±0.35

¹⁾Control; sausage without walnut powder, W0.5; sausage with 0.5% walnut powder, W1.0; sausage with 1.0% walnut powder W2.0; sausage with 2.0% walnut powder

제조한 발효소시지의 염도 측정 결과 대조군(Control)은 8.2%의 염도가 측정되었고 호두분말을 첨가한 발효소시지그룹의 염도는 8.0~8.2% 수치로 측정되었다. 대조군(Control)과 호두첨가군의 염도는 유의적 차이가 나타나지 않았다.



<그림 3-61> 호두분말 첨가한 발효소시지의 pH, a_w 변화

상업용스타터를 적용한 Control그룹의 pH값은 발효 개시일부터 3일까지 pH 5.82에서 pH 4.91로 급격하게 감소하는 것을 확인하였고 이후 숙성 15일부터 pH 값이 pH 4.73에서 발효시점이 끝나는 30일까지 pH 4.99로 지속적으로 증가하는 것을 확인하였다. 호두분말을 0.5, 1.0, 2.0%와 상업용스타터를 혼합 적용한 발효소시지의 경우 pH값은 발효 개시일부터 3일까지 pH 5.91-6.01에서 pH 4.83-4.91로 감소하는 것을 확인하였고 이후 숙성 12일부터 pH 값이 pH 4.66-4.73에서 발효시점이 끝나는 30일까지 pH 4.71-4.76로 지속적인 값을 유지하는 것을 확인하였다. a_w의 경우 Control그룹과 실험군은 동일하게 발효 개시일 부터 발효시점이 끝나는 30일까지 지속적으로 감소하는 것을 확인하였다.

(다) 색도·물성·지방산패도 평가

<표 3-114> 호두분말 첨가한 발효소시지의 색도평가

Experimental groups ¹⁾	CIE L* (lightness)	CIE a* (redness)	CIE b* (yellowness)
Control	25.23±0.72 ²⁾	5.75±0.15	5.87±0.34
W0.5	25.15±0.13	5.74±0.05	5.97±0.05
W1.0	24.94±0.09	5.73±0.07	6.00±0.09
W2.0	25.12±0.12	5.72±0.07	5.96±0.12

¹⁾Control; sausage without walnut powder, W0.5; sausage with 0.5% walnut powder, W1.0; sausage with 1.0% walnut powder W2.0; sausage with 2.0% walnut powder

²⁾Results are expressed as the means ±standard deviation. ^{a-b}means with different letters within a row are significantly different at $p < 0.05$ as determined by Duncan's multiple-range test.

호두분말의 첨가비율에 따른 소시지의 색도를 비교한 결과는 표 32에 나타내었다. 명도를 나타내는 CIE L 값은 대조구와 처리구 사이에 유의적 차이가 없었다. 적색도를 나타내는 CIE a

값과 황색도를 나타내는 CIE b 값 또한 대조구와 처리구 사이에 유의적인 차이가 없었다.

<표 3-115> 호두분말 첨가한 발효소시지의 물성평가

Experimental groups ¹⁾	Hardness	Springiness	Cohesiveness	Gumminess	Chewiness
Control	3.30±0.59 ^{a2)}	0.95±0.06	0.50±0.06 ^a	1.64±0.35 ^a	1.58±0.33 ^a
W0.5	2.48±0.59 ^{bc}	0.89±0.15	0.48±0.03 ^{ab}	1.19±0.27 ^b	1.06±0.32 ^b
W1.0	1.78±0.47 ^c	0.82±0.13	0.43±0.04 ^b	0.75±0.19 ^c	0.62±0.19 ^c
W2.0	2.68±0.31 ^{ab}	0.90±0.06	0.45±0.03 ^{ab}	1.19±0.12 ^b	1.07±0.12 ^b

¹⁾Control; sausage without walnut powder, W0.5; sausage with 0.5% walnut powder, W1.0; sausage with 1.0% walnut powder W2.0; sausage with 2.0% walnut powder

²⁾Results are expressed as the means ±standard deviation. ^{a-b}means with different letters within a row are significantly different at $p<0.05$ as determined by Duncan's multiple-range test.

조직감은 첨가되는 첨가물에 의해 조직적 특성이 다르게 나타날 수 있다. 호두의 첨가비율이 증가함에 따라 경도와 씹음성의 결과값도 유의적으로 높게 나오는 것을 확인하였다. 그러나 탄력성, 응집성과 점성은 유의적 차이를 보이지 않았다.

<표 3-116> 호두분말 첨가한 발효소시지의 지방산패도

Experimental groups ¹⁾	Fermentation weeks				
	0	1	2	3	4
Control	0.59±0.15 ^{c2)}	0.98±0.00 ^c	1.16±0.06 ^d	1.54±0.17 ^d	1.88±0.03 ^d
W0.5	0.59±0.00 ^b	0.96±0.01 ^d	1.44±0.02 ^c	2.12±0.01 ^c	2.34±0.13 ^c
W1.0	0.71±0.00 ^b	1.24±0.00 ^b	1.94±0.02 ^b	2.47±0.04 ^b	2.70±0.10 ^b
W2.0	1.06±0.02 ^a	1.96±0.01 ^a	2.95±0.02 ^a	3.09±0.03 ^a	3.46±0.02 ^a

¹⁾Control; sausage without walnut powder, W0.5; sausage with 0.5% walnut powder, W1.0; sausage with 1.0% walnut powder W2.0; sausage with 2.0% walnut powder

²⁾Results are expressed as the means ±standard deviation. ^{a-c}means with different letters within a row are significantly different at $p<0.05$ as determined by Duncan's multiple-range test.

지질산화는 n-alkenal과 dienals와 같은 분해화합물의 발생으로 생산품의 관능적 특성에 손상을 줄 수 있으며, 이것은 산패취 및 불쾌취와 관련이 있다(Ansorena and Astiasaran, 2004). 호두분말 첨가군들은 대조군(Control)보다 높은 점수를 받았으며, 유의적인 차이를 확인하였다. 육제품의 TBARS 값은 2 mg MAD/kg 이하로 설정되어있는데, 호두분말 첨가군들(W0.5, W1.0, W2.0)의 TBARS 값은 2 mg MAD/kg 이상으로 측정되어 잣과 동일하게 적합하지 않음을 확인하였다.

(라) 안전성평가(BA)

제조한 발효소시지의 바이오제닉 아민 함량을 측정한 결과 Control그룹의 타이라민 함량의

경우 18.06 ± 2.84 mg/kg 검출되었고, 호두분말을 첨가한 발효소시지 그룹의 타이라민 함량은 각각 39.06 ± 5.46 , 48.25 ± 4.72 , 50.14 ± 2.34 mg/kg 으로 Control그룹보다 유의적으로 높은 양이 검출되는 것을 확인하였다. 히스타민 함량은 호두분말을 첨가한 발효소시지그룹에서 각각 5.39 ± 0.69 , 5.31 ± 0.92 , 6.64 ± 0.65 mg/kg 으로 확인되었다. 기타 아민의 Control그룹과 호두분말을 첨가한 발효소시지그룹 모두 그 함량이 10 mg/kg 이하인 것으로 확인되었다.

<표 3-117> 호두분말 첨가한 발효소시지의 바이오제닉아민 함량

(mg/kg)

Experimental groups ¹⁾	Biogenic amines							
	Trp ²⁾	Phe	Put	Cad	His	Tyr	Spd	Spm
Control	3.15 ± 0.10 ³⁾	1.87 ± 0.29 ^b	5.51 ± 0.11 ^b	N.D ⁴⁾	N.D	18.06 ± 2.84 ^b	6.54 ± 1.82 ^a	1.77 ± 0.19 ^b
W0.5	3.45 ± 0.26	4.41 ± 0.02 ^a	8.36 ± 0.50 ^a	2.52 ± 0.43 ^a	5.39 ± 0.69 ^a	39.06 ± 5.46 ^a	3.76 ± 0.52 ^b	2.54 ± 0.18 ^a
W1.0	3.32 ± 0.06	4.96 ± 0.08 ^a	8.25 ± 0.47 ^a	2.68 ± 0.14 ^a	5.31 ± 0.92 ^a	48.25 ± 4.72 ^a	3.29 ± 0.19 ^b	2.45 ± 0.04 ^a
W2.0	4.61 ± 1.64	2.74 ± 0.94 ^b	7.96 ± 0.48 ^a	2.93 ± 0.10 ^a	6.64 ± 0.65 ^a	50.14 ± 2.34 ^a	3.72 ± 0.36 ^b	2.39 ± 0.05 ^a

¹⁾Control; sausage without walnut powder, W0.5; sausage with 0.5% walnut powder, W1.0; sausage with 1.0% walnut powder W2.0; sausage with 2.0% walnut powder

²⁾Trp: tryptamine, Phe: β -phenylethylamine, Put: putrescine, Cad: cadaverine, His: histamine, Tyr: tyramine, Spd: spermidine, Spm: spermine

³⁾Results are expressed as the means \pm standard deviation. ^{a-c}means with different letters within a row are significantly different at $p < 0.05$ as determined by Duncan's multiple-range test.

⁴⁾Not detected

(마) 관능검사

<표 3-118> 호두분말 첨가한 발효소시지의 관능평가

Experimental groups ¹⁾	Color	Flavor	Odour	Taste	Chewiness	Juiciness	Overall preference
Control	4.40 ± 0.84 ²⁾	5.00 ± 1.05	3.80 ± 0.79 ^b	5.20 ± 0.92 ^a	4.10 ± 1.66 ^b	4.80 ± 1.48	5.00 ± 1.94 ^a
W0.5	4.60 ± 0.70	5.00 ± 0.94	3.70 ± 0.82 ^b	4.70 ± 0.67 ^{ab}	5.70 ± 1.34 ^a	5.50 ± 1.08	3.60 ± 0.84 ^b
W1.0	4.40 ± 1.17	4.50 ± 1.08	4.20 ± 1.32 ^{ab}	4.20 ± 1.32 ^{ab}	5.60 ± 1.78 ^{ab}	5.10 ± 1.20	3.80 ± 0.92 ^b
W2.0	4.50 ± 0.97	4.20 ± 0.79	4.80 ± 0.92 ^a	4.10 ± 1.29 ^b	5.30 ± 1.57 ^{ab}	5.00 ± 1.25	3.70 ± 1.16 ^b

¹⁾Control; sausage without walnut powder, W0.5; sausage with 0.5% walnut powder, W1.0; sausage with 1.0% walnut powder W2.0; sausage with 2.0% walnut powder

²⁾Results are expressed as the means \pm standard deviation. ^{a-b}means with different letters within a row are significantly different at $p < 0.05$ as determined by Duncan's multiple-range test.

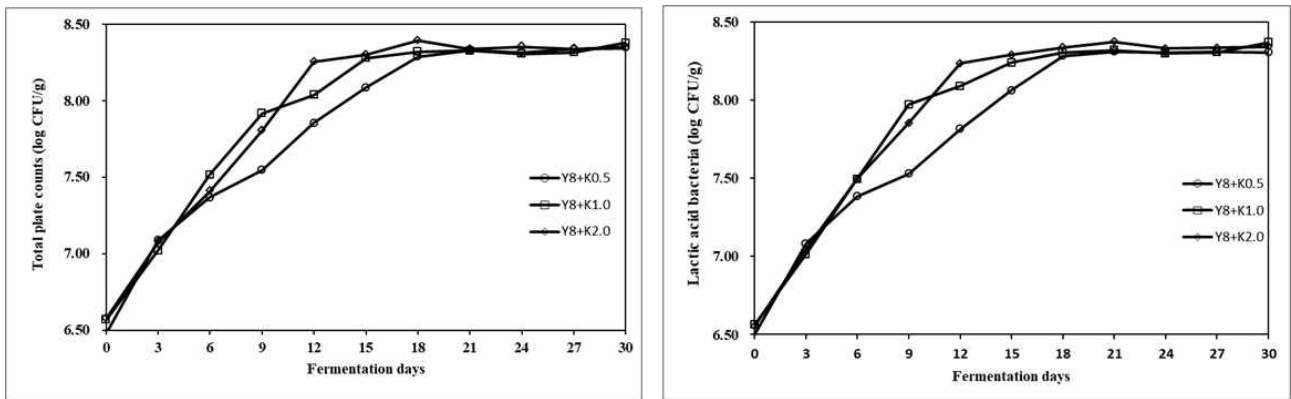
소시지의 향기평가에서는 유의적 차이가 나타나지 않았지만 지방산패도와 관련 있는 불쾌취(Odour)는 잣분말 첨가군과 유사하게 대조군(Control)보다 높은 점수를 받았으며, 유의적인 차이를 확인하였다. 따라서 전체적인 기호도에서도 잣분말첨가군이 낮은 점수로 평가되었다.

(6) GABA생성균주(Y8)와 배추김치분말을 혼합 제조한 발효소시지

(가) GABA생성균주(Y8)와 배추김치분말을 첨가하여 제조한 발효소시지의 미생물학적 특성

GABA생성균주(Y8)와 배추김치분말을 0.5, 1.0, 2.0%와 상업용스타터를 혼합 적용한 발효소시지의 경우 총 균수는 발효 개시일로부터 18일까지 평균 3.6×10^6 log CFU/g으로부터 2.2×10^8 log CFU/g으로 증가하였고, 이후 발효기간이 끝나는 시점까지 총 균수는 거의 변화가 없었다. 젖산균의 경우 총 균수와 마찬가지로 발효 개시일로부터 18일까지 평균 3.5×10^6 log CFU/g으로부터 2.0×10^8 log CFU/g으로 증가하였고, 이후 숙성 21일부터 발효기간이 끝나는 시점까지 평균 5.5×10^8 log CFU/g 수준을 유지하였다.

육제품에서 검출되어서는 안되는 *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens* 등의 병원성미생물은 검출되지 않았다.



<그림 3-62> GABA생성균주(Y8)와 배추김치분말을 첨가한 발효소시지의 미생물학적 변화

(나) 이화학적 특성

제조한 발효소시지의 건조감량을 확인한 결과, Control과 균주와 배추김치분말 첨가군 모두 24일차에 건조감량 약 40%에 도달하였다.

<표 3-119> GABA생성균주(Y8)와 배추김치분말 첨가한 발효소시지의 건조감량

Experimental groups ¹⁾	Fermentation days									
	3	6	9	12	15	21	24	27	30	
Control	12.6	20.7	26.6	33.4	38.0	38.5	39.1	42.0	43.0	
Y8+K0.5	13.9	22.8	29.1	31.3	35.3	37.3	39.7	41.0	45.7	
Y8+K1.0	12.3	21.7	27.4	32.8	34.4	36.8	39.3	41.5	45.4	
Y8+K2.0	12.5	20.4	30.9	36.0	38.9	38.3	38.5	44.1	45.5	

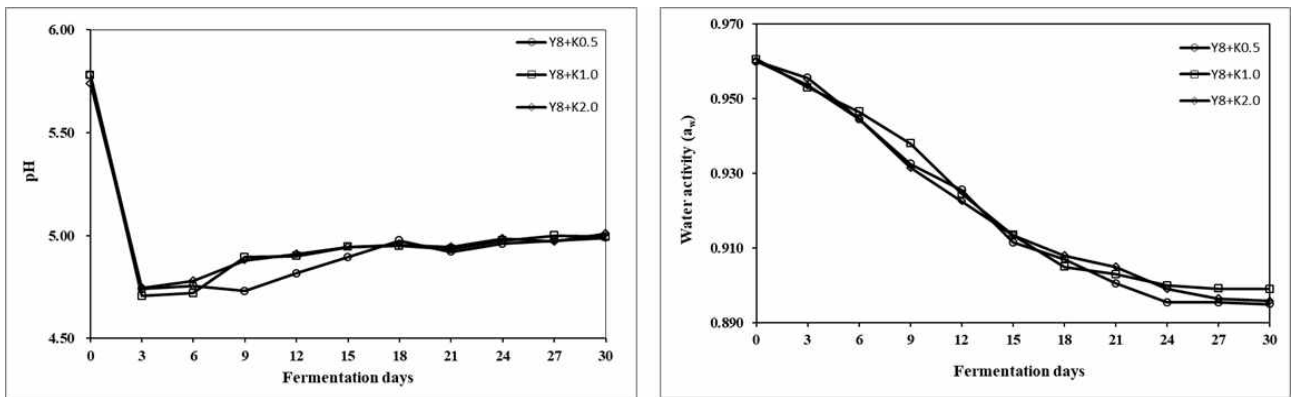
¹⁾Control; sausage without kimchi powder, Y8+K0.5; sausage with Y8+0.5% kimchi powder, Y8+K1.0; sausage with 1.0% Y8+kimchi powder Y8+K2.0; sausage with 2.0% Y8+kimchi powder

<표 3-120> GABA생성균주(Y8)와 배추김치분말을 첨가한 발효소시지의 염도

Experimental groups ¹⁾	Salinity (%)
Control	8.2±0.57
Y8+K0.5	8.1±0.41
Y8+K1.0	8.0±0.24
Y8+K2.0	8.2±0.30

¹⁾Control; sausage without kimchi powder, Y8+K0.5; sausage with Y8+0.5% kimchi powder, Y8+K1.0; sausage with 1.0% Y8+kimchi powder Y8+K2.0; sausage with 2.0% Y8+kimchi powder

제조한 발효소시지의 염도 측정 결과 대조군(Control)은 8.2%의 염도가 측정되었고 배추김치분말과 GABA생성 균주를 혼합 첨가한 발효소시지그룹의 염도는 8.0~8.2% 수치로 측정되었다. 대조군(Control)과 배추김치분말과 GABA생성 균주 혼합 첨가군의 염도는 유의적 차이가 나타나지 않았다.



〈그림 3-63〉 GABA생성균주(Y8)와 배추김치분말 첨가한 발효소시지의 pH, a_w 변화

상업용스타터를 적용한 Control그룹의 pH값은 발효 개시일부터 3일까지 pH 5.93에서 pH 4.82로 급격하게 감소하는 것을 확인하였고 이후 숙성 15일부터 pH 값이 pH 4.60에서 발효시점이 끝나는 30일까지 pH 4.71으로 지속적으로 증가하는 것을 확인하였다. GABA생성균주(Y8)와 배추김치분말을 0.5, 1.0, 2.0%와 상업용스타터를 혼합 적용한 발효소시지의 경우 pH값은 발효 개시일부터 3일까지 pH 5.74-5.78에서 pH 4.71-4.75로 감소하는 것을 확인하였고 이후 숙성 15일부터 pH 값이 pH 4.82-4.91에서 발효시점이 끝나는 30일까지 pH 4.99-5.01로 지속적인 값을 유지하는 것을 확인하였다. a_w의 경우 Control그룹과 실험군은 동일하게 발효 개시일 부터 발효시점이 끝나는 30일까지 지속적으로 감소하는 것을 확인하였다.

(다) 색도·물성·지방산패도 평가

GABA생성균주(Y8)와 배추김치분말의 첨가비율에 따른 소시지의 색도를 비교한 결과는 표 39에 나타내었다. 명도를 나타내는 CIE L 값은 배추김치분말의 첨가비율이 증가할수록 유의적으로 낮아지는 것을 확인하였다. 적색도를 나타내는 CIE a 값과 황색도를 나타내는 CIE b 값

은 배추김치분말의 첨가비율이 증가할수록 그 값이 유의적으로 증가하는 것을 확인하였다. 적색도를 나타내는 CIE a* 값은 저장기간이 경과하면서 균주와 배추김치분말첨가한 처리구에서 증가하였고, 이러한 결과는 발색제로 첨가된 nitrite가 NO로 환원되어 myoglobin과 반응함으로 nitrosylmyoglobin이 형성되어(Cassen *et al.*, 1979) 육색을 붉게 나타낸 결과이다. 그러나 배추김치분말을 첨가한 발효소시지의 적색값이 대조구(Control)에 비해 증가한 것은 배추김치분말에 의해 적색도가 높아진 것으로 사료된다.

<표 3-121> GABA생성균주(Y8)와 배추김치분말 첨가한 발효소시지의 색도평가

Experimental groups ¹⁾	CIE L* (lightness)	CIE a* (redness)	CIE b* (yellowness)
Control	25.28±0.72 ^a	5.75±0.15 ^d	5.87±0.34 ^d
Y8+K0.5	20.36±0.88 ^b	7.63±0.15 ^c	6.62±0.12 ^c
Y8+K1.0	19.97±0.65 ^{bc}	7.89±0.20 ^b	8.25±0.31 ^b
Y8+K2.0	19.23±0.29 ^c	8.25±0.06 ^a	9.61±0.29 ^a

¹⁾Control; sausage without kimchi powder, Y8+K0.5; sausage with Y8+0.5% kimchi powder, Y8+K1.0; sausage with 1.0% Y8+kimchi powder Y8+K2.0; sausage with 2.0% Y8+kimchi powder

²⁾Results are expressed as the means ± standard deviation. ^{a-b}means with different letters within a row are significantly different at $p < 0.05$ as determined by Duncan's multiple-range test.

<표 3-122> GABA생성균주(Y8)와 배추김치분말 첨가한 발효소시지의 물성평가

Experimental groups ¹⁾	Hardness	Springiness	Cohesiveness	Gumminess	Chewiness
Control	2.23±0.09 ^{d2)}	0.84±0.07 ^b	0.50±0.06	1.39±0.25	1.04±0.15 ^c
Y8	2.25±0.16 ^d	0.86±0.04 ^{ab}	0.51±0.02	1.27±0.05	1.05±0.06 ^c
Y8+K0.5	2.95±0.17 ^c	0.89±0.08 ^{ab}	0.51±0.03	1.49±0.13	1.26±0.11 ^b
Y8+K1.0	3.20±0.17 ^b	0.91±0.06 ^{ab}	0.51±0.21	1.42±0.08	1.36±0.10 ^{ab}
Y8+K2.0	4.54±0.16 ^a	0.95±0.05 ^a	0.52±0.01	1.29±0.07	1.45±0.08 ^a

¹⁾Control; sausage without kimchi powder, Y8; sausage inoculated with *Lactobacillus brevis* Y8, Y8+K0.5; sausage with Y8+0.5% kimchi powder, Y8+K1.0; sausage with 1.0% Y8+kimchi powder Y8+K2.0; sausage with 2.0% Y8+kimchi powder

²⁾Results are expressed as the means ± standard deviation. ^{a-b}means with different letters within a row are significantly different at $p < 0.05$ as determined by Duncan's multiple-range test.

배추김치분말 첨가 발효소시지의 물성평가는 표 48에 나타내었다. 육제품의 조직감은 함유된 지방이나 수분량 원료육의 상태 첨가물의 종류 등에 따라서 달라질 수 있고 또 가공 중의 가열온도의차이에 의한 단백질의 열변성정도가 달라져서 조직성 특성이 다르게 나타날 수 있다고 하였다. 경도는 대조구(Control)가 김치분말 첨가 소시지에 비해 현저하게 낮았다 ($p < 0.05$). 탄력성과 씹힘성은 대조구(Control)보다 유의적으로 높게 측정 되었다. 반면에, 응집성과 겹성은

모든 시료에서 유의적 차이가 없었다.

<표 3-123> GABA생성균주(Y8)와 배추김치분말 발효소시지의 지방산패도

Experimental groups ¹⁾	Fermentation weeks				
	0	1	2	3	4
Control	0.59±0.15 ^{a2)}	0.98±0.00 ^a	1.16±0.06 ^a	1.54±0.17 ^a	1.88±0.03 ^a
Y8+K0.5	0.53±0.01 ^a	0.86±0.00 ^b	1.06±0.02 ^b	1.40±0.03 ^a	1.69±0.02 ^b
Y8+K1.0	0.25±0.01 ^b	0.68±0.00 ^c	0.98±0.00 ^{bc}	1.10±0.01 ^b	1.21±0.02 ^c
Y8+K2.0	0.26±0.02 ^b	0.64±0.07 ^c	0.93±0.00 ^c	1.09±0.00 ^b	1.28±0.00 ^c

¹⁾Control; sausage without kimchi powder, Y8+K0.5; sausage with Y8+0.5% kimchi powder, Y8+K1.0; sausage with 1.0% Y8+kimchi powder Y8+K2.0; sausage with 2.0% Y8+kimchi powder

²⁾Results are expressed as the means ±standard deviation. ^{a-c}means with different letters within a row are significantly different at $p < 0.05$ as determined by Duncan's multiple-range test.

저장 기간이 경과함에 따라 TBARS 값은 모든 군에서 유의적으로 증가하는 경향이었으나, 균주와 배추김치분말 첨가군(Y8+K0.5, Y8+K1.0, Y8+K2.0)은 대조군(Control)보다는 유의하게 낮은 증가율을 보였다. 발효 4주째는 대조군(Control)이 1.88 mg MAD/kg으로 가장 높은 TBARS 값을 나타내었고, 균주와 배추김치분말 첨가군(Y8+K0.5, Y8+K1.0, Y8+K2.0)은 각각 1.69, 1.21, 1.28 mg MAD/kg으로 대조군(Control)에 비해 유의적으로 낮은 TBARS값을 나타내었다. 모든 소시지의 TBARS값은 발효기간이 끝났을 때 대조군(Control)보다 훨씬 낮았다. 즉, 배추김치분말이 발효소시지의 지질 산화물을 보호할 수 있다는 것을 나타낸다.

(라) 발효소시지의 GABA 함량과 안전성평가(BA)

<표 3-124> GABA생성균주(Y8)와 배추김치분말 첨가한 발효소시지의 GABA 함량

(mg/kg)

Experimental groups ¹⁾	Fermentation days										
	0	3	6	9	12	15	18	21	24	27	30
Control	0	17.42±2.74 ^{b2)}	21.86±1.18 ^b	26.25±5.71 ^b	39.97±3.68 ^b	48.51±3.49	55.84±2.68	58.08±2.84	59.60±1.31	59.69±1.30	61.31±2.61
Y8+K0.5	0	17.90±0.63 ^b	25.71±1.20 ^b	33.15±2.26 ^{ab}	39.73±1.47 ^b	45.59±6.96	51.81±6.80	55.82±8.66	57.57±2.04	60.52±3.40	60.95±3.32
Y8+K1.0	0	20.11±0.35 ^b	25.62±2.13 ^b	36.40±4.83 ^{ab}	47.00±1.39 ^{ab}	52.26±7.59	56.43±3.98	57.31±1.03	59.35±4.11	61.05±2.46	61.47±3.10
Y8+K2.0	0	25.14±1.08 ^a	32.18±1.09 ^a	40.08±2.29 ^a	52.08±6.46 ^a	56.39±4.51	59.65±3.72	60.97±3.64	60.91±6.21	60.93±6.51	60.98±3.75

¹⁾Control; sausage without kimchi powder, Y8+K0.5; sausage with Y8+0.5% kimchi powder, Y8+K1.0; sausage with 1.0% Y8+kimchi powder Y8+K2.0; sausage with 2.0% Y8+kimchi powder

²⁾Results are expressed as the means±standard deviation. ^{a-b}means with different letters within a row are significantly different at $p < 0.05$ as determined by Duncan's multiple-range test.

Control은 GABA 고생성균주로 분리한 *Lactobacillus brevis* Y8균주를 적용하여 발효소시지를 제조하였다. Control의 GABA 함량은 발효 3일부터 발효 30일까지 17.4 ± 2.7 mg/kg에서 61.3 ± 1.3 mg/kg으로 증가하는 것을 확인 하였다. 또한 배추김치분말 0.5%와 Y8균주를 적용한 발효소시지 GABA 함량은 발효 3일부터 발효 30일까지 17.9 ± 0.6 mg/kg에서 61.0 ± 3.3 mg/kg으로 증가하는 것을 확인 하였다. 배추김치분말 1.0%, 2.0%와 Y8균주를 각각 적용한 발효소시지도 control그룹과 비슷한 함량을 생성하는 것을 확인하였다.

<표 3-125> GABA생성균주(Y8)와 배추김치분말 첨가한 발효소시지의 바이오제닉아민 함량

(mg/kg)

Experimental groups ¹⁾	Biogenic amines							
	Trp ²⁾	Phe	Put	Cad	His	Tyr	Spd	Spm
Y8	N.D ⁴⁾	11.26± 1.81 ^{a3)}	18.52± 3.68 ^a	13.46± 3.25 ^a	5.50± 1.03 ^a	16.97±1 .61 ^c	11.91± 2.04 ^b	19.12± 4.95 ^a
Y8+K0.5	3.62±0.01 ^b	1.93± 0.30 ^b	6.20± 1.02 ^b	1.61± 0.13 ^b	2.88± 0.98 ^b	17.46± 0.37 ^{bc}	16.43± 2.47 ^{ab}	2.34± 0.22 ^b
Y8+K1.0	7.57±1.08 ^a	1.73± 0.11 ^b	6.07± 0.14 ^b	1.56± 0.26 ^b	5.49± 0.28 ^a	21.78± 2.11 ^a	14.74± 1.49 ^{ab}	1.68± 0.13 ^b
Y8+K2.0	5.88±1.28 ^{ab}	2.52± 0.03 ^b	5.46± 0.01 ^b	2.78± 0.94 ^b	1.52±0.37 ^b	21.59± 1.36 ^{ab}	17.27± 0.2 ^{9a}	2.15± 0.28 ^b

¹⁾Y8; sausage inoculated with *Lactobacillus brevis* Y8, Y8+K0.5; sausage inoculated with *Lactobacillus brevis* Y8+0.5% kimchi powder, Y8+K1.0; sausage inoculated with *Lactobacillus brevis* Y8+kimchi powder Y8+K2.0; sausage inoculated with *Lactobacillus brevis* Y8+kimchi powder

²⁾Trp: tryptamine, Phe: β-phenylethylamine, Put: putrescine, Cad: cadaverine, His: histamine, Tyr: tyramine, Spd: spermidine, Spm: spermine

³⁾Results are expressed as the means±standard deviation.^{a-c}means with different letters within a row are significantly different at $p < 0.05$ as determined by Duncan's multiple-range test.

⁴⁾Not detected

제조한 발효소시지의 바이오제닉 아민 함량을 측정한 결과 Control그룹의 타이라민 함량의 경우 12.1 ± 2.3 mg/kg 검출되었고, GABA생성균주(Y8)와 배추김치분말을 0.5%, 1.0%, 2.0% 첨가한 발효소시지 그룹의 타이라민 함량은 각각 18.3 ± 2.0 , 20.0 ± 2.6 , 17.5 ± 4.9 mg/kg 검출되는 것을 확인하였으며 기타 아민의 경우 그 함량이 15 mg/kg 이하인 것으로 확인되었다.

(마) 관능검사

색상과 씹힘성은 대조군(Control)보다 배추김치분말 첨가군들(K0.5, K1.0, K2.0)이 유의적인 차이를 보이지 않았으며 지방산패도와 관련 있는 불쾌취(Off-flavor)는 배추김치분말과 GABA생성균주 혼합 적용한 실험군은 대조군(Y8)보다 낮은 점수를 받았으며, 유의적인차이를 확인하였다. 또한 맛, 다즙성 그리고 전체적인 기호도가 높게 평가되었다.

<표 3-127> GABA생성균주(Y8)와 배추김치분말 첨가한 발효소시지의 관능평가

Experimental groups ¹⁾	Color	Flavor	Odour	Taste	Chewiness	Juiciness	Overall preference
Y8	5.00±1.15	3.70±0.82 ^{b2)}	4.90±0.88 ^a	4.10±1.29 ^c	4.50±1.08	4.10±0.88 ^b	4.00±0.84 ^c
Y8+K0.5	5.30±0.95	5.00±0.67 ^a	4.00±0.67 ^b	5.10±0.74 ^{ab}	4.90±1.10	4.60±0.97 ^b	4.60±0.84 ^{bc}
Y8+K1.0	5.00±1.25	4.70±0.67 ^a	4.10±0.74 ^b	5.00±0.82 ^b	4.70±0.82	4.70±0.82 ^b	4.80±0.79 ^{ab}
Y8+K2.0	5.40±1.07	4.80±0.92 ^a	3.20±0.63 ^c	5.90±0.74 ^a	4.90±0.88	5.50±0.71 ^a	5.50±0.71 ^a

¹⁾Y8; sausage inoculated with *Lactobacillus brevis* Y8, Y8+K0.5; sausage inoculated with *Lactobacillus brevis* Y8+0.5% kimchi powder, Y8+K1.0; sausage inoculated with *Lactobacillus brevis* Y8+kimchi powder Y8+K2.0; sausage inoculated with *Lactobacillus brevis* Y8+kimchi powder

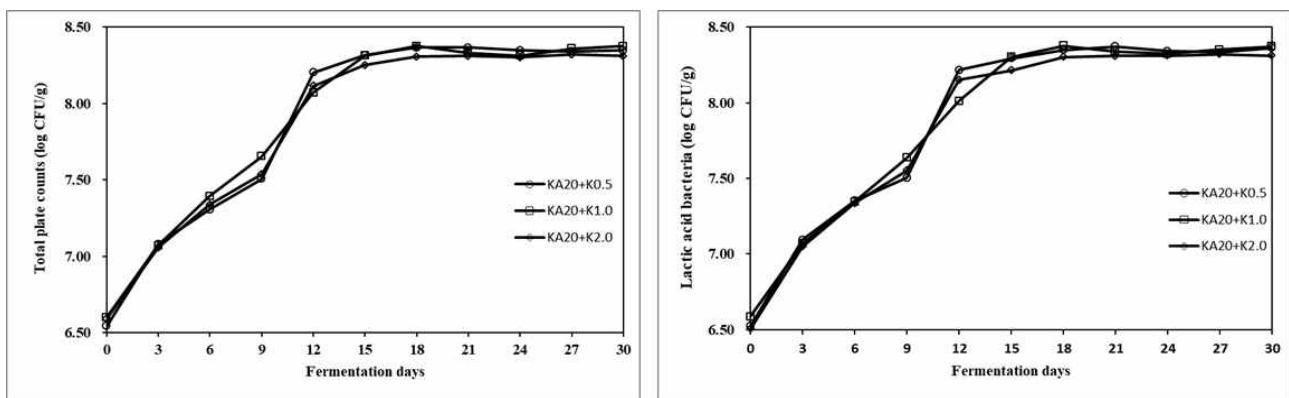
²⁾Results are expressed as the means±standard deviation.^{a-c}means with different letters within a row are significantly different at $p < 0.05$ as determined by Duncan's multiple-range test.

(7) GABA생성균주 (KA20)와 배추김치분말을 혼합 제조한 발효소시지

(가) GABA생성균주와 배추김치분말을 첨가하여 제조한 발효소시지의 미생물학적 특성

GABA생성균주(KA20)와 배추김치분말을 0.5, 1.0, 2.0%와 상업용스타터를 혼합 적용한 발효소시지의 경우 총 균수는 발효 개시일로부터 18일까지 평균 3.8×10^6 log CFU/g으로부터 2.2×10^8 log CFU/g으로 증가하였고, 이후 발효기간이 끝나는 시점까지 총 균수는 거의 변화가 없었다. 젖산균의 경우 총 균수와 마찬가지로 발효 개시일로부터 18일까지 평균 3.5×10^6 log CFU/g으로부터 2.2×10^8 log CFU/g으로 증가하였고, 이후 숙성 21일부터 발효기간이 끝나는 시점까지 평균 2.2×10^8 log CFU/g 수준을 유지하였다.

육제품에서 검출되어서는 안되는 *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens* 등의 병원성미생물은 검출되지 않았다.



<그림 3-64> GABA생성균주(KA20)와 배추김치분말을 첨가한 발효소시지의 미생물학적 변화

(나) 이화학적 특성

제조한 발효소시지의 건조감량을 확인한 결과, Control은 24일차에 균주와 배추김치분말 첨가군 모두 21일차에 약 40%에 도달했다.

<표 3-128> GABA생성균주(KA20)와 배추김치분말 첨가한 발효소시지의 건조감량

Experimental groups ¹⁾	Fermentation days									
	3	6	9	12	15	21	24	27	30	
Control	12.6	20.7	26.6	33.4	38.0	38.5	39.1	42.0	43.0	
KA20+K0.5	18.1	26.9	29.1	32.7	36.4	40.0	43.9	44.1	45.6	
KA20+K1.0	19.6	27.6	31.6	34.8	37.8	40.2	43.1	43.1	45.6	
KA20+K2.0	17.9	26.0	30.3	33.1	36.2	40.1	43.4	43.1	45.6	

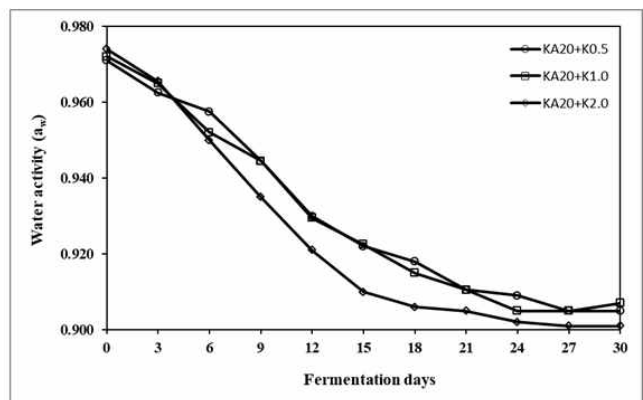
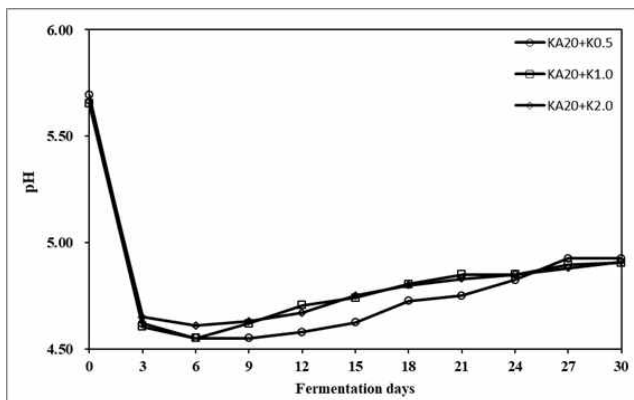
¹⁾Control; sausage without kimchi powder, KA20+K0.5; sausage with KA20+0.5% kimchi powder, KA20+K1.0; sausage with KA20+1.0% kimchi powder KA20+K2.0; sausage with KA20+2.0% kimchi powder

<표 3-129> GABA생성균주(KA20)와 배추김치분말 첨가한 발효소시지의 염도

Experimental groups ¹⁾	Salinity (%)
Control	8.2±0.57
KA20+K0.5	8.0±0.41
KA20+K1.0	8.0±0.30
KA20+K2.0	8.0±0.43

¹⁾Control; sausage without kimchi powder, KA20+K0.5; sausage with KA20+0.5% kimchi powder, KA20+K1.0; sausage with KA20+1.0% kimchi powder KA20+K2.0; sausage with KA20+2.0% kimchi powder

제조한 발효소시지의 염도 측정 결과 대조군(Control)은 8.2%의 염도가 측정되었고 배추김치분말과 GABA생성 균주를 혼합 첨가한 발효소시지그룹의 염도는 8.0% 수치로 측정되었다. 대조군(Control)과 배추김치분말과 GABA생성 균주 혼합 첨가군의 염도는 유의적 차이가 나타나지 않았다.



<그림 3-65> GABA생성균주(KA20)와 배추김치분말 첨가한 발효소시지의 pH, a_w 변화

상업용스타터를 적용한 Control그룹의 pH값은 발효 개시일부터 3일까지 pH 5.93에서 pH 4.82로 급격하게 감소하는 것을 확인하였고 이후 숙성 15일부터 pH 값이 pH 4.60에서 발효시점이 끝나는 30일까지 pH 4.71으로 지속적으로 증가하는 것을 확인하였다. GABA생성균주(KA20)와 배추김치분말을 0.5, 1.0, 2.0%와 상업용스타터를 혼합 적용한 발효소시지의 경우 pH 값은 발효 개시일부터 3일까지 pH 5.66-5.70에서 pH 4.61-4.65로 감소하는 것을 확인하였고 이후 숙성 21일부터 pH 값이 pH 4.75-4.85에서 발효시점이 끝나는 30일까지 pH 4.91-4.93로 지속적인 값을 유지하는 것을 확인하였다. a_w 의 경우 Control그룹과 실험군은 동일하게 발효 개시일 부터 발효시점이 끝나는 30일까지 지속적으로 감소하는 것을 확인하였다.

(다) 색도·물성·지방산패도 평가

GABA생성균주(KA20)와 배추김치분말의 첨가비율에 따른 소시지의 색도를 비교한 결과는 표 47에 나타내었다. 명도를 나타내는 CIE L 값은 배추김치분말의 첨가비율이 증가할수록 유의적으로 감소하였고, 적색도를 나타내는 CIE a 값과 황색도를 나타내는 CIE b 값은 배추김치분말의 첨가비율이 증가할수록 유의적으로 증가하는 것을 확인하였다.

<표 3-130> GABA생성균주(KA20)와 배추김치분말 첨가한 발효소시지의 색도평가

Experimental groups ¹⁾	CIE L* (lightness)	CIE a* (redness)	CIE b* (yellowness)
Control	25.23±0.72 ^{a2)}	5.75±0.15 ^c	5.87±0.34 ^d
KA20+K0.5	21.63±0.95 ^b	7.62±0.12 ^c	6.71±0.31 ^c
KA20+K1.0	20.44±0.15 ^c	7.99±0.10 ^b	8.28±0.42 ^b
KA20+K2.0	19.16±0.64 ^d	8.22±0.08 ^a	9.69±0.02 ^a

¹⁾Control; sausage without kimchi powder, KA20+K0.5; sausage with KA20+0.5% kimchi powder, KA20+K1.0; sausage with KA20+1.0% kimchi powder KA20+K2.0; sausage with KA20+2.0% kimchi powder

²⁾Results are expressed as the means ±standard deviation. ^{a-b}means with different letters within a row are significantly different at $p < 0.05$ as determined by Duncan's multiple-range test.

<표 3-131> GABA생성균주(KA20)와배추김치분말 첨가한 발효소시지의 물성평가

Experimental groups ¹⁾	Hardness	Springiness	Cohesiveness	Gumminess	Chewiness
Control	2.23±0.09 ^{d2)}	0.84±0.07 ^b	0.50±0.06	1.39±0.25	1.04±0.15 ^c
KA20	2.12±0.09 ^d	0.88±0.03 ^{ab}	0.50±0.01	1.27±0.03	1.05±0.05 ^c
KA20+K0.5	2.86±0.25 ^c	0.87±0.04 ^{ab}	0.51±0.04	1.47±0.07	1.26±0.11 ^b
KA20+K1.0	3.26±0.33 ^b	0.90±0.04 ^{ab}	0.51±0.01	1.47±0.06	1.36±0.10 ^{ab}
KA20+K2.0	4.24±0.20 ^a	0.94±0.04 ^a	0.52±0.01	1.39±0.15	1.45±0.08 ^a

¹⁾Control; sausage without kimchi powder, KA20; sausage inoculated with *Weissella halotolerans* KA20, KA20+K0.5; sausage with KA20+0.5% kimchi powder, KA20+K1.0; sausage with KA20+1.0% kimchi powder KA20+K2.0; sausage with KA20+2.0% kimchi powder

²⁾Results are expressed as the means ±standard deviation. ^{a-b}means with different letters within a row are significantly different at $p < 0.05$ as determined by Duncan's multiple-range test.

<표 3-132> GABA생성균주(KA20)와 배추김치분말 발효소시지의 지방산패도

Experimental groups ¹⁾	Fermentation weeks				
	0	1	2	3	4
Control	0.59±0.15 ^{a2)}	0.98±0.00 ^a	1.16±0.06 ^a	1.54±0.17 ^a	1.88±0.03 ^a
KA20+K0.5	0.21±0.02 ^b	0.78±0.03 ^b	0.96±0.01 ^b	1.31±0.01 ^{ab}	1.54±0.17 ^b
KA20+K1.0	0.23±0.01 ^b	0.54±0.00 ^d	0.98±0.00 ^b	1.08±0.01 ^b	1.19±0.02 ^c
KA20+K2.0	0.29±0.01 ^b	0.59±0.00 ^c	0.84±0.05 ^c	1.08±0.01 ^b	1.26±0.03 ^c

¹⁾Control; sausage without kimchi powder, KA20+K0.5; sausage with KA20+0.5% kimchi powder, KA20+K1.0; sausage with KA20+1.0% kimchi powder KA20+K2.0; sausage with KA20+2.0% kimchi powder

²⁾Results are expressed as the means ±standard deviation. ^{a-d}means with different letters within a row are significantly different at $p < 0.05$ as determined by Duncan's multiple-range test.

식육의 지방 산패도가 높아지는 것은 지방분해효소 및 미생물 대사 등에 의해 지방이 분해됨으로 형성된 물질에 의한 것인데(Brewer *et al.*, 1992), 이러한 식육의 저장 중 에 TBARS 값의 변화는 식육의 지방산 조성, pH, 시료의 크기, 온도에 영향을 많이 받는다(Keskinel *et al.*, 1964). 일반적으로 식육은 저장기간이 경과할수록 TBARS 값이 증가하는데(Witte *et al.*, 1970) 본 연구에서도 같은 결과 이었다. 배추김치분말첨가 소시지에서 언급했듯이, 항산화효과로 인해 대조군(Control)보다 유의하게 낮은 증가율을 보였다. 균주와 배추김치분말 첨가군(KA20+K0.5, KA20+K1.0, KA20+K2.0)은 대조군(Control)보다는 유의하게 낮은 증가율을 보였다. 발효 4주째는 대조군(Control)이 1.88 mg MAD/kg으로 가장 높은 TBARS 값을 나타내었고, 균주와 배추김치분말 첨가군(KA20+K0.5, KA20+K1.0, KA20+K2.0)은 각각 1.54, 1.19, 1.26 mg MAD/kg으로 대조군(Control)에 비해 유의적으로 낮은 TBARS값을 나타내었다. 모든 소시지의 TBARS값은 발효기간이 끝났을 때 대조군(Control)보다 훨씬 낮았다.

(라) 발효소시지의 GABA 함량과 안전성평가(BA)

Control은 GABA 고생성균주로 분리한 *Weissella halotolerans* KA20균주를 적용하여 발효소시지를 제조하였다. Control의 GABA 함량은 발효 3일부터 발효 30일까지 19.1±1.1 mg/kg에서 64.3±3.9 mg/kg으로 증가하는 것을 확인 하였다. 또한 배추김치분말 0.5%와 KA20균주를 적용한 발효소시지 GABA 함량은 발효 3일부터 발효 30일까지 18.4±0.1 mg/kg에서 63.8±7.6 mg/kg으로 증가하는 것을 확인 하였다. 배추김치분말 1.0%, 2.0%와 KA20균주를 각각 적용한 발효소시지도 control그룹과 비슷한 함량을 생성하는 것을 확인하였다. 배추김치분말 함량에 따른 GABA함량값의 변화는 없었다.

<표 3-133> GABA생성균주(KA20)와 배추김치분말 첨가한 발효소시지의 GABA 함량

(mg/kg)

Experimental groups ¹⁾	Fermentation days										
	0	3	6	9	12	15	18	21	24	27	30
KA20	0	19.07±1	29.56±	34.65±	45.90±	56.92±7	60.66±	62.77	64.78±	64.10±	64.30±
		.10 ²⁾	3.52	1.70	7.97	.81 ^{ab}	3.50	±6.49	4.57	6.21	3.89
KA20+K0.5	0	18.40±0	29.83±	39.73±	43.97±	46.58±0	51.12±	59.73	62.76±	63.66±	63.81±
		.06	3.38	5.58	4.28	.58 ^b	9.96	±8.24	6.50	3.01	7.64
KA20+K1.0	0	19.75±6	29.31±	38.90±	46.88±	58.50±2	61.55±	61.86	62.10±	62.97±	63.01±
		.14	5.0 ^a	6.60	4.31	.36 ^a	4.45	±2.67	5.21	3.96	4.30
KA20+K2.0	0	16.08±4	22.30±	30.05±	44.50±	51.14±0	56.37±	60.69	63.98±	64.29±	64.35±
		.39	1.48	4.77	4.26	.97 ^{ab}	2.82	±2.14	2.48	1.40	1.15

¹⁾KA20; sausage inoculated with *Weissella halotolerans* KA20, KA20+K0.5; sausage inoculated with *Weissella halotolerans* KA20+0.5% kimchi powder, KA20+K1.0; sausage inoculated with *Weissella halotolerans* KA20+1.0% kimchi powder KA20+K2.0; sausage inoculated with *Weissella halotolerans* KA20+2.0% kimchi powder

²⁾Results are expressed as the means ± standard deviation. ^{a-c}means with different letters within a row are significantly different at $p < 0.05$ as determined by Duncan's multiple-range test.

<표 3-134> GABA생성균주(KA20)와 배추김치분말 첨가한 발효소시지의 바이오제닉아민 함량

(mg/kg)

Experimental groups ¹⁾	Biogenic amines							
	Trp ²⁾	Phe	Put	Cad	His	Tyr	Spd	Spm
KA20	16.59±	22.06±	0.00±	17.01±	N.D ⁴⁾	18.71±	16.11±	14.51±
	3.90 ^{a3)}	2.13 ^a	0.00 ^c	1.03 ^a		2.32 ^c	4.27 ^a	2.18 ^a
KA20+K0.5	7.83±	2.88±	5.90±	2.52±	3.10±	23.52±	2.84±	3.14±
	1.00 ^b	0.10 ^b	0.02 ^{ab}	0.53 ^b	0.22 ^a	1.24 ^b	0.79 ^b	0.50 ^b
KA20+K1.0	4.38±	4.09±	5.82±	1.48±	3.14±	25.13±	1.41±	2.86±
	0.65 ^b	1.00 ^b	0.52 ^b	0.40 ^b	0.09 ^a	0.29 ^{ab}	0.04 ^b	0.14 ^b
KA20+K2.0	4.70±	5.28±	6.64±	2.53±	3.21±	28.18±	2.72±	4.39±
	1.22 ^b	0.39 ^b	0.15 ^a	0.62 ^b	0.27 ^a	1.54 ^a	0.09 ^b	0.31 ^b

¹⁾KA20; sausage inoculated with *Weissella halotolerans* KA20, KA20+K0.5; sausage inoculated with *Weissella halotolerans* KA20+0.5% kimchi powder, KA20+K1.0; sausage inoculated with *Weissella halotolerans* KA20+1.0% kimchi powder KA20+K2.0; sausage inoculated with *Weissella halotolerans* KA20+2.0% kimchi powder

²⁾Trp: tryptamine, Phe: β -phenylethylamine, Put: putrescine, Cad: cadaverine, His: histamine, Tyr: tyramine, Spd: spermidine, Spm: spermine

³⁾Results are expressed as the means ± standard deviation. ^{a-c}means with different letters within a row are significantly different at $p < 0.05$ as determined by Duncan's multiple-range test.

⁴⁾Not detected

제조한 발효소시지의 바이오제닉 아민 함량을 측정 한 결과 Control그룹의 타이라민 함량의

경우 18.71 ± 2.32 mg/kg 검출되었고, GABA생성균주(KA20)와 배추김치분말을 0.5%, 1.0%, 2.0% 첨가한 발효소시지 그룹의 타이라민 함량은 각각 23.52 ± 1.24 , 25.13 ± 0.29 , 28.18 ± 1.54 mg/kg 검출되는 것을 확인하였다. 기타 아민의 경우 그 함량이 20 mg/kg 이하인 것으로 확인되었다. Taylor and Brink에 따르면 히스타민, 50-100mg/kg; 타이라민, 100-800 mg/kg; β - 페닐에틸아민, 30 mg/kg; 총 BA 함량, 1000 mg/kg 등 다음과 같이 안전한 함량을 제시했다. 따라서 KA20 균주와 배추김치분말을 혼합 적용한 발효소시지는 안전성을 확보한 것으로 사료된다.

(마) 관능검사

<표 3-135> GABA생성균주(KA20)와 배추김치분말 첨가한 발효소시지의 관능평가

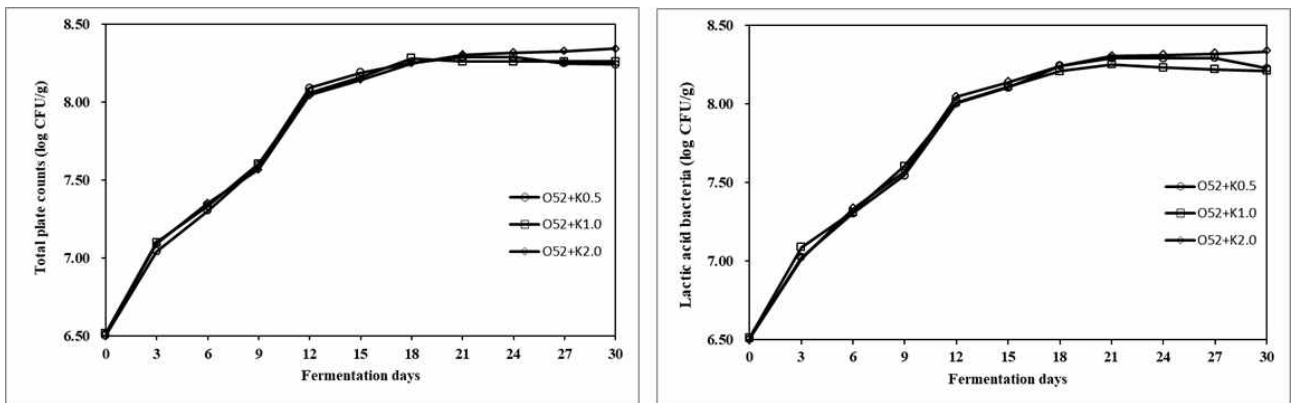
Experimental groups ¹⁾	Color	Flavor	Odour	Taste	Chewiness	Juiciness	Overall preference
KA20	4.70 ± 1.49	3.60 ± 0.84^b	5.00 ± 0.67^a	3.60 ± 0.70^b	4.40 ± 1.07	4.30 ± 0.67^b	3.50 ± 0.71^b
KA20+K0.5	4.70 ± 1.34	4.60 ± 1.17^a	4.30 ± 0.67^b	4.60 ± 0.84^a	4.80 ± 0.92	5.30 ± 0.82^a	4.50 ± 0.97^a
KA20+K1.0	4.60 ± 1.17	4.80 ± 1.14^a	4.10 ± 0.97^b	4.50 ± 0.97^a	4.90 ± 0.88	5.10 ± 0.67^a	4.30 ± 1.06^{ab}
KA20+K2.0	4.80 ± 1.40	4.70 ± 1.06^a	4.10 ± 0.85^b	4.50 ± 0.85^a	4.80 ± 0.79	5.20 ± 0.79^a	4.40 ± 1.07^{ab}

¹⁾KA20; sausage inoculated with *Weissella halotolerans* KA20, KA20+K0.5; sausage with KA20+0.5% kimchi powder, KA20+K1.0; sausage with KA20+1.0% kimchi powder KA20+K2.0; sausage with KA20+2.0% kimchi powder

²⁾Results are expressed as the means \pm standard deviation. ^{a-b}means with different letters within a row are significantly different at $p < 0.05$ as determined by Duncan's multiple-range test.

(8) GABA생성균주(O52)와 배추김치분말을 혼합 제조한 발효소시지

(가) GABA생성균주(O52)와 배추김치분말을 첨가하여 제조한 발효소시지의 미생물학적 특성



<그림 3-66> GABA생성균주(O52)와 배추김치분말 첨가한 발효소시지의 pH, a_w 변화

GABA생성균주(O52)와 배추김치분말을 0.5, 1.0, 2.0%와 상업용스타터를 혼합 적용한 발효소시지의 경우 총 균수는 발효 개시일로부터 18일까지 평균 3.3×10^6 log CFU/g으로부터 1.8×10^8 log CFU/g으로 증가하였고, 이후 발효기간이 끝나는 시점까지 총 균수는 거의 변화가 없었다. 젖산균의 경우 총 균수와 마찬가지로 발효 개시일로부터 18일까지 평균 3.2×10^6 log CFU/g으

로부터 1.7×10^8 log CFU/g으로 증가하였고, 이후 숙성 21일부터 발효기간이 끝나는 시점까지 평균 1.9×10^8 log CFU/g 수준을 유지하였다.

육제품에서 검출되어서는 안되는 *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens* 등의 병원성미생물은 검출되지 않았다.

(나) 이화학적 특성

<표 3-136> GABA생성균주(O52)와 배추김치분말 첨가한 발효소시지의 건조감량

Experimental groups ¹⁾	Fermentation days								
	3	6	9	12	15	21	24	27	30
Control	12.6	20.7	26.6	33.4	38.0	38.5	39.1	42.0	43.0
O52+K0.5	18.7	27.8	30.6	33.8	36.2	39.1	40.8	43.7	45.1
O52+K1.0	18.2	26.4	30.2	34.4	37.4	40.2	42.5	44.0	46.0
O52+K2.0	17.9	25.6	30.4	33.5	37.9	39.6	40.1	43.4	44.0

¹⁾Control; sausage without kimchi powder, O52+K0.5; sausage with O52+0.5% kimchi powder, O52+K1.0; sausage with O52+1.0% kimchi powder O52+K2.0; sausage with O52+2.0% kimchi powder

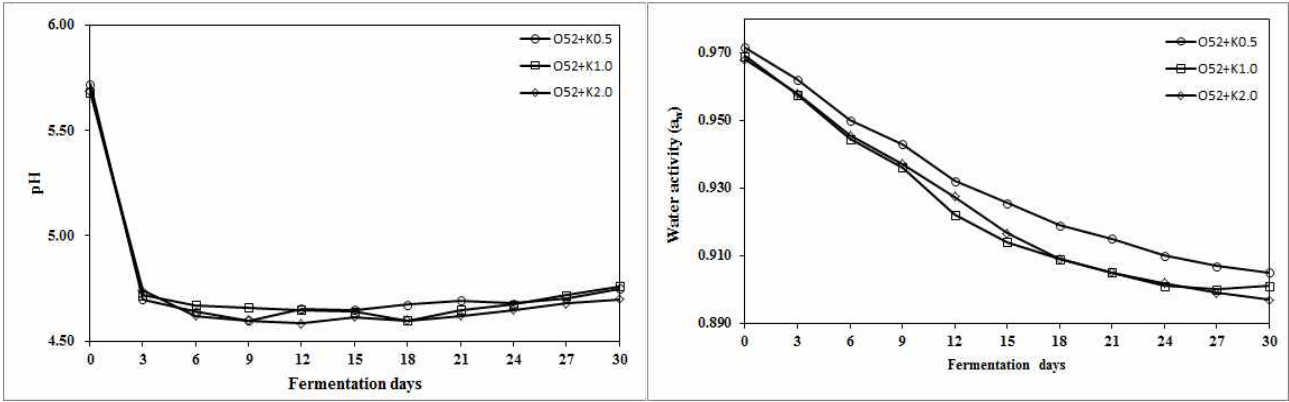
제조한 발효소시지의 건조감량을 확인한 결과, Control은 24일차에 균주와 배추김치분말 첨가군 모두 21일차에 약 40%에 도달했다.

<표 3-137> GABA생성균주(O52)와 배추김치분말 첨가한 발효소시지의 염도

Experimental groups ¹⁾	Salinity (%)
Control	8.2±0.57
O52+K0.5	8.1±0.61
O52+K1.0	8.3±0.24
O52+K2.0	8.2±0.75

¹⁾Control; sausage without kimchi powder, O52+K0.5; sausage with O52+0.5% kimchi powder, O52+K1.0; sausage with O52+1.0% kimchi powder O52+K2.0; sausage with O52+2.0% kimchi powder

제조한 발효소시지의 염도 측정 결과 대조군(Control)은 8.2%의 염도가 측정되었고 배추김치분말과 GABA생성 균주를 혼합 첨가한 발효소시지그룹의 염도는 8.1~8.3% 수치로 측정되었다. 대조군(Control)과 배추김치분말과 GABA생성 균주 혼합 첨가군의 염도는 유의적 차이가 나타나지 않았다.



<그림 3-67> GABA생성균주(O52)와 배추김치분말 첨가한 발효소시지의 pH, a_w 변화

상업용스타터를 적용한 Control그룹의 pH값은 발효 개시일부터 3일까지 pH 5.93에서 pH 4.82로 급격하게 감소하는 것을 확인하였고 이후 숙성 15일부터 pH 값이 pH 4.60에서 발효시점이 끝나는 30일까지 pH 4.71으로 지속적으로 증가하는 것을 확인하였다. GABA생성균주(O52)와 배추김치분말을 0.5, 1.0, 2.0%와 상업용스타터를 혼합 적용한 발효소시지의 경우 pH값은 발효 개시일부터 3일까지 pH 5.68-5.72에서 pH 4.70-4.74로 감소하는 것을 확인하였고 이후 숙성 15일부터 pH 값이 pH 4.62-4.65에서 발효시점이 끝나는 30일까지 pH 4.70-4.76로 지속적인 값을 유지하는 것을 확인하였다. a_w의 경우 Control그룹과 실험군은 동일하게 발효 개시일 부터 발효시점이 끝나는 30일까지 지속적으로 감소하는 것을 확인하였다.

(다) 색도·물성·지방산패도 평가

<표 3-138> GABA생성균주(O52)와 배추김치분말 첨가한 발효소시지의 색도평가

Experimental groups ¹⁾	CIE L* (lightness)	CIE a* (redness)	CIE b* (yellowness)
Control	25.23±0.72 ^{a2)}	5.75±0.15 ^c	5.87±0.34 ^d
O52+K0.5	20.11±0.65 ^b	7.51±0.36 ^b	6.75±0.27 ^c
O52+K1.0	19.51±1.09 ^b	7.55±.018 ^b	8.28±0.07 ^b
O52+K2.0	19.17±0.92 ^b	8.24±0.08 ^a	9.80±0.07 ^a

¹⁾Control; sausage without kimchi powder, O52+K0.5; sausage with O52+0.5% kimchi powder, O52+K1.0; sausage with O52+1.0% kimchi powder O52+K2.0; sausage with O52+2.0% kimchi powder

²⁾Results are expressed as the means ±standard deviation. ^{a-d}means with different letters within a row are significantly different at $p < 0.05$ as determined by Duncan's multiple-range test.

GABA생성균주(O52)와 배추김치분말의 첨가비율에 따른 소시지의 색도를 비교한 결과는 표 55에 나타내었다. 명도를 나타내는 CIE L 값은 배추김치분말의 첨가비율이 증가할수록 유의적으로 감소하였고, 적색도를 나타내는 CIE a 값과 황색도를 나타내는 CIE b 값은 배추김치분말의 첨가비율이 증가할수록 유의적으로 증가하는 것을 확인하였다.

<표 3-139> GABA생성균주(O52)와 배추김치분말 첨가한 발효소시지의 물성평가

Experimental groups ¹⁾	Hardness	Springiness	Cohesiveness	Gumminess	Chewiness
Control	2.23±0.09 ^{cd2)}	0.84±0.07 ^b	0.50±0.06	1.39±0.25	1.04±0.15 ^b
O52	2.03±0.08 ^d	0.89±0.02 ^{ab}	0.50±0.01	1.27±0.02	1.07±0.05 ^b
O52+K0.5	2.59±0.13 ^c	0.88±0.04 ^{ab}	0.50±0.02	1.49±0.02	1.18±0.04 ^b
O52+K1.0	3.43±0.50 ^b	0.90±0.04 ^{ab}	0.51±0.01	1.46±0.09	1.38±0.03 ^a
O52+K2.0	4.38±0.23 ^a	0.94±0.04 ^a	0.52±0.01	1.43±0.15	1.49±0.13 ^a

¹⁾Control; sausage without kimchi powder, O52; sausage inoculated with *Pediococcus acidilactici* O52, O52+K0.5; sausage with O52+0.5% kimchi powder, O52+K1.0; sausage with O52+1.0% kimchi powder O52+K2.0; sausage with O52+2.0% kimchi powder

²⁾Results are expressed as the means ±standard deviation. ^{a-d}means with different letters within a row are significantly different at $p < 0.05$ as determined by Duncan's multiple-range test.

GABA생성균주(O52)와 배추김치분말 첨가 발효소시지의 물성평가는 표 56에 나타내었다. 단단함 정도를 나타내는 경도는 대조군(Control)가 GABA생성균주(O52)와 배추김치분말 첨가 소시지에 비해 현저하게 낮았다 ($p < 0.05$). 탄력성과 씹힘성은 대조군(Control)보다 유의적으로 높게 측정 되었다. 반면에, 응집성과 겹성은 모든시료에서 유의적차이가 없었다.

<표 3-140> GABA생성균주(O52)와 배추김치분말 발효소시지의 지방산패도

Experimental groups ¹⁾	Fermentation weeks				
	0	1	2	3	4
Control	0.59±0.15 ^{a2)}	0.98±0.00 ^a	1.16±0.06 ^a	1.54±0.17 ^a	1.88±0.03 ^a
O52+K0.5	0.20±0.01 ^b	0.68±0.01 ^b	0.95±0.01 ^b	1.28±0.01 ^b	1.52±0.02 ^b
O52+K1.0	0.25±0.00 ^b	0.60±0.01 ^c	0.82±0.02 ^b	1.07±0.01 ^b	1.19±0.02 ^c
O52+K2.0	0.27±0.01 ^b	0.59±0.01 ^c	0.60±0.69 ^c	0.98±0.00 ^b	1.23±0.02 ^c

¹⁾Control; sausage without kimchi powder, O52+K0.5; sausage with O52+0.5% kimchi powder, O52+K1.0; sausage with O52+1.0% kimchi powder O52+K2.0; sausage with O52+2.0% kimchi powder

²⁾Results are expressed as the means ±standard deviation. ^{a-c}means with different letters within a row are significantly different at $p < 0.05$ as determined by Duncan's multiple-range test.

대부분의 천연 항산화 물질은 식물 또는 향신료, 허브 및 씨앗이며 그들의 항산화 특성이 입증 되었다 (Chipault *et al.*, 1952; Madsen and Bertelsen, 1995). 또한 김치에는 다양한 야채와 향신료를 첨가하여 만드는 식품으로써 항산화효과가 우수하게 나타나고 있다(Lee and Kunz, 2005). 균주와 배추김치분말 첨가군(O52+K0.5, O52+K1.0, O52+K2.0)은 대조군(Control)보다는 유의하게 낮은 증가율을 보였다. 발효 4주째는 대조군(Control)이 1.88 mg MAD/kg으로 가장 높은 TBARS 값을 나타내었고, 균주와 배추김치분말 첨가군(O52+K0.5, O52+K1.0, O52+K2.0)은 각각 1.52, 1.19, 1.23 mg MAD/kg으로 대조군(Control)에 비해 유의적으로 낮은 TBARS값을 나타내었다. 모든 소시지의 TBARS값은 발효기간이 끝났을 때 대조군(Control)보다 훨씬 낮았다.

(라) 발효소시지의 GABA 함량과 안전성평가(BA)

<표 3-141> GABA생성균주(O52)와 배추김치분말 첨가한 발효소시지의 GABA 함량

(mg/kg)

Experimental groups ¹⁾	Fermentation days										
	0	3	6	9	12	15	18	21	24	27	30
O52	0	15.02±	21.29	30.48±	37.64	40.52	41.11	45.39	45.35	46.26	46.03
		1.19 ^{b2)}	±0.82	1.63 ^b	±4.38	±3.16	±3.98	±1.53	±1.45	±1.09	±1.04
O52+K0.5	0	14.79±	26.13	35.92±	40.82	41.50	41.18	42.66	42.43	43.39	43.79
		4.41 ^a	±3.87	0.64 ^{ab}	±2.15	±6.57	±3.14	±4.23	±0.51	±0.41	±4.32
O52+K1.0	0	15.24±	24.60	37.87±	39.38	44.19	44.90	45.52	45.80	45.25	45.70
		3.76 ^a	±1.61	1.66 ^a	±5.61	±3.96	±2.95	±2.03	±1.34	±0.56	±5.00
O52+K2.0	0	15.62±	26.95	33.48±	41.95	40.05	42.98	43.52	45.31	46.64	46.69
		3.99 ^a	±4.3 ^a	3.26 ^{ab}	±2.21	±1.26	±4.94	±3.32	±6.17	±4.65	±4.66

¹⁾O52; sausage inoculated with *Pediococcus acidilactici* O52, O52+K0.5; sausage inoculated with *Pediococcus acidilactici* O52+0.5% kimchi powder, O52+K1.0; sausage inoculated with *Pediococcus acidilactici* O52+1.0% kimchi powder O52+K2.0; sausage inoculated with *Pediococcus acidilactici* O52+2.0% kimchi powder

²⁾Results are expressed as the means ± standard deviation. ^{a-b}means with different letters within a row are significantly different at $p < 0.05$ as determined by Duncan's multiple-range test.

Control은 GABA 고생성균주로 분리한 *Pediococcus acidilactici* O52균주를 적용하여 발효소시지를 제조하였다. Control의 GABA 함량은 발효 3일부터 발효 30일까지 15.0±1.2 mg/kg에서 46.0±1.0 mg/kg으로 증가하는 것을 확인 하였다. 또한 배추김치분말 0.5%와 O52균주를 적용한 발효소시지 GABA 함량은 발효 3일부터 발효 30일까지 14.8±4.4 mg/kg에서 43.8±4.3 mg/kg으로 증가하는 것을 확인 하였다. 배추김치분말 1.0%, 2.0%와 Y8균주를 각각 적용한 발효소시지도 control그룹과 비슷한 함량을 생성하는 것을 확인하였다.

<표 3-142> GABA생성균주(O52)와 배추김치분말 첨가한 발효소시지의 바이오제닉아민 함량

(mg/kg)

Experimental groups ¹⁾	Biogenic amines							
	Trp ²⁾	Phe	Put	Cad	His	Tyr	Spd	Spm
O52	16.43±	0.00±	18.50	13.04	N.D ⁴⁾	22.93±	12.78	13.92
	2.78 ^{a3)}	0.00 ^b	±0.42 ^a	±2.77 ^a		4.66	±1.98 ^a	±3.66 ^a
O52+K0.5	3.40±	4.07±	7.11±	4.42±	2.37±	30.64±	1.37±	2.59±
	0.16 ^b	0.47 ^a	0.02 ^b	0.89 ^b	0.19 ^b	0.94	0.17 ^c	0.17 ^b
O52+K1.0	3.28±	4.77±	6.34±	1.90±	2.42±	29.64±	6.05±	2.38±
	0.10 ^b	0.66 ^a	0.06 ^c	0.10 ^b	0.09 ^b	2.29	1.04 ^b	0.16 ^b
O52+K2.0	3.11±	3.55±	7.20±	2.47±	3.16±	29.07±	1.44±	2.56±
	0.17 ^b	1.70 ^a	0.27 ^b	0.04 ^b	0.31 ^a	1.55	0.13 ^c	0.29 ^b

¹⁾O52; sausage inoculated with *Pediococcus acidilactici* O52, O52+K0.5; sausage inoculated with *Pediococcus acidilactici* O52+0.5% kimchi powder, O52+K1.0; sausage inoculated with *Pediococcus acidilactici* O52+1.0% kimchi powder O52+K2.0; sausage inoculated with *Pediococcus acidilactici* O52+2.0% kimchi powder

²Trp: tryptamine, Phe: β -phenylethylamine, Put: putrescine, Cad: cadaverine, His: histamine, Tyr: tyramine, Spd: spermidine, Spm: spermine

³Results are expressed as the means \pm standard deviation.^{a-c}means with different letters within a row are significantly different at $p < 0.05$ as determined by Duncan's multiple-range test.

⁴Not detected

제조한 발효소시지의 바이오제닉 아민 함량을 측정한 결과 Control 그룹의 타이라민 함량의 경우 22.93 ± 4.66 mg/kg 검출되었고, GABA생성균주(O52)와 배추김치분말을 0.5%, 1.0%, 2.0% 첨가한 발효소시지 그룹의 타이라민 함량은 각각 30.64 ± 0.94 , 29.64 ± 2.29 , 29.07 ± 1.55 mg/kg 검출되는 것을 확인하였으며 기타 아민의 경우 그 함량이 15 mg/kg 이하인 것으로 확인되었다.

(마) 관능검사

일반적으로 육제품의 맛과 방향성 화합물들은 주로 원료 물질로부터 유래되는데 특히 발효 육제품이나 염지육제품에 있어서는 주로 garlic, onion 그리고 spice와 같은 첨가물들이 맛에 직접적인 영향을 미칠 뿐만 아니라 지방이나 단백질로부터 분해된 아미노산, 지방산 그리고 nucleotides 역시 제품의 맛과 향미에 큰 영향을 미친다. 단백질 분해와 지방의 분해는 주로 proteases 와 lipases와 같은 효소와 내생하는 미생물 또는 starter로 첨가된 젖산균들에 의해서 이루어지며, 이러한 화학적 반응에 작용하는 효소와 균에 따라 생성되는 휘발성 화합물 역시 다르게 나타난다 (Montel *et al.*, 1998). 따라서, 발효소시지의 불쾌취를 개선하고자 맛에 영향을 줄 수 있는 배추김치분말을 첨가하였다. 그 결과 불쾌취와 향의 점수는 유의적으로 증가됨을 보여주었다.

<표 3-143> GABA생성균주(O52)와 배추김치분말 첨가한 발효소시지의 관능평가

Experimental groups ¹⁾	Color	Flavor	Odour	Taste	Chewiness	Juiciness	Overall preference
O52	$4.60 \pm 1.43^{b2)}$	3.30 ± 0.67^b	5.10 ± 0.57^a	3.30 ± 0.82^b	4.30 ± 0.95	4.10 ± 0.57^b	3.30 ± 0.48^b
O52+K0.5	5.90 ± 0.88^a	4.50 ± 1.18^a	4.10 ± 0.57^b	4.30 ± 1.06^a	4.90 ± 0.88	5.30 ± 0.82^a	4.30 ± 0.95^a
O52+K1.0	5.80 ± 0.92^a	4.30 ± 1.25^{ab}	4.00 ± 0.67^b	4.40 ± 0.97^a	4.90 ± 0.88	5.20 ± 0.79^a	4.30 ± 1.06^a
O52+K2.0	5.40 ± 1.17^{ab}	4.30 ± 1.25^{ab}	4.10 ± 0.74^b	4.40 ± 1.07^P	4.90 ± 0.88	5.10 ± 0.88^a	4.20 ± 1.32^{ab}

¹⁾O52; sausage inoculated with *Pediococcus acidilactici* O52, O52+K0.5; sausage inoculated with *Pediococcus acidilactici* O52+0.5% kimchi powder, O52+K1.0; sausage inoculated with *Pediococcus acidilactici* O52+1.0% kimchi powder O52+K2.0; sausage inoculated with *Pediococcus acidilactici* O52+2.0% kimchi powder

²⁾Results are expressed as the means \pm standard deviation.^{a-b}means with different letters within a row are significantly different at $p < 0.05$ as determined by Duncan's multiple-range test.

(9) 향콜레스테롤 균주(S18, R8)을 각각 적용한 발효소시지

장부착능과 동물실험을 통해 콜레스테롤 저하활성을 가진 2균주를 최종 분리하였다. 콜레스

테롤 함량은 모든 실험군에서 유의적 차이는 없었다($p < 0.05$). *Pedicoccus acidilactici* S18을 적용한 발효소시지는 발효 9일째까지 콜레스테롤이 저감화 되는 듯 보였으나 12일째부터 증가하여 발효기간이 끝나는 시점에서는 다른 처리군과 비슷한 함량을 보였다. *Lb.curvatus* R8을 적용한 발효소시지는 소시지 제조 후 콜레스테롤 함량이 다른 처리군보다 낮게 측정되었을 뿐 발효기간 동안 증가하는 것을 보였다. 이는 기능성 균주 선별 시 나타난 콜레스테롤 흡착효과가 실제 육제품 내에서는 큰 효과를 나타내지 않은 것으로 보아 추후 항콜레스테롤 균주를 적용하는 시험을 통해 보안을 해야 할 것으로 사료된다.

<표 3-144> 콜레스테롤 저감화 균주 적용한 발효소시지의 콜레스테롤 함량

Experimental groups ¹⁾	Fermentation days										
	0	3	6	9	12	15	18	21	24	27	30
Con	50.45	57.85	60.80	64.30	66.95	69.15	68.40	70.95	73.60	74.90	74.65
	±0.49	±0.64	±0.85	±0.85	±0.21	±0.78	±0.00	±1.34	±1.41	±2.69	±1.20
S18	52.30	50.15	51.95	51.95	58.10	61.4±	63.55	64.10	67.95	69.95	71.70
	±0.57	±0.64	±1.77	±0.92	±0.71	1.41	±1.77	±1.27	±0.35	±0.64	±1.56
R8	49.90	52.00	53.30	56.45	58.55	63.65	64.45	64.50	68.25	69.00	73.85
	±1.13	±0.99	±3.25	±1.06	±2.19	±2.47	±3.75	±0.28	±0.92	±2.12	±1.06

¹⁾Control; sausage inoculated with commercial starter, S18; sausage inoculated with *Pedicoccus acidilactici* S18, R8; sausage with *Lb.curvatus* R8

²⁾Results are expressed as the means ± standard deviation. means with different letters within a row are significantly different at $p < 0.05$ as determined by Duncan's multiple-range test.

10. 연구 실적

(1) 특허출원

제목	주요 내용	출원 번호	년도	진행 사항
GABA 생산 젖산균을 이용한 발효소시지의 제조방법	본 발명은 GABA 생산 젖산균을 이용한 발효소시지의 제조 방법에 관한 것이다. 본발명에 따르면 뇌기능 촉진, 간기능 개선, 비만방지, 알코올대사 촉진, 소취작용 등의 우수한 약리 효과를 갖는 GABA 함량이 증진된 발효소시지를 제공할 수 있다.	10-2016-0095348	2016	등록심사중
발효식품으로부터 분리된 젖산균을 포함하는 생균활성제 및 이를 포함하는 건강기능성식품	본 발명은 발효식품으로부터 분리된 젖산균을 포함하는 생균활성제에 관한 것으로서, 더욱 상세하게는 발효식품으로부터 분리된 균주의 내산성, 내담즙성 활성화와 콜레스테롤 저하능과 더불어 장내 부착능을 갖는 기능성 생균활성제 및 이를 포함하는 건강기능성 식품에 관한 것이다.	10-2016-0095346	2016	등록심사중
한국형 발효소시지의 제조방법 및 이에 의해 제조된 한국형 발효소시지	본 발명은 한국형 발효소시지의 제조방법 및 이에 의해 제조된 한국형 발효소시지에 관한 것으로, 발효소시지의 형태가 유지되면서 생산성이 향상된 제조방법인 것을 특징으로 하고, 한국 소비자 입맛에 맞는 발효소시지인 것을 특징으로 한다.	10-2016-0094954	2016	등록심사중

(2) 논문

제목	구분 (저널명)	년도	비고
Potential for Lactic Acid Bacterial Starter Culture With γ -aminobutyric Acid (GABA) Activity for Fermented Sausage Production	SCI급 (Food Science and Biotechnology)	2017	게재 완료(10월)
시중 판매되는 발효소시지의 품질특성에 관한 연구	비SCI급 (한국식품조리과학회)	2017	게재 완료(8월)
유럽의 발효육제품 기술 개발 동향	축산식품과학과 산업	2017	게재 완료(5월)

(3) 학회발표

제목	학술회의명	년도	진행사항
In situ test of starter candidate for the production of fermented sausage	2015년도 한국식품영양과학회 국제심포지엄	2015	발표완료
Potential starter culture of lactic acid bacteria with GABA-Producing activity for the fermented sausage production	제47차 한국축산식품학회 정기학술발표대회	2015	발표완료
Quality properties of fermented sausages collected from domestic market	제47차 한국축산식품학회 정기학술발표대회	2015	발표완료
Study on the lactic acid bacteria as GABA-producing starter culture for the fermented sausage	제47차 한국축산식품학회 정기학술발표대회	2015	발표완료
Cholesterol lowering effect of lactic acid bacteria isolated from fermented sausage	2015년도 한국식품영양과학회 국제심포지엄	2015	발표완료
Effects of lactic acid bacteria with GABA producing activity on the quality characteristics of fermented sausage	48차 한국축산식품학회 정기학술대회	2016	발표완료
Cholesterol lowering effect lactic acid bacteria with isolated from Kimchi	KoSFOST International symposium and annual meeting	2016	발표완료
Potential of lactic acid bacteria with GABA-producing activity as starter culture for the fermented sausage production	KoSFOST International symposium and annual meeting	2016	발표완료
Fermented sausage production applied with Korean style submaterials	49차 한국축산식품학회 정기학술대회	2017	발표완료
GABA-producing lactic acid bacteria as starter cultures for sausage fermentation	49차 한국축산식품학회 정기학술대회	2017	발표완료

제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

코드번호

D-06

제 1절 목표달성도

1. 1차 년도 (2014년도)

연구개발의 목표	연구개발의 내용	당초연구목표대비 연구결과
서구형 발효소시지 정보 및 제조 기술 정보 확보	○ 국내외 발효소시지 및 제조기술에 대한 정보 수집	100%
	○ 상업화된 스타터 종류에 대한 정보 수집	100%
	○ 상업화된 스타터 확보 및 발효소시지 제조공정 기초화 수립	100%
	○ 제조된 각각의 발효소시지의 이화학적, 미생물학적, 관능적 특성	100%
	○ 저장기간에 따른 품질 특성 변화 분석	100%
기능성 starter 후보균의 분리 및 생리·화학적 특성 검토	○ 시판 발효소시지의 미생물 균상 분석 및 젖산균 분리	100%
	○ 스타터 후보균 분리 및 생리적 특성	100%
	○ 발효조건 최적화	100%
	○ 항균활성[bacteriocin생성 능력]	100%
	○ 대사활성, 효소활성검토 (<i>in vitro</i>)	100%
	○ 스타터 후보균의 안전성 특성 검토	100%
	○ 스타터 후보균의 <i>in situ</i> test	100%

2. 2차 년도 (2015년도)

연구개발의 목표	연구개발의 내용	당초연구목표대비 연구결과
한국형 발효소시지 공정 표준화 기술 적용 (pilot scale)	○ 스타터 후보균과 원료육 종류에 따른 발효소시지의 가공적성 비교	100%
	○ 스타터 후보균과 부원료의 첨가에 따른 발효소시지 특성 검토	100%
	○ 한국형 발효소시지 공정 표준화	100%

	○ 소비자 조사를 실시하여 최적 배합 및 공정 도출	100%
스타터 후보균 선정과 부원료 첨가 발효소시지 제조를 위한 가공 적성 검토 (pilot scale)	○ 우수 젖산균 스타터 후보균 선정	100%
	○ 부원료에 첨가에 따른 발효소시지 특성 검토	100%
	○ pilot scale로 제조된 한국형 발효소시지의 분석 및 표준화	100%

3. 3차 년도 (2016년도)

연구개발의 목표	연구개발의 내용	당초연구목표대비 연구결과
한국형 발효소시지의 산업화 및 표준화	○ Pilot과 현장의 차이점 분석 및 문제 발생가능성 분석	100%
	○ 최종 확정·선정된 원료, 스타터, 부원료를 사용하여 시제품을 제조하고 품질 특성을 검토함	100%
	○ GABA 생성 기능성 젖산균의 최적 조건 수립	100%
	○ 국내 발효소시지 시장상황 및 마케팅 요소 분석	100%
	○ 신규 개발된 발효소시지 제조원가 및 GP 설계	100%
	○ 소비자 조사 수행 및 결과 분석	100%
한국형 발효소시지 제조를 위한 기능성 젖산균스타터 개발 및 제조공정 확립	○ 부원료 조합으로 pilot scale로 제조된 한국형 발효 소시지 시료의 분석 및 최적화 공정 확립	100%
	○ 발효기간 중 미생물학적 거동 및 균상 변화	100%
	○ 이화학적 특성: pH-값, a _w -값, 지질 산패도 등	100%
	○ 건강기능 특성: GABA, 항콜레스테롤 등	100%
	○ 관능검사:	100%

제 2절 관련분야의 기술발전예의 기여도

1. 발효 식품에서의 기능성 균주 확보 및 관련 산업 활성화

현재 국내의 다양한 발효식품에서 기능성 균주를 확보하고 이를 다양한 식품에 적용하여 기능성을 발휘할 수 있는 식품을 개발할 수 있는 기초 연구 방법을 세팅함으로써 발효식품(치즈, 발효유, 김치 등) 시장이나 기능성 식품 시장의 활성화에 기여할 수 있음.

2. 육가공 시장의 신규 카테고리 시장 창출

국내 육가공 시장은 2010년대에 건강 관련 무첨가 제품이 활성화되어 한단계 업그레이드 되었고, 캠핑 수요의 증가로 그릴시리즈 및 원물을 활용한 햄제품 등을 통해 지속 성장을 거듭하다가 최근 WHO 발표 및 원료육 이슈 등이 증가하여 정체를 거듭하고 있다. 이때 이러한 새로운 미트스낵 시장을 창출함으로써 정체된 육가공 산업을 활성화하는데 기여할 수 있음

3. 국내외 기술개발 현황에서 차지하는 위치

기술개발 현황	개발 전 기술 수준	개발 후 기술 수준
기능성 균주 확보 및 특허	중	상(특허 출원)
발효소시지 제조 기술 확보	하	중
기능성 균주 및 부재료 활용 발효소시지 제조 기술	하	중
한국형 발효소시지 제조 기술 및 특허	중	상(특허출원)

제 5장 연구결과의 활용계획

코드번호

D-07

1. 산업화 적용 및 추가 연구의 필요성

본 과제를 통해 기능성 젖산균 스타터 GABA 생성균주 3건(*Lactobacillus brevis*, *Weissella halotolerans*, *Pediococcus acidilactici*), 콜레스테롤 저하능과 장부착능 균주 2건(*Pediococcus acidilactici*, *Lactobacillus curvatus*)을 확보하고 이들 균주를 접목한 한국형 발효소시지 개발공정을 확립하여 산업화 토대를 마련하였다. 그리고 현재 주관기관에서 본 과제를 기초로 한 중장기 상품화 계획을 수립하고, 마케팅 등 유관부서와 협의를 통해 상품화를 추진하고 있다. 그러나 이들 기능성 균주를 활용하여 발효소시지를 산업화하기 위해 균일한 제품 제조 가능성에 대한 추가 연구가 필요하다.

(1) 기능성 GABA 성분 생성 균주 및 부재료를 적용한 발효소시지의 산업화를 위한 최적 발효 조건에 대한 연구

- 연구 파일럿 규모에서 확정된 발효공정으로 기본적인 세팅은 할 수 있지만, 제조규모가 대량생산화로 변경되면 온도, 습도 분포를 균일하게 조정하는 것이 중요함
- 주관기관에서 개발한 배합비와 협동기관에서 개발한 부재료의 특성을 토대로 부재료(배추김치분말) 및 기능성 GABA 생성 균주를 적용한 최적발효조건 설정이 필요함
- 연구방법: 배추김치분말, 기능성 GABA 균주 및 케이싱 직경에 따른 발효시 발효소시지의 이화학적 품질(Aw, pH, 감량, 수분함량, Texture, Color, 관능검사) 및 미생물적 품질(일반세균, 대장균군, 유산균수)를 측정하고, 발효 기간별 GABA 함량의 변화에 대해 분석
- > GABA 함량이 최적화되는 발효조건을 확보하여 산업화에 적용

(2) 콜레스테롤 저감화 균주를 적용한 발효소시지에 대한 추가 연구 수행

- 콜레스테롤 저감화 균주가 흰쥐에는 직접적인 콜레스테롤 감소효과가 있음이 확인되었으나, 이들을 발효소시지에 넣고 발효시 발효소시지의 자체가 콜레스테롤 함량이 높아 콜레스테롤 저감효과를 확인하지 못 하였음.
- 지방첨가량에 따른 콜레스테롤이 저감되는지에 대한 연구를 추가 수행함으로써 본 과제에서 발굴된 콜레스테롤 저감화 균주의 Probiotic으로서 활용 폭을 넓힐 필요가 있음
- 연구방법: 지방을 10, 20, 30%로 첨가하고 기능성 균주의 투입량을 조절하여 발효소시지의 이화학적 품질(Aw, pH, 감량, 수분함량, Texture, Color, 관능검사) 및 미생물적 품질(일반세균, 대장균군, 유산균수)를 측정하고 발효 기간별 콜레스테롤 함량의 변화에 대해 분석
- > 콜레스테롤 함량이 감소되는 최적 발효조건을 확보

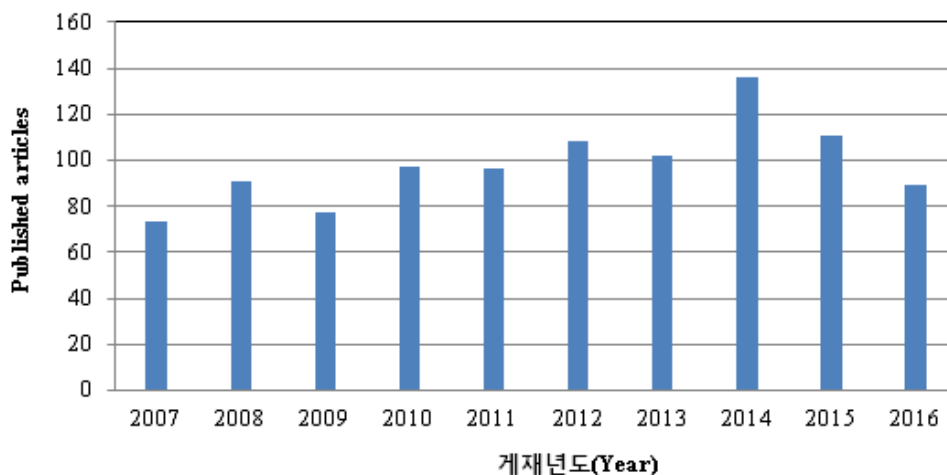
제 6장 연구과정에서 수집한 해외과학기술정보

1. 유럽 발효육제품 기술 개발 동향

가. 논문 및 특허 동향

최근 10년간 발효육제품 관련 논문 연구 동향을 보면 매년 30편 이상 발표하는 것으로 나타났다(그림 6-1). 주요 keywords로는 발효육제품 제조시 품질에 대한 연구(Berardo 등, 2016), Probiotic 유산균을 이용한 안전성 증진(Rubio 등, 2013; Trzaskowska, 2014), 지방대체제에 대한 연구(Alejandre 등, 2016), 유산균에서 bacteriocin 생성(Gao 등, 2014), 기능성 균주 발굴(Lee 등, 2006; Kim 등, 2011) 등이 주를 이루고 있다(표 6-1). 또한 발효육제품이 유럽에서 시작된 만큼 스페인, 이탈리아, 독일에서 연구한 논문의 수가 가장 많이 나타났다(표 6-2). 또 다른 경향은 각 국가별 전통 발효육제품에 대한 연구들이 다수 진행되어왔다. 예를 들면, 포르투갈의 북서부 지방의 전통 발효육제품인 salpicao(Todorov 등, 2013), 스페인의 Jamón(Gou 등, 2012)과 Salchichón(Martín-Sánchez 등, 2011), 프랑스의 전통 발효육제품인 Jambon de Bayonne(Santé-Lhoutellier 등, 2012), 슬로베니아 전통 발효육제품 Kraški pršut(Škrlep 등, 2012), 이탈리아의 전통 발효육제품인 Parma ham (Koutina 등, 2012), 터키의 전통 발효육제품인 Sucuk(Turp and Serdaroglu, 2008)이 대표적이다.

이러한 경향은 발효육제품에 대한 기초적인 연구들은 이미 80-90년대에 다양하게 진행되어 왔기 때문에 기본적인 이론들은 확보되어 있는 상태이므로 이런 제조기술을 토대로 연구자들은 각 지역에 맞는 발효육제품을 발굴하여 그 제품들에 제조기술을 접목하려는 것으로 판단된다.



<그림 6-1> 최근 10년간 발효육제품 관련 논문 연구 동향 분석
(SCUPUS 기준, 2007-2016년)

<표 6-1> 최근 10년간 발효육제품 관련 논문 연구 주요 keywords 동향
(SCUPUS 기준, 2007~2016년)

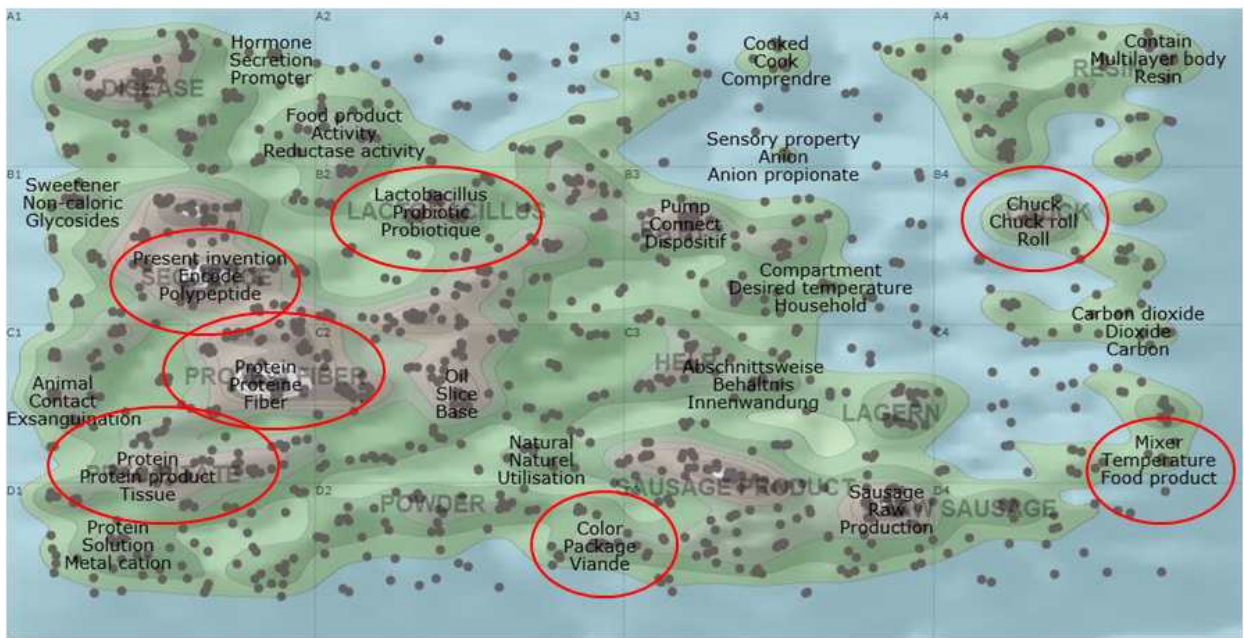
Keyword	도출횟수	Keyword	도출횟수
Fermentation	399	Food contamination	95
Meat product	379	Isolation and purification	95
Human	368	<i>Staphylococcus</i>	86
Food microbiology	205	Growth, development, and aging	80
Bacteria(microorganisms)	177	Food safety	62
Food control	147	<i>Lactobacillus sakei</i>	60
Fermented sausage	115	Bacterial strain	60
pH	112	Amino acids	54
Lactic acid	109	<i>Lactobacillus sakei</i>	54
<i>Listeria monocytogenes</i>	104	Consumer product safety	54
Controlled study	100	Taste	52

<표 6-2> 주요 국가별 최근 10년간 발효육제품 관련 논문 연구 동향
(SCUPUS 기준, 2007~2016년)

Keyword	도출횟수	Keyword	도출횟수
Spain	182	Poland	31
Italy	104	Canada	28
Germany	53	United Kingdom	21
China	48	Croatia	19
United states	44	Norway	17
France	39	Serbia	15
Japan	39	Netherlands	13
Turkey	39	Sweden	12
South Korea	36	Slovakia	11
Belgium	31	Ireland	10
Greece	31	Hungary	9

최근 5년간 발효육제품 관련 국제특허의 Map 분석 결과를 <그림 6-2>에 나타내었다. protein fiber, sequence (polypeptide), *lactobacillus*와 관련된 probiotics 등 기능성 식품과 관련된 특허 및 sausage product 개발과 관련된 특허가 주를 이루었다. 주요 특허 keywords는 probiotics, protein, high pressure, muscle tissue, nucleotide, fat composition 등 다양하게 나타났으며, 특히, high pressure를 통한 발효소시지의 살균에 대한 연구들도 19건으로 나타났다. 이러한 경향

은 발효육제품이 일반 육가공품과 달리 열처리를 통해 살균되지 않기 때문에 상온유통 및 냉장 유통시 부패가 발생할 수 있는 등 safety 측면에서 제조 및 관리가 잘 이루어져야 하기 때문에 지속적인 연구가 이루어지는 것으로 보인다. 또한 살라미 등 발효소시지는 30% 정도의 지방함량을 갖고 있기 때문에 지질산화에 의한 영양소 손실 및 품질 열화에 대한 측면도 고려해야하기 때문에 제조가공 측면에서도 꾸준히 연구가 되어져 오고 있다. 육식을 주로 하는 습관 때문에 이에 따른 성인병 및 암 발병율이 증가하면서 건강에 대한 관심이 지속적으로 증가하고 있어 이런 부분에 있어서도 관련 특허들이 나오고 있다. vegetarian과 vegan이 증가함에 따라 다양한 식품들이 판매가 되고 있는데, 특히 독일이 글로벌 마켓에서 vegan 식품 부문을 선도하고 있는 것으로 나타났다(약업신문, 2017). 2016년 글로벌 마켓에 발매된 vegan 식품의 18%가 독일 제품이어서 가장 높은 점유율을 기록했고, 미국 17%, 영국 11%, 프랑스 6% 순으로 나타났다. 독일내에서 발매된 vegan 식품의 마켓셰어가 2012년 1%에서 2016년에 13%까지 증가하였으며, 실제로 독일 마켓을 조사해보면, 육가공품을 대체한 제품들이 다양함을 알 수 있다. 그 중 살라미도 vegan 식품으로 나타나는 것을 알 수 있었다.



<그림 6-2> 최근 5년간 발효육제품 관련 국제 특허 Map 분석
(Thomson innovation, 2011~2016년)

<표 6-3> 최근 5년간 발효육제품 관련 국제 특허 중 주요 keywords 동향
(Thomson innovation, 2011~2016년)

Keywords	출연횟수	Keywords	출연횟수
Lean	33	Muscle tissue	15
Precipitate	27	Nucleotide	15
Probiotic	26	Diabetes	13
Protein product	23	Metabolic	13
High pressure	19	<i>Plantarum</i>	13
Chuck roll	17	Probiotic composition	13
Chuck	17	Salami	7
Powder	16	Smoke	7
Cancer	16	Vegetable protein	7
Expression	16	Colorant	6
Mass production	16	Fat composition	6

(2) 시장 및 제조 기술 동향

유럽의 발효육제품 최근 제조기술 동향은 주로 소시지가 발달한 독일, 폴란드와 발효햄이 발달해 있는 이탈리아 위주로 본 내용에서 다루고자 한다.

먼저, 독일은 가열 및 발효 육가공품이 가장 발달한 나라로, 육가공품 위주의 정육점인 메쯔거라이가 그것을 대표할 수 있다. 백화점이나 마트에서 식료품 코너의 넓은 부분을 메쯔거라이가 차지하고 있을 뿐만 아니라, 그 판매되는 제품 종류도 주요 원료에 따라, 가공방법에 따라, 용도에 따라 다양하다. 또한 재래시장에서도 정육점 규모의 작은 가게들이 여러 개가 모여서 판매가 이루어지고 있으며, 내부에서 직접 원하는 만큼 구매 후 먹을 수 있어 많은 사람들이 이용하고 있다. 발효육제품은 주로 살라미와 같은 발효소시지가 대부분을 차지하고 있다. 제품 형태는 10-100 mm 직경의 크기까지 다양한 종류가 있으며, 지방과 고기 입자가 2 mm 이하로 균일하게 분포되어 있어 고급스러운 외관을 갖고 있다.

최근에는 정통 발효소시지 및 발효햄 이외에도 미트스낵 시장이 활발해지고 있는 것을 볼 수 있다. 같은 마켓에서 정통 발효육제품과 미트스낵 매대의 규모 차이가 유사한 것을 볼 수 있는데, 미트스낵의 종류는 기존엔 콜라겐 케이싱이나 셀룰로오스 케이싱을 이용하여 불타입 혹은 16 mm 직경 이상의 스틱타입 제품들이 제조되고 있었으나, 최근에는 케이싱으로 제조할 수 없는 14 mm 이하 직경의 제품들이 다양하게 제조되고 있다. 이러한 부분은 Stuffer(충진기) 제조 업체들이 앞장서서 케이싱없이 제조하는 기술들을 발굴하면서 독일 뿐만 아니라, 프랑스, 이탈리아와 폴란드, 러시아 등 동유럽 국가들에서도 제품들이 개발되어 판매되고 있다. 초기에는 케이싱처럼 꼬임을 줄 수 없어 길게 뽑아내어 절단하는 방식에서 현재는 케이싱처럼 꼬임까지 줄 수 있는 기술까지 확대되고 있다. 그러나 꼬임을 주는 방식은 생산성이 감소되기 때문에 일반 가열소시지에 적용하기에는 적합하지 않지만, 발효를 통해 제조하는 살라미의 경우에는 적용이 가능하여 살라미 제조업체에서는 유용하게 활용하고 있다.

폴란드도 독일과 유사한 형태의 발효육제품 시장이 형성되어 있으며, 매우 가격이 저렴한 것이 장점이다. 대표적인 육가공 업체인 Sokolow는 육가공 중에서도 중저가 육가공품을 대량생산하는 시스템이 갖춰져 있어 가격경쟁력이 있다. 발효육제품 제조 공장은 별도로 있으며, 건조

소시지인 카바노치와 살라미 같은 제품을 앞서 말한 바와 같이 케이싱이 없는 형태로 제조하는 라인이 10개 이상 갖춰져 있어 시장을 선도하고 있다 .

이탈리아는 발효육제품을 제조하기에 적합한 기후 조건을 가지고 있기 때문에 발효육제품 제조 기술이 발달되어 있는 국가로서, 독일과 달리 주로 발효육제품들이 주를 이루고 있으며, 메쯔거라이와 유사한 발효육제품 전문점이 대형마트 뿐만 아니라 소규모 슈퍼마켓에서 운영하고 있다. 돼지의 뒷다리로 만든 프로슈토(Prosciutto), 삼겹살로 만든 판체타(Pancetta), 목살로 만든 코파(Coppa) 등 덩어리를 그대로 발효하여 만드는 기술력이 우수하다. 그 중심에는 파르마(Parma) 지역에 특화되어 있는 Parma ham이 유명하다. 이들 지역에는 파르마 지역내 햄공장 250개가 위치하고 있으나, 150개 업체만 파르마 햄 명칭을 사용할 수 있으며, 중견기업은 약 10만개의 프로슈토를 제조하는 능력이 있고, 이탈리아에서 만들어지는 프로슈토는 연간 2천 8백만개이다. 원료육은 이탈리아산 돼지를 사용하며, 프로슈토는 소금만으로 염지해서 발효를 시키기 때문에 스타터컬처(starter culture)를 사용하지 않는 특징이 있다. 공장의 규모는 생산량에 따라 달라지지만, 일반적으로 가공실(초핑, 믹싱, 커팅) 규모는 발효 및 숙성실에 비해 매우 협소하다. 발효소시지 특성상 가공하는 것 보다는 발효/숙성시키는 일정이 길기 때문에 대량생산 시스템을 갖추기 위해서 숙성룸의 규모를 설계하고 관리하는 능력도 중요하다. 기본적으로 24개월 이상 숙성되어야 하기 때문에 일부 업체는 바코드 시스템과 자동 이송 시스템을 통해 숙성기간별로 이동하며 관리하고 있다.

프로슈토 제조시 장시간 숙성과 건조가 진행되기 때문에 표면이 단단해 질 수 있다. 이런 것을 방지하기 위해 Sugna(Leaflard)를 발효진행중인 뒷다리살 부분에 양념된 지방을 발라서 숙성도중 내부와 외부사이에 수분이동을 시켜주어 표면에 촉촉함을 유지시키고 굳는 것을 방지하고 있다(그림 6-3). Sugna는 삼겹살 부위의 지방과 흑후추, 소금, 밀가루 등으로 혼합하여 사용하고 있다.

<그림 6-3> Sugna(Leaflard)



제 7장 연구개발결과의 보안등급

		코드번호	D-09
보안등급 분류	보안	일반	
		√	
결정 사유	「국가연구개발사업의 관리 등에 관한 규정」 제24조의4에 해당하지 않음		

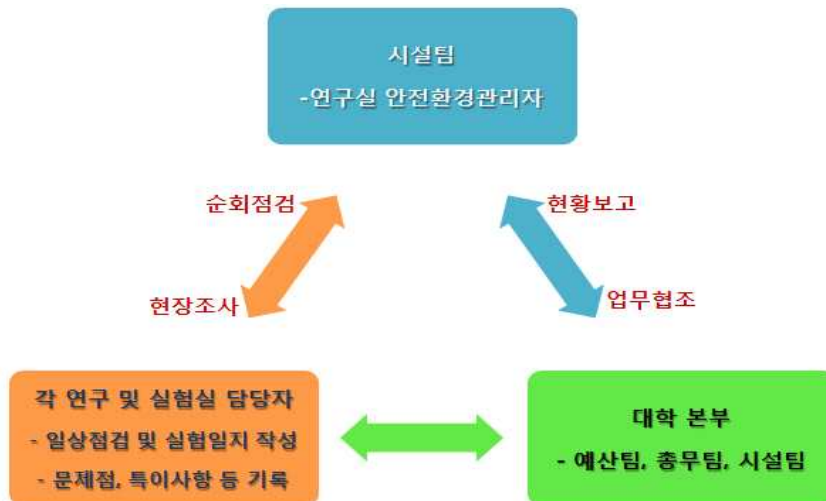
제 8장 국가과학기술종합정보시스템에 등록된 연구시설·장비 현황

- 해당 사항 없음

제 9장 연구개발과제 수행에 따른 연구실 등의 안전조치 이행 실적

코드번호	D-11
------	------

- 실험과정에서 특정 위험관리를 요하는 위험인자 추출을 위하여 매 학기 지식 포탈시스템에 위험물질, 위험장치, 시설 등의 취급과 관련하여 안전에 관한 공지사항 입력
- 모든 연구실 및 실험실 출입허가제 운영하며, 안전관리 규칙을 어길시 출입권한 박탈
- 화학약품을 취급하는 연구실 및 실험실에 안전설비로서 긴급 샤워기와 세안기 등을 설치 및 관리
- 주요 위험관리 기자재는 소모성 부품교환 주기에 맞추어 순회 안전점검 실시
 - 실험실 내 보호장비 보관함 및 구급함 구비
- 연구실 및 실험실 안전점검 3단계 프로그램 시행
 - 1단계 : 연구실 자체에서 표준안전점검항목 점검 (매일)
 - 2단계 : 안전점검의 날 지정 및 자체안전점검 (매월 4일)
 - 3단계 : 시설팀에서 주관하여 안전관리교육 실시 (6개월 당 4시간)
 - 4단계 : 외부기관에서 실시하는 종합 안전점검 실시 (1회/2년)
- 연구실 및 실험실 안전관리 캠페인 실시
- 안전관리 매체(SMS, E-mail 등)를 활용하여 안전사고 예방 활동 이행



제 10장 연구개발과제의 대표적 연구실적

번호	구분 (논문/ 특허/ 기타)	논문명/특허명/기타	소속 기관명	역할	논문게재지/ 특허등록국 가	코드번호		D-12	
						Impact Factor	논문게재일 /특허출원일	사사여부 (단독사사 또는 중복사사)	특기사항 (SCI여부/인 용횟수 등)
1	특허	GABA 생산 젖산균 을 이용한 발효소세 지의 제조방법	고려대	-	대한민국	-	2016.07.30	단독	-
2	특허	발효식품으로부터 분리된 젖산균을 포 함하는 생균활성제 및 이를 포함하는 건강기능성식품	고려대	-	대한민국	-	2016.07.30	단독	-
3	특허	한국형 발효소시지 의 제조방법 및 이 에 의해 제조된 한 국형 발효소시지	CJ제일 제당	-	대한민국	-	2016.07.26	단독	-
4	논문	Potential for Lactic Acid Bacterial Starter Culture With γ - aminobutyric Acid (GABA) Activity for Fermented Sausage Production	고려대 CJ제일 제당	교신 저자	Food Science & Biotechnol ogy	0.699	2017.10.31	단독	SCI
5	논문	시중 판매되는 발효 소시지의 품질특성 에 관한 연구	고려대 CJ제일 제당	교신 저자	한국식품 조리과학회	-	2017.08.31	단독	비SCI

제 11장 기타사항

코드번호	D-13
○ 해당사항 없음	

제 12장 참고문헌

코드번호	D-14
------	------

- Alejandre, M., Poyato, C., Ansorena, D., Astiasarán, I. (2016) Linseed oil gelled emulsion: A successful fat replacer in dry fermented sausages. *Meat Sci*, 121, 107-113
- AOAC. 2000. Official methods of analysis. 17th ed. Association of Official Analytical Chemists. Washington DC, USA. pp 33-36.
- Barla, F., Koyanagi, T., Tokuda, N., Matsui, H., Katayama, T., Kumagai, H., and Enomoto, T. (2016). The γ -aminobutyric acid-producing ability under low pH conditions of lactic acid bacteria isolated from traditional fermented foods of Ishikawa Prefecture, Japan, with a strong ability to produce ACE-inhibitory peptides. *Biotechnology Reports*, 10, 105-110.
- Ben-Gigley B, Vieites Baptista de Sousa JM, Villa TG. Changes in biogenic amines and microbiological analysis in albacore (*Thunnus alalunga*) muscle during frozen storage. *Journal of Food Protection*®. 61: 608-615 (1998)
- Bover-Cid S, Holzapfel WH. Improved screening procedure for biogenic amine production by lactic acid bacteria. *Int. J. Food microbiol.* 53: 33-41 (1999)
- Bozkurt H. 2006. Utilization of natural antioxidants: green tea extract and *Thymbra spicata* oil in Turkish dry-fermented sausage. *Meat Sci* 73: 442-450.
- Cho SY, Park MJ, Kim KM, Ryu JH, Park HJ. Production of high γ -aminobutyric acid (GABA) sour kimchi using lactic acid bacteria isolated from mukeunjee kimchi. *Food Sci Biotechnol.* 20: 403-408 (2011)
- Codex Alimentarius. Codex standard for kimchi (CODEX STAN 223-2001). In: FAO/WHO Joint Publications: Processed and Quick Frozen Fruits & Vegetables. 5A (2001)
- Comi G, Urso R, Iacumin L, Rantsiou K, Cattaneo P, Cantoni C, Cocolin L. 2005. Characterisation of naturally fermented sausages produced in the North East of Italy. *Meat Sci* 69: 381-392.
- Fernández, J., Pérez-Álvarez, J. A., and Fernández-López, J. A. (1997). Thiobarbituric acid test for monitoring lipid oxidation in meat. *Food Chemistry*, 59(3), 345-353.
- Folch, J., Lee, M., and Sloan-Stanley, G. H. (1957) A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissue. *J. Biol.Chem.* 226, 497-509.
- Frédéric L, Jurgen V, Luc DV. Functional meat starter cultures for improved sausage fermentation. *Int. J. Food microbiol.* 106: 270-285 (2006)
- Gao Y, Li D, Liu X. 2014. Bacteriocin-producing *Lactobacillus sakei* C2 as starter culture in fermented sausages. *Food Control* 35: 1-6.
- Halvarson, H. (1973) Formation of lactic acid, volatile fatty acids and neutral, volatile monocarbonyl compounds in Swedish fermented sausage. *J. Food Sci.* 38, 310
- Hampikyan H, Ugur M. 2007. The effect of nisin on *L. monocytogenes* in Turkish fermented sausages (sucuks). *Meat Sci* 76: 327-332.
- Han KH, Park JK, Lee CH. 2006. Manufacture and products evaluation of fermented sausages inoculated with free-dried *Kimchi* powder and starter culture. *Korean J Food Sci*

Ani Resour 26: 486-490.

- Herbert J. B. Selection criteria for lactic acid bacteria to be used as starter cultures for various food commodities. *FEMS microbiology reviews*. 12: 253-271 (1993)
- Higuchi T, Hayashi H, Abe K. Exchange of glutamate and γ -aminobutyrate in a *Lactobacillus* strain. *J. Bacteriol.* 179: 3362-3364 (1997)
- Hiraga K, Ueno Y, Sukontasing S, Tanasupawat S, Oda K. *Lactobacillus senmaizukei* sp. nov., isolated from Japanese pickle. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 58: 1652-1629 (2008)
- Hornstein, I. and Crowe, P. F. (1960) Flavor studies of beef and pork. *J. Agr. Food Chem.*, 8, 494-
- Inoue, K., Shirai, T., Ochiai, H., and Kasao, M. (2003). Blood-pressure-lowering effect of a novel fermented milk containing gamma-aminobutyric acid (GABA) in mild hypertensives. *European journal of clinical nutrition*, 57(3), 490.
- Kang SM, Kim TS, Song YH, Kwon IK, Cho S, Park B, Lee SK. 2012. Effect of addition level of green tea extract on the lactic acid bacteria, oxidative stability, and aroma in Kimchi-fermented sausage. *Korean J Food Sci Ani Resour* 32(4): 467-475.
- Kim IS, Yang MR, Jo C, Ahn DU, Kang SN. 2011. Effect of gamma-irradiation on trans fatty acid, free amino acid and sensory evaluation of dry-fermented sausage. *Korean J Food Sci Ani Resour* 31(4): 580-587
- Kim RU, Ahn SC, Yu SN, Kim KY, Seong JH, Lee YG, Kim HS, Kim DS. 2011. Screening and identification of soy curd-producing lactic acid bacteria. *J Life Sci* 21: 235-241.
- Kim SH, Shin BH, Kim YH, Nam SW, Jeon SJ. Cloning and expression of a full-length glutamate decarboxylase gene from *Lactobacillus brevis* BH2. *Biotechnology Bioprocess Engineerig.* 12:707-712 (2007)
- Kim Y, Ahn BS. 2014. Study on development of fermented sausage using grapefruit extract and Kimchi extracted starter culture. *J East Asian Soc Dietary Life* 24(1): 70-79.
- Kim YJ, Lee HC, Park SY, Park SY, Oh S, Jin KB. 2008. Utilization of probiotic starter cultures for the manufacture of low-fat functional fermented sausages. *Korean J Food Sci Ani Resour* 28(1): 51-58
- Kunz B, Lee JY. 2003. Production and microbiological characteristics of fermented sausages. *Korean J Food Sci Ani Resour* 23(4): 361-375.
- Kunz B, Lee JY. 2003. Production and microbiological characteristics of fermented sausages. *Korean J Food Sci Ani Resour* 23(4): 361-375.
- Kurt, S. (2016) The effects of grape seed flour on the quality of Turkish dry fermented sausage (Sucuk) during ripening and refrigerated storage. *Korean J. Food Sci. Ani. Resour.* 36(3), 300-308.
- Lee JY, Kim CJ, Kunz B. 2006. Identification of lactic acid bacteria isolated from Kimchi and studies on their suitability for application as starter culture in the production of fermented sausages. *Meat Sci* 72: 437-445.
- Lee JY, Pack YS, Kim YS, Shin DH. 2002. Antimicrobial characteristics of metabolites of lactic acid bacteria isolated from feces of newborn baby and from Dongchimi. *Korean J*

- Lee, J. Y., and Kunz, B. (2005). The antioxidant properties of baechu-kimchi and freeze-dried kimchi-powder in fermented sausages. *Meat science*, 69(4), 741-747.
- Lee, M. A., Han, D. J., Jeong, J. Y., Choi, J. H., Choi, Y. S., Kim, H. Y., and Kim, C. J. (2008). Effect of kimchi powder level and drying methods on quality characteristics of breakfast sausage. *Meat science*, 80(3), 708-714.
- Leistner L, Rodel W, Krispien K. 1981. Microbiology of meat and meat products in high- and intermediate- moisture ranges. pp 855-915. In: Water activity: Influences on food quality. Rockland LB, Stewart GF (eds.). Academic Press, New York, NY, USA.
- Leroy F, Verluyten J, De Vuyst L. 2006. Functional meat starter cultures for improved sausage fermentation. *Int J Food Microbiol* 106: 270-285
- Liaros, N. G., Katsanidis, E., and Bloukas, J. G. (2009). Effect of the ripening time under vacuum and packaging film permeability on processing and quality characteristics of low-fat fermented sausages. *Meat Science*, 83(4), 589-598.
- Lucke FK. 1994. Fermented meat products. *Food Res Int* 27(3): 299-307.
- Marco, A., Navarro, J. L., and Flores, M. (2006) The influence of nitrite and nitrate on microbial, chemical and sensory parameters of slow dry fermented sausage. *Meat Sci.* 73, 660-673.
- Marta H, Josep Ma. M. Bacterial starter cultures for meat fermentation. *Food Chemistry*. 59: 547-554 (1997)
- Mendoza, E., Garcia, M. L., Casas, C., and Selgas, M. D. (2001) Inulin as fat substitute in low fat, dry fermented sausages. *Meat Sci.* 57, 387-393.
- Mora-Gallego, H., Guàrdia, M. D., Serra, X., Gou, P., Arnau, J. (2016) Sensory characterisation and consumer acceptability of potassium chloride and sunflower oil addition in small-caliber non-acid fermented sausages with a reduced content of sodium chloride and fat. *Meat Sci.* 112, 9-15.
- Mora-Gallego, H., Serra, X., Guàrdia, M. D., & Arnau, J. (2014). Effect of reducing and replacing pork fat on the physicochemical, instrumental and sensory characteristics throughout storage time of small caliber non-acid fermented sausages with reduced salt content. *Meat Science*, 97, 62-68
- Muguerza, E., Fista, G., Ansorena, D., Astiasaran, I., and Bloukas, J. G. (2002) Effect of fat level and partial replacement of pork backfat with olive oil on processing and quality characteristics of fermented sausages. *Meat Sci.* 61, 397-404
- Nomura M, Kimoto H, Someya Y, Furukawa S, Suzuki I. Production of γ -aminobutyric acid by cheese starters during cheese ripening. *J. Dairy Sci.* 81: 1486-1491 (1998)
- Okada, T., Sugishita, T., Murakami, T., Murai, H., Saikusa, T., Horino, T., and Takahashi, T. (2000). Effect of the defatted rice germ enriched with GABA for sleeplessness, depression, autonomic disorder by oral administration. *Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi*= *Journal of the Japanese Society for Food Science and Technology*, 47(8), 596-603.
- Olivares, A., Navarro, J. L., Salvador, A., & Flores, M. (2010). Sensory acceptability of slow

fermented sausages based on fat content and ripening time. *Meat Science*, 86, 251-257

- Papamanoli E, Tzanetakis N, Litopoulou-Tzanetaki E, Kotzekidou P. 2003. Characterization of lactic acid bacteria isolated from a Greek dry-fermented sausage in respect of their technological and probiotic properties. *Meat Sci* 65: 859-867.
- Park KB, Oh SH. Cloning, sequencing and expression of a novel glutamate decarboxylase gene from a newly isolated lactic acid bacterium, *Lactobacillus brevis* OPK-3. *Bioresour Technol.* 98: 312-319 (2007)
- Park SY, Lee JW, Lim SD. The probiotic characteristics and GABA production of *Lactobacillus plantarum* K154 isolated from kimchi. *Food Sci. Biotechnol.* 23: 1951-1957 (2014)19. Won YG, Yu HH, Chang YH, Hwang HJ. Lactic Acid Bacterial Starter Culture with Antioxidant and γ -Aminobutyric Acid Biosynthetic Activities Isolated from Flatfish-Sikhae Fermentation. *Journal of Medicinal Food.* 18: 1371-1379 (2015)
- Park, Y. S., and Lee, J. Y. (2012). The effect of kimchi on the microbiological stability of fermented sausage. *Meat science*, 92(4), 721-727
- Pearson D. 1968. Application of chemical methods for the assessments of beef quality. *J Sci Food Agri* 19: 366-369.
- Pelsler WM, Linssen JPH, Legger A, Houben JH. 2007. Lipid oxidation in n-3 fatty acid enriched Dutch style fermented sausages. *Meat Sci* 75: 1-11.
- Rubio R, Aymerich T, Bover-Cid S, Guàrdia MD, Arnau J, Garriga M. 2013. Probiotic strains *Lactobacillus plantarum* 299V and *Lactobacillus rhamnosus* GG as starter cultures for fermented sausages. *LWT-Food Sci Technol* 54: 51-56.
- Seo MJ, Nam YD, Lee SY, Park SL, Yi SH, Lim SI. Expression and characterization of a glutamate decarboxylase from *Lactobacillus brevis* 877G producing γ -aminobutyric acid. *Biosci Biotechnol Biochem.* 77: 853-856 (2013)
- Seong, P. N. (2013) Technology development prospects of fermented meat products. *축산식품 과학과 산업*, 2(1), 19-26.
- Siragusa S, Angelis MD, Cagno RD, Rizzello CG, Coda R, Gobbetti M. Synthesis of γ -aminobutyric acid by lactic acid bacteria isolated from a variety of Italian cheeses. *Appl. Environ. Microbiol.* 73: 7283-7290 (2007)
- Somkuti GA, Renye JA. Molecular analysis of the glutamate decarboxylase locus in *Streptococcus thermophilus* ST110. *Journal of industrial microbiology & biotechnology.* 39: 957 - 963 (2012)
- Tarladgis BG, Watts BM, Younathan MT, Dugan LR. 1960. A distillation method for the quantitative determination of malonaldehyde in rancid foods. *J Am Oil Chemists Soc* 37: 44-47.
- Trzaskowska M, Kołozyn-Krajewska D, Wójciak K, Dolatowski Z. 2014. Microbiological quality of raw-fermented sausages with *Lactobacillus casei* LOCK 0900 probiotic strain. *Food Control* 35: 184-191
- Xiang, C., Ruiz-Carrascal, J., Petersen, M. A., and Karlsson, A. H. (2017). Cheese powder as an ingredient in emulsion sausages: Effect on sensory properties and volatile

compounds. *Meat Science*, 130, 1-6.

- Yang, S. Y., Lü, F. X., Lu, Z. X., Bie, X. M., Jiao, Y., Sun, L. J., & Yu, B. (2008). Production of γ -aminobutyric acid by *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* Y2 under submerged fermentation. *Amino acids*, 34(3), 473-478.
- Yokoyama S, Hiramatsu J, Hayakawa K. Production of γ -aminobutyric acid from alcohol distillery lees by *Lactobacillus brevis* IFO-12005. *J. Biosci. Bioeng.* 93: 95–97 (2002)
- Yoo SA, Seo SH, Park SE, Son HS. 2014. Screening of lactic acid bacteria as a starter culture in fermented sausage. *J Korean Soc Food Sci Nutr.* 43(8): 1289-1295.
- Yu JJ, Oh SH. γ -Aminobutyric Acid Production and Glutamate Decarboxylase Activity of *Lactobacillus sakei* OPK2-59 Isolated from Kimchi. *The Korean Journal of Microbiology.* 47: 316-322 (2011)
- Zanardi E, Ghidini S, Battaglia A, Chizzolini R. 2004. Lipolysis and lipid oxidation in fermented sausages depending on different processing conditions and different antioxidants. *Meat Sci* 66: 415-423.