

11-15430
00-00274
1-01

식
육
제
품
의
비
열
살
균
기
술
개
발
및
산
업
화
(
육
제
품
안
심
프
로
젝
트
)
최
종
보
고
서

2019

농
림
축
산
식
품
부

고부가가치식품개발사업 R&D Report

발 간 등 록 번 호

11-1543000-002741-01

식육제품의 비열 살균 기술 개발
및 산업화(육제품 안심 프로젝트)

최종보고서

2019. 6. 11.

주관연구기관 / (주)뉴트렉스테크놀러지
협동연구기관 / 연세대학교 산학협력단
협동연구기관 / 중앙대학교 산학협력단

농 립 축 산 식 품 부

제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

본 보고서를 “식육제품의 비열 살균 기술 개발 및 산업화(육제품 안심 프로젝트)” (개발기간 : 2016.07.07. ~ 2018.12.31)과제의 최종보고서로 제출합니다.

2019 . 6 . 11 .

주관연구기관명 : (주)뉴트렉스테크놀로지 (대표자)

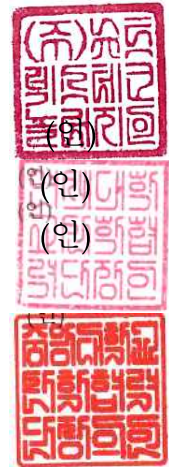
협동연구기관명 : 연세대학교 산학협력단 (대표자)

협동연구기관명 : 중앙대학교 산학협력단 (대표자)

주관연구책임자 : 김 성 한

협동연구책임자 : 박 지 용

협동기관책임자 : 이 동 언



국가연구개발사업의 관리 등에 관한 규정 제18조에 따라 보고서 열람에 동의합니다.

보고서 요약서

과제고유번호	316060-3	해 당 단 계 연 구 기 간	2016.07.07.~ 2018.12.31	단 계 구 분	3/3
연구사업명	단 위 사 업	고부가가치식품기술개발사업			
	사 업 명	고부가가치식품기술개발사업			
연구과제명	대 과 제 명	(해당 없음)			
	세부 과제명	식육제품의 비열 살균 기술 개발 및 산업화 (육제품 안심 프로젝트)			
연구책임자	김성한	해당단계 참여연구원 수	총: 15명 내부: 15명 외부: 0명	해당단계 연구개발비	정부:300,000천원 민간:100,000천원 계:400,000천원
		총 연구기간 참여연구원 수	총: 25명 내부: 25명 외부: 0명	총 연구개발비	정부:780,000천원 민간:260,000천원 계:1,040,000천원
연구기관명 및 소속부서명	(주) 뉴트렉스테크놀로지 연세대학교 산학협력단 중앙대학교 산학협력단			참여기업명	
국제공동연구	상대국명: 해당없음			상대국 연구기관명: 해당없음	
위탁연구	연구기관명: 해당없음			연구책임자: 해당없음	

※ 국내외의 기술개발 현황은 연구개발계획서에 기재한 내용으로 같음

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

9대 성과 등록·기탁번호

구분	논문	특허	보고서 원문	연구시 설·장비	기술요 약 정보	소프트 웨어	화합물	생명자원		신품종	
								생명 정보	생물 자원	정보	실물
등록·기탁 번호	1 . PMC5 932938 /2017, 37(6):8 40-846	1 . 특 허 출 원 10-2017-0132090 2 . 특 허 출 원 10-2017-0144593 3. 특허출원 10-2018-0173929									

국가과학기술종합정보시스템에 등록된 연구시설·장비 현황

구입기관	연구시설· 장비명	규격 (모델명)	수량	구입연월일	구입가격 (천원)	구입처 (전화)	비고 (설치장소)	NTIS 등록번호

요약(연구개발성과를 중심으로 개조식으로 작성하되, 500자 이내로 작성합니다)

- 식육제품에 적합한 비가열 살균 시스템 재구축 및 현장 적용을 통한 산업화 관련 기술이전 1건, 제품화 2건, 고용창출 1건 달성
- 분쇄가공육 및 RTE 제품의 초고압-항균제 신 살균 기술 개발을 통해 특허 출원 2건, 학술발표 2건, 인력양성 2건 달성
- 원료육의 PEF 및 플라즈마 처리 기술 적용 연구를 통해 SCI 논문 1편, 특허 출원 1건, 학술발표 3건, 인력양성 3건 달성

보고서 면수

210 페이지

<요약문>

<p>연구의 목적 및 내용</p>	<p>I. 연구개발 목적</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ 현재 생산되고 있는 식육제품은 미생물 안전성 문제로 유통 상 어려움을 겪고 있으며, 가열 살균 처리에 의한 품질 저하는 식육제품 제조회사가 풀어야 할 숙제이다. 이에 따라 해외의 경우 이미 초고압 기술과 같은 비가열 가공기술을 육제품 살균에 이용하고 있다. ○ 본 연구팀은 식육제품에 오염 가능한 유해 미생물을 효과적으로 제어하여 미생물학적 안전성을 확보할 수 있는 비가열 살균 기술 개발을 첫 번째 목표로 한다. 개발된 기술을 대량생산 현장에 적용하는 연구를 하고, 이에 적합한 시스템 구축을 위한 설비 보완 및 개선을 두 번째 목표로 한다. 안전하고 우수한 품질의 식육제품을 제공하기 위한 비가열 신 살균 기술 개발 및 산업화 기반 연구를 최종 목표로 한다. <p>II. 연구개발내용</p> <p><1차년도></p> <ul style="list-style-type: none"> ○ 초고압 살균 기술 적용을 위해 식육제품에 적합한 처리 조건을 분석하여 기존 초고압 설비를 진단하고, 이에 필요한 시스템 보완 및 개선 계획을 확립함 ○ 원료육, 분쇄 가공육, ready-to-eat (RTE) 제품 등 식육제품의 상품성을 저하시키는 오염 미생물을 분석함 ○ 항균제와 초고압 처리하여 미생물을 제어하는 기초 연구를 하고, 살균 기작을 연구함 ○ 식육제품 원료육 오염 미생물 중 대상(target) 균주를 선정하고, 모델시스템을 이용해 PEF 및 플라즈마 살균 연구를 함 <p><2차년도></p> <ul style="list-style-type: none"> ○ 초고압 살균 시스템의 보완 및 개선 계획에 의거 부속 및 장비를 제작 또는 구입하여 식육제품 처리에 적합하도록 장치를 재구축하고, 이를 활용한 대량 생산 기초연구를 진행함 ○ 분쇄가공육, RTE 제품, 원료육을 대상으로 초고압, 항균제, PEF,
------------------------	--

	<p>플라즈마 비가열 처리에 의한 미생물 제어 연구를 하며, 비가열 처리에 의한 제품의 연도(tenderness), 색, 질감(texture), 관능적 품질 변화를 분석 및 한계점 연구</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ 초고압 기술과 항균제를 병합 처리하는 신 살균 기술을 개발하고, PEF, 플라즈마 등 기 개발 비가열 살균 기술과 살균 효과를 비교 분석함 <p><3차년도></p> <ul style="list-style-type: none"> ○ 식육제품별 비가열 살균 최적 처리 조건을 확립하고, 이에 따른 살균 표준화 공정을 확립함 ○ 개발된 신 살균 공정을 기술 이전하여 대량생산 현장에 적용하는 scale-up 연구를 통해 최적 대량생산 공정을 확립함 ○ PEF 또는 플라즈마 처리를 이용해 식육제품(육회용 중심)의 기생충 저감화 연구를 함 ○ PEF 등 비가열 공정을 이용해 원료육을 2차 가공하고 시제품 생산을 함
<p>연구개발성과</p>	<ul style="list-style-type: none"> ○ 식육제품에 적합한 비가열 살균 시스템 재구축 및 현장 적용을 통한 산업화 관련 기술이전 1건, 제품화 2건, 고용창출 1건 ○ 분쇄가공육 및 RTE 제품의 초고압-항균제 신 살균 기술 개발을 통해 특허 출원 2건, 학술발표 2건, 인력양성 2건 ○ 원료육의 PEF 및 플라즈마 처리 기술 적용 연구를 통해 SCI 논문 1편, 특허 출원 1건, 학술발표 3건, 인력양성 3건
<p>연구개발성과의 활용계획 (기대효과)</p>	<p><기술적 측면></p> <ul style="list-style-type: none"> ○ 신선한 고품질 제품에 대한 사회적 요구가 높아짐에 따라 식육제품의 비가열 살균과 관련한 문헌과 제품이 많아지고 있는 실정에서 본 과제의 연구 결과가 원천기술로써 후속 연구의 참고자료로 활용될 수 있음 ○ 현재 국내에서는 초고압 살균이 액상식품에 한정되어 이용되기 때문에 식육제품 살균을 통해 고상식품 응용에 대한 연구로 발전시킬 수 있음 <p><경제·산업적 측면></p> <ul style="list-style-type: none"> ○ 육제품의 안전성과 저장성을 획기적으로 향상시킨 비가열 살균 기술을 산업화하여 육가공 업체의 기술력을 향상시키고, 글로벌 경쟁력을 강화시킴 ○ 비가열 식육제품 살균 신기술을 기존 산업에 적용하여 프리미엄

	<p>신제품 개발에 의한 새로운 시장 양성 기대</p> <p><사회·문화적 측면></p> <ul style="list-style-type: none"> ○ 비가열 살균 기술을 통해 안전하고 품질이 우수한 식육제품을 개발함으로써 높아지는 소비자 기호와 축산 식품 안전에 대한 요구에 대응할 수 있음 ○ 비가열 살균을 통한 식육제품의 안전성 증진은 식중독 발병률을 낮춰 사회·경제적 손실을 막을 수 있음 				
<p>국문핵심어 (5개 이내)</p>	<p>비가열 기술</p>	<p>식육제품</p>	<p>초고압</p>	<p>고전압 펄스</p>	<p>항균제</p>

<SUMMARY>

Purpose & Contents	<p>I .Objectives</p> <p>○ This research aims to develop non-thermal sterilization technology that can ensure microbiological safety by effectively controlling harmful microorganisms that can be contaminated in meat products. The second goal is to conduct a study to apply the developed technology to mass production and to supplement and improve facilities to build a system suitable for it. The final goal is to develop non-thermal new sterilization technology and industrialization-based research to provide safe and high quality meat products.</p> <p>II .Research contents</p> <p><Year 1></p> <p>○ To apply high pressure sterilization technology, analyze the appropriate treatment conditions for the meat products, furthermore diagnose the existing high pressure facilities, and establish the necessary system supplementation and improvement plan.</p> <p>○ Analyze contaminated microorganisms that degrade the quality of meat products, such as raw meat, ground processed meat, and ready-to-eat (RTE) products.</p> <p>○ Conduct a basic study to control microorganisms by treating antimicrobial agents and high pressure, and study sterilization techniques</p> <p>○ Select target strains from microorganisms contaminated with meat products and conduct PEF and plasma sterilization studies using the model system.</p> <p><Year 2></p> <p>○ In accordance with the plan for supplementation and improvement of the high pressure sterilization system, manufacture or purchase the equipment, and rebuilt to suit the processing of meat products, and mass production.</p>
-----------------------	---

	<ul style="list-style-type: none"> ○ Investigate microbial control in grinding processed meat, RTE products and whole meat by using non-thermal high pressure , antimicrobial, plasma treatment. Study the changes of tenderness, color, texture, organoleptic quality change analysis and breaking point (texture). ○ Develop the new sterilization technology that combines high pressure technology with anti-bacterial agents, and compare and contrast with the existing non-heat sterilization technology such as PEF and plasma. <p><Year 3></p> <ul style="list-style-type: none"> ○ Establish the optimal conditions for non-thermal sterilization by meat products, and standardize the developed process. ○ Established optimal mass production process through scale-up research. ○ Use PEF or plasma treatment to reduce parasites in meat products (Raw meat). ○ Apply non-heating processes such as PEF to raw meat and produce prototypes.
Results	<ul style="list-style-type: none"> ○ Applied the non-thermal sterilization system in the existing processing line with 1 technology transfer, 2 meat products, and 1 job creation. ○ Newly developed high pressure sterilization technology with antibiotics, which can be applied to processed meat and RTE products. 2 patents, 3 academic presentations done. ○ Established plasma processing technology research and PEF with result of sci paper, 1 patent, 3 academic presentations done.
Expected Contribution	<p><Technology contribution></p> <ul style="list-style-type: none"> ○ As the social demand for fresh, high-quality products increases, products related to non-heat sterilization of meat products are increasing. Therefore, results of this research can be used as a reference for follow-up research as a source technology ○ Currently, high pressure sterilization is only used for liquid food in Korea, so it can be developed into research on high-quality food application through sterilization of meat products

	<p><Economic and industrial aspects></p> <ul style="list-style-type: none"> ○ Industrialize non-thermal sterilization technology, which dramatically improves safety and storage of meat products, to improve the technical skills of meat processing companies and strengthen global competitiveness. ○ New market development by development of premium products applied with non-heated sterilization technology to existing industry. <p><Social and cultural aspects></p> <ul style="list-style-type: none"> ○ Non-thermal sterilization technology enables the development of safe, high-quality meat products to respond to growing consumer demands. ○ Improving the safety of meat products through non-heat sterilization can reduce the incidence of food poisoning, thus preventing social-economic losses 				
Keywords	non-thermal technology	meat product	high hydrostatic pressure	pulsed electric field	antimicrobial agent

< CONTENTS >

1. Introduction	13
1) Research purpose	13
2) Research necessity	14
3) Research contents	21
2. Recent Technological Development in the Research	22
1) Technological development in current state	22
2) Current state of market and production	33
3. Contents and Results of the Research	46
1) Development of High Pressure Antimicrobial Sterilization Technology for Grained and RTE Products	46
2) Application of PEF Processing Technology for Raw Meats	79
3) Industrialization through the establishment of non-thermal sterilization system of meat products and on-site application	146
4. Achievement of Objectives and Contribution Level	197
5. Future Implication of the Results	205
Reference	209

〈 목 차 〉

1. 연구개발과제의 개요	13
제 1 절 연구개발의 목적	13
제 2 절 연구개발의 필요성	14
제 3 절 연구개발의 범위	21
2. 국내외 기술개발 현황	22
제 1 절 연구개발 대상의 국내외 현황	22
제 2 절 국내외 기술개발 및 시장(제품) 현황	33
3. 연구수행 내용 및 결과	46
제 1 절 분쇄가공육 및 RTE 제품의 초고압-항균제 신 살균 기술 개발	46
제 2 절 원료육의 PEF 처리기술 적용 연구	79
제 3 절 식육제품 비가열 살균 시스템 구축 및 현장 적용을 통한 산업화	146
4. 목표 달성도 및 관련 분야 기여도	197
5. 연구결과의 활용 계획	205
붙임. 참고 문헌	209

주 의

1. 이 보고서는 농림축산식품부에서 시행한 고부가가치식품기술개발사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표하는 때에는 반드시 농림축산식품부에서 시행한 고부가가치식품기술개발사업의 연구 결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니됩니다.

1. 연구개발과제의 개요

제 1 절 연구개발의 목적

1. 최종 목표

- 식육제품에 오염 가능한 유해 미생물을 효과적으로 제어하여 미생물학적 안전성을 확립할 수 있는 비가열 살균 기술을 개발
- 개발된 기술을 대량생산 현장에 적용하는 연구를 하고, 이에 적합한 시스템 구축을 위한 설비 보완 및 개선
- 안전하고 우수한 품질의 식육제품을 제공하기 위한 비가열 신 살균 기술 개발 및 산업화 기반 연구

2. 세부 목표

- 식육제품에 오염 가능한 유해 미생물을 효과적으로 제어하여 미생물학적 안전성을 확립할 수 있는 비가열 살균 기술을 개발
- 개발된 기술을 대량생산 현장에 적용하는 연구를 하고, 이에 적합한 시스템 구축을 위한 설비 보완 및 개선
- 안전하고 우수한 품질의 식육제품을 제공하기 위한 비가열 신 살균 기술 개발 및 산업화 기반 연구
- 신 살균 기술의 현장 적용을 통한 산업화 적합성 파악

제 2 절 연구개발의 필요성

1. 연구개발의 개요

- 초고압(high hydrostatic pressure, HHP), 고전압펄스(pulsed electric field, PEF), 항균제(bacteriocin, 나트륨염, 유기산) 등 비가열 기술을 이용하여 식육제품의 미생물 안전성을 높이고 품질을 향상시키는 신 살균 기술을 개발하며 이를 위한 생산용 시스템을 구축하여 현장 적용 및 산업화함



2. 연구개발의 필요성

가. 사회·문화적 측면

- 국민들의 전반적인 식생활 패턴이 대량급식과 외식으로 확장되고 있고, 식품의 국제적

무역이 활성화됨에 따라 식품의 안전성 확보에 대한 수요가 증대되고 있어 식품의 고품질화 및 안전성 향상이 시급함

- 최근 식품안전 사건·사고 발생이 급증하고 있으며, 사고 발생 시 식품기업 특히 중소기업은 거의 도산할 정도로 파급효과가 매우 크기 때문에 산업 현장에서의 안전성 확보기술을 개발·보급하여 기업의 재산을 보호하고 저장성 증대 등으로 이익을 극대화하는 기술의 확보가 필요함
- 식육제품 시장의 꾸준한 성장에 따라 미생물, 특히 식중독 원인 병원성 미생물을 제어하여 식품의 안전성과 저장성을 높이는 것이 식육관련 산업의 중요한 과제로 인식됨
- 현재까지 국내 식육 산업은 품질 면에서 일정 수준에 도달하였으나, 축산 식품에 대한 높아져 가는 안전 요구에 비해 구사 가능한 현실 대응 적용 수단은 답보 상태에 머물러 있음
- 2000년도 우리나라 식중독 발병환자의 발생원인 중 49.1%가 육류 및 육가공 식품에 의한 것으로 나타남(Kim et al., 2004)
- 일반적으로 축산식품 매개성 주요 병원체는 약 35종이고, 그 중 식육에서 주로 검출되는 주요 병원성미생물은 *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella spp.*, *Campylobacter jejuni* 등이며, 세 가지 주요 병원성미생물(*E. coli* O157:H7, *L. monocytogenes*, *Salmonella spp.*)은 미국 내 식중독에 의한 사망률 중 약 78%를 차지하고 있음
- 원료육에서 다양한 식중독 균이 검출된 것으로 보고되므로 가열처리를 하지 않고 날 것으로 섭취하게 되는 육회는 미생물학적으로 오염 가능성이 있기 때문에 식중독을 유발할 잠재성이 높다고 할 수 있음
- 일본의 경우 2011년 4월 하순부터 5월 상순 사이에 육회에 의한 장출혈성대장균 식중독으로 4명이 숨지고 수십 명이 치료를 받는 등 사회적으로 큰 문제가 발생하였고 이로 인해 일본에서 오래전부터 사랑받고 있는 한국 음식 ‘육회’가 사라지는 것이 아니냐는 우려의 목소리마저 나오고 있음(부산일보, 2011)
- 식육제품을 가열 살균할 경우 식품 품질(영양학적, 외관적, 관능적) 피해를 야기하므로 맛과 영양 성분 유지를 통한 식품 부가가치를 향상시킬 수 있는 비열처리 가공 기술이 필요함
- 외국에서는 식육의 병원성 미생물 방지대책으로 방사선 살균을 하고 있는데, 안정성 확보에 있어 소비자의 신뢰도가 높지 않음
- 따라서 소비자에게 안전하고 고품질의 식육 제품을 제공할 수 있는 신 비열 살균 기술 개발이 필요함

나. 경제·산업적 측면

- 국내 육류 소비량은 2012년도 기준 총 217만 여 톤으로 점점 증가하고 있으며, 1인당 육류 섭취량은 43.7kg에 달함. 식육관련 산업에 있어서 가장 중요한 과제는 식품안전성을 확보하는 것과 식품 본연의 품질을 유지한 상태로 유통기간을 연장하는 것임
- 초고압 처리 기술을 이용하면 식육의 숙성기간을 단축하고 미생물 수준을 최소화함으로써 냉장육의 위생을 향상시키고 유통기한을 연장시켜 국내 내수용 제품의 품질 향상 및 수출용 제품 제조를 통해 경제적인 효과를 얻을 수 있음
- 일반적인 방식의 살균과는 다르게 잔류 물질이 없으며 화학물질을 첨가하지 않는 인체에 무해한 살균법이기 때문에 친환경적인 이미지를 줄 수 있을 것이라 기대되며, 개발된 초고압 살균 기술은 신선육의 식품 및 외식 시장의 식품 안전을 확보하고 제품 유통기간 연장 등으로 건전한 식품 산업 발전과 수출에 기여할 것으로 기대됨
- 본 연구에서 개발된 초고압 처리 기술을 기초로 하여, 국내 현장 조건을 고려한 현장 지표를 설정하고 대형화 및 자동화 단계를 적용해 식육 업계에 기술 보급을 하게 된다면, 내수용 및 수출용 축산 식품의 위생 관리에 폭넓게 활용될 수 있을 것으로 기대됨
- 국내에서 생산되는 제품의 안전성 향상 및 신뢰성의 증가로 제품 소비 증진뿐만 아니라 관련 상품의 시장의 확대 및 수출 증대에 기여할 수 있음

다. 기술적 측면

- 대부분의 육제품은 사양, 도축 및 유통과정을 통하여 소비자에게 유통되는데, 신선육은 도축과정에서 분변 및 도축 환경으로 인하여 대장균 균이나 병원성 세균 등에 오염될 수 있음. 가공육과 양념육의 경우에는 가공 처리 시 가공 환경이나 원료 등에서 기인한 식중독 세균이나 부패세균에 의한 재 오염으로 유통단계에서 미생물이 급속하게 증식되어 품질이 저하됨
- 따라서 식육의 안전성을 확보하기 위해서는 도축 후나 가공 과정에서 부가적인 제어기술의 적용이 요구되는 실정임
- 일반적인 식품의 살균 방법으로는 가열 방법과 비가열 방법으로 구분되며, 가열 방법은 미생물의 증식을 억제하여 저장 기간을 연장할 수 있으나 식품 고유의 품질 및 기능성에 부정적인 영향을 미치는데, 특히 육류에 적용할 경우 고유의 색, 향 및 조직감이 손실되는 우려가 있음
- 최근에는 식육 산업의 발전과 제품의 고급화에 따라 향미 손실, 성분의 변성, 물리 기계학적 변화 등을 최소화하기 위해 비가열성 살균, 최소 처리를 통한 살균 방법의 개발이 진행되고 있음
- 식육제품의 안전성 증진을 위해 국제적으로 이용되고 있는 식품 방사선 조사 기술은 열처리를 실시할 수 없는 식품에도 이용이 가능하며, 완전 포장 상태에서 살균하기 때문에 교차 오염이 없다는 장점이 있음. 그러나 시설의 특수함으로 인해 설치 및 유지, 관리를

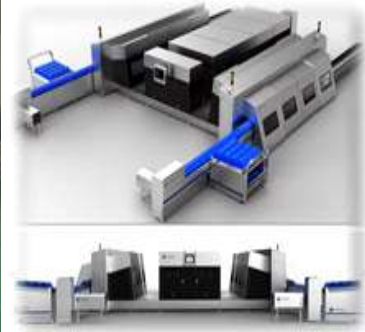
위한 시설을 갖추어야 하며, 관리를 위한 전문 인력이 요구되고 특히 이를 수용하기에는 대부분의 소비자들이 거부감을 가지고 있어 상용화하는데 어려움을 가짐

- 비가열 초고압 처리 기술은 살균효과가 우수하면서도 천연의 향미, 맛 성분의 변화를 일으키지 않고 육제품의 경우 신선도를 유지할 수 있으며 포장된 상태로 처리가 가능하여 실제 공정 적용에 용이함. 이외에 국내에서는 곡류 제품(즉석 밥 류 제품)에 이용하여 제품을 상용화하여 출시하고 있으며, 국외의 경우 햄 산업에 이용하여 살균효과를 증대하고 있는 실정이어서 소비자들의 구매 선호도, 소비 거부감이 적음
- 또한, 초고압 기술은 기존의 육제품 살균공정 처리에 의해 발생하는 육색의 변화, 조직감 저하 등 식육제품의 품질 저하에 영향을 주는 요인을 해결하고, 미생물 제어로 인한 저장성 증진과 물리화학적 특성이 개선된 고품질 신선육 제품을 개발할 수 있음

3. 참여기관별 연구 역량

가. 주관연구기관 - (주)뉴트렉스테크놀러지

- 주관기관인 (주)뉴트렉스테크놀러지는 지적소유권이 확보된 원천기술 “초고압을 이용한 신규한 인삼가공 방법” 특허 기술을 보유하고 있음. 기존 비가열 식품가공기술로서의 한계를 넘어 초고압기술을 우리나라 홍삼가공에 적용시킨 것으로 인삼가공에 있어 세계 최초의 방법이라 할 수 있음
- 초고압 기술을 사용하여 홍삼의 주성분인 ginsenoside를 비롯한 아미노산, 향산화성분 등 생리활성 성분의 추출 수율을 크게 향상시켰으며, 이를 이용한 홍삼 농축액 등의 제품의 관능 품질을 향상시켜 소비자 기호도를 증가시킴
- 따라서 식육제품에 초고압 기술을 적용한다면 안전하고 우수한 품질의 제품을 생산할 수 있을 것으로 기대되며, 초고압 기술의 응용 범위를 확대하는 효과를 얻을 수 있음
- (주)뉴트렉스테크놀러지는 최대압력 600 MPa, 200-liter vessel이 두 개인 dual-type 초고압기를 확보하여 운영하고 있음 (아래 사진)
- 해외에서 생산되는 초고압기를 본 연구진을 포함한 국내 많은 연구팀에서도 활용하고 있지만 기기 특성상 고장이 빈번함에도 불구하고 많은 비용과 본사로부터의 물리적인 거리로 인해 유지보수에 어려움이 있음
- 식육제품 생산에 필요한 기기 성능 개선 및 반복 사용에 대한 내구성 향상에 필요한 증압기(intensifier) 등 기기 제작 및 시스템 개선이 절대 필요함

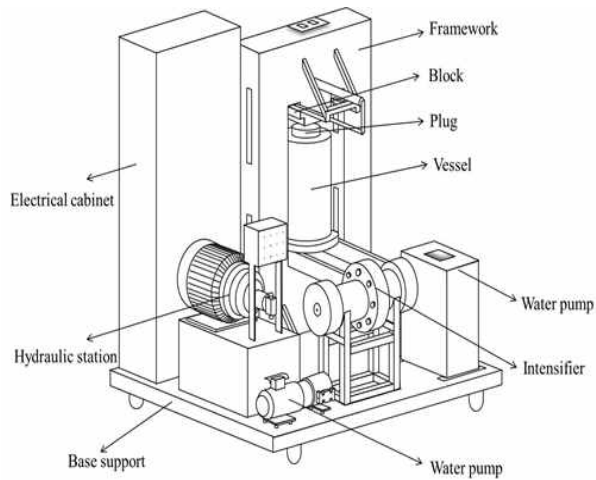


〈(주)뉴트렉스테크놀러지의 생산용 초고압기기(600 MPa, 200 L dual-type2)〉

- (주)뉴트렉스테크놀러지는 식품가공 기술 뿐만 아니라 생명공학 기술 분야에서도 다수의 특허를 보유하고 있으며, 이를 기반으로 혁신적인 기능성 화장품/의약품 원료 등을 개발하고 있어, 본 과제 연구 결과를 응용해 식품 분야 외의 화장품/의약품 분야에서 융합적 연구 수행이 기대됨

나. 제1협동연구기관 - 연세대학교 산학협력단

- 본 협동 연구 책임자는 가열 살균이 불가능한 신선식품의 유해 미생물을 살균하기 위하여 비가열 살균 공정인 광촉매 살균 및 초고압 살균 방법을 이용한 미생물 제어 기술을 오랜 연구를 통해 확보하고 있음
- 본 연구진은 초고압을 이용한 비가열 살균 연구를 1994년에 시작하여 오랜 경험을 가지고 있으며, pilot-scale 초고압처리 시스템(600 MPa, 5 L)을 보유하고 있음
- 초고압 살균을 이용한 유해 미생물 제어에 관한 연구를 주 내용으로, 국내외 유명저널에 많은 논문을 게재하였음
- 초고압을 이용한 홍삼 가공기술을 개발하여 세계 최초로 초고압기술을 건강기능성 식품 제조에 응용하는 연구를 하였으며, 기술이전을 통해 현재 관련 제품이 생산되고 있음
- 기존에 이미 BIOCON을 이용한 식육제품의 살균에 관한 연구 경험이 있어, 본 프로젝트에 대한 노하우를 가지고 있음
- 항균제와 초고압처리 기술을 이용한 비가열 살균을 “육제품 안심 프로젝트”에 세계 최초로 적용할 수 있을 것으로 판단되며, 비가열 살균을 통해 육제품의 관능적 품질 저하를 막고 효과적으로 미생물을 제어할 수 있을 것으로 예상됨



<연세대가 보유하고 있는 초고압 장치(HHP 600 MPa/5 L, BaoTou Kefa, China)의 모식도와 사진>

다. 제2협동연구기관 - 중앙대학교

- 마이크로펄스 기반 차세대 멸균기술을 보유하고 있으며, PEF, 플라즈마, intense pulsed light (IPL) 등 마이크로 펄스기반 살균 기술 등 연구 기반을 구축하고 있음
- 선행 연구를 통해 PEF-가열/가열-PEF 직렬 병합처리 기술을 구축하여 미생물 사멸효과를 검증하였고, 최적 병합처리에 의한 부패 미생물 및 효소 불활성화 동역학을 확립하였음
- 또한 천연과즙, 소스 등 유동 및 반유동 제형의 프리미엄 가공식품을 대상으로 확립된 차세대 멸균기술을 적용하여 그 효과를 검증하였음
- 펄스전기장 처리장치는 다양한 수준의 전압을 펄스형태로 공급할 수 있는 펄스 공급장치 (pulse generator)와, 생성된 펄스를 식품원료에 부여하는 펄스처리조(treatment chamber)로 구성되어 있으며, 본 연구에 사용될 펄스 공급 장치는 5 kW급 pilot 규모의 장치로 현재 중앙대학교 식품공학부에 설치되어 있음



<연구과제에 사용될 펄스 공급장치(좌); 액상 시료의 연속처리를 위한 연속형 펄스처리조 (우)>

- 식육 시료를 개별적으로 처리할 수 있는 batch treatment chamber (electrode gap size = 8 cm)가 장착되어 있으며 이를 이용해 살균 및 가공적성 향상을 위한 실험실 규모의 최적화 연구를 수행할 예정임
- 제안되는 연구결과를 통해 다양한 크기의 식육 시료를 처리 할 수 있는 가변형 PEF chamber가 제작될 예정이며, 이를 기반으로 식육시료의 연속식 처리가 가능할 것으로 예상됨



<식육 원료의 연속형 PEF 처리 장치 (예상도)>

제 3 절 연구개발 범위

- 식육제품에 오염 가능한 유해 미생물을 효과적으로 제어하여 미생물학적 안전성을 확립할 수 있는 비가열 살균 기술을 개발
 - 식육제품 유래 오염균 분석 및 살균 대상 균주 선정(호기성총균 포함 10종 이상)
 - 항균제(bacteriocin, 나트륨 염, 유기산 등)와 초고압을 처리하여 미생물 제어 기초 연구
 - 항균제 처리를 통한 식육제품 유해 미생물 1 log CFU/g 이상 저감(항균제 농도 100~5000 BU/mL 사용)
 - 초고압 처리를 이용한 식육제품 유해 미생물 3 log CFU/g 이상 저감(처리 조건: 압력 100~600 MPa, Holding time 0~5 min)
 - 초고압, 항균제, PEF, 플라즈마 등 각 살균 처리를 통한 식육제품의 품질 분석(분석 항목: 색도, 연도, 성분, 관능적 특성, 물성 변화에 따른 한계)
- 개발된 기술을 대량생산 현장에 적용하는 연구를 하고, 이에 적합한 시스템 구축을 위한 설비 보완 및 개선
 - 기존 초고압기에서 증압기 본체 및 pin, seal, cylinder sliding 접촉 파트, 제어장치(control panel) 등 요소기술에 해당하는 부품을 교체 및 개선하여 안정성과 내구성이 향상된 식육제품용 고성능 초고압기 구축
 - 생산용 초고압기를 이용해 대량생산 기초연구(최고압력 600 MPa, 최대용량 200L * 2)
 - 현장 적용을 위한 각 처리군 별(식육제품 3종 이상) 최적 조건 확립
 - 안심육회 제조를 위한 PEF 처리의 살균 효과 검증(미생물 1종 이상, 기생충 1종 이상)
 - 원료육의 살균처리를 위한 PEF chamber 개발(Direct contact 방식)
- 안전하고 우수한 품질의 식육제품을 제공하기 위한 비가열 신 살균 기술 개발 및 산업화 기반 연구
 - 안전한 육제품을 위한 신 살균 기술 연구
 - 초고압과 항균제의 병합을 통한 미생물학적 안전성 및 상승효과(synergistic effect)로써 미생물 1 log CFU/g 이상 추가 저감
 - 신제품 개발(비살균제품에 비해 저장기한 4주 이상 향상, 색차 평균 $\Delta E < 20$, 기존 대비 연도와 물성 10% 이상 향상)

기존 분쇄가공육 냉장유통기한 21일	Cargill의 초고압 분쇄가공육 냉장유통기한 42일	본 과제를 통한 신살균 분쇄가공육 냉장저장기한 50일 이상(20% 향상)
---------------------------	-------------------------------------	--

- 신 살균 기술의 현장 적용을 통한 산업화 적합성 파악
 - 현장 적용 후 시제품 생산을 통한 사업화 방안 모색
 - 시제품 관능검사를 통해 품질 개선 유무 및 소비자 기호도 평가
 - 식육제품 생산에 적용 가능한 초고압 기기 공정의 전처리 기술(포장시스템) 개선

2. 국내외 기술개발 현황

제 1 절 연구개발 대상의 국내외 현황

1. 연구개발 대상의 국내·외 현황

가. 국내·외 기술 현황

(1) 비가열 살균 기술의 요구 증대

- 최근 식품에 대한 소비자의 주요 관심 분야는 건강과 안전이며, 가능한 천연 상태의 물질을 유지한 제품을 요구하고 있음. 따라서 이러한 소비자의 욕구를 충족시키고 사회·경제 변화에 적극적으로 대응하기 위하여 제조 과정상의 합리화 및 효율화, 노동 절약형 기술의 개발, 에너지 절약형 기술의 개발, 새로운 소재 창출을 위한 기술 개발 등이 활발히 연구되고 있음
- 식육제품 산업에 있어서 가장 중요한 과제는 제품 유통 기간 중의 안전성을 확보하는 것과 식품 본연의 품질을 유지한 상태로 유통 기한을 연장하는 것임. 날로 까다로워지는 소비자들의 요구와 엄격해지는 식품 제조 규정들은 식품 산업으로 하여금 안전성 확보는 물론, 고품질의 식품 생산을 위한 새로운 가공법 개발을 요구하고 있음
- 이렇듯 원료와 생산품을 고품질의 신선도로 유지하면서 식육제품의 유해 미생물로 인한 식중독과 부패를 방지하는 최소가공기술(minimal process technology)이 각광을 받고 있는데, 그 중 열에 의한 물리적·영양적 변화 없이 미생물을 최소화 시키는 비가열(非加熱) 살균 기술이 활발히 연구되고 있음

(2) 식육제품에 적용되는 비가열 살균 기술의 종류

(가) 초고압(HHP)

기술의 원리

100-900 MPa의 높은 압력을 가해 압축 수가 균체 내로 침투하게 한 후, 순간적으로 압력을 개방하여 세포막에 충격을 주거나 그 이후 세포 내 단백질을 변성시켜 미생물을 살균하는 원리



<수평형 초고압 시스템의 작동 원리>

기술의 장점

- Maillard 반응, 비타민 파괴, 천연 맛 손실 등과 같이 열처리에서 유발되는 화학적 변화를 최소화함
- 불필요한 효소의 불활성화가 가능함
- 액체 및 고체 식품에 모두 적용 가능함
- 비열가공 기술 중 산업적으로 가장 발달한 기술임
- 비교적 짧은 처리 시간을 필요로 함
- 포장 후 공정으로 2차 오염의 위험을 제거함으로써 더욱 안전함
- 방사선 부산물이나 라디칼 등 원하지 않는 화합물이 생성되지 않음

기술의 단점

- 식육제품의 경우, 붉은 색의 정도가 저하되는 색변화를 일으킴(myoglobin 함량이 낮은 돼지고기나 가금류의 경우는 크게 저하되지 않음)
- 장치 설비비가 높음(초기 투자 비용이 높음)

식육 제품 예시



<Foster Farms (미국)>

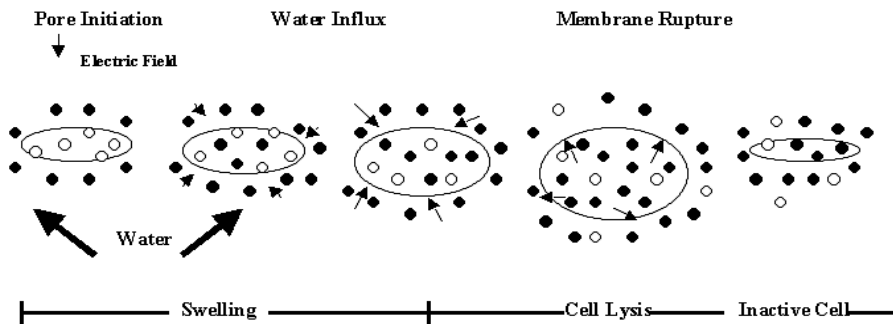


<España (스페인)>

(나) 고전압 펄스 전기장(PEF)

기술의 원리

대상물질에 높은 에너지의 고전압 단펄스를 매우 짧은 시간 가하여 방전시킴으로써 미생물의 세포막을 파괴시키는 원리로 유전현상에 의한 세포막 붕괴이론(dielectric membrane rupture theory)이 가장 널리 받아들여지고 있음



<PEF 처리에 의한 미생물 사멸 모델>

미생물의 세포막 붕괴를 위한 임계전압까지 도달하기 위한 펄스전기장의 세기는 세포의 크기에 따라 달라지며, 예를 들어 크기가 1.0 μm 인 *E. coli* 라면 최소 10 kV/cm 이상의 전기장이 필요함

세포막에만 선택적으로 작용하는 펄스전기장 특유의 작용 기작에 따라 식품의 향기, 맛, 색깔을 결정하는 저분자 물질에 대해서는 최소한의 변화가 관찰되고 있으며 단백질과 전분의 구조에도 영향을 주지 않으므로 신선한 식품의 특성을 그대로 유지한 채 살균이 가능한 것으로 판단되나, 육가공이나 신선육의 비열 살균에 적용된 경우는 거의 없음

기술의 장점

- 처리 시간이 짧아 연속식 살균방식이 가능
- 초고압 설비에 비해 설비비가 저렴한 편
- 기존 생산라인에 적용이 용이
- 생산비용 및 에너지가 절감되어 효율성이 높음 (열처리에 비해 10% 이상)
- 처리 중 온도변화가 거의 없음
- 식품의 물리적, 화학적, 영양학적 특성이 거의 변하지 않음

기술의 단점

- 식육제품과 같은 고상 식품은 전기 전도도가 낮고 단백질 및 지방 함량이 높기 때문에 적용이 어려움
- 포자의 경우, 살균 효과가 거의 나타나지 않음
- 액상 식품에만 주로 사용 가능

(다) 방사선 조사

기술의 원리

Cobalt-60 등 반감기가 짧은 방사능물질에서 나오는 방사선을 식품에 조사하여 식품에 존재하는 유해 미생물의 유전물질인 DNA 활성을 소실시켜 살균하는 원리

기술의 장점

- 살균공정이 비교적 간편함
- 잔류독성 및 환경문제가 없음
- 육류나 어패류에 있는 식중독균을 제어하는데 효과적임
- 투과력이 우수하므로 포장 상태로 살균이 가능함

기술의 단점

- 방사선 처리 식품은 Radura symbol을 반드시 부착해야 하며, 인체에 해로울 것이라는 부정적 인식이 매우 높음
- 방사능 물질에 대한 막연한 두려움으로 인해 설비의 설치 및 가동에 많은 반대가 예상됨
- 고지방 식품의 경우, 방사선 조사로 지방 산패가 가속화되어 이취 발생 등 바람직하지 않은 관능적 변화가 일어남
- 허가된 품목에 한해서만 조사처리가 가능함
- 방사선 조사 원료를 이용해 제조·가공한 식품은 다시 방사선을 조사할 수 없음

식육 제품 예시



<Wegmans (미국)>



<Radura symbol이 부착된 방사선 살균 식육제품>

(라) 플라즈마

기술의 원리

전기에너지를 사용한 비활성 기체의 이온화 과정에서 발생하는, 전자, 라디칼, 양이온 등이 풍부한 플라즈마 상태를 이용하여 살균하는 원리

기술의 장점

- 짧은 시간으로도 살균효과가 우수함
- 품질 변화가 비교적 적음
- 살균 소독제 등의 잔류 문제가 없음

기술의 단점

- 식품표면에서의 투과력이 높지 않음
- 식품에 대한 안전성 연구는 아직 많이 진행되지 않음
- 식육제품과 같이 지방이 많은 식품에서는 생성되는 라디칼에 의해 지방산화가 진행되어 관능적인 품질 저하를 야기함

(마) 광펄스(Pulsed light)

기술의 원리

대상 식품 표면에 전 파장의 강한 빛을 아주 짧은 시간 동안 조사하여 식품 표면의 온도를 높이거나 표면 미생물의 DNA를 손상시켜 살균하는 원리

기술의 장점

- 작은 분자의 이온화를 일으키지 않음
- 회복이 불가능한 DNA에 손상을 주므로 자외선 혹은 펄스를 지니지 않는 빛보다 살균 효과가 더 큼
- 모든 종류의 박테리아와 진핵 미생물에 살균 효과가 있음

기술의 단점

- 빛에 의한 살균 기술이기 때문에 식품 표면이나 빛이 통과할 수 있는 투명한 매개체인 경우에 한하여 적용 가능함
- 식품 표면 온도를 변화시킴으로써 얻는 효과도 있으므로 비가열 살균이라 하기 어려움
- 액상 식품에만 주로 적용함

(바) 마이크로파

기술의 원리

마이크로파 전계에 의해 미생물의 효소단백질이나 DNA의 2차, 3차 구조를 비가역적으로 변화시켜 살균하는 원리

기술의 장점

- 저장성이 높음
- 연속 처리가 가능함
- 포장된 상태로 살균이 가능함

기술의 단점

- 포장의 경우, 살균 효과가 거의 나타나지 않음

식육 제품 예시



<Route 66 (Mexico)>

2. 국내·외 지식재산권 현황

가. 국내·외 논문 현황

<식육제품에 비가열 살균 기술을 적용한 최근 5년 간 논문>

살균 기술	대상 식육제품	처리 조건	참고문헌	연도
	대상 미생물	저감 효과		
초고압	Ground beef <i>Escherichia coli</i>	600 MPa <5 log	Food Microbiol. 57, 96-102	2016
초고압	Ground beef <i>E. coli</i>	350 MPa, 4 °C, up to 40 min D10 values of 9.74 min	Food Microbiol. 52, 84-7	2015
초고압	Ground beef <i>E. coli</i>	600 MPa, 30 min 4 log	Int J Food Microbiol. 205, 16-22	2015
초고압	Ground beef <i>E. coli</i>	450 MPa, 15 min >5 log	Food Microbiol. 48, 1-7	2015

	RTE cooked meat products	400 MPa, 5 min	Int J Food Microbiol.	2014
	<i>Listeria monocytogenes</i>	2 log	186, 84-94	
초고압	RTE sliced ham	100, 150, and 200 $\mu\text{W}/\text{cm}^2/\text{nm}$	J Food Prot.	2014
	<i>E. coli</i> O157:H7, <i>Salmonella</i> Typhimurium	<3 log	77(7), 1224-8	
초고압	ready-to-cook poultry meat (minced)	350 MPa, 8 min	Int J Food Microbiol.	2014
	<i>Salmonella</i> and <i>L. monocytogenes</i>	0.5-2.3 log	186, 74-83	
초고압	Hard clam meat	250-552 MPa, 2-6 min	J Food Sci.	2013
	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	>5 log	78(2), E251-7	
초고압	Beef carpaccio	450 MPa, 10-15 min	Meat Sci.	2012
	<i>Salmonella</i> Enteritidis	3.68 and 5.94 log	92(4), 823-8	
초고압	poultry meat	400 MPa and 40 °C	J Food Prot.	2012
	<i>E. coli</i> , <i>Campylobacter jejuni</i> , and spoilage microbiota	4.5 log	75(3), 497-503	
초고압	Dry-cured ham	600 MPa, 5min.	Int J Food Microbiol.	2012
	<i>L. monocytogenes</i>	1.82-3.85 log	54(3), 107-12	
초고압	Raw chicken breast fillets	400 MPa, 30 °C, 1 min	J Food Sci.	2012
	<i>S. Typhimurium</i>	4 log	77(11), E321-7	
자외선	Beef, chicken	1 J/cm ²	Food Microbiol.	2015
	<i>Yersinia pestis</i>	>6 log	50, 1-4	
자외선	RTE sliced ham	100, 150, and 200 $\mu\text{W}/\text{cm}^2/\text{nm}$	J Food Prot.	2014
	<i>E. coli</i> O157:H7, <i>S. Typhimurium</i>	<3 log	77(7), 1224-8	
자외선	Chicken meat	0.06-18 J/cm	Int J Food Microbiol.	2012
	<i>Campylobacter</i>	< 2.5log	159(3), 267-73	
플라즈마	Pork, beef	Helium plasma	Ann Microbiol.	2015
	Total number of microorganisms, yeasts and molds, and psychrotrophic microorganisms	0.98-2.09 log	65(3), 1537-1546	
플라즈마	Meat	Helium plasma, 10 min	J Food Sci Technol.	2015
	Psychrotroph bacteria, yeasts and moulds	3 log	52(2), 1228-32	
플라즈마	pork-butt, beef-loin	10 min	Food Microbiol.	2015
	<i>E. coli</i> O157:H7, <i>S. Typhimurium</i>	2.58-2.68 log	46, 51-7	
플라즈마	Chicken meat and chicken skin	AC voltage	Food Microbiol.	2011
	<i>Listeria innocua</i>	> 3 log	28(7), 1293-300	

	Lean ground beef <i>E. coli</i>	0.31 kGy D ₁₀ of 0.31 kGy	Food Microbiol. 49, 231-4	2015
감마선	Sheep meat Coliforms and <i>Salmonella</i> <i>spp</i>	3 kGy and 5 kGy 사멸	Braz J Microbiol. 44(4), 1147-53	2014
감마선	Frozen chicken breast <i>E. coli</i> , <i>L. monocytogenes</i> , <i>Bacillus cereus</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> and <i>S. Typhimurium</i>	25 kGy, 4.6 h 6.15 log	Food Chem. 163, 142-6	2014
감마선	Meat <i>L. monocytogenes</i>	0.25 to 1.5 kGy 3 log	J Food Prot. 74(2), 193-9	2011
natural compounds	RTE meat <i>L. innocua</i>	Chitosan, allyl isothiocyanate, barley straw arabinoxylan, and organic acids 4 log	Int J Food Microbiol. 208, 58-64	2015
pulsed light	Beef and tuna carpaccio <i>L. monocytogenes</i> , <i>E. coli</i> , <i>S. Typhimurium</i> and <i>Vibrio parahaemolyticus</i>	8.4-11.9 J/cm ² 1 log	Int J Food Microbiol. 158(1), 42-8	2012
pulsed light	Chicken <i>Campylobacter spp</i>	3 Hz, maximum of 505 J/pulse, 360 μs 3.56-4.69 log	Foodborne Pathog Dis. 8(1), 109-17	2011
Cold atmospheric pressure plasma	Sliced RTE meat product (bresaola) <i>L. innocua</i>	31 W, 20 s 2 log	Food Microbiol. 30(1), 233-8	2011
초고압 + 염(NaCl, KCl, CaCl ₂)	Ground chicken <i>L. monocytogenes</i>	2.5% CaCl ₂ , 600 MPa 7.47 log	Int J Food Microbiol. 218, 51-6	2016
자외선 + bacteriophage	Raw and cooked meat <i>E. coli</i> O157:H7	10 ⁷ phages/cm 2 log	Food Sci Technol Int. 22(1), 3-9	2016
전자빔 + ageing	한우 <i>L. monocytogenes</i> , <i>E. coli</i> O157:H7	0.66 and 0.65 kGy D ₁₀ values of 0.66 and 0.65 kGy	Korean J Food Sci Anim Resour. 35(3), 406-12	2015
초고압 + polyphosphate	Ground poultry products <i>C. jejuni</i>	0.25% Tripolyphosphate, 250 MPa 4.7 log	Poult Sci. 94(9), 2297-302	2015
초고압 + 열처리	Lu-wei beef <i>Bacillus coagulans</i> , <i>G.</i> <i>stearothermophilus</i> spores	500 and 600 MPa, 70-90 °C <i>G. stearothermophilus</i> spores had a higher resistance than <i>B. coagulans</i> spores	J Appl Microbiol. 119(2), 446-54	2015
초고압 + 열처리	Water-boiled salted duck meat <i>B. cereus</i> and <i>S. warneri</i>	500 MPa, 50 °C >6 log	J Food Sci. 80(6), M1336-42	2015

+ sodium lactate	Cured beef carpaccio	3% sodium lactate, 600 MPa, 5 min	Food Microbiol. 46, 610-7	2015
	<i>E. coli</i> O157:H7, spoilage microorganisms	Below detection limits		
플라즈마 + atmospheric pressure	Raw chicken breasts	APP jet, N ₂ +O ₂	Foodborne Pathog Dis. 11(8), 652-7	2014
	<i>E. coli</i>	<7 log		
초고압 + 1.8% potassium lactate	Minced poultry meat (ready-to-cook)	350 MPa, 8 min	Int J Food Microbiol. 186, 74-83	2014
	<i>Salmonella</i> and <i>L. monocytogenes</i>	0.5-2.3 log		
초고압 + lactoperoxidase system or activated lactoferrin	Beef carpaccio	450 MPa, 5 min, lactoperoxidase	Food Microbiol. 41, 27-32	2014
	<i>L. monocytogenes</i> , <i>S. Enteritidis</i> , <i>E. coli</i> O157:H7	2.4-4.7 log		

육류의 prion 저감을 위해 비가열 살균 기술을 적용한 논문

- Brown et al.이 2003년 보고한 Ultra-high-pressure inactivation of prion infectivity in processed meat: a practical method to prevent human infection이라는 제목의 논문(PNAS 100, 6093-6097)에 따르면 prion 단백질을 초고압 처리 했을 때, 121-137 ° C의 온도에서 690 MPa의 경우 10³ LD₅₀, 1,200 MPa의 경우 10⁶ LD₅₀의 저감 효과를 보임. 그러나 690 MPa 이상의 압력과 121~137 ° C의 온도는 열간정수압(high isostatic press, HIP)처리로 본 연구에서 수행하고자 하는 냉간정수압(cold isostatic press, CIP)와는 상이함. 따라서 비가열 기술로써 식품에 처리하는 본 연구 목표와 적합하지 않음
- Heindl et al.의 2006년 논문 Protein conformation determines the sensibility to high pressure treatment of infectious scrapie prions (Biochim. Biophys. Acta, Proteins, 1764, 552-557)에서는 800 MPa, 60 ° C에서 120분간 prion 단백질을 초고압 처리했을 때 6~7 log의 units이 감소하는 결과를 보고함. 하지만 마찬가지로 처리조건이 CIP보다는 HIP에 가깝고 800 MPa, 60 ° C에서 2시간 동안 병합 처리하는 것은 식품산업에서 현실적으로 불가능함
- Heindl et al.의 2008년 논문 High pressure/temperature treatments to inactivate highly infectious prion subpopulations (Innov. Food Sci. Emerg. Technol. 9, 290-297)에서는 800 MPa의 압력과 60 ° C의 온도에서 30분, 또는 80 ° C의 온도에서 5분, 30분 처리하였을 때, prion 단백질이 6~8 log units가 감소된 결과를 보임. 이는 이전 연구의 120분 처리에 비해 처리 시간이 단축되었지만 여전히 압력과 온도의 처리조건이 식육제품에 적합하지 않으며 상용화에도 어려움이 있음

나. 국내 특허 현황

<식육제품에 비가열 살균 기술을 적용한 최근 10년 간 국내 공개 또는 등록 특허>

살균 기술	대상식육제품	발명의 명칭	출원인	출원일자	한계
초고압	햄	과열수증기조리법과 초고압 비가열살균법을 이용한 고품질의 간편편이식 제조방법	(주)다손	2011.09.30.	과열수증기 전처리 시 증기온도가 150~400 °C로 너무 높아 품질에 영향을 미칠 수 있음
초고압	비분쇄육제품	초고압 기술을 이용한 고품질 비분쇄육제품 제조방법 및 이로 제조된 비분쇄육제품	충남대학교 산학협력단	2010.03.02.	본 특허는 비분쇄육제품을 처리한 기술로 본 과제를 통해 분쇄육제품에 초고압과 천연항균제를 병합해 특허화할 계획임
자외선	오리, 닭, 육류의 포장육	포장육 살균 처리장치	류지호	2010.05.26.	UV살균만으로는 표면살균만 가능하여 내부에 미생물 오염이 발생했을 때 적용이 불가
플라즈마	육제품	아질산 이온 농도가 유지된 플라즈마 처리수의 제조방법	한국과학기술원	2014.06.03.	육제품 표면의 투과력이 높지 않아 내부 미생물에 대한 살균이 어려움
플라즈마	육제품	플라즈마 처리수를 이용한 합성 아질산염 무첨가 육제품의 제조방법 및 상기 방법으로 제조된 육제품	한국과학기술원	2015.02.27.	육제품 표면의 투과력이 높지 않아 내부 미생물에 대한 살균이 어려움
방사선	돈육가공식품	이취 및 지방산화가 억제된 방사선 조사 돈육가공식품 및 이의 제조방법	건국대학교 산학협력단	2012.02.02.	마스킹 효과를 내는 김치분말과 항산화능이 있는 양파껍질 추출물을 첨가한 기술이나, 방사선조사 시 지방산화를 일으키고 기술에 대한 부정적인 소비자 인식이 존재
방사선	육가공품	저장 안정성이 향상된 방사선 조사 육가공품	건국대학교 산학협력단	2011.09.06.	간장을 첨가하여 지방산화를 억제하였으나 관능 변화를 일으키며 방사선 조사에 대한 부정적인 소비자 인식이 존재
방사선	돈육 소시지	방사선 이취를 제거한 방사선 조사 돈육 소시지의 제조방법	건국대학교 산학협력단	2011.02.17.	김치분말을 이용해 방사선 이취를 제거하였으나 이로 인해 관능 변화를 일으키며 방사선 조사에 대한 부정적인 소비자 인식이 존재
방사선	숯불 닭갈비	극한 환경에서도 저장이 가능한 숯불 닭갈비의 제조 방법	한국원자력연구원	2013.03.07.	우주식품으로써 방사선 기술을 적용했으나 일반식품으로써는 방사선 조사에 대한 부정적인 소비자 인식이 여전히 존재
방사선	불고기	방사선 조사기술을 이용한 극한환경에서도 저장이 가능한 불고기의 제조 방법	한국원자력연구원	2010.02.11.	우주식품으로써 방사선 기술을 적용했으나 일반식품으로써는 방사선 조사에 대한 부정적인 소비자 인식이 여전히 존재

초음파	돼지 막창	초음파 살균 세척기를 이용한 막창의 살균처리 및 그에 따른 양념막창의 제조방법	박진식	2015.04.13.	초음파만으로는 살균력이 떨어짐
-----	-------	---	-----	-------------	------------------

다. 국외 특허 현황

<식육제품에 비가열 살균 기술을 적용한 최근 10년 간 국외특허>

살균 기술	대상식육제품	발명의 명칭	출원인	국가	출원일자	
단독	초고압	Fresh ground meats	High pressure pasteurizing of ground meats	Cargill, Incorporated	미국, 유럽, PCT, 중국	2010.09.24.
	초고압	Frozen ground meats	High pressure pasteurizing of frozen ground meats	Cargill, Incorporated	미국, 유럽, PCT, 중국	2010.09.24.
	초고압	Whole muscle meats	High pressure pasteurizing of whole muscle meats	Cargill, Incorporated	미국, PCT	2011.05.24.
	초고압	beef jerky, sausage	High pressure processing of foods		미국	2006.08.25.
	초고압	Fresh cuts of meat	High pressure meat product processing	Cargill, Incorporated	미국	2009.03.13.
	초고압	fresh sausage, fresh meat emulsion	High pressure pasteurization of fresh sausage and fresh meat emulsion and avoiding the loss of color and taste in the process	Walter Freybe	미국	2012.07.03.
	초고압	sausage	Method for controlling product characteristics in the manufacture of meat products	Deutsches Institut for Lebensmitteltechnik e.V. Triton GmbH	미국, 유럽, PCT	2009.09.02.
	초고압	Fresh sausage, meat products	Method for treating foodstuffs, particularly for preserving fresh sausage or meat products	Deutsches Institut für Lebensmitteltechnik e.V.	미국, 유럽, PCT	2006.03.10.
	초고압	beef, chicken, pork, lamb	Method for manufacturing high pressure processed food products		미국	2006.04.05.
	자외선	Fresh poultry	Edible fresh poultry sterilizing and disinfecting method	ZHOU HAORAN	중국	2013.05.20.
sodium bicarbonate	meat	Method for processing meat, and processed food product	NIIGATA INDUSTRIAL CREATION	일본	2009.10.15.	

				ORGANIZATION		
	radiation, 항균제	intact meat	Method of processing meat	DaPuzzo Douglas C.	미국, PCT	2010.11.19.
	Ionizing radiation, MAP	fresh meat	Process for the extension of microbial life and color life of fresh meat products	Mitec Incorporated	미국	2007.03.12.
	플라즈마, 광촉매, MAP	fresh meat	Synergistic sterilizing and preserving method for fresh meat with high voltage field plasma and nano photocatalysis	NANJING AGRICULTURAL UNIVERSITY	PCT	2014.10.21.
	PEF, pulsed ultrasound	pot-stewed meat	Method for processing pot-stewed meat products adopting pulsed electric field and pulsed ultrasound	CHENGDU UNIVERSITY	중국	2015.07.07.

제 2 절 국내외 기술개발 및 시장(제품) 현황

1. 국내 육류 소비량

<표. 연도별 육류 소비량>

년도	전체소비량(톤)				1인당소비량(Kg)			
	우육	돈육	계육	계	우육	돈육	계육	계
2006	330,554	874,704	416,849	1,622,107	6.84	18.11	8.63	33.58
2007	368,749	931,339	433,787	1,733,875	7.6	19.2	9	35.8
2008	365,116	926,764	435,991	1,727,871	7.5	19.1	9	35.6
2009	395,536	915,534	469,128	1,780,198	8.11	19.1	9.62	36.83
2010	431,299	940,620	522,310	1,894,229	8.82	19.24	10.68	38.74
2011	505,847	937,643	566,185	2,009,675	10.16	18.84	11.37	40.37
2012	486,021	960,000	579,371	2,025,392	9.72	19.19	11.59	40.5
2013	519,002	1,049,300	579,944	2,148,246	10.33	20.89	11.55	42.77

자료: 농림축산식품부



자료: 농림축산식품부

<한국인 1인당 육류 소비량 추이>

- 우리나라 육류 소비량은 국민 소득 증가와 함께 크게 증가하였음. 1인당 육류 소비량은 1980년 11.3kg에서 연평균 4.1% 증가하여 2013년에는 1980년 보다 3.8배 증가한 42.7kg이었음
- 1인당 돼지고기 소비량은 1980년 6.3kg에서 2013년 20.9kg으로 증가하였고, 쇠고기는 같은 기간 2.6kg에서 10.3kg으로, 닭고기는 2.4kg에서 11.5kg으로 증가함
- 육류 중에서는 돼지고기의 소비량이 가장 많아 지난 35년 동안 육류 소비 중 돼지고기 비중이 47~61%이었고, 쇠고기 비중은 19~27%, 닭고기 비중은 20~29%이었음
- 하지만 백색육에 대한 선호 증가로 육류 소비에서 닭고기 소비 비중이 증가하는 추세를 보이고 있음

2. 국내 식육제품 생산량 및 판매량

<표. 축산업 생산액 전망>

단위: 10억 원, 경상

	2013	2014	2015	2019	2024	연평균 변화율	
						2015/2014	2024/2014
축산업	16,312	17,799	17,192	18,559	21,352	-3.4	1.8
한육우	3,682	4,088	4,022	4,187	4,981	-1.6	2.0
양돈	5,010	6,126	5,585	5,991	6,847	-8.8	1.1
육계	2,171	2,041	2,162	2,394	2,693	5.9	2.8
낙농	2,074	2,192	2,036	1,957	1,878	-7.1	-1.5

자료: 농림수산물식품부

- 식육산업은 전체 농축산업 분야 중 가장 규모가 큰 산업분야로 우리나라 전체 농업

생산액의 4분의 1을 초과하며 경제가 성장할수록 축산물 산업 규모가 증가함

- 2013년 전체 축산업 생산액은 16조 3,120억 원으로 이중 쇠고기가 3조 6,820억 원, 돼지고기 5조 100억 원, 닭고기 2조 1710억 원 정도이며, 2014년에 소고기와 돼지고기가 각각 4조 880억 원, 6조 1,260억 원으로 증가하고 닭고기는 2조 410억 원으로 감소할 것으로 추정되었음
- 2014년 추정치와 2024년 생산액 전망을 비교하면 닭고기가 연평균 2.8% 성장률을 보이며 2조 6,930억 원까지 증가할 것으로 예측되어 가장 큰 증가추세를 나타내고, 쇠고기가 연평균 2.0%, 돼지고기가 1.1%의 증가추이를 보일 것으로 전망됨

표. 국내 육가공품 연도별 생산량

구분	햄(1)		소시지(2)		베이컨(3)		캔(4)		축육소계(A) (1+2+3+4)		혼합소시지(B)		합계 (A+B)	
	총량 (톤)	전년비 (%)	총량 (톤)	전년비 (%)	총량 (톤)	전년비 (%)	총량 (톤)	전년비 (%)	총량 (톤)	전년비 (%)	총량 (톤)	전년비 (%)	총량 (톤)	전년비 (%)
2006	58,520	7.9	44,156	27	2,765	1736	27,157	-3.9	132,599	3.7	32,224	1.0	164,823	3.2
2007	58,233	-0.5	46,183	4.6	3,201	15.7	28,307	4.2	135,923	2.5	29,930	-7.1	165,853	0.6
2008	52,070	-10.6	50,267	8.8	4,316	34.8	31,470	11.2	138,123	1.6	24,804	-17.1	162,927	-1.8
2009	53,670	3.1	54,116	7.7	3,911	-9.4	27,188	-13.6	138,885	0.6	20,091	-19.0	158,975	-2.4
2010	62,321	16.1	56,103	3.7	4,289	9.7	33,934	24.8	156,646	12.8	23,994	19.4	180,640	13.6
2011	64,240	3.1	53,939	-3.9	5,451	27.1	39,351	16.0	162,980	4.0	25,764	7.4	188,744	4.5
2012	61,425	-4.4	56,470	4.7	5,856	7.4	39,483	0.3	163,234	0.2	28,090	9.0	191,323	1.4
2013	62,332	1.5	65,667	16.3	6,710	14.6	46,637	18.1	181,347	11.1	27,559	-1.9	208,906	9.2
2014	59,778	-4.1	67,512	2.8	7,268	8.3	50,885	9.1	185,442	2.3	25,666	-6.9	211,109	1.1

자료: (사)한국육가공협회 회원사 집계자료(14개사)

- 축육을 이용한 식육가공품 생산량은 빠른 속도로 증가하였지만 어육이 주원료인 혼합소시지는 과거에 비해 오히려 감소함
- 소시지 생산량은 2006년 44,156톤에서 2014년 67,512톤으로 소폭 증가하여 식육가공품 생산량 중 가장 큰 비중을 차지하고 있음. 캔 제품 생산량은 2006년 27,157톤에서 2014년에는 50,885톤으로 크게 증가하였으며, 베이컨은 같은 기간 2,765톤에서 7,268톤으로 증가하였지만 혼합소시지는 같은 기간 32,224톤에서 25,666톤으로 급격히 감소하였음. 햄 생산량은 2006년 58,520톤에서 2011년 64,240톤으로 증가하였다가 이후 감소하여 2014년에는 59,778톤이 생산됨

표. 국내 육가공품 연도별 판매량

구분	햄(1)		소시지(2)		베이컨(3)		캔(4)		축육소계(A) (1+2+3+4)		혼합소시지(B)		합계 (A+B)	
	총량 (톤)	전년비 (%)	총량 (톤)	전년비 (%)	총량 (톤)	전년비 (%)	총량 (톤)	전년비 (%)	총량 (톤)	전년비 (%)	총량 (톤)	전년비 (%)	총량 (톤)	전년비 (%)
2006	58,520	3.5	44,156	6.6	2,765	15.3	27,157	4.3	132,599	4.9	32,224	1.6	164,823	4.3
2007	54,055	0.7	47,068	8.4	3,143	19.6	23,953	-3.1	128,227	3.0	28,341	0.3	156,568	2.5
2008	55,323	2.3	52,813	12.2	3,439	9.4	27,159	13.4	138,734	8.2	22,826	-19.5	161,560	3.2
2009	57,427	3.8	50,006	-5.3	3,804	10.6	26,485	-2.5	137,722	-0.7	20,071	-12.1	157,793	-2.3
2010	61,161	6.5	55,207	10.4	4,170	9.6	34,376	29.8	154,914	12.5	23,577	17.5	178,491	13.1
2011	64,444	5.4	53,589	-2.9	5,256	26.0	38,206	11.1	161,495	4.2	26,094	10.7	187,589	5.1
2012	63,506	-1.5	56,090	4.7	5,704	8.5	39,278	2.8	164,578	1.9	28,017	7.4	192,595	2.7
2013	63,627	0.2	62,646	11.7	6,670	16.9	47,311	20.5	180,254	9.5	27,427	-2.1	207,681	7.8
2014	59,945	-5.8	65,341	4.3	6,773	1.5	45,226	-4.4	17,7285	-1.6	24,670	-10.1	201,955	-2.8

자료: (사)한국육가공협회 회원사 집계자료(14개사)

- 식육 가공품 소비는 국민 소득 증가와 식품 소비 패턴의 간편화, 다양화 등으로 빠르게 증가해옴. 식육가공품 판매량은 1990년 이후 연평균 3.9% 증가하여 2013년에는 20만 2,446톤을 기록함
- 세부 품목별로 보면, 1990년 이후 베이컨 판매량이 연평균 11.2%로 식육가공품 제품 중에서 가장 빠르게 증가하였으며, 캔 제품은 연평균 8.4%, 햄은 연 평균 7.9%, 소시지는 연평균 3.8% 증가함
- 이는 베이컨이 아침 식사용으로 빵과 함께 이용되며, 빵을 이용한 식사가 늘어남에 따라 베이컨 판매량도 급격히 증가한 것으로 보임. 캔 제품의 경우 장기 상온 보관의 편리성 때문에 크게 증가하였고, 최근 들어 소시지 판매량이 빠르게 증가하는 것은 캠핑용 제품 등으로 각광 받고 있게 때문인 것으로 파악됨. 햄 판매량은 2000년 이후 증가율이 급격히 둔화되고 있는데, 이는 덩어리 고기를 사용해야 하는 제약으로 인하여 생산성, 맛, 형태의 다양성이 소시지보다 떨어지기 때문인 것으로 파악됨

3. 국내 육가공품 시장 경쟁 현황

<표. 국내 육가공품 제조사별 경쟁 현황>

(판매액: 십억원, 성장률/점유율: %)

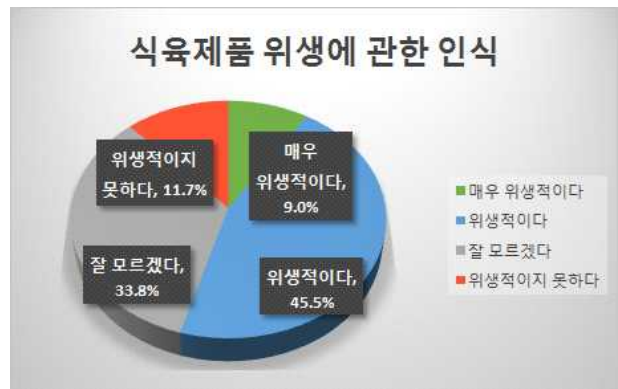
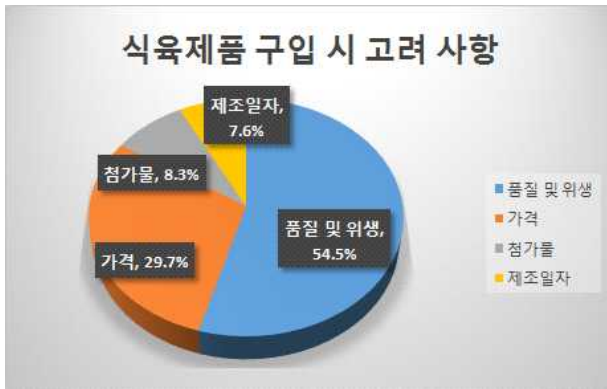
구분	판매액			점유율	
	2010년	2011년	성장률	2010년	2011년
CJ	239.9	306.6	27.8	28.2	30.1
롯데햄	177.6	182.1	2.5	20.8	17.9
동원F&B	95.1	124.5	30.9	11.2	12.2
농협목우촌	70.5	86.1	22.1	8.3	8.4
대상	67.5	83.2	23.2	7.9	8.2
기타	201.3	237.2	17.8	23.6	23.3
합계	851.9	1019.7	19.7	100.0	100.0

*기타: 진주햄, 사조대림, 하림, 한성기업, 사조해표, 한성제너럴, 팜덕 등 105개 브랜드

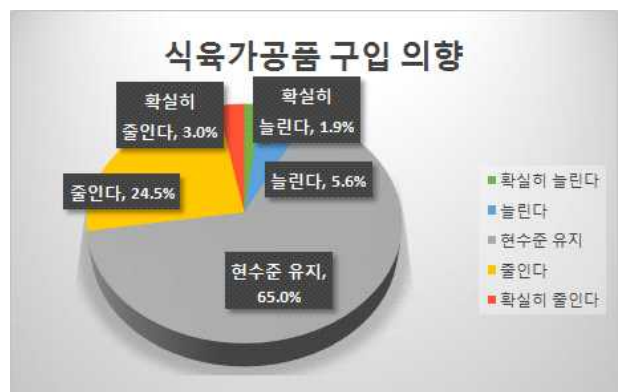
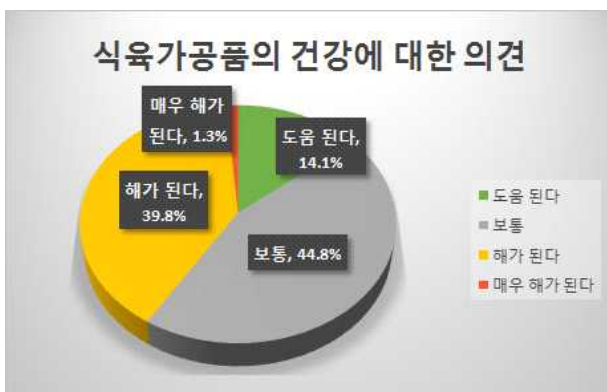
자료: 한국농촌경제연구원

- 1980년 롯데햄, CJ 등의 기업이 시장에 진출하면서 본격적인 경쟁구도가 형성되었음. 1990년 이후 축협외의 진출 등 제조사의 증가와 하림의 계속 가공 등 원료의 다양화에 따라 품목이 지속적으로 증가됨
- 2011년 판매액 성장률이 가장 높은 제조사는 동원F&B이며, 농협목우촌과 CJ 및 대상 또한 2011년 두 자릿수 성장률을 보임
- 유통채널별 식육가공품 제조사 현황을 보면 CJ는 대형마트, 체인대형슈퍼, 조합마트에서 가장 높은 점유율을 차지하고 있음. 대형마트에서 두 번째로 점유율이 높은 제조사는 동원F&B이며, 체인대형슈퍼, 개인대형슈퍼 및 개인소형슈퍼는 CJ 다음으로 롯데햄의 판매액이 높음
- 2011년 기준 점유율은 CJ가 30.1%로 가장 높고, 그 다음이 롯데햄(17.9%), 동원F&B(12.2%), 농협목우촌(8.4%), 대상(8.2%) 등으로 CJ, 동원F&B, 농협목우촌, 대상의 점유율은 증가했고, 롯데햄은 점유율이 감소함

4. 국내 식육제품 소비자 인식



자료: 전남대, 2011(145명 응답)



자료: 최지현 등, 2011(397명 응답)

자료: 지인배 등, 2011(531명 응답)

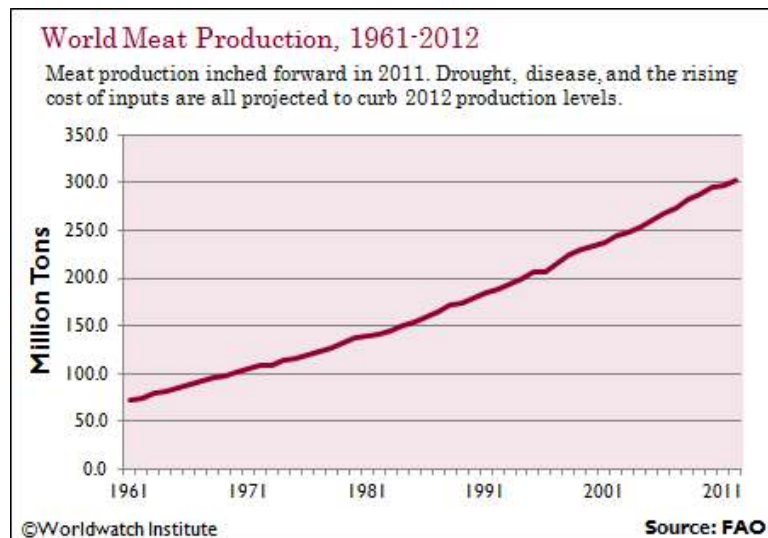
<그림. 국내 식육제품에 대한 소비자 인식 조사 결과>

- 2011년 국내 육제품 전시회 및 시식회에 참석한 대학생 및 일반인 145명을 대상으로 진행한 국내 식육제품의 인식도 조사에서 식육제품 구입 시 제일 고려하는 사항에 대해 질문했을 때, 54.5%가 품질 및 위생으로 응답함
- 또한 첨가물이라고 답한 응답자가 8.3%이었으며 제조일자라고 답한 응답자는 7.6%로 전체의 70%에 해당하는 응답자가 식육제품 구입 시 품질이나 안전성을 최우선적으로 고려하는 것으로 나타남
- 이는 식육제품 위생에 관한 인식 조사 결과와 상충하는데 식육제품이 위생적이라고 생각하는 응답자가 전체 54.5%를 나타냈지만 잘 모르겠다 또는 위생적이지 못하다고 응답한 비율도 45.5%를 보여 절반에 가까운 응답자가 식육 제품의 위생에 대해 확신을 가지지 못하는 것으로 나타남
- 또한 첨가물이라고 답한 8.3%의 비율은 곧, 식육가공품의 건강에 대한 의견을 묻는 질문에서 소비자들이 식육가공품을 부정적으로 인식함을 나타내는 반증이었고, 건강 또는 안전성 등의 이유로 향후 육가공품 소비를 줄이려는 의향이 늘리려는 의향보다 더 높은 것으로 조사됨

- 응답자들의 40% 이상이 첨가물 과다 사용 등의 이유로 식육가공품이 영양과 건강에 해가 된다고 응답하였고, 향후 식육가공품 구입 의향에 대해, 소비자들의 27.5%가 건강에 좋지 않고 제조과정에서의 안전성이 의심되어 줄이겠다고 응답함
- 이러한 조사 결과는 많은 소비자들이 저렴한 제품보다 품질이 우수하고 무엇보다 안전한 제품을 원하는 것으로 해석할 수 있으며 따라서 보존료 무첨가 및 신선 식육가공품, 저염 제품 등과 같이 영양적, 관능적 품질을 유지하면서도 안전한 육가공품 제조 기술 개발이 중요하다는 것을 시사함

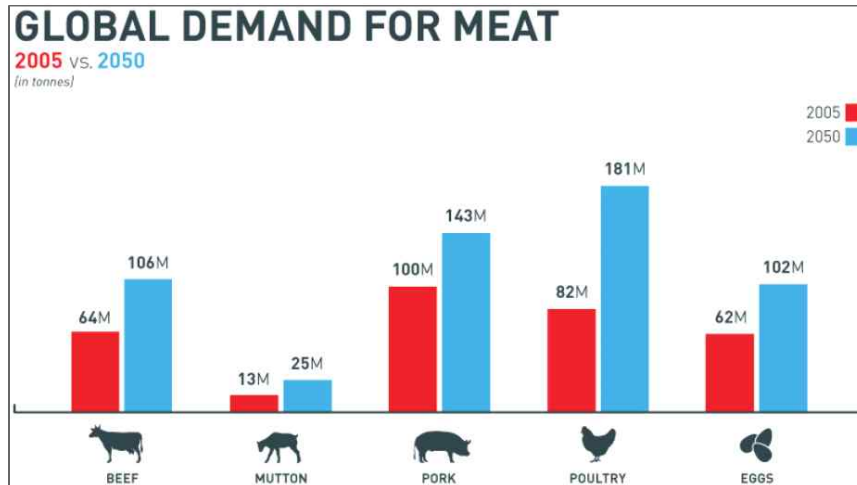
5. 국외 시장 현황

가. 세계 축산물 소비 동향과 전망



<세계 육류 생산량 추이>

- 2011년 세계 육류 생산량은 2010년 생산량에서 0.8% 증가한 297백만 톤에 달함. 2001년부터 2010년 까지는 2.6%의 증가율을 보임
- 1인당 육류 소비는 2010년 42.5kg에서 2011년 42.3kg으로 소폭 감소했는데 2011년 한 해 동안 선진국의 경우 1인당 78.9kg을 소비한 반면 개발도상국은 32.3kg을 소비함
- 돼지고기가 2011년 109백만 톤으로 37%이었고 육류 중 가장 많은 생산과 소비를 차지하였으며 그 다음으로 가금류가 101백만 톤이었음. 하지만 돼지고기는 2010년에 비해 0.8% 감소하였고 가금류는 전년에 비해 3% 증가한 결과로 머지않아 최다 생산 육류는 가금류가 될 것으로 보임

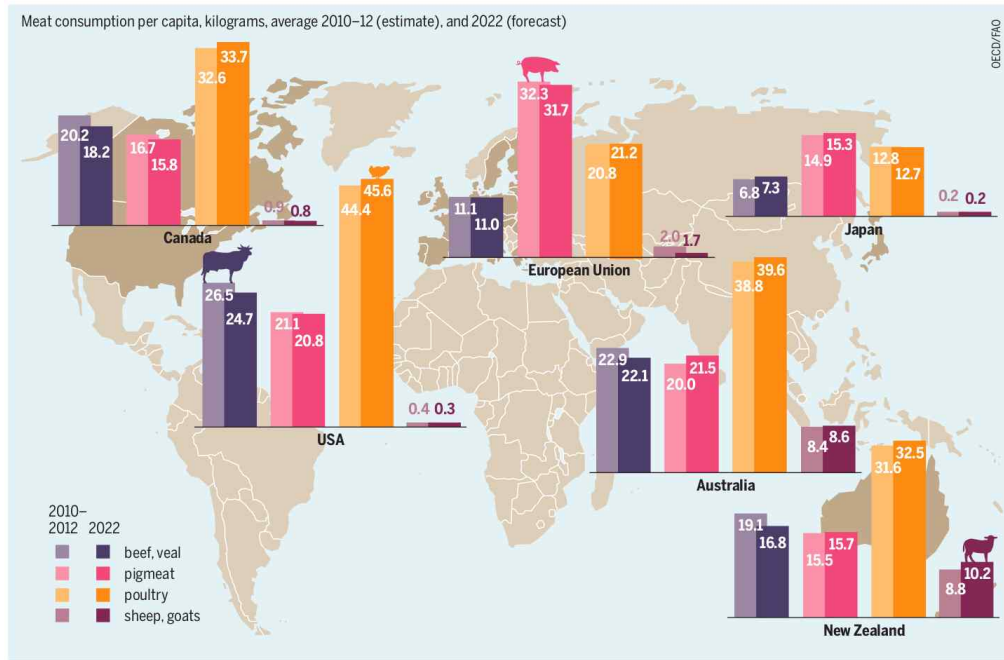


자료: Food and Agriculture Organization of the United Nations,
ESA Working Paper No. 12-03. p. 131

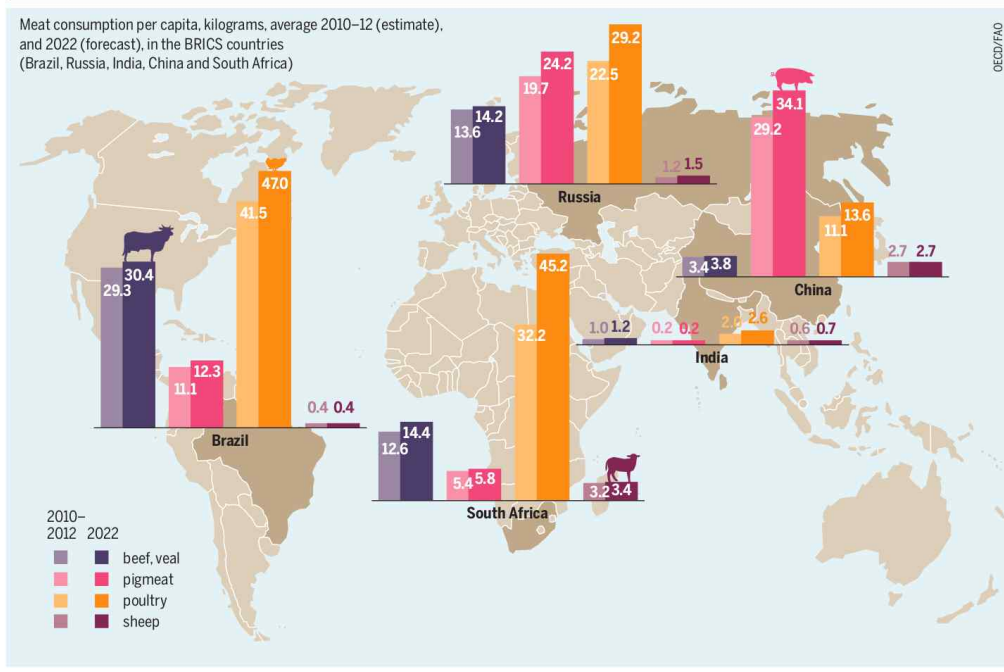
<세계 육류 수요 전망>

- 2005년에 비해 모든 육류의 수요가 2050년까지 계속 늘어날 것으로 예측됨
- 2005년에는 돼지고기 수요가 100만 톤으로 육류 중 가장 높은 비율을 차지했지만 2050년에는 가금류 수요가 크게 늘어 돼지고기를 뛰어넘을 것으로 전망됨

Demand in the rich world is satiated



Demand in the developing world is rising steeply



자료: Meat Atlas 2014 – Facts and figures about the animals we eat

<선진국 육류 수요 트렌드(위)와 개발도상국 육류 수요 트렌드(아래)>

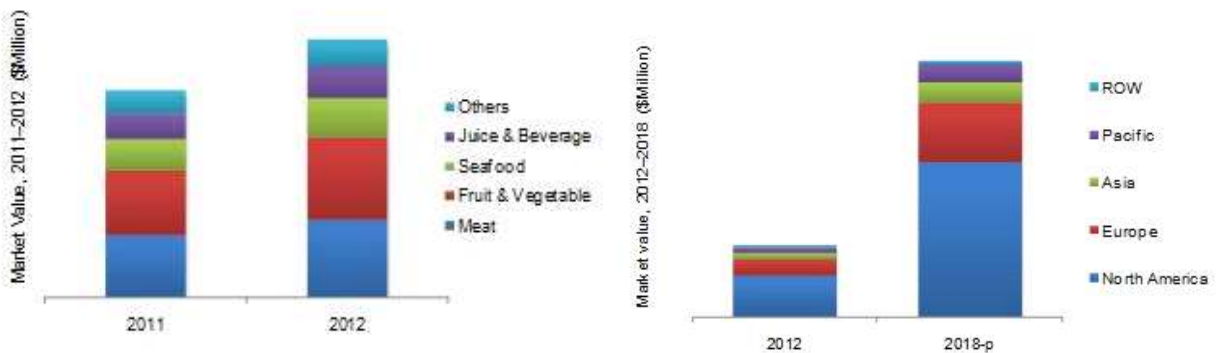
- 세계 주요 축산물(쇠고기, 돼지고기, 닭고기) 소비량은 증가 추세이나 증가율은 점차 둔화되는 모습임
- 2000년대 이전 세계 육류 소비 트렌드는 선진국과 신흥국에서 모두 소비량 증가율이 비슷하였으나, 2000년대 들어 선진국의 육류소비는 둔화된 반면 신흥국(중국, 브라질 등)은

지속적인 증가세를 보임

- 축산물 소비량은 개발도상국을 중심으로 2022년까지 지속적으로 증가할 것으로 예상됨

나. 초고압 적용 식육 제품 시장

- 초고압 기술이 도입된 이래 미국, 일본, EU에서는 이미 초고압 기술을 이용한 육가공 식품 등이 상품화되어 소비자에게 판매되고 있음
- 슬라이스 햄, 염장건조, 양념 식육제품, ready-to-eat (RTE) 등 식육 제품의 살균 방법으로 초고압 기술이 성공적으로 응용되고 있으며, 진공포장이나 MAP (modified atmosphere packaging) 포장 제품에 최적화된 살균 방법으로써 사용됨
- 국내와는 다르게 이미 미국에서는 양념치킨, 비프 스트립, 슬라이스 미트, 통닭구이, 치킨 소시지, 살라미, 오리고기 등 많은 종류의 식육제품의 살균방법으로 초고압기술을 이용하고 있고 미국뿐만 아니라 스페인, 이탈리아, 독일, 일본 등에서 초고압기술을 이용한 식육제품을 생산하고 있음
- 대표적으로 일본, 스페인과 같은 선진국에서 이전부터 식육제품을 비롯한 식품의 살균방법으로 초고압을 사용하고 있으며 최근 중국에서 초고압을 사용한 식품의 시장 점유율이 큰 폭으로 증가하고 있음
- 일본의 경우, Ajinomoto 냉동식품에서 조리가공 식품의 신보존 기술로 초고압을 사용한 제품이 있으며 특히 우육에 있어서는 종래 방법에 비하여 해동의 속도나 품질이 우수한 것으로 확인됨. Fujichiku 사는 초고압을 이용한 식육가공 시스템으로 만든 우육 가공제품의 살균 정도와 보존성이 양호하였음 (초고압 살균 기술과 식품포장 no.10, 1994, 97-105, (사)한국포장협회).

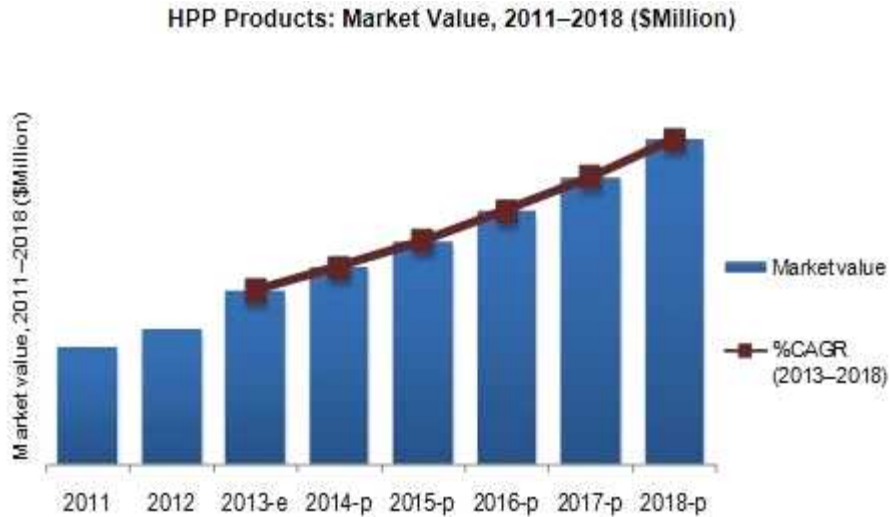


자료: Markets and Markets Analysis

<세계 초고압 식품별 시장 가치(좌)와 지역별 초고압 식품 시장 규모 변화 추이(우)>

- Markets and Markets의 보고서에 의하면 식육제품은 과채류 다음으로 초고압 기술이 많이 적용되고 있는 식품이며, 초고압 적용 해산물 시장이나 음료 시장보다 가치가 높음

- 초고압 제품 시장은 2012년 기준 북미가 가장 크고 유럽, 아시아 순이며 전체 시장이 고르게 증가하여 2018년에도 같은 순을 보일 것으로 예상됨. 이는 아시아 식품산업에서 초고압 기술의 적용이 전 세계 시장에 비해 미흡하다는 것을 보여주는 결과로 우리나라를 포함한 아시아에서 초고압 식품에 대한 연구가 시급함



자료: Markets and Markets Analysis

〈2011년부터 2018년까지 초고압 제품 시장 규모 증가 추이〉

- 초고압 처리로 살균한 제품의 시장이 급속히 성장 중이며 2018년에는 약 120억 달러(약 14조원) 규모의 시장을 형성할 것으로 예측

다. 국내·외 경쟁기관 현황

(1) 국내 경쟁기관 현황

- 현재까지 국내 시장에서 초고압 처리한 식육 제품은 출시된 바가 없으나 (주)다손과 한국식품과학연구원 등에서 관련 연구를 진행함
- (주)다손에서 2014년에 제출한 “신 가공기술을 이용한 수출용 간편 편의 한식류 육가공품 개발에 관한 연구” 농림축산식품부 과제에 대한 보고서를 살펴보면 간편 편이식 제품의 초고압 비가열 살균처리 조건에 따른 미생물학적 안정성과 품질(관능, 편리성, 이화학적 특성)을 분석하여 제품의 안전성을 보장하는 공정이 개발되었고 최적의 초고압 비가열 살균 조건이 모색되었음. 동시에 레토르트살균법을 이용한 식품의 품질 및 관능특성, 미생물학적 안전성과 비교하였음
- 한국식품과학연구원에서 2001년에 제출한 “초고압에 의한 신선육 및 가공육이 저장성 연장 연구” 과제에 대한 보고서를 살펴보면 압력조건이 육품질에 미치는 효과, 초고압 조건에 따른 식육의 단백질 구조 및 조직특성 변화 평가, 초고압을 이용한 가공제품 생산기술의 개발, 초고압 처리 냉장육의 저장 중 품질변화 평가, 초고압 처리 가공제품에

대하여 풍미, 소비자 특성조사 및 경제성 평가가 이루어졌음을 알 수 있음

(2) 국외 경쟁기관 현황

- 국내와는 달리 해외에서는 슬라이스 햄, 칠면조나 치킨 조각, RTE 제품, 절인 햄 등이 초고압 처리되어 시장에 출시되고 있음
- 미국의 Hormel Foods, Tyson Foods, Foster Farms, Cooper Farms, Columbus Salame, 네덜란드의 Cargill, Zwanenberg, 스페인의 Espuna, Campofrio, 덴마크의 Danish Crown, 호주의 Moira Mac's, 그리스의 Infantis, Creta Farm, 독일의 Abraham, 영국의 Deli24 등 수많은 육가공 회사가 초고압 처리한 식육제품을 시장에 출시하고 있음
- Cargill에서는 “Fressure” (Fresh+Pressure) 브랜드로 햄버거에 들어가는 신선(fresh) patty를 초고압 처리하여 화학 첨가물, 가열 처리를 하지 않은 고품질 beef patty를 launching하였음. Fresh burger에 대한 소비자들의 니즈가 2007년부터 2010년까지 18%가량 증가한 자체 조사 결과를 기반으로 Fressure® beef patty를 출시하게 됨. Fressure® beef patty는 기존 열처리 제품에 비해 유통기한이 21일에서 42일로 두 배 가량 늘어남
- 스페인의 Espuna사는 초고압 처리에 선구자적 기업으로 1998년부터 초고압 기술을 사용함. 주로 절이거나 조리한 햄 제품에 초고압 기술을 많이 이용하는데 조리된 햄의 경우 초고압 처리 시 유통기한이 두 달까지 늘어남. TAPAS 브랜드를 비롯하여 여러 브랜드의 다양한 식육제품에 초고압 기술을 이용하고 있음
- 우리나라 햄 제품 매출 1위 스팸의 제조사인 미국의 Hormel Foods사는 현재 초고압 처리된 제품을 가장 많이 생산하는 기업임. 2005년부터 초고압 기술에 투자를 시작하여 2006년에 여러 초고압 처리된 제품을 출시했으며, 이를 통해 소비자의 호응을 많이 이끌어내었음. 600 MPa 압력 조건에서 처리하여 다른 첨가물 없이 제품의 유통기한을 60일에서 90일로 연장시킴
- 전 세계에서 가장 큰 육가공 회사 중 하나이자 연간 미국에서 수출하는 쇠고기 중 가장 큰 비중을 사용하는 미국의 Tyson Foods에서도 닭고기에 초고압 처리한 제품을 많이 출시함. 상온에서 600 MPa 압력으로 수 분 처리하는 것으로 냉장유통 기한을 기존의 열처리에 비해 14일에서 45일로 크게 연장시킴
- 1939년 설립된 미국의 Foster Farms에서도 초고압 처리한 닭고기, 칠면조 및 RTE 제품들을 시장에 많이 출시함. 2007년에 300 L 용량의 초고압기 2개 구입 후, 이듬해 추가로 1개 더 구입하여 제품 생산에 열을 올리는 상황. 실험결과 초고압 처리한 제품의 냉장유통 기한이 기존의 열처리한 제품에 비해 두 배 가량 증가됨을 확인하였음

회사	국가	브랜드	품목	제품 사진
Cargill	네덜란드	Fressure™	Fresh ground beef patties	
Hormel Foods	미국	NATURAL CHOICE® BREAD READY®	Sliced ham, turkey, beef, and dry sausage	
Foster Farms	미국	All Natural	Sliced chicken and turkey	
Infantis	그리스	Freshpress	Sliced ham, pork, and turkey	
Moira mac' s	호주	-	Diced poultry' s breast	
Abraham	독일	-	Air-dried ham	
España	스페인	-	Sliced cooked ham	
Campofrio	스페인	-	Sliced cooked ham	
Danish Crown	덴마크	-	Sliced meat	-
Zwanenberg	네덜란드	-	Steak tartare	-
Columbus Salame	미국	-	100% pork salame, turkey, ham, beef, and chicken	-
Creta Farm	그리스	-	Cooked meats and RTE	-
Cooper Farms	미국	-	Fully cooked and RTE turkey, ham and chicken products	-
Tyson Foods	미국	-	-	-

3. 연구수행 내용 및 결과

제 1절 분쇄가공육 및 RTE 제품의 초고압-항균제 신 기술 개발

1. 분쇄가공육, RTE 제품의 상품성 저하를 유발하는 오염균 분석

가. 국가별 식육제품 법규 조사

- 국내 외 문헌 및 여러 기관에서 발표하는 식육제품의 오염 및 부패에 영향을 주는 미생물 총균수는 7 log CFU/g 이상으로 발표하고 있음(Kim & Song, 2004).
- 식육제품의 미생물수가 6-7 log CFU/g 정도가 되면 부패가 시작되며 그 이상의 총균수 8-9 log CFU/g 일 때는 일반인이 느끼기에 심각하다고 느껴지는 냄새가 발생한다고 함(Nottingham et al., 1982).
- 과거 문헌 중에서는 식육제품 저장기간의 한계인 부패기준을 7-8 log CFU/g로 제시한 바 있음(Gill, 1982).

(1) 한국

- 축산물위생관리법 제 12조(축산물의 검사), 축산물위해요소중점관리기준(식품의약품안전처 제 2014-43호), 식육 중 미생물 검사요령(식품의약품안전처 제 2014-135호)는 현재 한국의 미생물 위생관리 기준 법률로 지정되어 있음.
- 식육제품의 검사기준을 살펴보면 휘발성염기질소(mg%)는 20 이하이며 분쇄육에 한하여 장출혈성 대장균은 n=5, c=0, m=0/25 g으로 정해져 있음.
- 축산물위생관리법 제20조 및 시행규칙 제 27조에 따르면 살모넬라균(*Salmonella* spp.), 대장균(*Escherichia coli* Biotype 1) 검사를 실시하여야 함.

(2) 유럽

- 식품법의 일반 원칙 및 요구조건(Reg 178/2002)을 기본, 모든 식품군이 해당되는 일반위생법(Reg 852/2004)에서 식육제품의 경우 추가적인 위생요건(Reg 853/2004)을 정하고 있음.
- 동물유래 식품을 도축, 가공 및 유통업체는 HACCP에 기초한 시설, 설비 및 위생관리기준을 준수토록 함.

- 소를 사용한 식육제품의 경우 호기성 세균은 3.5-5.0 log CFU/cm², 장내세균의 경우 1.5-2.5 log CFU/cm², 살모넬라의 경우 시료 내 존재하지 않아야 함.
- 돼지고기의 경우 기성 세균은 3.5-5.0 log CFU/cm², 장내세균의 경우 1.5-2.5 log CFU/cm², 살모넬라의 경우 시료 내 존재하지 않아야 함.

(3) 미국

- USDA 소속 FSIS는 관련 식품 검사프로그램을 이용, 도축검사 및 HACCP, SSOP 등 모든 검사와 관련된 사항을 포괄하고 있음.
- 대장균 기준 소는 2 log CFU/cm², 돼지는 4 log CFU/cm²를 넘지 않아야 함, 또한 살모넬라 기준은 소의 경우 n=82, c=1, 돼지의 경우 n=58, c=2로 정하고 있음.

(4) 호주

- SAFEMEAT는 호주산 축산품이 농장부터 시작하여 소비자에게 오기까지 최고의 안전과 위생을 유지하도록 보장.
- 호주 내의 식육제품을 미생물 가이드라인을 잡아 4단계로 구분하여 설정함(Excellent, Good, Acceptable, Marginal).

표 1-1. 호주 내 식육제품을 미생물 가이드라인

등급	TVC/cm ² or /g	<i>E. coli</i> /cm ² or /g
Excellent	1,000	미검출
Good	1,000-10,000	1-10
Acceptable	10,000-100,000	10-100
Marginal (Action required)	100,000-1,000,000	100-1,000

(5) 일본

- 식품 위생법(쇼와 34년 후생성고시 제 370호)에 미생물 기준이 정해져 있으며, 생활 협동 조합은 식육제품 뿐만 아니라 식육까지 자체적인 기준 마련함. 또한 식품 위생법에 생식용으로 판매하는 것에 한하며, 장내세균은 음성이어야 하는 기준을 가짐
- 돼지고기, 소고기의 경우 일반 세균수는 5x10⁶ CFU/g로 기준을 삼고 있으며 포도상구균과 살모넬라균은 검출되지 않아야 하는 기준을 삼고 있음.

나. 분쇄가공육 문헌 및 사례조사

- 분쇄 쇠고기 가공육에서 가장 흔하게 발견되는 병원성 *E. coli* O157:H7은 매년 미국에서 96,000 건의 질병, 32,000 건의 입원 및 31 건의 사망을 초래하여 연간 4억 5천만 달러의 의료비를 발생시킴. 뉴욕타임스(NYT)는 2007년 카길사의 냉동 햄버거육을 먹은 소비자가 식중독 때문에 허리 아래가 마비됐다고 보고하며 분쇄육 위생 점검 체계의 문제점을 고발함(Moss, 2009).
- 미국 질병통제예방센터(CDC)에서 10년(2003-2012) 사이 391 건의 쇠고기에서 *E. coli* O157:H7 발병을 추적한 결과 총 4,930 건이 발병되었고 이중 발병 환자 입원 1,274 건(26%), 300 건(6%)의 용혈성 요독성 증후군(HUS) 발병, 34명의 사망자가 보고됨(CDC, 2015).
- 2000년 이후 쇠고기 분쇄육 관련 살모넬라 균의 발생이 급격히 증가함. CDC에서는 1973년과 2011년 사이 최소 95 건의 쇠고기에서 살모넬라 균을 추적하여 총 3,643 건의 발병 및 318 건의 입원을 보고함(CDC, 2015).
- 2015년 식품안전검사국(FSIS)의 보고에 의하면 미국의 정육도매업체인 Lombardi Bros Meat Packers에서 *E. coli* O157:H7에 의한 오염으로 약 27,000 파운드의 식육 가공 제품이 유통과정에서 회수 되었다. *E. coli* O157:H7은 탈수와 혈변을 일으키며 2-8일간의 식중독을 유발하는 병원성 미생물로 82년 미국에서 햄버거 식중독 사건으로 처음 알려졌다으며, 매년 미국에서 6만여명이 감염돼 50여명이 숨진다고 보고되고 있음(NEWS DESK, 2015).
- 미국 식품의약품청(FDA)과 질병통제예방센터(CDC), 식품안전검사국(FSIS) 세 기관은 최근 공동발표한 '범부처 식품안전분석기술(IFSAC, Interagency Food Safety Analytics Collaboration)' 보고서에 따르면, 대장균으로 인한 식중독의 46%가 소고기에서 비롯됨. 가장 큰 원인은 햄버거인 것으로 밝혀짐(AOL.COM EDITORS, 2015).
- IFSAC에 따르면 2016년 1월 Huisken Meat Company에 따르면 약 90,00 파운드의 식육 가공 제품이 미생물 오염으로 인해 불량 상품으로 회수됨(WXYZ DETROIT, 2016).
- 2016년 11월 미국 일리노이주 마컴의 분쇄가공육 회사에서는 *E. coli* 병원균에 의한 오염으로 약 16,000개의 JA 패티 제품이 회수됨(NSW government, 2016).

표 1-2. 햄버거 및 분쇄가공육의 질병발병현황

년도	발병	입원	사망
2015	37	13	0
2014	3	3	1
2009	23	6	0
2008	79	32	0
2007	40	21	0
2007	47	0	0
2002	28	7	0
2000	46	24	0
1993	501	151	4

Outbreaks in the USA linked to hamburgers and ground meat_Source: Marler, 2015

다. RTE제품 문헌 및 사례조사

○ RTE제품의 뉴스기사 조사

- 1994년 12월, 미국의 워싱턴과 캘리포니아 지역에서 유통된 살라미 소시지제품에서 *E. coli* 대장균이 검출되어 감염된 환자가 약 22명 발생하였음(연합뉴스, 1994).
- 2001년 4월, 미국 오클라호마 주의 축산물 가공업체 ‘바-s 푸즈’ 사가 생산하여 한국 등 해외로 유통시킨 가공육에서 리스테리아 균이 가염되었을 위험성이 발견되어 6600 t의 가공육을 회수하였음(식품저널, 2001).
- 2008년 9월, 캐나다 온타리오 주에서 캐나다 내 최대 육류 가공업체인 ‘메이플 리프 푸드’ 사의 토론토 공장에서 생산된 제품에서 리스테리아 균이 검출되어, 이로 인해 감염으로 인한 사망자 약 7명, 감염이 확인된 사례가 38건이 발생함(한겨레, 2008).
- 2010년 6월, 캐나다 온타리오와 BC주에서 ‘레스터스’ 사의 훈제 햄제품에서 리스테리아 균의 오염 가능성이 제기 되어 전량 회수 조치됨(한국일보, 2010).
- 2010년 8월, 미국의 육가공 식품업체 ‘타이슨 푸드’ 가 미전역의 월마트로 공급해온 로스트비프 및 샌드위치제품 속 햄에서 리스테리아 박테리아가 검출되어 190톤의 가공육이 리콜조치됨(한국일보, 2010).
- 2011년 8월, 미국 ‘카길’ 사의 아칸소주 공장에서 생산된 칠면조 가공육 제품에서 살모넬라균이 검출되어 1명이 사망하는 등 76명이 식중독 증상을 보였음(YTN, 2011).
- 2015년 12월, 뉴질랜드 북섬의 ‘premier Beehive NZ Limited’ 사의 가공육 제품에서

리스테리아 균이 발견되어 리콜 조치됨(뉴질랜드 투데이, 2015).

- 2016년 6월, 독일 바이에른 주의 소시지 업체 ‘지버’의 돼지고기 가공제품에서 리스테리아 감염을 유발하는 박테리아가 다량 검출되어 8명이 사망하였음(연합뉴스, 2016).
- 2016년 11월 미국 오하이오의 ‘하니 베이커드’사의 칠면조 햄 가공제품에서 리스테리아균의 오염 가능성이 발견되어 전량 리콜되었음(벤쿠버 조선, 2016).

표 1-3. RTE 제품 관련 미생물 오염에 따른 결과

제품 종류	검출된 균	발생 연도	발생 지역	감염자 수
살라미 소시지	E. coli	1994년	미국 워싱턴, 캘리포니아 지역	약 22명
가공육	리스테리아	2001년	미국 오클라호마주	-
가공육	리스테리아	2008년	캐나다 온타리오주	약 38명
로스트 비프 및 샌드위치 햄	리스테리아	2010년	미 전역	-
훈제 햄	리스테리아	2010년	캐나다 온타리오	-
칠면조 가공육	살모넬라	2011년	미국 아칸소 주	약 76명
햄	리스테리아	2015년	뉴질랜드 북섬	-
돼지고기 가공제품	리스테리아	2016년	독일 바이에른 주	약 8명
칠면조 햄	리스테리아	2016년	미국 오하이오 주	

- 2008년 스페인 카탈로니아 지방의 RTE 육류제품 569개의 샘플을 분석한 결과, *L. monocytogenes*가 돼지고기 샘플 중 11.1%, 냉동 치킨 크로켓 중 6.2%, 건조 소세지에서 16.9%, 조리된 햄에서 12.5%, 조리된 칠면조 가슴살제품의 20%에서 검출되었고, *Salmonella*는 냉동 치킨 크로켓에서 1.5%, 조리햄에서 2%, 건조된 소세지제품 중 11.1%정도 검출되었음(Cabedo et al., 2008).
- 아르헨티나의 팔레과이추의 소매점에서 수거한 279개의 가공육 샘플에서 *E. coli* O157:H7이 다진 소고기 6개 제품, 소시지 제품 4개, 건조 소시지 제품 1개에서 검출되었음(Chinen et al., 2001).
- 2011년 한국의 축산물 가공식품 867개를 조사한 결과 2개의 혼합프레스햄, 3개의 소시지, 1개의 육포에서 *L. monocytogenes*가 검출되었음(Go et al., 2011).

- 2012년 한국의 가열 햄 및 소시지류 제조공장 10곳에서 생산된 1080개의 제품을 분석한 결과 *L. monocytogenes*는 4개의 햄, 8개의 소시지 제품에서 검출되었고, *S. aureus*은 4개의 햄 제품에서, *C. perfringens*은 3개의 햄 제품에서 검출되었음(Park et al., 2012).

라. 시중 내 판매되는 제품 미생물 양 확인 및 동정

(1) 실험 방법

- 시중 내 분쇄가공육으로 판매되는 제품 중 롯데, CJ, 오뚜기 세 회사에서 나온 롯데 ‘햄버거패티’, CJ ‘고메 함박스테이크’, 오뚜기 ‘햄버그 스테이크’ 세 제품을 선택하여 미생물 총균수 및 동정 실험을 진행함.
- 세 제품은 가열 살균을 진행하지 않고 냉동유통되고 있는 제품임.



<롯데 ‘햄버거패티’ >



<CJ ‘고메 함박스테이크’ >



<오뚜기 ‘햄버그 스테이크’ >

- 따라서 서울시 소재 대형마트에서 세 제품을 구입한 후 미생물 총균수 실험을 진행함.
- Stomaching bag에 패티 1개와 BPW(Buffered Peptone Water) 각각의 패티 무게에 2배만큼(1:2 dilution)를 넣고 2 분간 stomaching하여 실험을 진행 함.
- 패티 내 존재하는 미생물 측정을 위해 샘플 1 mL를 멸균희석액을 이용하여 연속 희석법을 시행하였으며, NA(Nutrient Agar) 배지를 사용하여 혼합 평판법으로 측정하였음.
- 37 ° C incubator에 36 시간 배양한 후 계수 함.

(2) 실험 결과

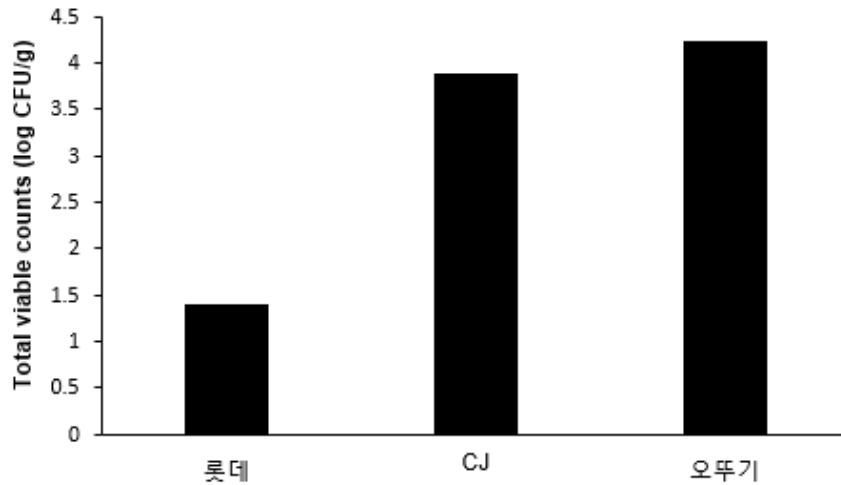


그림 1-1. 각 제품별 총 균수

- 롯데 제품은 1.39 log CFU/g, CJ 제품은 3.88 log CFU/g, 오뚜기 제품은 4.25 log CFU/g의 미생물 총균수를 보이고 있음(그림 1-1).
- 제품의 주 미생물 오염균이 무엇인지 확인하기 위해서 현재 KCCM(한국 미생물보존센터)에 동정을 의뢰한 결과 여러 미생물이 검출 되었음(표 1-4).

표 1-4. 각 제품별 미생물 검출 종류

회사	미생물 검출
오뚜기	<i>Serratia liquefaciens</i>
	<i>Pantoea spp I</i>
	<i>Serratia ficaria</i>
	<i>Bacillus subtilis/amyloliquefaciens</i>
CJ	<i>Serratia plymuthica</i>
	<i>Serratia ficaria</i>
	<i>Bacillus subtilis/amyloliquefaciens</i>
	<i>Bacillus licheniformis</i>
롯데	<i>Bacillus licheniformis</i>
	<i>Bacillus lentus</i>
	<i>Bacillus firmus</i>

2. 초고압, 항균제 등 비가열 기술의 미생물 제어 기작 연구

가. 초고압 살균 기술을 통한 분쇄 가공육 및 RTE 제품의 오염 미생물 제어 효과 및 기작 연구

(1) 소고기 등심 부위 초고압 살균 기술을 통한 미생물 제어 효과 확인 및 기작 연구

(가). 실험 방법

- 소고기 등심 부위를 서울시 소재 정육점에서 구입 한 후 고기 분쇄기(350 kg/h, Manica, Spain)를 활용하여 이를 분쇄함.
- 분쇄 한 100 g의 등심 부위를 Molder (12 cm diameter & 1 cm height)를 활용하여 패티 모양으로 제조한 후 진공팩에 패티를 넣은 후 진공 포장기(Foodsaver, USA)를 활용하여 진공 포장.
- 초고압기기(HHP 600 MPa/5 L, BaoTou, Kefa, China)를 사용하여 200, 250, 300, 400, 550 MPa를 5 분 처리를 통해 살균함.
- 총균수를 측정하기 위해 stomaching bag에 패티 1개와 BPW(Buffered Peptone Water) 200 mL (1 : 2 dilution)를 넣고 2 분간 stomaching하여 실험을 진행 함.
- 등심 패티 내 존재하는 미생물 측정을 위해 샘플 1 mL를 멸균희석액을 이용하여 연속 희석법을 시행하였으며, NA(Nutrient Agar) 배지를 사용하여 혼합 평판법으로 측정하였음.
- 37 ° C incubator에 36 시간 배양한 후 계수 함.

(나) 실험 결과

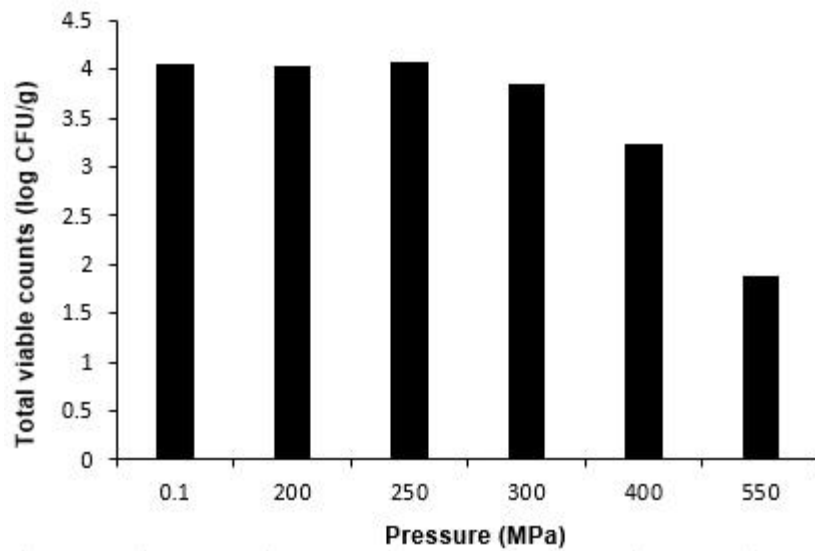


그림 1-2. 등심 패티의 압력별 총 균수

- 초고압 처리를 하지 않은 패티의 경우 초기 균이 4.06 log CFU/g임을 확인 할 수 있었음(그림 1-2).
- 또한 200 MPa 4.04 log CFU/g, 250 MPa 4.08 log CFU/g로 250 MPa 압력 처리 시까지 미생물 총균수의 변화가 없는 것으로 관찰됨.

- 300 MPa 압력 처리 시부터 미생물 총균수의 변화가 생기기 시작하며 약 3.84 log CFU/g로 검출되어 0.2 log CFU/g 정도 감소함을 확인 할 수 있었음.
- 400 MPa 압력 처리 시 3.23 log CFU/g 550 MPa 압력 처리시 1.87 log CFU/g로 검출되어 각각 0.83 log CFU/g, 2.18 log CFU/g 감소를 보임.
- 압력이 높을수록 미생물 저감화에 효과를 보이며, 차후 실험에 최적 조건을 잡는데 도움이 될 것이라고 사료됨.

(2) 소고기 홍두깨 부위 초고압 살균 기술을 통한 미생물 제어 효과 확인 및 기작 연구

(가) 미생물 저감화 실험 방법

- 소고기 홍두깨 부위를 서울시 소재 정육점에서 구입 한 후 고기 분쇄기(350 kg/h, Manica, Spain)를 활용하여 홍두깨 부위를 분쇄함.
- 분쇄 한 100 g의 홍두깨 부위를 Molder (12 cm diameter & 1 cm height)를 활용하여 패티 모양으로 제조한 후 진공팩에 패티를 넣고 진공 포장기(Foodsaver, USA)를 통해 진공 포장을 함.
- 초고압기기(HHP 600 MPa/5 L, BaoTou, Kefa, China)를 사용하여 200, 250, 300, 400, 550 MPa를 5 분동안 적용하여 살균함.
- 총균수를 측정하기 위해 stomaching bag에 패티 1개와 BPW 200 mL (1 : 2 dilution)를 넣고 2 분간 stomaching하여 실험을 진행 함.
- 홍두깨 패티 내 존재하는 미생물 측정을 위해 샘플 1 mL를 멸균희석액을 이용하여 연속 희석법을 시행하였으며, NA 배지를 사용하여 혼합 평판법으로 측정하였음.
- 37 ° C incubator에 36시간 배양한 후 계수 함.

(나) 실험 결과

- 초고압 처리를 하지 않은 홍두깨 패티의 경우 초기 균이 3.72 log CFU/g임을 확인 할 수 있었음(그림 1-3).
- 또한 200 MPa 3.73 log CFU/g, 250 MPa 3.66 log CFU/g, 300 MPa 3.63 log CFU/g으로 300 MPa 압력 처리 시까지 미생물 총균수의 변화가 없는 것으로 관찰됨.

- 400 MPa 압력 처리 시 3.37 log CFU/g 550 MPa 압력 처리시 2.41 log CFU/g로 검출되어 각각 0.35 log CFU/g, 1.31 log CFU/g 감소를 보이며, 압력이 높을수록 미생물 저감화에 효과를 보이는 것으로 사료됨.

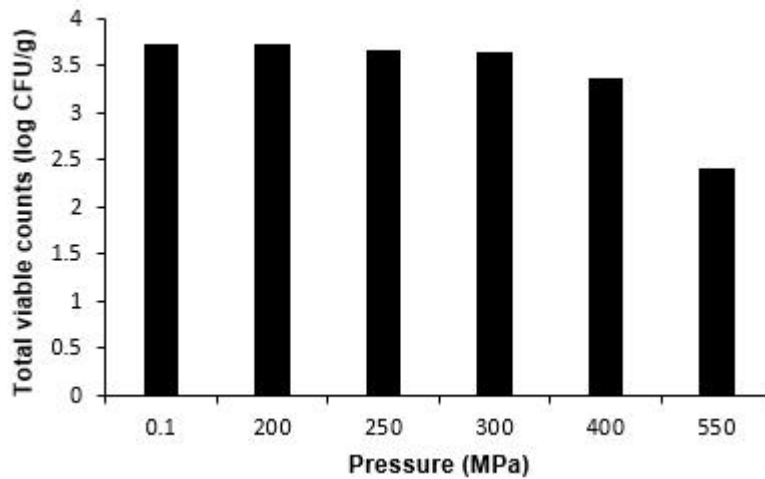


그림 1-3. 홍두깨 패티의 압력별 총균수

(다) 미생물 추가 실험

- 소고기 홍두깨 부위를 서울시 소재 정육점에서 구입 한 후 고기 분쇄기(350 kg/h, Manica, Spain)를 활용하여 홍두깨 부위를 분쇄함.
- 분쇄 한 100g의 홍두깨 부위를 Molder (12 cm diameter & 1 cm height)를 활용하여 패티 모양으로 제조한 후 진공팩에 패티를 넣은 후 진공 포장기(Foodsaver, USA)를 활용하여 진공 포장.
- 초고압기기(HHP 600 MPa/5 L, BaoTou, Kefa, China)를 사용하여 400, 600 MPa를 5 분 동안 적용하여 살균함.
- 총균수를 측정하기 위해 stomaching bag에 패티 1개와 BPW 200 mL (1:2 dilution)를 넣고 2 분간 stomaching하여 실험을 진행 함.
- 홍두깨 패티 내 존재하는 미생물 측정을 위해 샘플 1 mL를 멸균희석액을 이용하여 연속 희석법을 시행하였으며, NA 배지를 사용하여 혼합 평판법으로 측정하였음.
- 37 ° C incubator에 36시간 배양한 후 계수 함.

(라) 실험 결과

- 앞선 실험에서 400 MPa부터 저감화 효과를 보이는 것으로 관찰되어 실험을 진행해 본 결과 위의 결과와 비슷한 양상을 보임(그림 1-4).

- 초고압 처리를 하지 않은 홍두깨 패티의 경우 초기 균이 4.27 log CFU/g임을 확인 할 수 있었음.
- 400 MPa 압력 처리 시 3.95 log CFU/g 600 MPa 압력 처리시 3.07 log CFU/g로 검출되어 각각 0.32 log CFU/g, 1.20 log CFU/g 감소를 보이며, 압력이 높을수록 미생물 저감화에 효과를 보이는 것으로 사료됨.

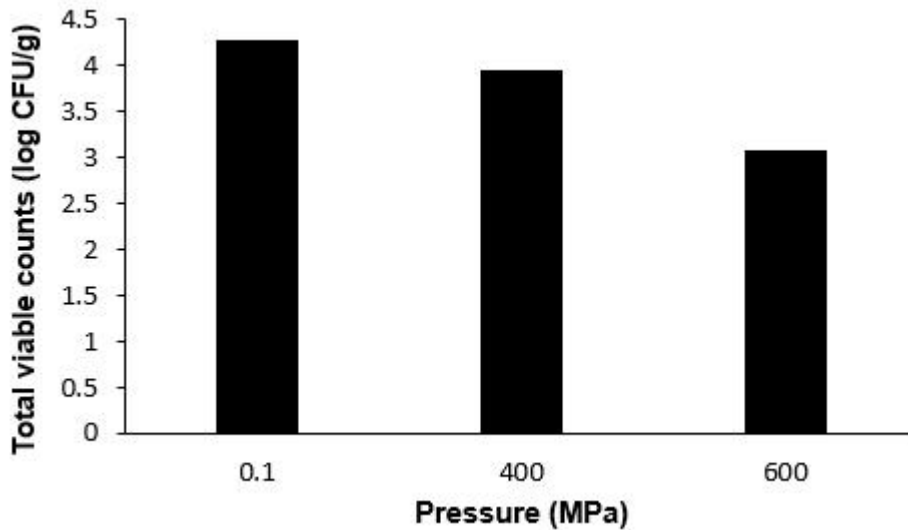


그림 1-4. 홍두깨 패티의 추가 압력별 총균수

(3) 소고기 양지 부위 초고압 살균 기술을 통한 미생물 제어 효과 확인 및 기작 연구

(가) 미생물 저감화 실험 방법

- 소고기 양지 부위를 서울시 소재 정육점에서 구입 한 후 고기 분쇄기(350kg/h, Manica, Spain)를 활용하여 양지 부위를 분쇄함.
- 분쇄 한 100 g의 양지 부위를 Molder (12 cm diameter & 1 cm height)를 활용하여 패티 모양으로 제조한 후 진공팩에 패티를 넣은 후 진공 포장기(Foodsaver, USA)를 활용하여 진공 포장.
- 초고압기기(HHP 600 MPa/5 L, BaoTou, Kefa, China)를 사용하여 400, 600 MPa를 5 분동안 적용하여 살균함.
- 총균수를 측정하기 위해 stomaching bag에 패티 1개와 BPW 200 mL (1 : 2 dilution)를 넣고 2 분간 stomaching하여 실험을 진행 함.
- 양지 패티 내 존재하는 미생물 측정을 위해 샘플 1 mL를 멸균희석액을 이용하여 연속

희석법을 시행하였으며, NA 배지를 사용하여 혼합 평판법으로 측정하였음.

- 37 ° C incubator에 36 시간 배양한 후 계수 함.

(나) 실험 결과

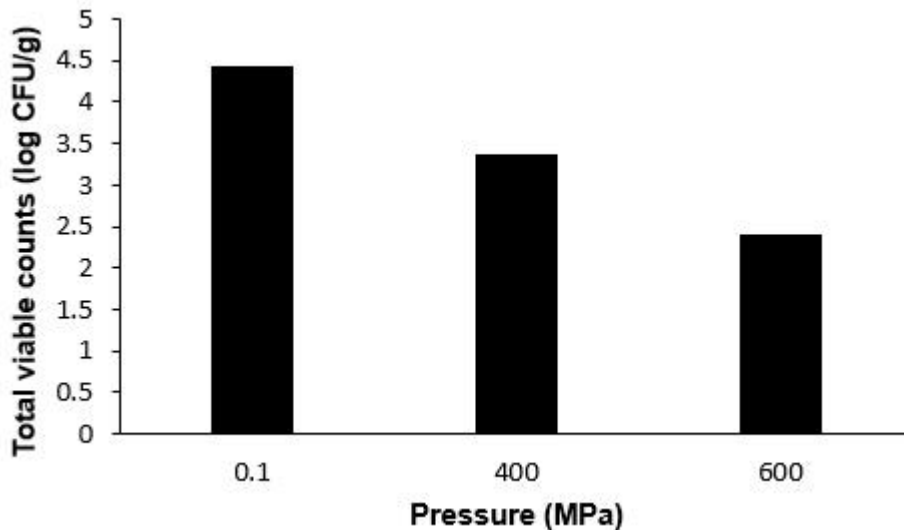


그림 1-5. 양지 패티의 압력별 총 균수

- 초고압 처리를 하지 않은 양지 패티의 경우 초기 균이 4.42 log CFU/g임을 확인 할 수 있었음(그림 1-5)
- 400 MPa 압력 처리 시 3.37 log CFU/g 600 MPa 압력 처리시 2.41 log CFU/g로 검출되어 각각 0.35 log CFU/g, 1.31 log CFU/g 감소를 보이며, 압력이 높을수록 미생물 저감화에 효과를 보이는 것으로 사료됨.

(4) RTE 제품 소시지 및 슬라이스 햄 초고압 살균 기술을 통한 미생물 제어 효과 확인 및 기작 연구

(가) 실험방법

- SPC 사 소시지 제품을 공급받아 실험을 진행함. 비훈연제품에 포장된 상태로 기존 시제품 대비 초고압 처리 시 저장성 증진에 효과가 있는지 확인.
- 초고압기기(HHP 600 MPa/5 L, BaoTou, Kefa, China)를 사용하여 400, 600 MPa를 5 분동안 처리를 통해 살균함.
- 소시지 샘플을 5일, 10일 저장 실험을 하기 위해 10 ° C Incubator에 넣고 저장.

- 총균수를 측정하기 위해 stomaching bag에 소시지 1개와 BPW 150 mL (1 : 5 dilution)를 넣고 2 분간 stomaching하여 실험을 진행 함.
- 소시지 내 존재하는 미생물 측정을 위해 샘플 1 mL를 멸균희석액을 이용하여 연속 희석법을 시행하였으며, NA, TSA(Tryptic Soy Agar) 배지를 사용하여 혼합 평판법으로 측정하였음.

(나) 실험결과

표 1-5. RTE 제품 (소시지) 미생물 저장성 효과 분석 (단위 : log CFU/g)

Sample	DAY 0	DAY 5	DAY 10
0.1 MPa (NA)	1.83	1.98	2.11
0.1 MPa (TSA)	1.93	1.88	1.81
400 MPa (NA)	1.99	1.95	1.81
400 MPa (TSA)	ND	2.01	2.09
600 MPa (NA)	ND	ND	1.95
600 MPa (TSA)	ND	2.04	1.92

ND - 검출 한계치 미만 < 1.7 log CFU/g

- 실험 후 0 일차 결과를 확인하였을 때 초고압 처리를 하지 않은 소시지의 경우 NA plate는 초기 균이 1.83 log CFU/g, TSA plate는 1.93 log CFU/g임을 확인 할 수 있었음.
- 400 MPa 압력 처리 시 0 일차의 경우 NA plate는 1.99 log CFU/g, TSA plate는 검출한계치 미만으로 확인이 불가능하였음. 600 MPa 압력 처리시 두 개의 Agar 모두 검출 한계치 미만으로 나타남. 0 일차에서 600 MPa에서 미생물 저감화의 효과를 보이는 것으로 확인됨.
- 5일차 실험 시 초고압 처리를 하지 않은 소시지의 경우 NA plate는 1.98 log CFU/g, TSA plate는 1.88 log CFU/g로 검출되어 0일차의 실험군과 크게 차이를 보이지 않았음.
- 또한 400 MPa 압력 처리시 NA plate는 1.95 log CFU/g, TSA plate는 2.01 log CFU/g로 검출되어 TSA에서 증가하는 모습을 보이나 기존 대조군에 비해 차이를 보이지 않음.
- 600 MPa 압력 처리시 NA plate는 ND, TSA plate는 2.04 log CFU/g로 검출되어 역시 대조군과 크게 다르지 않음을 확인할 수 있음.
- 10일차 실험 시 초고압 처리를 하지 않은 소시지의 경우 NA plate는 2.01 log CFU/g, TSA plate는 1.81 log CFU/g로 검출되어 0일차의 실험군과 크게 다르지 않음.
- 또한 400 MPa 압력 처리시 NA plate는 1.81 log CFU/g, TSA plate는 2.08 log CFU/g로

검출되어 기존 대조군에 비해 차이를 보이지 않음.

- 600 MPa 압력 처리시 NA plate는 1.94 CFU/g, TSA plate는 1.92 log CFU/g로 검출되어 역시 대조군과 크게 다르지 않음을 확인할 수 있음.
- 그 이후의 실험은 샘플의 양의 문제로 진행하지 못했으나 2차년도 이후의 실험에서 저장성 증진 실험에 도움이 될 것이라고 생각됨.
- 그 외에 슬라이스 햄은 결과 표를 신지 못했지만, 10 ° C와 15 ° C에서 위의 결과와 같이 10일 까지 미생물 저장성에 증진이 되는 것으로 확인이 됨.

나. 나트륨 염 또는 bacteriocin 등 항균제를 이용한 분쇄 가공육의 오염 미생물 제어 효과 및 기작 연구

(1) 소고기 패티 초고압 및 나트륨 염 병합으로 인한 분쇄 가공육 미생물 제어 효과 확인 및 기작 연구

(가) 실험 방법

- 시중 내 제품화 과정 중 등심과 홍두깨 패티가 많이 활용됨에 따라 소고기 등심과 홍두깨 부위를 서울시 소재 정육점에서 구입 한 후 고기 분쇄기(350 kg/h, Manica, Spain)를 활용하여 각각의 부위를 분쇄함.
- 분쇄 한 각각 100g의 등심 및 홍두깨 부위에 NaCl 2 g과 섞은 후 Molder (12 cm diameter & 1 cm height)를 활용하여 패티 모양으로 제조함.
- 진공백에 패티를 넣은 후 진공 포장기(Foodsaver, USA)를 활용하여 진공 포장한 후 초고압기기(HHP 600 MPa/5 L, BaoTou, Kefa, China)를 사용하여 300 MPa를 5 분 동안 적용하여 살균함.
- 총균수를 측정하기 위해 stomaching bag에 패티 1개와 BPW 200 mL (1 : 2 dilution)를 넣고 2 분간 stomaching하여 실험을 진행 함.
- 홍두깨 패티 내 존재하는 미생물 측정을 위해 샘플 1 mL를 멸균희석액을 이용하여 연속 희석법을 시행하였으며, NA 배지를 사용하여 혼합 평판법으로 측정하였음.
- 37 ° C incubator에 36 시간 배양한 후 계수 함.

(나) 실험 결과

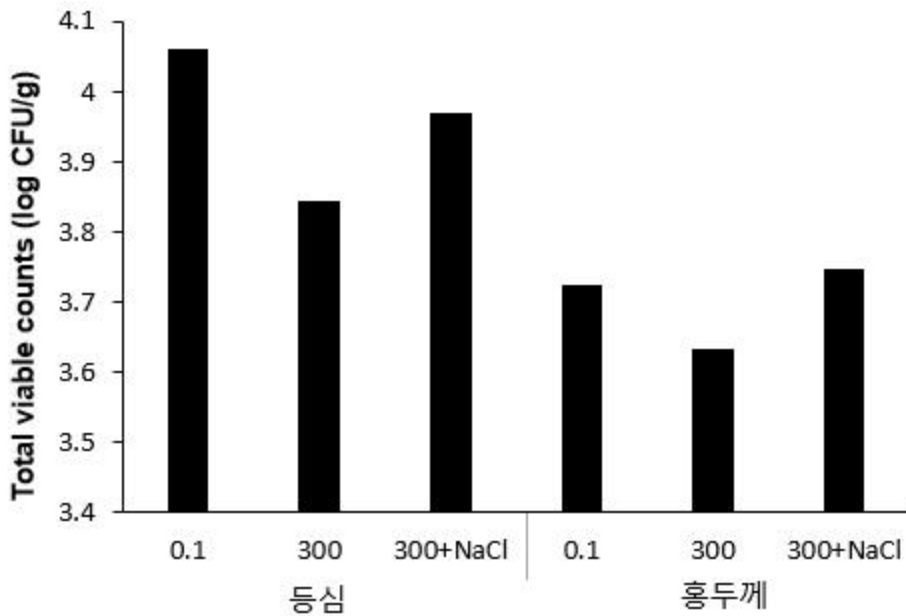


그림 1-6. 등심 및 홍두깨 패티의 300MPa 및 소금 병합 실험

- 초고압 처리를 하지 않은 등심 패티의 경우 초기 균이 4.06 log CFU/g, 홍두깨 패티의 경우 3.72 log CFU/g 임을 확인 할 수 있었음(그림 1-6).
- 또한 300 MPa 압력 처리시 등심 패티의 경우 3.84 log CFU/g, 홍두깨 패티의 경우 3.63 log CFU/g으로 검출되어 기존 대조군과 크게 차이를 보이지 않음.
- 등심 부위의 경우 300 MPa + NaCl 처리 시 3.96 log CFU/g, 홍두깨 부위의 경우 300 MPa + NaCl 압력 처리시 3.75 log CFU/g 로 검출되어 소금의 경우 크게 미생물 저감화에 효과를 보이지 않음을 알 수 있음.
- 따라서 다른 나트륨 염 병합을 할 경우에도 영향을 끼치지 않는 지 확인하기 위한 추가 실험을 진행함.

(다) 실험 방법

- 위의 결과를 토대로 등심부위를 선택한 후 서울시 소재 정육점에서 구입 한 후 고기 분쇄기(350kg/h, Manica, Spain)를 활용하여 등심 부위를 분쇄함.
- 분쇄 한 각각 100 g의 등심 및 홍두깨 부위에 Sodium Sulfate, Sodium Lactate, Sodium Nitrite 와 2 g (각각의 농도 10%) 섞은 후 Molder (12 cm diameter & 1 cm height)를 활용하여 패티 모양으로 제조함.
- 진공팩에 패티를 넣은 후 진공 포장기(Foodsaver, USA)를 활용하여 진공 포장한 후

초고압기기(HHP 600 MPa/5 L, BaoTou, Kefa, China)를 사용하여 300, 550 MPa를 5 분 동안 적용하여 살균함.

- 총균수를 측정하기 위해 stomaching bag에 패티 1개와 BPW 200 mL (1 : 2 dilution)를 넣고 2분간 stomaching하여 실험을 진행 함.
- 각각의 패티 내 존재하는 미생물 측정을 위해 샘플 1 mL를 멸균희석액을 이용하여 연속 희석법을 시행하였으며, NA 배지를 사용하여 혼합 평판법으로 측정하였음.
- 37 ° C incubator에 36 시간 배양한 후 계수 함.

(라) 실험 결과

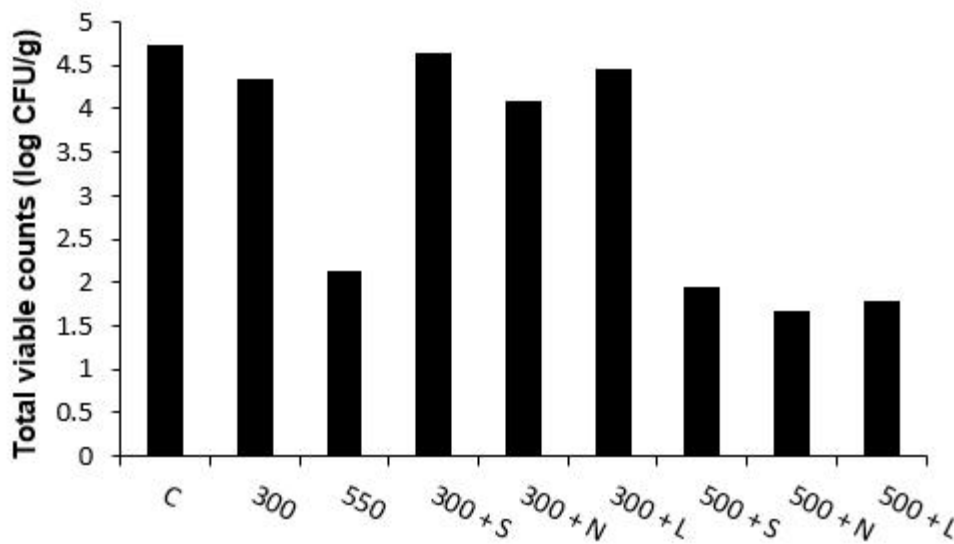


그림 1-7. 등심 패티의 초고압 및 나트륨 염 병합 실험

※ 가로 숫자의 단위는 MPa

※ S - Sodium Sulfate N - Sodium Nitrite L - Sodium Lactate

- 초고압 처리를 하지 않은 패티의 경우 초기 균이 4.73 log CFU/g, 300 MPa 처리의 경우 4.34 log CFU/g, 550 MPa 처리의 경우 2.12 log CFU/g의 균이 검출되어 위의 결과와 유사한 결과를 보임(그림 1-7).
- 300 MPa 와 나트륨 염의 병합 실험을 진행할 결과 먼저 Sodium Sulfate와 병합한 결과는 4.63 log CFU/g, Sodium Lactate는 4.45 log CFU/g , Sodium Nitrite 4.10 log CFU/g로 Sodium Nitrite와 병합한 결과를 제외하고는 크게 차이를 보이지 않았음.
- Sodium Nitrite의 경우만 0.23 log CFU/g 의 저감화 효과를 보이는 것을 관찰 할 수 있었음.

- 550 MPa 와 나트륨 염의 병합 실험을 진행할 결과 먼저 Sodium Sulfate와 병합한 결과는
- 1.96 log CFU/g, Sodium Lactate는 1.78 log CFU/g , Sodium Nitrite는 1.67 log CFU/g로 단순 550 MPa 처리 시 보다 병합한 결과에서 조금 더 미생물 저감화 효과를 보이는 것을 확인할 수 있음.
- Sodium Sulfate와 병합한 결과는 0.17 log CFU/g, Sodium Lactate는 0.35 log CFU/g , Sodium Nitrite는 0.46 log CFU/g의 감소를 볼 수 있음. 병합으로 인한 감소효과를 띄는 것으로 사료됨.

3. 초고압, 항균제 등 비가열 기술 적용에 따른 품질 분석

가. 초고압 기술 적용에 따른 품질 분석

(1) 미생물 저감화 분석

(가) 실험방법

- 시중 내에 판매되고 있는 소고기 등심을 구입 후 실험실 내의 고기분쇄기 (PM-70, Manica, Spain)를 사용하여 고기를 분쇄함
- 분쇄 후 12 cm 지름의 성형기를 사용하여 패티를 만들고 진공포장을 통해 외부 균이 유입되지 않도록 함.
- 진공포장한 제품을 초고압 장치(Bautau, China)를 사용하여 살균 후 미생물 총균수 실험을 진행함.
- Stomaching bag에 패티 1개와 BPW(Buffered Peptone Water) 각각의 패티 무게에 2배만큼(1:2 dilution)를 넣고 2 분간 stomaching하여 실험을 진행 함.
- 패티 내 존재하는 미생물 측정을 위해 샘플 1 mL를 멸균희석액을 이용하여 연속 희석법을 시행하였으며, NA(Nutrient Agar) 배지를 사용하여 혼합 평판법으로 측정하였음.
- 37 ° C incubator에 48 시간 배양한 후 계수 함.

(나) 실험결과

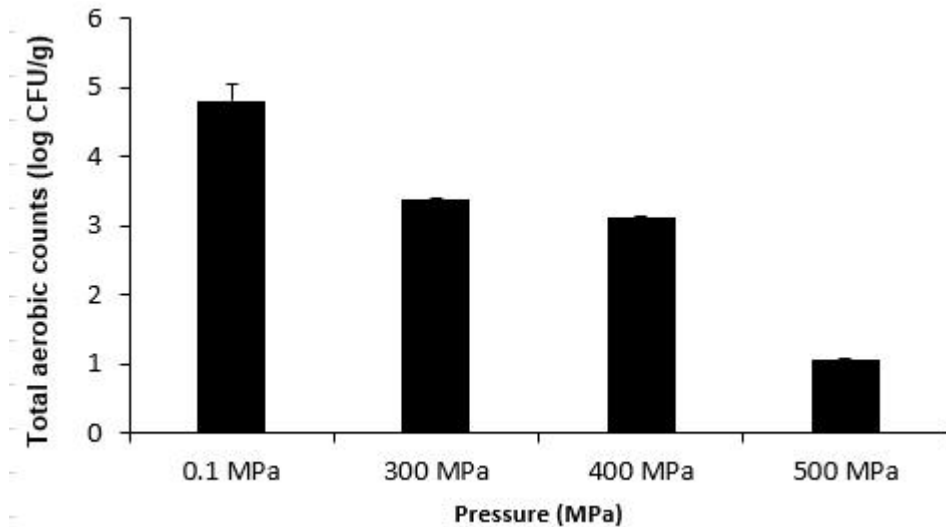


그림 1-8. 초고압 압력별 미생물 저감화 분석

- 초고압 처리를 하지 않은 패티의 경우 초기 균이 4.66 log CFU/g임을 확인 할 수 있었음(그림 1-8)
- 300 MPa 압력 처리 시 미생물 총균수의 감소를 확인 할 수 있었으며, 약 3.39 log CFU/g로 검출되어 1.27 log CFU/g 정도 감소함을 확인 할 수 있었음.
- 400 MPa 압력 처리 시 3.10 log CFU/g 500 MPa 압력 처리시 1.05 log CFU/g로 검출되어 각각 1.56 log CFU/g, 3.61 log CFU/g 감소를 보임.
- 압력이 높을수록 미생물 저감화에 효과를 보이는 것으로 확인됨.

(2) 색차 분석

(가) 실험방법

- 일반적으로 초고압 공정을 처리하게 되면, 단백질 변성으로 인해 색이 변하는 현상을 발견할 수 있음
- 따라서 실제로 색차 분석을 통해 색변화를 관찰하고 추후 관능검사와 비교 분석을 할 예정
- 패티 표면 내 색 변화를 관찰하기 위하여 한 패티당 4번의 분석을 하고, 3 반복을 통해 유의성을 확인하였음.
- 실험실 내의 색차색도계를 이용하여 L* (lightness), a* (redness), b* (yellowness)를 측정하였음.

- 또한 이를 토대로 control과 비교하여 색 변화 정도를 확인 할 수 있는 척도인 ΔE (total color difference) = $\sqrt{(L_0 - L^*)^2 + (a_0 - a^*)^2 + (b_0 - b^*)^2}$ 를 계산하여, Control 패티에 비해 각 처리군 패티 별로 색 변화의 진행 된 정도를 확인해 보았음.

(나) 실험결과

표 1-6. 압력 처리에 따른 패티의 색차 변화

Treatment condition	CIELAB value			Total Color Difference (ΔE)
	L*	a*	b*	
Control	47.78 ± 1.67 ^a	20.55 ± 1.78 ^a	10.33 ± 1.72 ^a	-
300 MPa (5 min)	50.70 ± 3.18 ^a	17.67 ± 1.80 ^{a,b}	9.52 ± 1.73 ^a	4.59 ± 1.69 ^a
400 MPa (5 min)	58.16 ± 2.16 ^b	16.65 ± 0.75 ^{b,c}	10.22 ± 1.54 ^a	7.75 ± 2.32 ^a
500 MPa (5 min)	59.30 ± 2.40 ^b	13.84 ± 1.61 ^c	11.03 ± 0.48 ^a	3.29 ± 1.25 ^a

- Control 패티는 L* = 46.12 ~ 49.46, a* = 18.6 ~ 22.09, b* = 8.94 ~ 12.26의 값을 가짐(표 1-6).
- 300 MPa의 압력으로 5분 동안 초고압 공정을 거친 패티의 경우 L* = 48.21 ~ 54.28 , a* = 16.24 ~ 19.68, b* = 7.66 ~ 11.06 의 값을 측정하여 얻었음.
- 400 MPa의 압력으로 5분 동안 초고압 공정을 거친 패티의 경우 L* = 56.03 ~ 60.35 , a* = 16.01 ~ 17.48, b* = 8.48 ~ 11.41 의 값을 측정하여 얻었음.
- 500 MPa의 압력으로 5분 동안 초고압 공정을 거친 패티의 경우 L* = 57.20 ~ 61.91 , a* = 11.98 ~ 14.83 b* = 10.54 ~ 11.50 의 값을 측정하여 얻었음.
- 이는 Control 패티에 비해 L 값은 증가하고 a 값은 감소하며 b 값은 변하지 않는 결과를 보임. 초고압 공정 중 단백질 변성으로 인해 변화를 하는 것으로 파악이 됨.
- 또한 압력이 증가함에 따라 L 값은 더욱 증가하고 a 값은 감소하는 모양새를 띄는 것으로 관찰됨
- 300 ~ 500 MPa의 압력으로 5분간 초고압 공정을 처리한 패티의 경우 ΔE = 3.29 ~ 7.75의 값을 얻었으며, 압력 처리에 따른 유의적인 변화를 찾지 못함.

(3) 텍스처 분석

(가) 실험방법

- 패티의 물성 변화를 측정하기 위해 TA XT Express texture analyser (Stable micro systems Co.) 기기를 이용하였음.
- 본 연구에서는 75 mm 지름의 원통형 프로브를 이용했으며, 시료의 원형을 유지할 수 있는 선에서 시료 크기를 가로 1cm 세로 1cm로 맞추어 정밀성과 재현성을 향상시켰음.
- Control 패티를 비롯해, 각각 300, 400, 500 MPa에서 5 분 간 초고압 후살균 처리를 수행한 HHP 300, HHP 400, HHP 500 4개의 실험군을 나누어 측정하였음. 각각의 실험군에 대해 Hardness, Chewiness, Cohesiveness, Springiness의 측정 척도를 이용하였음.

(나) 실험결과

표 1-7. 압력 처리에 따른 패티의 경도 변화

Treatment condition	Texture profile analysis			
	Hardness	Chewiness	Cohesiveness	Springiness
Control	2844.37 ± 1671.57 ^a	432.90 ± 373.92 ^a	0.37 ± 0.08 ^a	0.37 ± 0.08 ^a
300 MPa (5 min)	3588.66 ± 1783.34 ^a	735.98 ± 637.13 ^a	0.43 ± 0.06 ^a	0.42 ± 0.13 ^a
400 MPa (5 min)	5510.89 ± 1098.40 ^a	1185.20 ± 381.13 ^a	0.46 ± 0.07 ^a	0.47 ± 0.11 ^a
500 MPa (5 min)	5679.49 ± 508.28 ^b	1447.15 ± 618.29 ^a	0.45 ± 0.09 ^a	0.54 ± 0.09 ^a

- Texture Profile Analysis (TPA) 분석 결과 가장 큰 차이를 나타내는 항목은 경도(Hardness)와 씹힘성(Chewiness)였음.
- 씹힘성(Chewiness) = 경도(Hardness) X 응집성(cohesiveness) X 탄력성(springiness)의 식으로 표현이 가능함.
- 응집성과 탄력성의 경우 처리군 간 유의적인 차이가 없는 것으로 보아, 씹힘성의 유의적인 차이는 경도 간의 차이에 영향을 받아 나타난 값으로 추론할 수 있음.

나. 항균제 처리 적용에 따른 품질 분석

(1) 미생물 저감화 분석

(가) 실험방법

- 시중 내에 판매되고 있는 소고기 등심을 구입 후 실험실 내의 고기분쇄기 (PM-70, Manica,

Spain)를 사용하여 고기를 분쇄함

- 분쇄 된 소고기를 80 g/1 patty 로 나눈 후 KCCM에서 구입한 유산균 *L. acidophilus*, *L. plantarum*을 각각 접종하여 반죽함.
- 분쇄 후 12 cm 지름의 성형기를 사용하여 패티를 만들고 진공포장을 통해 외부 균이 유입되지 않도록 함.
- Stomaching bag에 패티 1개와 BPW(Buffered Peptone Water) 각각의 패티 무게에 2배만큼(1:2 dilution)를 넣고 2 분간 stomaching하여 실험을 진행 함.
- 패티 내 존재하는 미생물 측정을 위해 샘플 1 mL를 멸균희석액을 이용하여 연속 희석법을 시행하였으며, NA(Nutrient Agar) 배지를 사용하여 혼합 평판법으로 측정하였음.
- 37 ° C incubator에 48 시간 배양한 후 계수 함.

(나) 실험결과

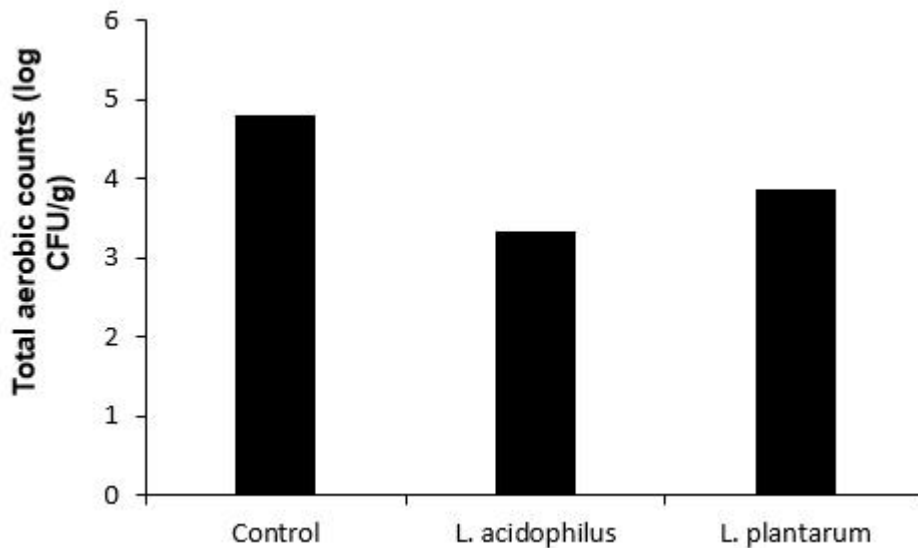


그림 1-9. 유산균 접종시 미생물 저감화 실험

- 유산균을 처리를 하지 않은 패티의 경우 초기 균이 4.66 log CFU/g임을 확인 할 수 있었음(그림 1-9)
- *L. acidophilus* 처리 시 미생물 총균수의 감소를 확인 할 수 있었으며, 약 3.36 log CFU/g로 검출되어 1.30 log CFU/g 정도 감소함을 확인 할 수 있었음.

- *L. plantarum* 처리 시 미생물 총균수의 감소를 확인 할 수 있었으며, 약 3.90 log CFU/g로 검출되어 0.76 log CFU/g 정도 감소함을 확인 할 수 있었음.
- 압력이 높을수록 미생물 저감화에 효과를 보이는 것으로 확인됨.

4. 초고압과 항균제 병합처리를 통한 신 살균 기술 개발 및 최적처리 조건 확립

가. 초고압 기술 및 항균제 병합 처리

(1) 미생물 저감화 분석

(가) 실험방법

- 시중 내에 판매되고 있는 소고기 등심을 구입 후 실험실 내의 고기분쇄기 (PM-70, Manica, Spain)를 사용하여 고기를 분쇄함
- 분쇄 된 소고기를 80 g/1 patty 로 나눈 후 KCCM에서 구입한 유산균 *L. acidophilus*, *L. plantarum*을 각각 접종하여 반죽함.
- 분쇄 후 12 cm 지름의 성형기를 사용하여 패티를 만들고 진공포장을 통해 외부 균이 유입되지 않도록 함.
- Stomaching bag에 패티 1개와 BPW(Buffered Peptone Water) 각각의 패티 무게에 2배만큼(1:2 dilution)를 넣고 2 분간 stomaching하여 실험을 진행 함.
- 패티 내 존재하는 미생물 측정을 위해 샘플 1 mL를 멸균희석액을 이용하여 연속 희석법을 시행하였으며, NA(Nutrient Agar) 배지를 사용하여 혼합 평판법으로 측정하였음.
- 37 ° C incubator에 48 시간 배양한 후 계수 함.

(나) 실험결과

- 유산균을 처리를 하지 않은 패티의 경우 초기 균이 4.80 log CFU/g임을 확인 할 수 있었음(그림 1-10).
- *L. acidophilus* 처리 시 미생물 총균수의 감소를 확인 할 수 있었으며, 약 3.34 log CFU/g로 검출되어 1.46 log CFU/g 정도 감소함을 확인 할 수 있었음.
- 압력이 높을수록 미생물 저감화에 효과를 보이는 것으로 확인되었으며, 500 MPa 처리에 *L. acidophilus*를 처리하였을 경우 1 log CFU/g 미만으로 검출되어 500 MPa 만 처리한 군에

비해 더 감소하는 것으로 확인됨.

- 따라서 초고압 처리 및 유산균 병합이 소고기 패티 제조에서 미생물학적 안전성에 효과적임을 확인할 수 있었음.

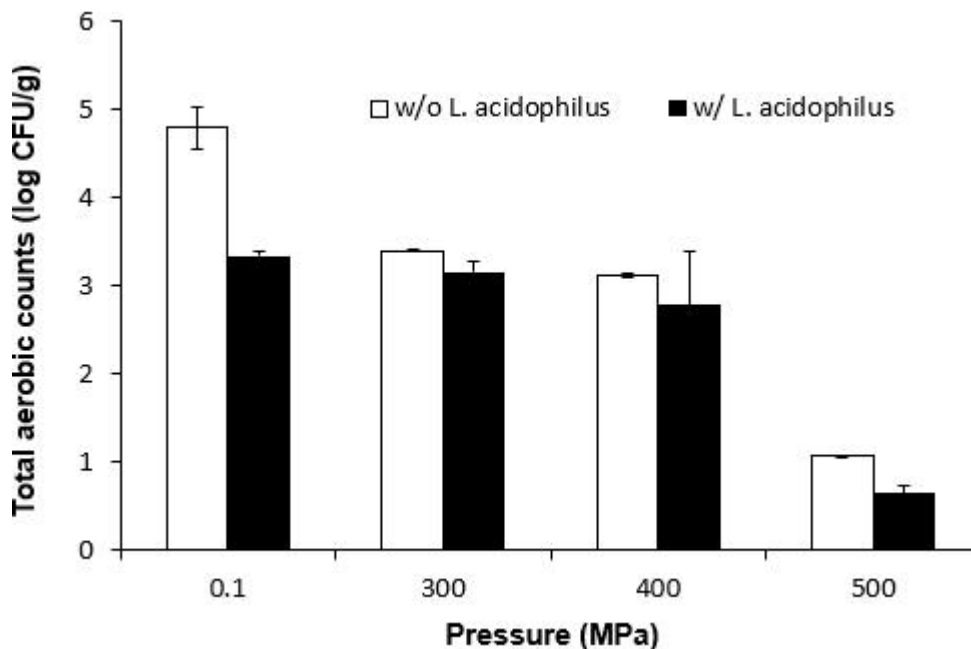


그림 1-10. 유산균 유무 및 압력 처리에 따른 균수 변화

(2) 저장실험을 통한 미생물 저감화 분석

(가) 실험방법

- 시중 내에 판매되고 있는 소고기 등심을 구입 후 실험실 내의 고기분쇄기 (PM-70, Manica, Spain)를 사용하여 고기를 분쇄함
- 분쇄 된 소고기를 80 g/1 patty 로 나누는 후 KCCM에서 구입한 유산균 *L. acidophilus*, *L. lactis* ssp. *Lactis*를 각각 접종하여 반죽함.
- 분쇄 후 12 cm 지름의 성형기를 사용하여 패티를 만들고 진공포장을 통해 외부 균이 유입되지 않도록 함.
- 진공포장한 제품을 초고압 장치(Bautau, China)를 사용하여 살균 후 미생물 총균수 실험을 진행함.
- 4 ° C incubator에 10일간 저장을 통해 0, 2, 4, 6, 8, 10 일 미생물 저감화 실험을 진행함.
- 각 실험기간 동안의 패티를 incubator에서 꺼내 Stomaching bag에 패티 1개와 BPW(Buffered Peptone Water) 각각의 패티 무게에 2배만큼(1:2 dilution)를 넣고 2 분간 stomaching하여

실험을 진행 함.

- 패티 내 존재하는 미생물 측정을 위해 샘플 1 mL를 멸균희석액을 이용하여 연속 희석법을 시행하였으며, NA(Nutrient Agar) 배지를 사용하여 혼합 평판법으로 측정하였음.
- 또한 yeast and mold 균을 측정하기 위해 PDA 배지에 10 % Tartaric acid를 첨가하여 혼합 평판법으로 측정하였음.
- 37 ° C incubator에 48 시간 배양한 후 계수 함.

(나) 실험결과 (300 MPa 압력 처리)

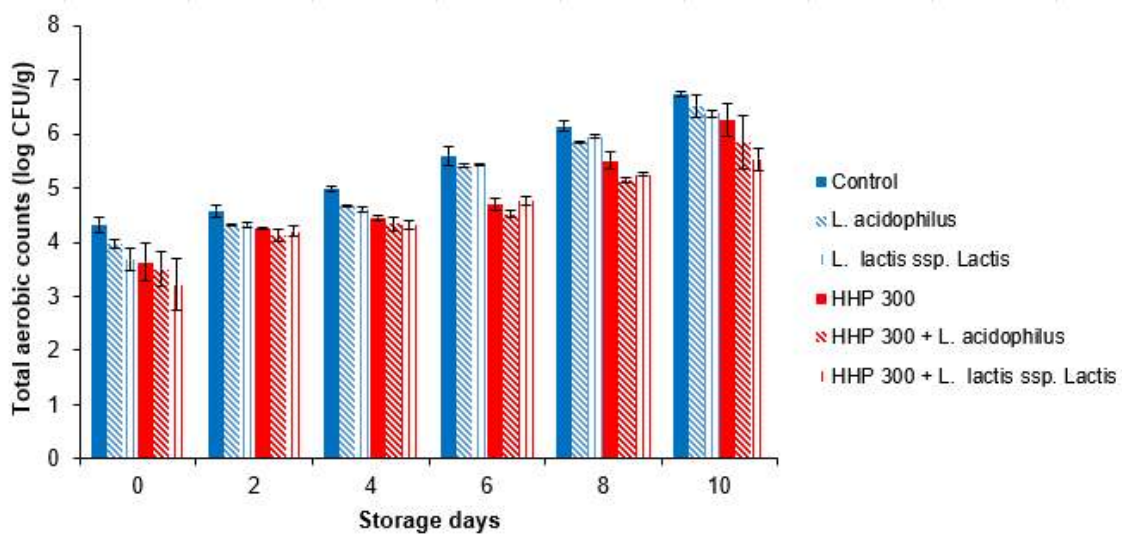


그림 1-11. 압력 300MPa 및 유산균 유무에 따른 저장실험(Total aerobic count)

- Control 패티의 경우 초기 총균이 4.32 log CFU/g임을 확인 할 수 있었으며, *L. acidophilus*, *L. lactis ssp. Lactis*를 처리한 균은 3.96, 3.67 log CFU/g으로 약간 감소하는 것으로 확인됨(그림 11).
- 300 MPa를 처리한 균에서는 소폭 감소하는 것으로 확인되며, 아무것도 처리하지 않은 균, *L. acidophilus*, *L. lactis ssp. Lactis*은 각각 3.62, 3.50, 3.21 log CFU/g으로 미생물 총균수의 감소를 확인 할 수 있었음.
- 저장기간이 증가함에 따라 균은 빠르게 증식되며, 압력을 처리하지 않은 균은 10일 차때 6.74, 6.52, 6.38 log CFU/g의 균이 검출되었으며, 압력을 처리한 균은 6.26, 5.85, 5.53 log CFU/g으로 유의적인 차이를 보이지 못하는 것으로 확인됨.(순서대로 아무것도 처리하지 않은 균, *L. acidophilus*, *L. lactis ssp. Lactis*)

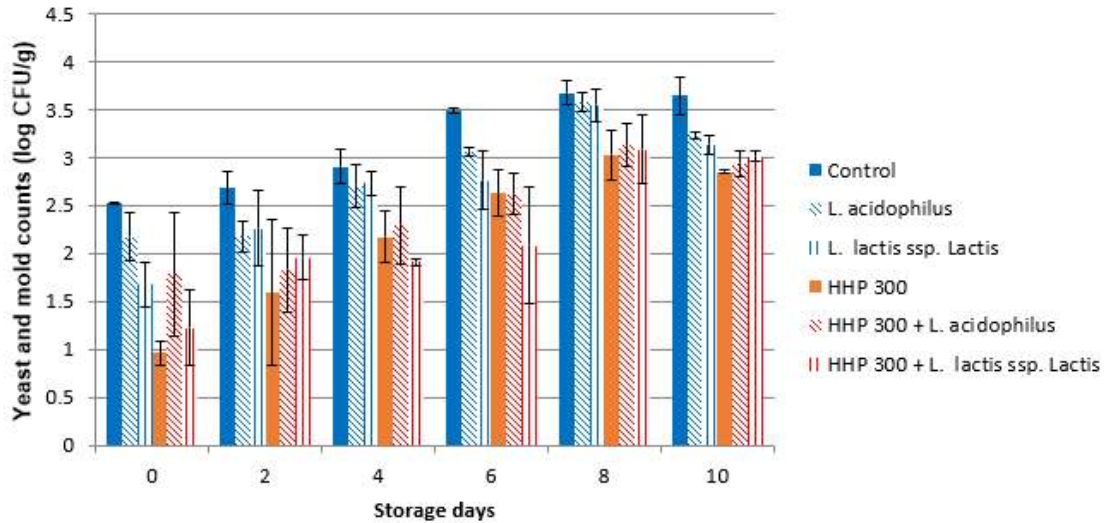


그림 1-12. 압력 300MPa 및 유산균 및 압력 유무에 따른 저장실험 (Yeast and mold counts)

- Yeast and mold 균에서도 비슷한 형태를 보이며, control 패티의 경우 초기 균이 2.53 log CFU/g임을 확인 할 수 있었으며, *L. acidophilus*, *L. lactis ssp. Lactis*를 처리한 균은 2.17, 1.68 log CFU/g으로 약간 감소하는 것으로 확인됨(그림 1-12).
- 300 MPa를 처리한 균에서는 총균수에 비해 좀 더 감소하는 것으로 확인되며, 아무것도 처리하지 않은 균, *L. acidophilus*, *L. lactis ssp. Lactis*은 각각 0.97, 1.79, 1.22 log CFU/g으로 yeast and mold 수의 감소를 확인 할 수 있었음
- 저장기간 동안에도 yeast and mold의 수치는 감소형태를 보이나 유의적이지 않음을 확인할 수 있었음.
- 300 MPa 초고압 처리 및 유산균 병합이 압력이 낮아 유의적인 차이를 보이지 못하는 것으로 확인됨.

(다) 실험결과 (400 MPa 압력 처리)

- Control 패티의 경우 초기 총균이 4.32 log CFU/g임을 확인 할 수 있었으며, *L. acidophilus*, *L. lactis ssp. Lactis*를 처리한 균은 3.96, 3.67 log CFU/g으로 약간 감소하는 것으로 확인됨(그림 1-13).
- 400 MPa를 처리한 균부터 유의적인 감소형태를 확인할 수 있었으며, 아무것도 처리하지 않은 균, *L. acidophilus*, *L. lactis ssp. Lactis*은 각각 3.25, 2.61, 2.83 log CFU/g으로 미생물 총균수의 감소를 확인 할 수 있었음.

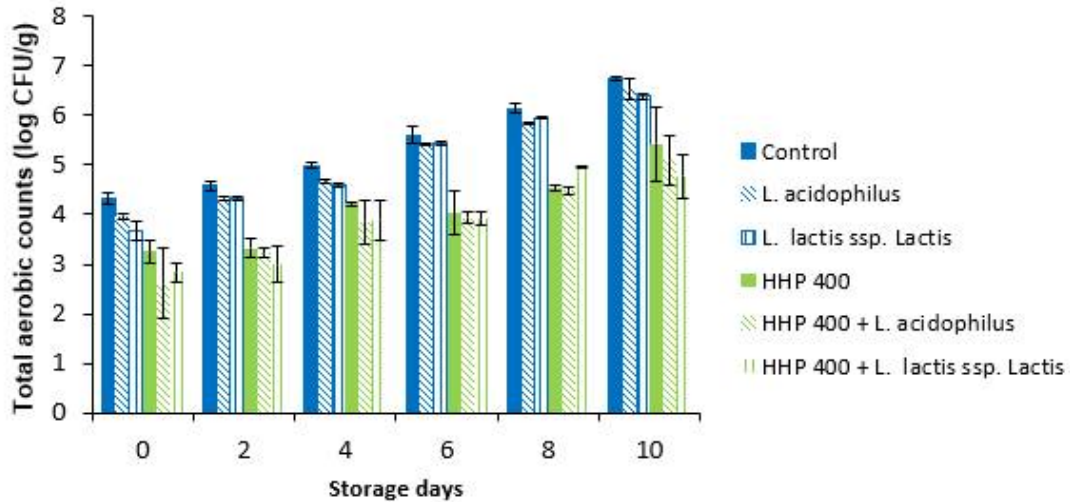


그림 1-13. 압력 400MPa 및 유산균 유무에 따른 저장실험(Total aerobic count)

- 저장기간이 증가함에 따라 균은 빠르게 증식되며, 압력을 처리하지 않은 군은 10일 차때 6.74, 6.52, 6.38 log CFU/g의 균이 검출되었으며, 압력을 처리한 군은 5.42, 5.09, 4.77 log CFU/g으로 유의적인 차이를 보이는 것으로 확인됨.(순서대로 아무것도 처리하지 않은 군, *L. acidophilus*, *L. lactis ssp. Lactis*)

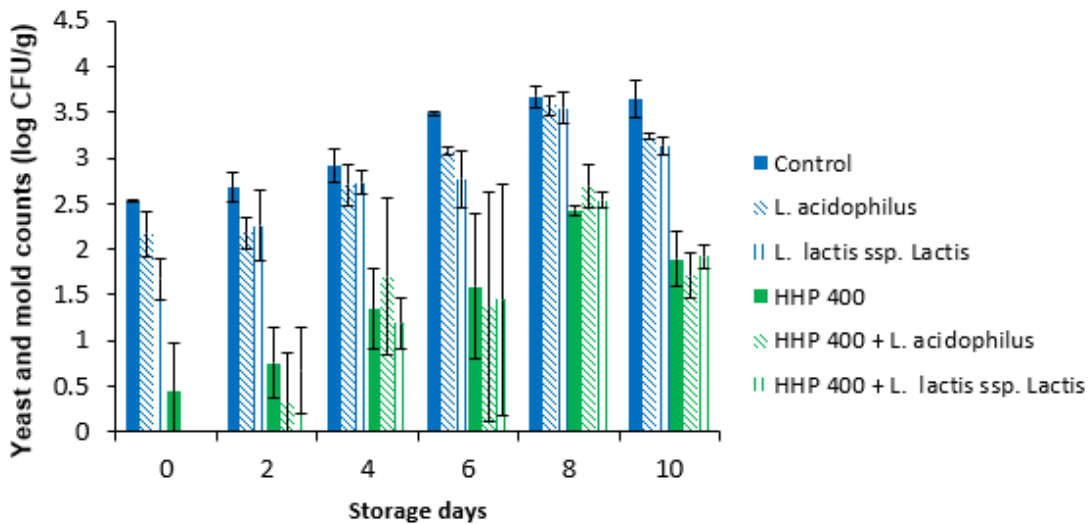


그림 1-14. 압력 400MPa 및 유산균 및 압력 유무에 따른 저장실험(Yeast and mold counts)

- Yeast and mold 군에서도 비슷한 형태를 보이며, control 패티의 경우 초기 균이 2.53 log CFU/g임을 확인 할 수 있었으며, *L. acidophilus*, *L. lactis ssp. Lactis*를 처리한 군은 2.17, 1.68 log CFU/g으로 약간 감소하는 것으로 확인됨(그림 1-14).
- 400 MPa를 처리한 군에서는 총균수에 비해 감소하는 것으로 확인되며, 아무것도 처리하지 않은 군, *L. acidophilus*, *L. lactis ssp. Lactis*은 각각 0.44, 0, 0 log CFU/g으로 yeast and mold

수의 감소를 확인 할 수 있었음

- 저장기간 동안에도 yeast and mold의 수치는 감소형태를 보이며, 10일이 경과한 후 1 log 이상의 균이 감소하는 것을 확인 할 수 있었음
- 400 MPa 초고압 처리 및 유산균 병합부터 효과적임을 입증할 수 있었음.

(라) 실험결과 (500 MPa 압력 처리)

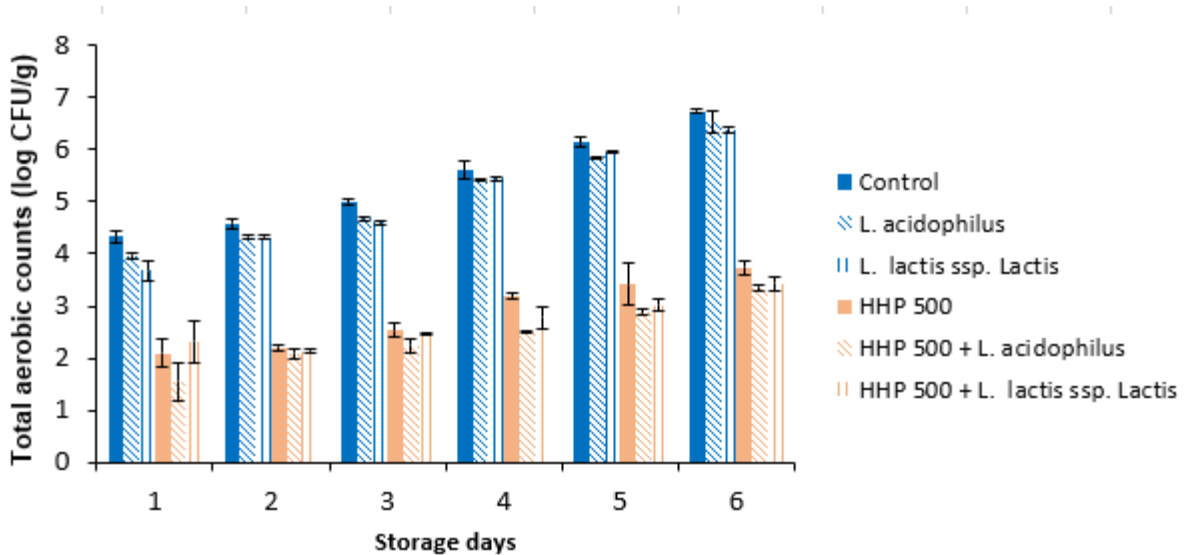


그림 1-15. 압력 500MPa 및 유산균 유무에 따른 저장실험(Total aerobic count)

- Control 패티의 경우 초기 총균이 4.32 log CFU/g임을 확인 할 수 있었으며, *L. acidophilus*, *L. lactis ssp. Lactis*를 처리한 군은 3.96, 3.67 log CFU/g으로 약간 감소하는 것으로 확인됨(그림 1-15).
- 500 MPa를 처리한 군은 효과적인 미생물 감소를 확인할 수 있었으며, 아무것도 처리하지 않은 군, *L. acidophilus*, *L. lactis ssp. Lactis*은 각각 2.10, 1.54, 2.31 log CFU/g으로 미생물 총균수의 감소를 확인 할 수 있었음.
- 저장기간이 증가함에 따라 군은 빠르게 증식되며, 압력을 처리하지 않은 군은 10일 차때 6.74, 6.52, 6.38 log CFU/g의 균이 검출되었으며, 압력을 처리한 군은 3.73, 3.35, 3.44 log CFU/g으로 유의적인 차이를 보이는 것으로 확인됨.(순서대로 아무것도 처리하지 않은 군, *L. acidophilus*, *L. lactis ssp. Lactis*)
- 500 MPa를 처리한 군에서는 압력에 의해서 모두 사멸하는 것으로 관찰되며, 아무것도 처리하지 않은 군, *L. acidophilus*, *L. lactis ssp. Lactis* 모두 0 log CFU/g으로 yeast and mold 수의 감소를 확인 할 수 있었음.

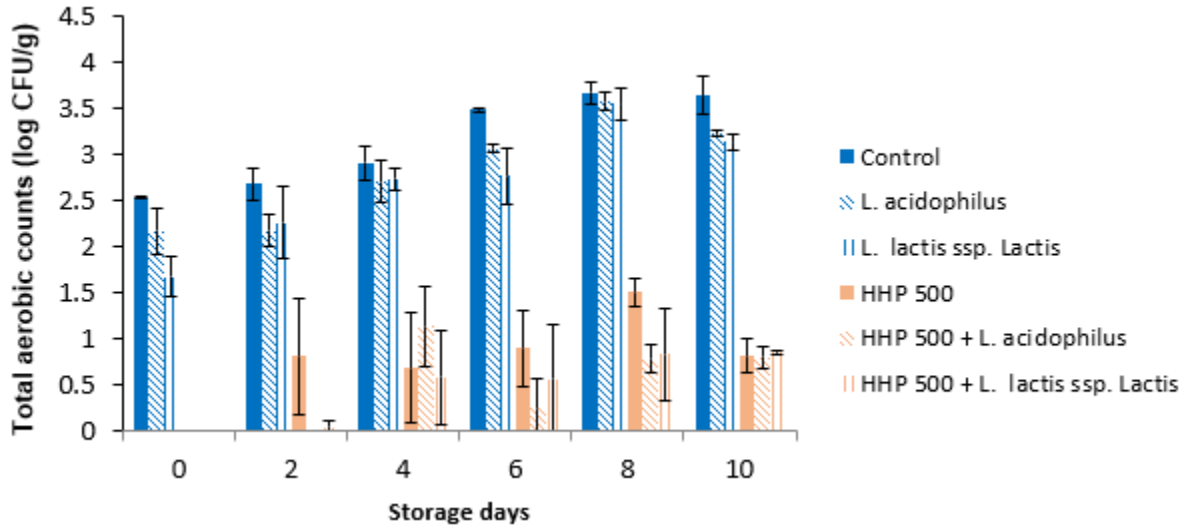


그림 1-16. 압력 500MPa 및 유산균 및 압력 유무에 따른 저장실험(Yeast and mold counts)

- 저장기간 동안에도 yeast and mold의 수치는 감소형태를 보이며, 10일이 경과한 후 3 log 가까이 균이 감소하는 것을 확인 할 수 있었음(그림 1-16).
- 500 MPa 초고압 처리 및 유산균 병합이 효과적임을 입증할 수 있었음.

(3) 저장기간 내의 색차 분석

(가) 실험방법

- 시중 내에 판매되고 있는 소고기 등심을 구입 후 실험실 내의 고기분쇄기 (PM-70, Manica, Spain)를 사용하여 고기를 분쇄함
- 분쇄 된 소고기를 80 g/1 patty 로 나눈 후 KCCM에서 구입한 유산균 *L. acidophilus*, *L. lactis ssp. Lactis*를 각각 접종하여 반죽함.
- 분쇄 후 12 cm 지름의 성형기를 사용하여 패티를 만들고 진공포장을 통해 외부 균이 유입되지 않도록 함.
- 진공포장한 제품을 초고압 장치(Bautau, China)를 사용하여 살균 후 패티 표면 내 색 변화를 관찰하기 위하여 한 패티당 4번의 분석을 하고, 3 반복을 통해 유의성을 확인하였음.
- 실험실 내의 색차색도계를 이용하여 L* (lightness), a* (redness), b* (yellowness)를 측정하였음.

- 또한 이를 토대로 control과 비교하여 색 변화 정도를 확인 할 수 있는 척도인 ΔE (total color difference) = $\sqrt{(L_0 - L^*)^2 + (a_0 - a^*)^2 + (b_0 - b^*)^2}$ 를 계산하여, Control 패티에 비해 각 처리군 패티 별로 색 변화의 진행 된 정도를 확인해 보았음.

(나) 실험결과

표 1-8. 압력 500MPa 및 유산균 유무에 따른 저장기간내의 색차 변화

Treatment condition	Storage (days)																	
	0			2			4			6			8			10		
	L*	a*	ΔE	L*	a*	ΔE	L*	a*	ΔE	L*	a*	ΔE	L*	a*	ΔE	L*	a*	ΔE
Control	49.2	21.4		49.6	24.3		49.2	24.6		48.0	23.0		48.7	21.8		47.8	14.2	
	0	7		1	4		2	0		2	3		7	9		6	6	
	±	±		±	±		±	±		±	±		±	±		±	±	
	1.24 _a	0.86 _c		0.81 _a	1.12 _c		1.93 _a	3.05 _b		0.65 _a	2.49 _c		0.70 _a	0.67 _b		2.25 _a	1.62 _a	
HHP 500	57.0	12.0	12.5	56.4	11.1	14.9	55.0	15.6	10.8	53.4	13.9	10.8	52.9	16.2	7.61	52.5	16.9	5.92
	6	0 ±	1 ±	8 ±	0 ±	6 ±	7 ±	2 ±	2 ±	7 ±	5 ±	4 ±	2 ±	8 ±	±	7	1	±
	±			±		±	±		±	±		±	±		±	±	±	±
	1.08 _b	1.52 _a	0.99 _b	0.68 _b	0.59 _a	1.15 _b	2.89 _b	2.83 _a	3.03 _a	2.37 _b	1.99 _a	2.23 _b	0.69 _a	0.31 _a	0.62 _a	0.38 _c	1.04 _{ab}	0.66 _a
HHP 500 + <i>L. acidophilus</i>	55.5	16.0	8.38	55.8	14.7	11.5	53.8	15.9	10.0	50.2	18.5	5.40	53.2	17.7	6.67	50.3	19.4	6.32
	1	8 ±	±	3 ±	1 ±	9 ±	2 ±	2 ±	3 ±	6 ±	9 ±	±	6 ±	2 ±	±	5	7	±
	±			±		±	±		±	±		±	±		±	±	±	±
	1.24 _b	1.46 _b	2.07 _b	3.68 _b	3.35 _a	4.72 _{ab}	1.10 _b	1.21 _a	4.51 _a	0.98 _a	1.25 _b	1.89 _a	1.09 _b	1.38 _a	0.99 _a	0.55 _{bc}	3.35 _{bc}	2.29 _a
HHP 500 + <i>L. lactis ssp. Lactis</i>	56.4	15.6	9.55	54.8	19.4	7.57	54.1	19.4	7.46	54.2	19.7	7.98	53.2	21.3	5.66	49.6	22.0	8.57
	6	9 ±	±	0 ±	4 ±	±	1 ±	3 ±	±	3 ±	8 ±	±	2 ±	4 ±	±	8	6	±
	±			±		±	±		±	±		±	±		±	±	±	±
	1.53 _b	2.36 _b	0.44 _a	1.11 _b	2.41 _b	2.00 _a	1.24 _b	4.63 _{ab}	0.68 _a	1.01 _b	2.24 _{bc}	2.22 _{ab}	2.06 _b	2.22 _b	2.15 _a	0.77 _{ab}	1.65 _c	2.64 _a

- 미생물 안전성이 500 MPa에서 가장 효과적임을 확인하였기 때문에 색차 분석을 500 MPa에서 진행하였음.
- Control 패티는 0일차에서 L*= 47.86 ~ 50.30, a*= 20.90 ~ 22.47, b*= 10.31 ~ 11.34의 값을 가짐.
- 500 MPa의 압력으로 5분 동안 초고압 공정을 거친 0일차 패티의 경우 L*= 56.29 ~ 58.3 , a*= 11.12 ~ 13.76 b*= 11.98 ~ 12.49 의 값을 측정하여 얻었음.
- 500 MPa 압력과 유산균을 병합한 색 변화는 0일차에서 각각 L*= 54.65 ~ 56.94, a*= 15.07 ~ 17.76, b*= 11.42 ~ 11.66, L*= 55.22 ~ 58.16, a*= 13 ~ 17.37, b*= 11.70 ~ 12.19
- 10일이 경과한 후에도 큰 차이를 보이지 않으며, control 패티의 경우 L*= 45.69 ~ 50.19, a*= 12.40 ~ 15.33 b*= 13.72 ~ 14.72, L*= 52.26 ~ 53.00, a*= 15.72 ~ 17.63, b*= 12.95

~ 13.70, L*= 49.77 ~ 50.86, a*= 15.73 ~ 22.18, b*= 11.74 ~ 12.60, L*= 49.16 ~ 50.57, a*= 21.05 ~ 23.96, b*= 11.84 ~ 13.56 로 관찰됨(순서대로 control, 500 MPa, 500 MPa + *L. acidophilus*, 500 MPa + *L. lactis ssp. Lactis*)

- 이는 Control 패티에 비해 L* 값은 증가하고 a* 값은 감소하며 b* 값은 변하지 않는 결과를 보임. 초고압 공정 중 단백질 변성으로 인해 변화를 하는 것으로 파악이 됨.
- 또한 압력이 증가함에 따라 L* 값은 더욱 증가하고 a* 값은 감소하는 모양새를 띠는 것으로 관찰됨 (300, 400 MPa 결과는 실지 않음)
- 500 MPa의 압력으로 5분간 초고압 공정을 처리한 패티의 경우는 0일차에서 $\Delta E = 11.80 \sim 13.64$ 의 값을 얻었으며, 유산균을 병합한 결과는 0일차에서 $\Delta E = 6.16 \sim 10.27, 9.05 \sim 9.74$ 로 큰 차이를 보이지 않았음.
- 500 MPa의 압력으로 5분간 초고압 공정을 처리한 패티의 경우는 10일차에서 $\Delta E = 5.35 \sim 6.65$ 의 값을 얻었으며, 유산균을 병합한 결과는 0일차에서 $\Delta E = 4.00 \sim 8.58, 7.01 \sim 11.62$ 로 큰 차이를 보이지 않았음.

(4) 저장기간 내의 pH 분석

(가) 실험방법

- 시중 내에 판매되고 있는 소고기 등심을 구입 후 실험실 내의 고기분쇄기 (PM-70, Manica, Spain)를 사용하여 고기를 분쇄함
- 분쇄 된 소고기를 80 g/l patty 로 나눈 후 KCCM에서 구입한 유산균 *L. acidophilus*, *L. lactis ssp. Lactis*를 각각 접종하여 반죽함.
- 분쇄 후 12 cm 지름의 성형기를 사용하여 패티를 만들고 진공포장을 통해 외부 균이 유입되지 않도록 함.
- 진공포장한 제품을 초고압 장치(Bautau, China)를 사용하여 살균 후 패티를 바늘형태의 probe를 가진 pH meter기를 사용하여 한 패티당 2번, 3반복을 진행하여 실험을 진행함.

(나) 실험결과

표 1-9. 압력 500MPa 및 유산균 유무에 따른 저장기간내의 pH 변화

Treatment condition	Storage (days)
------------------------	----------------

	0	2	4	6	8	10
Control	5.74 ± 0.02 ^a	5.68 ± 0.08 ^a	5.35 ± 0.15 ^a	5.36 ± 0.10 ^a	5.49 ± 0.02 ^a	5.35 ± 0.03 ^a
HHP 500	5.91 ± 0.06 ^{ab}	5.85 ± 0.04 ^b	5.78 ± 0.04 ^b	5.84 ± 0.01 ^b	5.72 ± 0.33 ^{ab}	5.76 ± 0.10 ^b
HHP 500 + <i>L. acidophilus</i>	5.97 ± 0.10 ^b	5.85 ± 0.02 ^b	5.74 ± 0.02 ^b	5.81 ± 0.03 ^b	5.79 ± 0.06 ^{ab}	5.68 ± 0.16 ^b
HHP 500 + <i>L. lactis</i> ssp. <i>Lactis</i>	6.43 ± 0.14 ^c	6.25 ± 0.12 ^c	6.17 ± 0.12 ^c	6.16 ± 0.02 ^c	5.94 ± 0.09 ^b	5.87 ± 0.28 ^b

- 미생물 안전성이 500 MPa에서 가장 효과적임을 확인하였기 때문에 pH 분석을 500 MPa에서 진행하였음.
- Control 패티는 0일차에서 5.72 ~ 5.76의 값을 가지며, 병합실험을 통해 얻은 결과를 각각 살펴보면 0일차 패티의 경우 5.84 ~ 5.96, 5.89 ~ 6.09, 6.29 ~ 6.57 의 값을 측정하여 얻었음.(순서대로 500 MPa, 500 MPa + *L. acidophilus*, 500 MPa + *L. lactis* ssp. *Lactis*)
- 10일이 경과한 후에는 pH가 감소된 형태를 보이며, 5.31 ~ 5.38, 5.68 ~ 5.87, 5.51 ~ 5.82, 5.7 ~ 6.19로 관찰됨(순서대로 control, 500 MPa, 500 MPa + *L. acidophilus*, 500 MPa + *L. lactis* ssp. *Lactis*)
- 기간이 지나면서 지방산패로 인해 산화되는 것을 관찰할 수 있으며, 유산균을 병합한 균은 상대적으로 감소되는 수치가 적은 것으로 보아 유산균이 산패를 억제하는 결과를 확인할 수 있었음.

(5) 저장기간 내의 TBARS 분석

(가) 실험방법

- 시중 내에 판매되고 있는 소고기 등심을 구입 후 실험실 내의 고기분쇄기 (PM-70, Manica, Spain)를 사용하여 고기를 분쇄함
- 분쇄 된 소고기를 80 g/1 patty 로 나누는 후 KCCM에서 구입한 유산균 *L. acidophilus*, *L. lactis* ssp. *Lactis*를 각각 접종하여 반죽함.
- 분쇄 후 12 cm 지름의 성형기를 사용하여 패티를 만들고 진공포장을 통해 외부 균이 유입되지 않도록 함.
- 진공포장한 제품을 초고압 장치(Bautau, China)를 사용하여 살균 후 패티를 3 g씩 떼어낸

후에 NaOH, butylated hydroxyl toluene, trichloroacetic acid, 2-thiobarbituric acid를 첨가하여, spectrophotometer 기기를 이용해 532nm의 흡광도를 측정하여 지방산패의 정도를 측정하였음.

(나) 실험결과

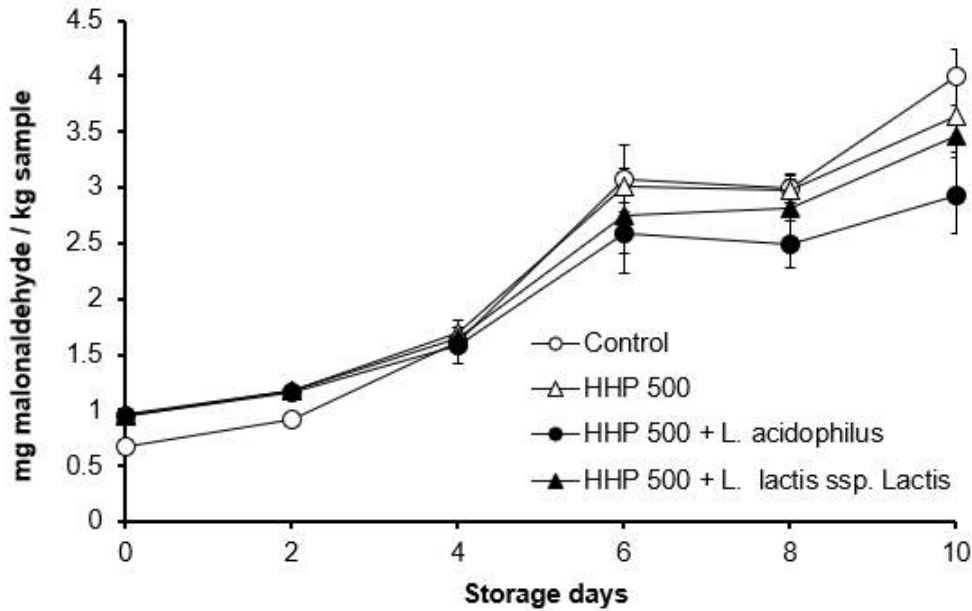


그림 1-17. 압력 500MPa 및 유산균 유무에 따른 저장기간내의 TBARS 변화

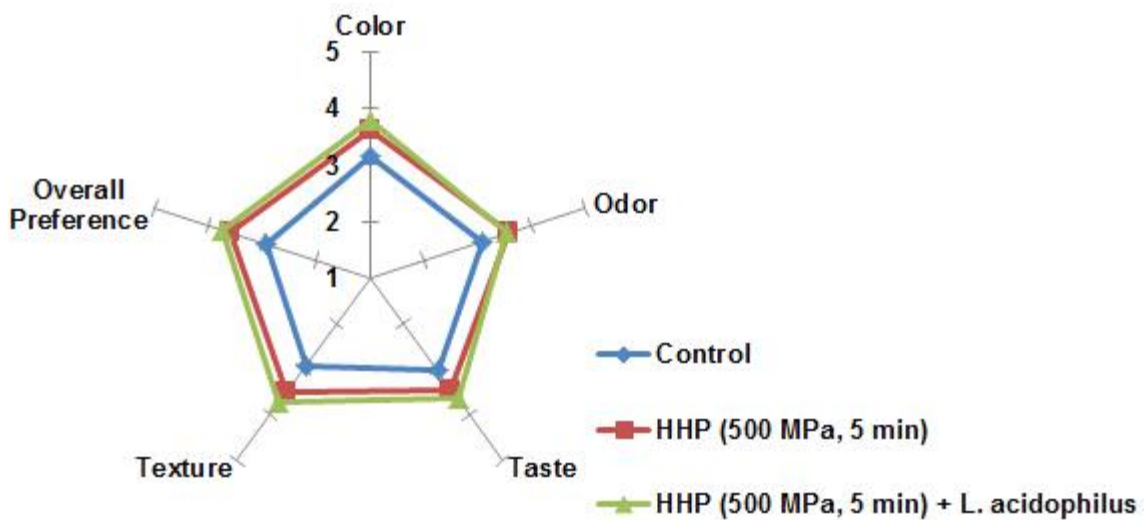
- 미생물 안전성이 500 MPa에서 가장 효과적임을 확인하였기 때문에 TBARS 분석을 500 MPa에서 진행하였음(그림 1-17).
- Control 패티는 0일차에서 0.66 ~ 0.71 mg malonaldehyde/kg sample의 값을 가지며, 병합실험을 통해 얻은 결과를 각각 살펴보면 0일차 패티의 경우 0.93 ~ 0.97, 0.91 ~ 1.03, 0.96 ~ 0.99 mg malonaldehyde/kg sample의 값을 측정하여 얻었음. (순서대로 500 MPa, 500 MPa + *L. acidophilus*, 500 MPa + *L. lactis ssp. Lactis*)
- 10일이 경과한 후에는 지방산패의 값이 증가한 형태를 보이나 control 군에 비해 유산균을 첨가한 패티는 지방산패가 상대적으로 감소하는 형태를 보임. 3.71 ~ 4.13, 3.45 ~ 4.00, 2.68 ~ 3.32, 2.95 ~ 4.00로 관찰됨(순서대로 control, 500 MPa, 500 MPa + *L. acidophilus*, 500 MPa + *L. lactis ssp. Lactis*)
- 시간이 지나면서 지방산패로 인해 산화되는 것을 관찰할 수 있으며, 유산균을 병합한 군은 상대적으로 증가되는 수치가 적은 것으로 보아 유산균이 산패를 억제하는 결과를 확인할 수 있었음.

(6) 저장기간 내의 관능검사

(가) 실험방법

- 시중 내에 판매되고 있는 소고기 등심을 구입 후 실험실 내의 고기분쇄기 (PM-70, Manica, Spain)를 사용하여 고기를 분쇄함
- 분쇄 된 소고기를 80 g/1 patty 로 나눈 후 KCCM에서 구입한 유산균 *L. acidophilus*, *L. lactis* ssp. *Lactis*를 각각 접종하여 반죽함.
- 분쇄 후 12 cm 지름의 성형기를 사용하여 패티를 만들고 진공포장을 통해 외부 균이 유입되지 않도록 함.
- 진공포장한 제품을 초고압 장치(Bautou, China)를 사용하여 살균 후 패티를 4 ° C 에 5일동안 보관 후 직접 패티를 구워서 연세대학교 내의 30명 (20 ~ 60대)을 대상으로 관능검사를 진행함.
- 기준은 색, 맛, 질감, 냄새, 전반적 만족도로 5개 항목을 대상으로 5-Scale로 평가함.

(나) 실험결과



	Control	HHP (500 MPa, 5 min)	HHP (500 MPa, 5 min) + <i>L. acidophilus</i>
Color	3.16 ± 0.78 ^a	3.61 ± 0.65 ^b	3.77 ± 0.68 ^b
Odor	3.07 ± 0.73 ^a	3.56 ± 0.74 ^b	3.56 ± 0.78 ^b
Taste	3.04 ± 1.07 ^a	3.45 ± 0.83 ^{ab}	3.66 ± 0.70 ^b
Texture	2.94 ± 0.91 ^a	3.51 ± 0.83 ^b	3.74 ± 0.77 ^b
Overall Preference	2.93 ± 0.93 ^a	3.60 ± 0.81 ^b	3.73 ± 0.70 ^b

그림 1-18. 관능검사

- 30 명을 대상으로 진행한 결과 모든 항목에서 control 군에 비해 초고압 처리한 군이 상대적으로 높은 점수를 받음(그림 1-18).
- 유산균을 처리한 군은 단순 초고압 처리 군에 비해서 조금 더 나은 점수를 보이거나 유의적인 차이를 보이지 않음.
- 초고압과 유산균 병합 처리를 한 패티는 소비자들에게 조금 더 나은 품질이라고 평가받음.

제 2 절 원료육의 PEF 처리기술 적용 연구

1. 식육제품 원료육의 오염 원인균 및 전기장 처리 사례조사

가. 식육제품 원료육의 상품성 저하를 일으키는 오염 원인균 분석

(1) 국내 식육 제품 관련 이슈 조사

○ 소고기·돼지고기 등 식육 고기의 냉장 보관기간

- 2015년 국내 소고기·돼지고기 등 식육 고기의 냉장 보관기간에 따른 품질 변화를 알아보기 위해 실시한 연구조사 결과 이 도축일로부터 1주일 이내가 가장 좋은 것으로 나타남.
- 식육 고기의 냉장 보관기간에 따른 품질 변화 조사는 식육을 냉장 보관 (3℃)한 후 보관 일수 별로 신선도 지표검사와 미생물 검사를 하는 방식으로 진행하였고, 그 결과 보관 일주일 후 신선도 항목은 기준 이내로 양호하나 약간의 이취와 함께 일반 미생물이 식육의 모니터링 권장 기준 (1×10^7 cfu/g, 식약처고시) 한계치에 도달함.
- 하지만 이 결과는 냉장 온도가 실험 기간 내내 일정하게 유지되고 식중독균이 없는 조건 아래 이뤄진 만큼 냉장고 문을 수시로 여닫아 온도 변화가 큰 일반가정에서는 미생물 증식이 활발해지기 때문에 보관가능 기간은 더 짧아질 것으로 예상함.
- 이와 관련해 보건환경연구원은 식육을 안전하게 냉장 보관하기 위해 필요한 수칙을 권고함. 먼저 냉장고의 온도를 적절히 유지하려면 자주 열지 않아야 하고 냉장고 전체 용량의 70%만 채워야 하며 문 쪽 가까이보다는 안쪽 온도가 더 낮은 만큼 미생물 번식 가능성이 있는 식육 등은 되도록 안쪽에 보관해야 함.
- 조리하고 남은 식육을 그대로 보관할 경우, 이미 조리자의 손이나 칼·도마 등에 오염돼 미생물의 번식이 급속도로 시작되는 만큼 먹고 남은 식육은 랩으로 완전히 싸서 공기와의 접

축을 최대한 차단하거나 바로 냉동 보관하는 것이 좋음.

- 휴가철이나 야외나들이를 갈 경우, 식육은 반드시 아이스박스에 넣어 보관하며 이때 냉장 온도를 유지시켜 줄 아이스 팩은 아이스박스 용량의 15% 정도가 적당함. 아이스 팩의 냉기는 위에서 아래로 내려오므로 고기를 넣고 맨 위에 아이스 팩을 넣어 냉장 온도가 적절히 유지도를 보관해야 함.
- 또, 식육 구매 시 도축일과 포장일, 유통기한을 꼭 따져보고 위생적인 상태에서 처리된 것인지 확인하는 것과 함께 필요한 만큼만 소량 구매하는 것이 중요함.
- 식육은 영양이 풍부한 특성 상 미생물의 번식하기 쉬운 음식으로 잘못 보관하게 되면 부패뿐 아니라 살모넬라균, 병원성 대장균 등에 의한 식중독도 일으킬 수 있으므로 현재 일상 생활에서는 필요한 만큼만 구매하는 습관을 요구함.

○ 육회 대장균 검출

- 여름철 다소비 식품 제조 업소와 해수욕장, 유원지, 위락시설, 도로변 휴게소 등 피서지 주변이나 피서객이 이용하는 시설에서 식품을 조리·판매하는 음식점 등을 대상으로 실시하였고, 음식점에서 별도로 가열하지 않고 생식으로 판매되는 육회(육사시미 포함)에 대한 식중독균 수거검사도 병행한 결과, 충북에서 위생적 취급기준 위반 3곳, 건강진단 미실시 3곳, 유통기한 경과 제품 사용 1곳, 영업자 준수사항 미준수 1곳 등 모두 8곳이 적발됨.
- 2011년 국내 식당에서 판매되는 육회에서 대장균이 검출되거나 유통기한 경과 제품이 사용되는 등 충북에서 식품위생법을 위반한 사례가 접수되었음.
- 특히, 한 육회 전문점과 한 소고기 판매점, 육회 체인점에서 판매되는 육회와 육사시미에서 대장균이 검출됨.

○ 수입 소고기에서 식중독 발생균인 살모넬라균 검출

- 시중에서 유통 중인 수입 갈비에서 식중독을 일으킬 수 있는 살모넬라균이 검출됨. 그런데 이 오염된 수입 갈비가 어떤 경로를 통해서 또, 얼마나 유통됐는지도 파악되지 않고 있음.
- 한국 소비자 보호원에서 전국의 수입육 전문 판매점에서 유통되고 있는 수입 소고기 60여종을 대상으로 안전성 시험을 실시한 결과 한 종류에서 살모넬라균이 검출됨. 살모넬라균이 검출된 제품은 모 식육 전문회사 직영점에서 팔던 것으로 비포장 절단육 수입 갈비임.
- 살모넬라균은 국내 식중독 발생 원인의 40% 가량을 차지할 정도로 가장 일반적인 식중독균

가운데 하나이며 특히, 노약자나 어린이에 있어서는 급성 위장염, 설사, 사색 증을 유발하며 심한 경우에는 폐혈증까지 갈 수 있음.

- 또, 부산에서는 한 식당에서 소고기를 먹은 가중 6명이 복통을 호소하며 설사를 했고, 이 가운데 3세 여아와 어머니의 가검물에서 *E.coli* O-157균이 검출됨.

(2) 국외 식육제품 관련 이슈조사

○ 러시아에서 미국산 뼈없는 소고기 리콜

- 러시아에서는 미국산 소고기의 선적에서 발견된 실험실 감시 대장균의 세가지 변종의 오염을 확인하였고, 리콜을 실시함. 그 세가지 변종은 *E.coli* O157:H7, *E.coli* O145, *E.coli* O45로 확인됨.
- 사람에게 대장균주의 감염은 생명을 위협하는 용혈성 요독 증후군의 개발 등 건강에 심각한 결과로 이어질 수 있음.

○ 소고기 제품에 의한 대장균 우려로 인한 리콜

- 미국 농림성 식품안전검사국(FSIS)에서는 미국의 소고기 제품의 약 20만 파운드가 *E.coli* O157:H7에 오염되었을 수 있다는 우려로 리콜을 실시함. 오마하, 네브래스카에서 생산된 모든 미국산 소고기 및 분쇄육 등 167,427파운드를 처분함.
- 대부분의 사람들은 일주일 이내에 위의 소고기를 섭취함으로써 오는 질병에서 회복하지만, 그 중 피해자들은 용혈성 요독증후군 (HUS)으로 알려진 신부전증을 앓을 수 있음.
- 전 연령의 소비자들에게서 대장균에 대한 위험이 있지만, 5세 미만 어린이에게 더 치명적이며, 증상으로는 쉽게 멍이 들고 창백해지며 소변 배출이 약해지는 것이 있음.
- 미국의 소비자들은 면역 체계가 약한 사람들을 죽이고 임산부에 유산으로 이어질 수 있는 리스테리아균의 위협으로 소고기의 오염에 크게 걱정하고 있음.
- 모듬 고기, 소세지, 베이컨 등에서 발견되었으며, 미국 농림성 식품안전검사국(FSIS)의 일상 샘플 테스트에서 검출되었기 때문에 이들 제품의 소비로 인한 부작용의 확인 보고가 많지 않음.
- 리스테리아균은 발열, 근육통, 어깨 결림, 균형 감각 감소, 설사 등 위장관계 질환이 선행될 수 있음. 임산부의 감염은 면역력의 약화로 유산, 사산, 조산 또는 신생아의 생명을 위협하며, 노인에게 심각하게 작용하고, 특이한 경우엔 성인에게도 치명적일수 있음.

○ 살모넬라균에 의한 원료육 제품의 오염



그림 2-1. 원료육의 생산 및 포장 과정

- 미국 농림성 식품안전검사국(FSIS)에서는 미국 내 고기 및 가공육에서의 살모넬라 및 캠필로박터균에 의한 감염이 나타남을 확인함.
- EU(유럽 연합)에서는 식품 및 사료 신속경보시스템(RASFF)에서 수입 육류 및 육류 제품의 살모넬라 균 오염과 관련된 문제를 경고함. 특히 스웨덴, 아일랜드에서 보낸 냉동 소고기에 살모넬라균의 검출을 주목하고 관리함.
- RASFF는 식품 공급과 관련하여 검출된 심각한 위험에 대응을 위한 조치에 대한 정보를 교환할 수 있는 효과적인 도구를 사용하여 신속하고 정확하게 식품 및 사료의 제어를 할 수 있도록 함.

(3) 국내·외 식육 제품 관련 논문 조사

표 2-1. USDS 식품안전검사국의 원료 소고기 성분에 관한 미생물학적 결과

Year	Number positive	Number tested	% positive
1994	0	891	0.00
1995	3	5407	0.06
1996	4	5703	0.07
1997 ^b	4	6065	0.07
1998	14	8080	0.17
1999 ^c	32	7785	0.41
2000	35	5819	0.60
2001	49	6356	0.77
2002	40	6241	0.64
2003	18	6409	0.28
2004	14	7959	0.18
2005 ^d	19	10,963	0.17
2006	20	11,755	0.17
2007	27	12,225	0.22
2008 ^e	49	11,183	0.44
2009	40	12,293	0.33
2010	27	12,225	0.22
2011	23	16,352	0.14
2012	45	16,262	0.24

- 미국 육류 공급에 있어서 1992~1993년 *E.coli* O157:H7의 대량 발병으로 인해 *E.coli* O157:H7에 대한 관심이 높아짐. FSIS에 의한 *E.coli* O157:H7 제로 내성의 시행 및 그 후 소고기의 불량에 대한 신고 제도가 생김.
- 최근에는 소고기에 6종의 non-O157 독소 생성 대장균 (STEC) 혈청군 (O26, O103, O111, O145, O45, O121)이 추가되어 항생제 개입의 효능에 대한 새로운 관심을 불러일으킴.
- 1994년 이후 현재까지 미국 산업계와 정부는 *E.coli* O157:H7을 통제하기 위한 많은 노력으로 2012년까지 *E.coli* O157:H7의 비율을 0.25% 이하로 감소시킴.

표 2-2. 인구 10만 명당 E.coli O157 : H7 및 Salmonella 관련 질병에 관한 질병통제예방센터(CDC) 데이터

Year	O157	Salmonella
1997	2.1	13.6
1998	2.4	13.6
1999	1.9	16.1
2000	2.0	14.1
2001	1.6	15.0
2002	1.7	16.2
2003	1.1	14.4
2004	0.9	14.6
2005	1.1	14.5
2006	1.2	15.0
2007	1.2	15.0
2008	1.2	15.0
2009	1.0	15.0
2010	0.9	17.5
2011	1.0	16.4
2020 goal ^b	0.6	11.4

^a Center for Disease Control and Prevention.

^b Healthy People 2020 goals (DHHS, 2014).

- 1997년부터 2011년까지 *E.coli* O157:H7 관련 질병은 철저한 통제를 받아 2000년에 10만 명당 2.0에서 2011년에 1.0으로 점차 감소하는 것을 볼 수 있으며, 반면에 살모넬라와 관련된 질병은 10만 명당 13.5에서 17.5 건으로 약간 증가하거나 거의 변화가 없음을 볼 수 있음.
- *E.coli* O157:H7의 조절이 가능해지고 증가하게 되면서 산발적 양성 *E.coli* O157:H7 검사 결과가 적어짐으로 병원체 감소 노력으로 초점이 맞추어짐.
- 림프절이 살모넬라균을 보유할 수 있고 살모넬라균의 중요한 공급원이 될 수 있다는 것을 알게됨. 이것으로 살모넬라균의 대한 연구와 규제 감시의 증가를 불러일으켰으며, 살모넬라균에 의한 질병이 감소하지 않고 있다는 사실과 식품 매체 살모넬라 균의 문제에 대한 여론의 관심도 증가함
- 현재 알려진 예방 방법은 염소산 나트륨, probiotics, 백신 및 bacteriophage 등이 있음. 그 중, probiotics가 보편적으로 사용되고 있으며, 가축 사료에 미생물 첨가제를 보충하는 것도 점차 보편화되고 있음.

표 2-3. 소고기 및 소고기 제품의 소비와 관련된 국제적 verocytotoxigenic *E.coli* 발생

Country	Serogroup	Year	Number of illnesses (reported deaths)	Vehicle of transmission	Reference
Denmark	O157	2012	9	Ground beef	Soborg, Muller, Lassen, Ethelberg, and Molbak (2012)
Netherlands	O157	2011	3	Filet Americain	EFSA (2013b)
UK	O157	2011	4	Beef curry	EFSA (2013b)
Japan	O111	2011	181 (5)	Yukhoe (raw beef dish)	National Institute of Infectious Diseases, Japan (2012)
USA	O26	2010	3	Ground beef	USDA-FSIS (2012)
USA	O157	2010	21	Blade tenderised steak	CDC (2010a)
France	O123	2009	2	Ground beef	King et al. (2010)
USA	O157	2009	26 (2)	Ground beef	CDC (2009a)
USA	O157	2009	23	Ground beef	CDC (2009b)
Netherlands	O157	2008-2009	20	Steak tartare	Greenland et al. (2009)
Belgium	Not reported	2008	6	Raw minced beef	EFSA (2013b)
USA	O157	2008	49	Ground beef	CDC (2008)
USA	O157	2008	99	Beef cuts	CDC (2010b)
Denmark	O26	2007	18	Beef sausage	Ethelberg et al. (2007)
USA	O157	2007	40	Ground beef patties	CDC (2007)

- 최근에 발생한 Verocytotoxigenic *E.coli* (VTEC)에 의한 질병은 덴마크에서 9번 일어났으며, 분쇄육이 원인이 되었음. 매개가 되는 원료육은 분쇄육이 가장 많았으며, 생고기, 소세지, 분쇄육 패티 등도 매개가 됨.
- 대부분 O157의 혈청형을 가진 것이 인간에게 피해를 일으키며, 특이적으로 2011년 일본에서 O111에 의하여 181번이라는 막대한 피해를 입었으며, 미국에서 2008년 O157에 의해 99번의 피해를 입었음.
- Verocytotoxigenic *E.coli* (VTEC)는 인간에게 경미한 질병을 일으키는 중요한 병원체 중 하나임. 소를 포함한 반추동물은 배설물에서 흘러 나오는 VTEC의 중요한 저장소임.
- 병원균은 VTEC에 오염된 대변 물질에 직접 접촉하거나 대변으로 오염된 물이나 음식을 섭취함으로써 간접적으로 사람에게 전염됨. 또, 도살 및 드레싱 작업 중 오염될 수 있음. 소 출처의 식품, 특히 덜 익힌 소고기 제품은 미국의 *E.coli* O157 VTEC 발병의 약 75%를 차지하고 있음.
- VTEC 감염의 일부 경우에는 단순하지 않은 비혈액성 설사가 나타나기도 하지만 출혈성 설사와 출혈성 대장염을 비롯한 심각한 증상이 나타날 수 있음. 그 중 약 20%의 경우는 생명을 위협하는 합병증도 발생할 수 있으며, 대표적으로 용혈성 부비동염 증후군 (haemolytic uraemic syndrome, HUS)가 가장 흔함.
- 미국과 캐나다에서는 *E.coli* O157 VTEC 감염이 2006년에서 2008년 사이에 현저히 감소한 것으로 보고되었으며, 수치상으로는 3.00에서 1.39로 발병율이 감소하였음.
- 유럽에서는 반대로 미국과 캐나다와 동일 기간에 VTEC 관련 사례가 증가하는 추세를 보임. 독일에서 대규모로 발생한 OECD VTEC 발병 (3842건)과 HUS 855건, 사망 53건이 발생함.

- 모든 주 혈청 그룹은 반추 동물, 특히 소에서 보고되었으며, 대규모의 발생 및 심각한 질병 및 사망자와 역학적으로 연결되어 있음. 심각한 인간 VTEC 질환과 관련된 혈청 그룹은 유럽의 O157, O26, O103, O145, O111과 미국의 O157, O26, O45, O103, O111, O121, O145임.
- 2009년과 2010년의 미국의 식인성 질병 발발에 대한 분석에 따르면 가장 많은 사망자를 낸 병원균이 소고기에서 발견된 O157 VTEC 였으며, 사망자 3명이 발생함.

표 2-4. 아일랜드에서 다양한 부위와 형태의 소고기 sample에서 *E.coli* O157:H7의 수

Sample type	Sample numbers	Number positive (%)	Numbers present (Log ₁₀ CFU)	Reference
Bovine hide	1500	109 (7.3)	0.13-4.24/100 cm ²	O'Brien et al. (2005)
Beef carcasses	132	4 (3.0)	0.70-1.41/g	Camey et al. (2006)
Head meat	100	3 (3.0)	0.70-1.00/g	O'Brien et al. (2005)
Beef trimmings	1351	32 (2.4)	0.70-1.61/g	O'Brien et al. (2005)
Retail minced beef/burgers	1533	43 (2.8)	0.52-4.03/g	Cagney et al., 2004

- 아일랜드에서 모델 (소고기, 소매점에서의 제품)의 주요 지점에서의 *E.coli* O157:H7의 유행과 수에 대한 모델 산출물은 소고기 트리밍에서 *E.coli* O157:H7에 대한 미생물학적 감시 데이터를 사용하여 검증됨.
- 위 모델은 오염된 가죽 및 내용물이 가죽 껍질을 벗겨내는 등의 작업을 할 때 각각의 도체에 대한 교차 오염의 매개체라고 가정하고, 교차 오염 요인은 소가죽에 대한 병원체에 대한 아일랜드 감시 자료에 기초하여 작성됨.
- 시체의 더러운 부분의 트리밍을 포함한 도체 드레싱 작업 중 오염된 도체에 대한 *E.coli* O157:H7 수치의 변화, 도체 세척, 내장 제거 및 냉각은 병원균 수에 대한 연구에 기초하여 추정됨. 오염된 도체의 표면적, 트림의 표면적, 트림의 무게 및 박스 내에서의 트림 수를 고려하여, 도체로부터 트림으로의 오염 전달을 추정하기 위한 인자가 모델에 설정됨.
- 가정환경에서의 전형적인 소비자 저장 및 조리 실습에 대한 정보는 소비자에 대한 설문 조사에서 유래하였고, 소매 환경과 가정용 냉장고의 저장 온도에 대한 데이터는 기온 7 ~ 16°C로 가정됨.
- 각 모델에서의 *E.coli* O157:H7의 수를 확인한 결과, bovine hide에서 가장 많은 양성수가 검출되었음. 비율로 환산한 결과, 다른 모델들은 비슷한 Log₁₀CFU수를 나타냈으며 bovine hide가 가장 넓은 범위를 나타냄. 그 이유는 sample의 수가 워낙 많았기 때문임.

나. 식육 유래 오염균의 펄스전기장, 콜드플라즈마 처리 사례조사

(1) 식육 유래 오염균 펄스전기장 처리 사례

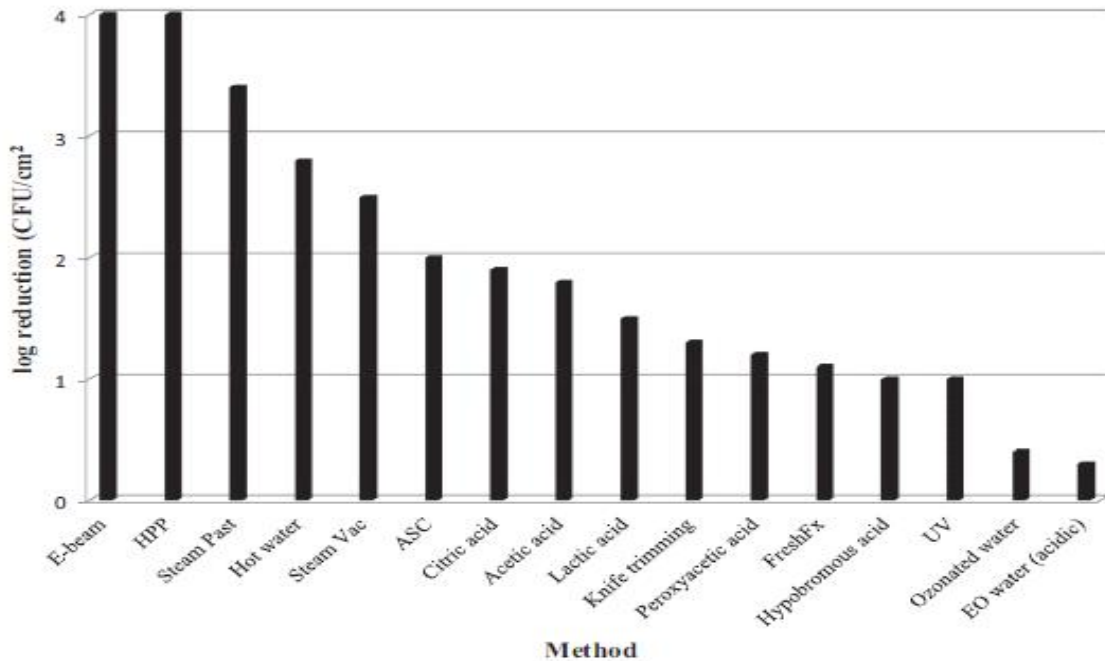


그림 2-2. 신선한 고기 표면에 오염된 *E.coli* O157:H7을 줄이기 위해 현재 사용 중이거나 조사 중에 있는 방법

- 현재 신선한 고기 표면에 오염된 *E.coli* O157:H7을 줄이기 위해 이용하는 방법으로는 E-beam, High Pressure Processing (HPP), Steam past, Hot water, Steam Vac, Acidified sodium chlorite (ASC), Citric acid, Acetic acid, Lactic acid, Knife trimming, Peroxyacetic acid, Fresh Fx, Hypobromous acid, UV, Ozonated water, EO water (acidec) 등의 기술들이 있음.
- 이 중 미생물수의 감소 (Log reduction (CFU/cm²)) 효과가 좋은 방법으로는 E-beam, HPP, Steam past, Hot water 등이 있음.
- High Pressure Processing (HPP)은 식품의 미생물 오염 방지를 위한 비열 살균 방법임. 장점으로서는 식품 전체에 걸쳐 미생물을 파괴하고 HPP가 적절하게 사용될 때 식품의 질감, 외양 또는 풍미를 변화시키지 않는다는 것임. HPP는 포장된 식품을 압력 용기에 넣고 수중에서 100~1000 MPa의 압력을 가하여 사용함.
- Electron-beam (E-beam)조사는 약 15mm만 투과할 수 있는 베타 광선으로 알려진 고에너지 전자의 흐름을 사용하며, X선 조사는 중간 침투를 가짐. 조사의 작용 방식은 박테리아 세포의 유전 물질에 손상을 주거나 정상적인 기능을 방해하는 것을 포함함. 1.0 ~ 10.0 kGy의 선량은 식품 오염 제거에 효과가 있는 것으로 나타남.

- Steam pasteurization은 100℃의 증기가 동일한 온도에서 물보다 훨씬 높은 열용량을 가지므로 증기가 표면에서 응축되면 표면의 온도가 보통 상태보다 더 빠르게 상승함. 이 증기 방울은 크기가 작아서 표면의 cavities에서 bacteria에 침투하여 불활성화 시킴.
- Hot water를 이용한 열처리의 작용 방식은 주로 DNA 가닥 파손과 RNA 분해를 일으키는 것 뿐만 아니라 세균의 생명체에 가장 민감한 중요한 효소를 비활성화 시킴. 자동화된 캐비닛형 설계가 널리 사용됨.
- ASC (Acidified sodium chlorite)는 미국에서 500~1200ppm의 농도로 사용이 승인됨. ASC의 항균 활성은 citric acid 또는 phosphate와의 혼합과 같은 산성 조건 하에서 아염소산 이온을 산 형태로 전환시킴으로써 유래되는 이차 산의 이산화탄소 산화 효과에 기인함.
- CAP (Cold atmospheric plasma)는 적용 시점에서 40℃ 이하에서 작동하는 약한 이온화 가스임. 플라즈마는 공기 또는 불활성 가스에서 생성되어 원자, 이온 및 라디칼과 같은 반응성 분자를 생성할 수 있음.
- UV (Ultraviolet) 조사는 병원, 실험실에서 표면, 공기 및 물의 오염 제거를 위해 일반적으로 사용하며, 수년간 수질 정화에 사용되어 옴.
- Pulsed electric field (PEF)를 이용하여 액체 시료에서 미생물을 살균하는 사례는 상당히 존재함. 그러나 PEF를 이용하여 식육 제품을 살균하는 연구 내용은 현재까지 그 사례가 없는 것으로 판단됨.

(2) 식육 유래 오염균 플라즈마 처리 사례

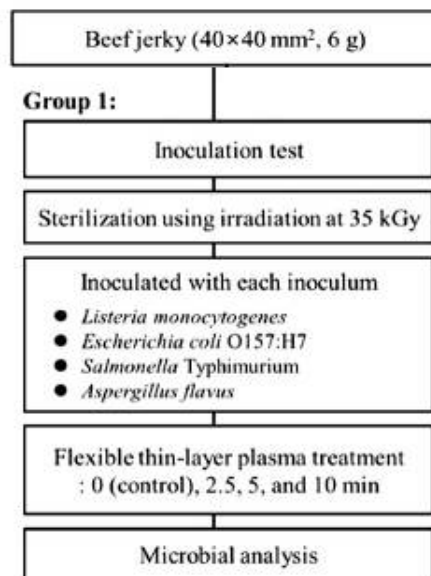


그림 2-3. 소고기 육포의 flexible thin-layer plasma 처리 과정 (after meat science, 2017)

- 육포의 살균을 위해 flexible thin-layer plasma 처리의 과정을 나타냄. 육포에 *Listeria monocytogene*, *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella Typhimurium*, *Aspergillus flavus*를 접종한 후 plasma를 처리 시간 별로 나누어 실험을 진행하였음.

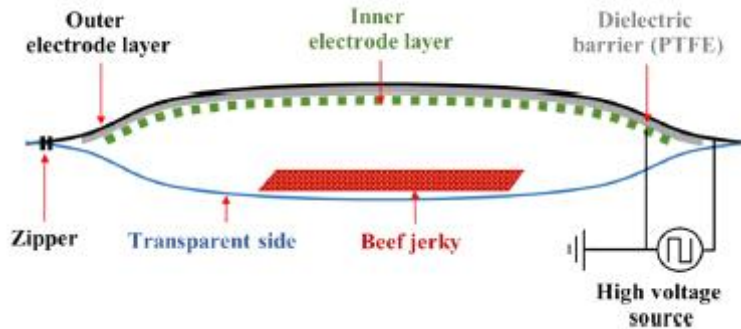


그림 2-4. 소고기 육포의 유연한 얇은 층 플라즈마 처리를 위한 실험 설정 (PTFE, polytetrafluoroethylene sheet) (after meat science, 2017)

- Flexible thin-layer plasma 시스템을 구축하기 위해 상업용 지퍼 식 패키지 (129 × 199mm) 내부에 polytetrafluoroethylene sheet (100 × 100mm)와 패턴 화 된 전도성 시트 (70 × 70mm)를 설치하였음. 샘플을 넣은 후 지퍼를 사용하여 패키지를 봉인한 후, 식품 패키지의 도전층 (외부 전극)에 15kHz의 바이폴라 구형파 전압을 가하면서, 규칙적인 도전성 시트 (내부 전극)를 접지시킴.

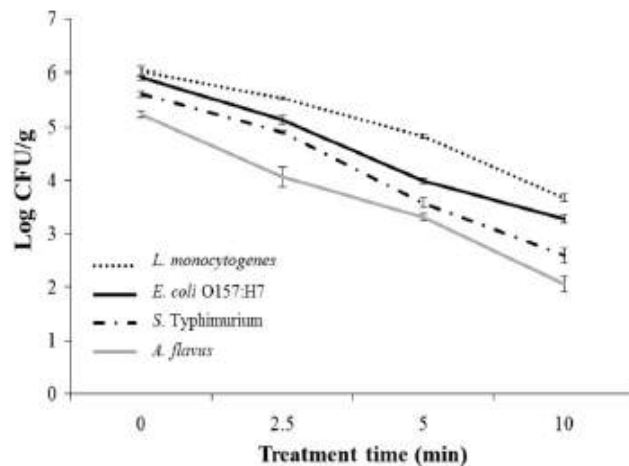


그림 2-5. 소고기 육포에 접종 된 다른 박테리아 및 곰팡이의 성장에 대한 Flexible thin-layer plasma의 불활성화 효과 (after meat science, 2017)

- Flexible thin-layer plasma treatment는 모든 박테리아와 곰팡이에 강력한 불활성화 효과를 나타냄. 소고기 육포에 대한 모든 접종원의 개체군은 처리 시간의 증가에 따라 감소함.
- 대조군 시료에서 *L. monocytogenes*, *E.coli* O157 : H7, *S.Typhimurium* 및 *A.flavus*의 수는 각각 6.04, 5.93, 5.62 및 5.24 Log CFU / g이었고, 각각 3.68, 3.28, 2.59, 10 분 동안 플라즈마 노출 후 2.06 log CFU / g. *L. monocytogenes*, *E. coli* O157 : H7 및 *S. Typhimurium* 개체군을 90 % (D 값)까지 감소시키는 데 필요한 시간은 각각 4.14, 3.74 및 3.22 분이었습니다.
- 혈장에 의해 생성된 에너지 중은 미생물 세포벽에 접근하여 직접 공격 할 수 있음. APP 처리의 결과로서의 세포 벽 구조물의 손상은 바실러스 세레우스 (*Bacillus cereus*) 영양 세포 및 포자 및 대장균에서 보고됨.

2. 펄스전기장(PEF), 콜드플라즈마(CP) 처리가 미생물 및 기생충에 미치는 영향

가. 원료육 처리를 위한 펄스전기장 처리 챔버의 제작

(1) 가동형 펄스전기장 챔버 제작의 목적

- 기존 펄스전기장 챔버의 경우 물속에서 처리하기 때문에 미생물의 살균효과를 검증하기에 다소 어려움이 있기에 물에 닿지 않은 새로운 챔버의 개발을 진행하였음.
- 물로 인한 소고기의 물성 및 형태의 변화가 적어 펄스전기장의 펄스전기장의 처리효과를 알아보는데 적합하며, electrode의 간격을 조절 할 수 있어 다양한 크기로 실험을 진행 할 수 있음.

(2) 원료육처리 전용 가동형 펄스전기장 챔버의 제작 초안



그림 2-6. 원료육처리 전용 가동형 펄스전기장 챔버의 디자인 초안 (A), (B), (C)

- 가동형 펄스전기장 챔버의 디자인을 크게 3가지로 초안을 만들어 보았음(그림0-6).
- (A)는 electrode를 추가하여 가동이 가능하도록 양쪽에 볼트와 너트를 이용하여 시료의 크기별로 electrode gab을 조절할 수 있도록 고안하였음.
- (B)는 electrode를 추가하여 가동이 가능하도록 양쪽에 원기둥과 볼트를 이용하여 시료의 크기별로 electrode gab을 조절할 수 있도록 고안하였음.
- (C)는 electrode를 추가하여 가동이 가능하도록 양쪽 모퉁이에 스프링을 이용하여 시료의 크기별로 electrode gab을 조절할 수 있도록 고안하였음.

(3) 원료육처리 전용 가동형 펄스전기장 챔버의 설계 및 제작

- 그림 0-1 에서 고안된 아이디어를 바탕으로 실제 제작을 위한 가동식 PEF chamber의 CAD 도면을 제작하였음(그림2-7).
- 기존의 PEF batch chamber의 형태에 추가로 electrode를 추가하고, 볼트와 너트를 이용하여 electrode gab을 조절하는 형태로 제작하였음.



그림 2-7. 원료육처리 전용 가동형 펄스전기장 챔버의 CAD 도면

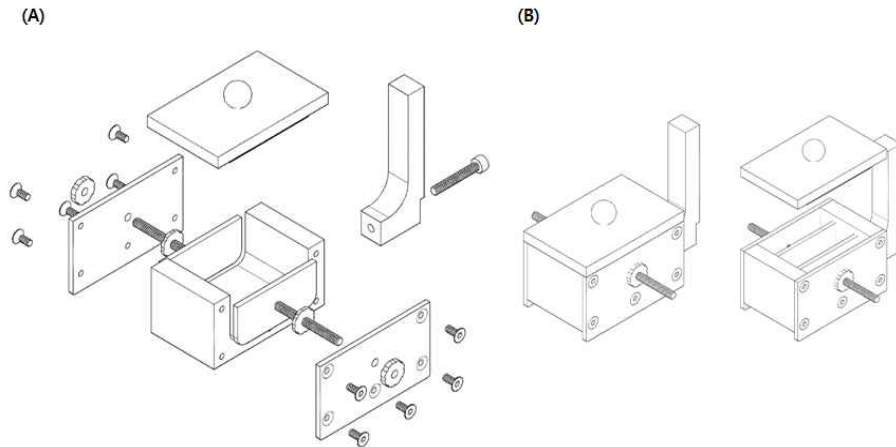


그림 2-8. 원료육처리 가동형 펄스전기장 챔버의 부품 조립도 (A),
입체 완성도 (B)

- 가동형 펄스전기장 챔버의 부품과 조립도를 그림 0-17의 입체 그림으로 표현하였음. 플라스틱 틀을 기초로 하여 양쪽 옆면이 electrode가 되며 그 사이에 electrode와 볼트를 접합하여 추가하였음 (그림 2-8A).
- 그림2-8B는 가동형 펄스전기장 챔버의 입체 완성도로써, 뚜껑을 열고 시료를 넣고 뚜껑을 닫아서 사용할 수 있음.

(4) 가동형 펄스전기장 챔버의 제작 및 실제 적용 형태

- 제작된 가동형 chamber는 내부의 electrode gab을 1~5cm까지 자유롭게 조절할 수 있음(그림 2-9).
- 내외부에 있는 너트를 이용해 가동되는 electrode를 더욱 단단히 고정시켜 PEF 처리 시 electrode가 흔들리는 것을 막아줄 수 있음.
- 기존의 PEF batch chamber와는 다르게 옆면에 돌출된 볼트가 있음. 이것은 그림0-9B에서 보이는 가동형 펄스전기장 챔버의 사용 모습처럼 chamber의 주입구 양 옆을 돌출된 크기만큼 자르는 것으로 해결함.

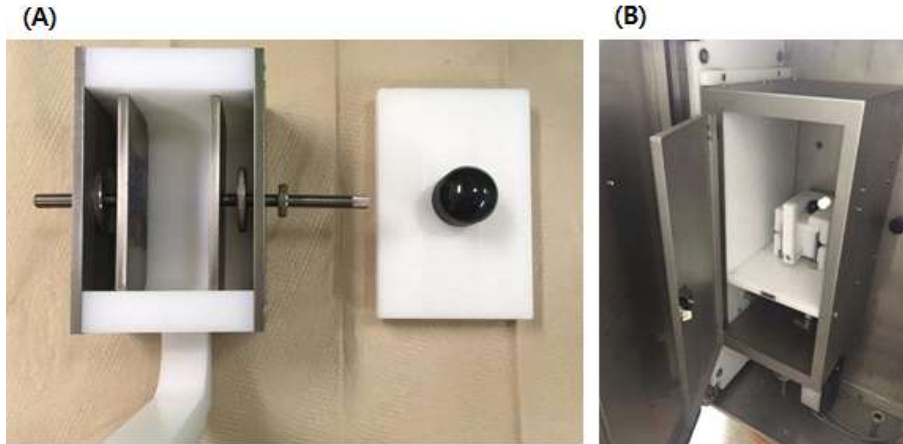


그림 2-9. 가동형 PEF chamber의 모습 (A), 원료육처리 전용으로 제작된 가동형 chamber 가 PEF generator에 장착된 모습 (B)

(5) 가동형 펄스전기장 챔버의 전기장 형성을 위한 모델 시스템

○ 원료육 처리전 사전테스트를 통한 전기장 형성확인

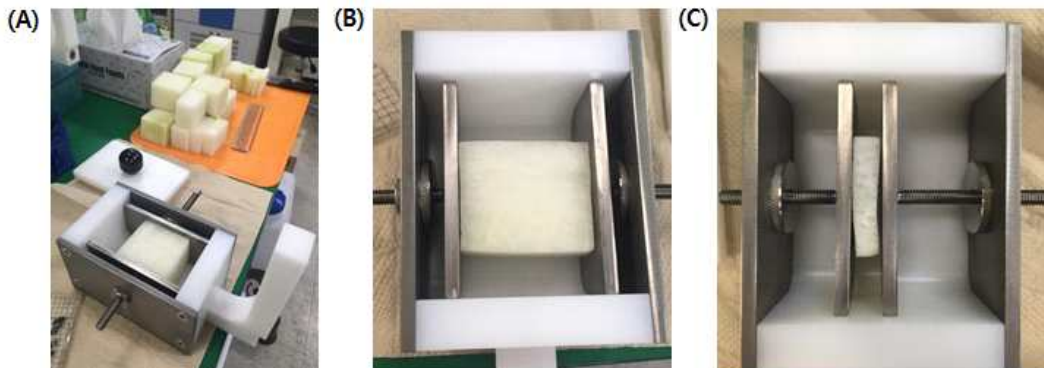


그림 2-10. 가동형 펄스전기장 챔버의 처리 테스트 (A), 모델시료로 사용된 무를 5 x 1 x 4 cm 로 절단 후 처리하는 모습 (B), 5 x 1 x 1 cm 로 절단 후 처리하는 모습 (C)

- 원료육의 펄스전기장 처리를 위해 가동식 PEF chamber 에 대한 사전 테스트가 실행됨.
- 가동형 PEF chamber를 다양한 두께의 원료육에 적용하기 위해 PEF parameters 즉, 펄스의 세기(Field strength, kV/cm), 펄스폭(Pulse width, μ s)을 설정하는 실험을 진행함.
- 실험은 원료육과 전기전도도가 유사하며 다양한 크기로 절단이 용이한 무(White radish)를 이용하여 수행하였음.

○ 원료육 처리 전용 가동형 펄스전기장 챔버를 이용한 전기장 형성

- Pulse width 20 μ s, frequency 25 Hz, pulse number 100으로 고정한 후 가동형 PEF chamber 를 이용하여 시료의 크기별로 각각의 처리조건에 따른 전기장 세기(Field strength)를 확인하였음 (표 2-5).
- 시료의 사이즈가 5x1x4일 때, 최대 field strength는 2.6 kV/cm로 out voltage를 30%까지 처리할 수 있었음.
- 시료의 사이즈가 5x1x2일 때, 최대 field strength는 2.7 kV/cm로 out voltage를 30%까지 처리할 수 있었음.
- 시료의 사이즈가 5x1x1일 때, 최대 field strength는 3.4 kV/cm로 out voltage를 30%까지 처리할 수 있었음.
- 적용되는 시료의 크기가 작을수록 같은 out voltage에서 더 큰 field strength를 보임.

표 2-5. 시료의 크기에 따른 가동형 펄스전기장 챔버 내부의 전기장 형성 정도 (1)

Size (cm)	Field strength (kV/cm)	Out voltage (%)	Pulse width (μ s)	Frequency (Hz)	Pulse number
5 x 1 x 4	1	10	20	25	100
	1.7	20			
	2.6	30			
	X	35			
5 x 1 x 2	1.3	10	20	25	100
	2.4	20			
	2.7	30			
	X	35			
5 x 1 x 1	1.2	10	20	25	100
	2.3	20			
	3.4	30			
	X	35			

표 2-6. 시료의 크기에 따른 가동형 펄스전기장 챔버 내부의 전기장 형성 정도 (2)

Size (cm)	Field strength (kV/cm)	Out voltage (%)	Pulse width (μ s)	Frequency (Hz)	Pulse number
5 x 1 x 4	1	10	30	25	100
	1.4	20			
	2.9	30			
	X	35			
5 x 1 x 2	1.9	10	30	25	100
	2.6	20			
	2.9	25			
	X	30			
5 x 1 x 1	1.8	10	30	25	100
	2.9	20			
	3.2	25			
	X	30			

- Pulse width 30 μ s, frequency 25 Hz, pulse number 100으로 고정한 후 처리하여 시료의 field strength를 확인하였음 (표 2-6).
- 시료의 사이즈가 5x1x4일 때, 최대 field strength는 2.9 kV/cm로 out voltage를 30%까지 처리할 수 있었음.
- 시료의 사이즈가 5x1x2일 때, 최대 field strength는 2.9 kV/cm로 out voltage를 25%까지 처리할 수 있었음.
- 시료의 사이즈가 5x1x1일 때, 최대 field strength는 3.2 kV/cm로 out voltage를 25%까지 처리할 수 있었음.

표 2-7. 시료의 크기에 따른 가동형 펄스전기장 챔버 내부의 전기장 형성정도 (3)

Size (cm)	Field strength (kV/cm)	Out voltage (%)	Pulse width (μ s)	Frequency (Hz)	Pulse number
5 x 2 x 4	0.4	10	20	25	100
	0.8	20			
	1.6	30			
	1.9	35			
	X	40			
5 x 2 x 2	1	10	20	25	100
	1.4	20			
	2.1	30			
	X	35			
5 x 2 x 1	1.3	10	20	25	100
	1.6	20			
	1.9	25			
	2.4	30			
	X	35			

- Pulse width 20 μ s, frequency 25 Hz, pulse number 100으로 고정한 후 처리하여 시료의 field strength를 확인하였음 (표 2-7).
- 시료의 사이즈가 5x2x4일 때, 최대 field strength는 1.9 kV/cm로 out voltage를 35%까지 처리할 수 있었음.
- 시료의 사이즈가 5x2x2일 때, 최대 field strength는 2.1 kV/cm로 out voltage를 30%까지 처리할 수 있었음.
- 시료의 사이즈가 5x2x1일 때, 최대 field strength는 2.4 kV/cm로 out voltage를 30%까지 처리할 수 있었음. 표 0-5과 비교하여 시료의 사이즈가 클수록 같은 out voltage에서도 더 낮은 field strength를 보임.

표 2-8. 시료의 크기에 따른 가동형 펄스전기장 챔버 내부의 전기장 형성 정도 (4)

Size (cm)	Field strength (kV/cm)	Out voltage (%)	Pulse width (μ s)	Frequency (Hz)	Pulse number
5 x 2 x 4	0.5	10	30	25	100
	1.3	20			
	1.7	25			
	X	30			
5 x 2 x 2	1.3	10	30	25	100
	1.8	20			
	2	25			
	X	30			
5 x 2 x 1	1.1	10	30	25	100
	2	20			
	2.1	25			
	X	30			

- Pulse width 30 μ s, frequency 25 Hz, pulse number 100으로 고정한 후 처리하여 시료의 field strength를 확인하였음 (표 2-8).
- 시료의 사이즈가 5x2x4일 때, 최대 field strength는 1.7 kV/cm로 out voltage를 25%까지 처리할 수 있었음.
- 시료의 사이즈가 5x2x2일 때, 최대 field strength는 2.0 kV/cm로 out voltage를 25%까지 처리할 수 있었음.
- 시료의 사이즈가 5x2x1일 때, 최대 field strength는 2.1 kV/cm로 out voltage를 25%까지 처리할 수 있었음.
- 표 2-6과 비교하여 시료의 사이즈가 클수록 같은 out voltage에서도 더 낮은 field strength를 보임.

○ 펄스전기장 처리를 위한 원료육 선정

- 원료육의 펄스전기장 처리를 위해서는 지방함량이 적고 조직이 균일하며 육회 등의 원료로 널리 사용되는 소고기 흉두깨살을 선정하였음.
- 소고기 흉두깨살은 이후의 실험에서 일관되게 사용되었으며 향후 육회, 장조림, 육포 등 가공육제품의 원료로 적합한 시료로 판단됨.

- 모델시스템인 무를 이용한 테스트 결과, 시료의 사이즈가 클수록 field strength가 약하게 걸리는 것을 확인할 수 있었음.
- 이로 인해 소고기 (홍두깨살)의 펄스전기장 처리는 2 x 2 x 1 cm 크기로 시료를 절단하여 실험을 진행함.

○ 펄스전기장 처리에 의한 원료육 내부의 전기장 형성

- 소고기의 사이즈는 2x2x1로 하여 가정용 슬라이서를 이용하여 절단하였으며, pulse width, frequency, out voltage 등의 조건을 바꾸어가며 펄스전기장을 처리하였음 (그림 2-11).
- Out voltage가 40% 이상에서는 원료육 시료의 온도가 상승하는 현상이 발생함. 따라서 out voltage는 40% 이하에서 조건을 확립하였으며, frequency를 20 Hz, pulse number를 100으로 고정하고 pulse width를 변화하여 측정한 결과로 펄스의 폭이 30 μ s일 때 전기장의 상승이 가장 수월하여 적합한 처리조건으로 판단함.
- 이후 실험은 위의 조건을 참고하며, 각 요소들을 조절하며 최종 Field strength를 0.5 ~ 2.5 kV/cm 에 도달하게 하여 실험을 진행하였음

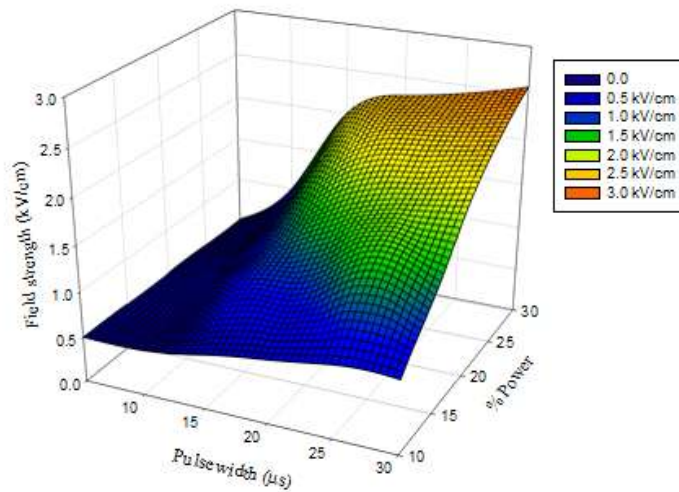


그림 2-11. 펄스전기장 처리에 의한 원료육 내부의 전기장 형성

표 2-9. 펄스전기장 처리에 의한 원료육 내부의 전기장 형성

% Power	Electric field strength (kV/cm)	Pulse width	Frequency	Pulse number
10	0.5	5	20	100
15	0.5	5	20	100
20	0.5	5	20	100
25	0.5	5	20	100
10	0.5	10	20	100
15	0.5	10	20	100
20	0.7	10	20	100
25	0.8	10	20	100
10	0.7	20	20	100
15	1.1	20	20	100
20	1.6	20	20	100
25	2.1	20	20	100
10	0.8	25	20	100
15	1.5	25	20	100
20	1.8	25	20	100
25	2.2	25	20	100
10	0.8	30	20	100
15	1.3	30	20	100
20	1.9	30	20	100
25	2.3	30	20	100

나. 대상균주 선정 및 액상시스템에서의 효과검증

(1) 식육 유래 오염균 살균 처리 대상 선정

- 식육 유래 오염균 선행조사 결과를 토대로 우선적으로 *Escherichia coli* 와 *Lactobacillus plantarum* 를 이용하여 살균 처리 효과를 검증함

(2) 액상시스템에서의 효과 검증

- 원료육에 적용하기전 펄스전기장의 살균효과를 검증하기 위해 액상모델에 적용시켜 살균효과를 검증하였음.

○ *Escherichia coli*

- *Escherichia coli*는 한국 미생물보존센터에서부터 공급받아 single colony를 Nutrient broth 배지에 접종하여 진탕 배양기에서 30°C, 150 rpm 으로 1일간 배양 함. 초기 균수 10⁷ CFU/mL 수준에서 고전압 펄스장치 Batch chamber에서 조건과 같이 처리 후 Standard solution에서 희석하여 Nutrient agar NaCl3·5%, pH4·5 조건 배지에 각각 접종 함. 36°C에서 1일 배양 후 미생물 살균 효과 및 sub-lethal injury를 확인함.

표 2-10. PEF processing conditions for the inactivation test of *Escherichia coli*

Field strength(kV/cm)	Pulse width(μ s)	Frequency(Hz)
10	30	50
15	30	50
20	30	50

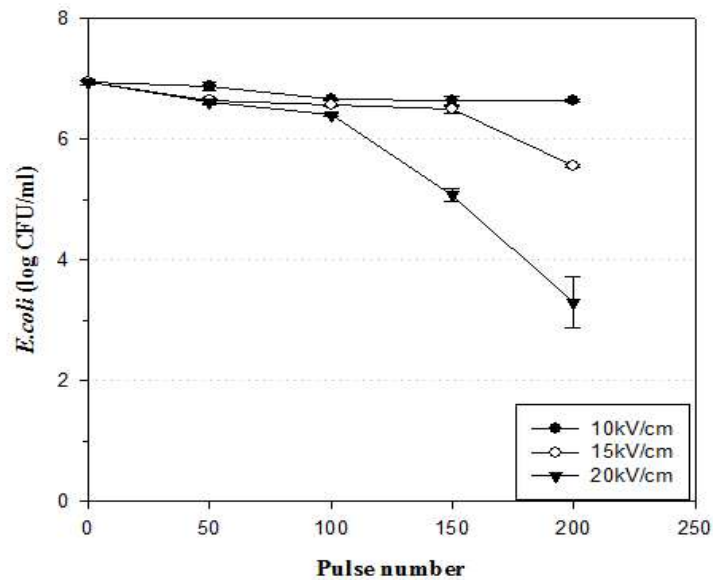


그림 2-12. PEF 처리 시간에 의한 *Escherichia coli* 생존율 곡선 (처리 강도: 10 kV/cm, 15 kV/cm, 20 kV/cm)

- 펄스전기장 처리에 따른 *Escherichia coli*의 생존율 결과, 10 kV/cm 처리 조건에서는 *Escherichia coli*의 감소 효과를 거의 볼 수 없었으며, 15 kV/cm 처리 조건에서는 pulse number가 200일 때 log사이클 수가 6 CFU/ml 이하로 감소하는 것을 볼 수 있음. 또, 20 kV/cm 처리 조건에서는 150 pulse number일 때 log 사이클 수가 약 5 CFU/ml로 감소하였으며, pulse number가 200일 때는 4 CFU/ml이하로 감소함.
- 위 결과를 토대로 PEF 처리에 의한 *Escherichia coli*의 생존율 감소 효과를 확인할 수 있음.

○ *Lactobacillus plantarum*

- *Lactobacillus plantarum*는 한국 미생물보존센터에서부터 공급받아 single colony를 Nutrient broth 배지에 접종하여 진탕 배양기에서 30°C, 150 rpm 으로 1일간 배양 함. 초기 균수 10^7

CFU/mL 수준에서 고전압 펄스장치 Batch chamber에서 조건과 같이 처리 후 Standard solution에서 희석하여 Nutrient agar NaCl3·5%, pH4·5 조건 배지에 각각 접종 함. 36°C 에서 1일 배양 후 미생물 살균 효과 및 sub-lethal injury를 확인함.

표 2-11. PEF processing conditions for the inactivation test of *Lactobacillus plantarum*

Field strength(kV/cm)	Pulse width(μs)	Frequency(Hz)
10	30	50
15	30	50
20	30	50

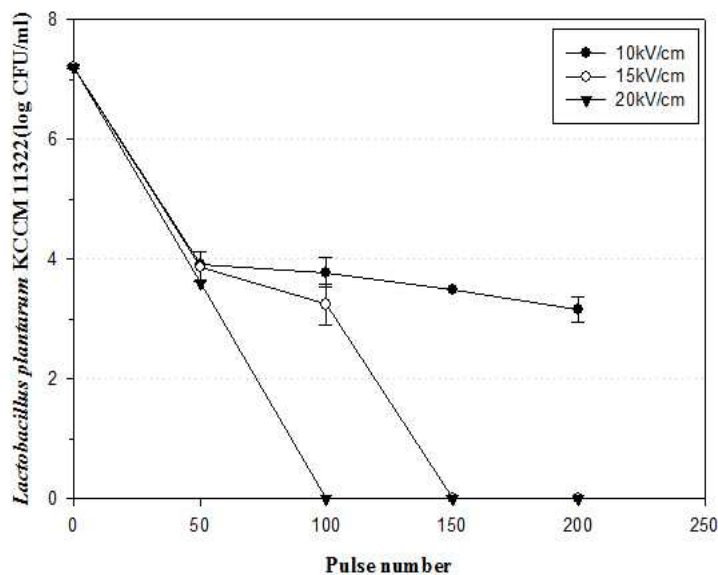


그림 2-13. PEF 처리에 의한 *Lactobacillus plantarum* 생존율 곡선 (처리 강도: 10 kV/cm, 15 kV/cm, 20 kV/cm)

- PEF 처리에 따른 *Lactobacillus plantarum*의 생존율 결과, 10 kV/cm 처리 조건에서는 pulse number가 50일 때 *Lactobacillus plantarum*의 생존율이 약 4 CFU/ml로 감소하였으며, 그 이후 pulse number를 증가시켜도 생존율 감소 효과를 거의 볼 수 없었음. 15 kV/cm 처리 조건에서는 pulse number가 50일 때는 10 kV/cm와 동일하게 log사이클 수가 약 4 CFU/ml 이하로 감소하였고, 150 pulse 이상에서는 완전히 사멸되는 것을 볼 수 있음. 또, 20 kV/cm 처리 조건에서도 역시 50 pulse number일 때 log 사이클 수가 약 4 CFU/ml로 감소하였으며, pulse number가 100일 때 완전히 사멸하는 것을 볼 수 있음.

(2) 대상균주 및 기생충 접종방법

○ 대상균주 및 기생충 접종

- 도축 직후 진공포장된 원료육을 일반세균검사를 한 결과 미생물이 검출되지 않았으며, 기생충 또한 농장단위로 관리되어 발견되지 않음으로 접종을 통한 인위적인 미생물 및 기생충 접종을 실시함.
- 접종한 미생물은 위생지표세균인 *Escherichia coli* 를 선택하였으며, 추가적으로 곰팡이등의 오염을 확인하기위해 *Saccharomyces cerevisiae* 를 추가적으로 선택함.
- 대상 기생충은 육안으로 확인을 쉽게하기위해 고등어 내장에서 분리한 고래회충(*Anisakis*. spp)를 선택함.
- 접종은 액체배양 및 2차 계대배양을 거친 뒤 소고기 표면에 접종하였으며, 소고기 표면에서 내부로 침투를 막고자 젤라틴용액(20% v/v)으로 코팅을 실시한 뒤 진행함.
- 0.2mL을 접종후 펄스전기장 및 콜드플라즈마 처리 후 피펫스왑(3M)을 통해 표면의 미생물만을 채취하였음
- 기생충은 고등어에서 분리 후 10 마리 이상을 소고기표면 위에 올려놓고 펄스전기장 및 콜드플라즈마 처리 후 생존여부를 확인하였음.



그림 2-14. 소고기 표면에 올려 놓은 고래회충

○ 접종 전 대상균주의 성장곡선

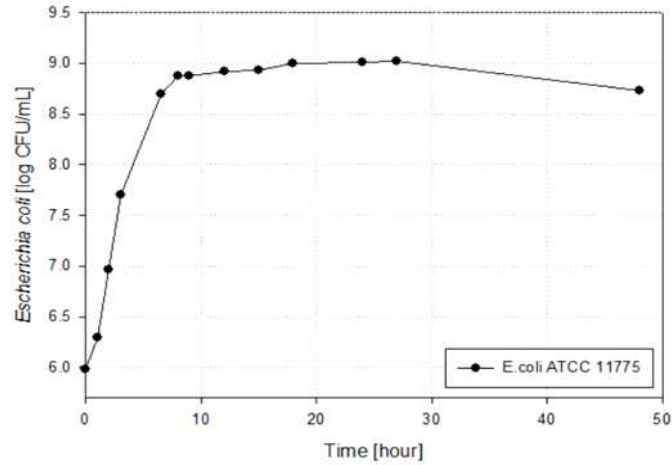


그림 2-15. *E.coli* K12 (ATCC 11775)의 성장 곡선

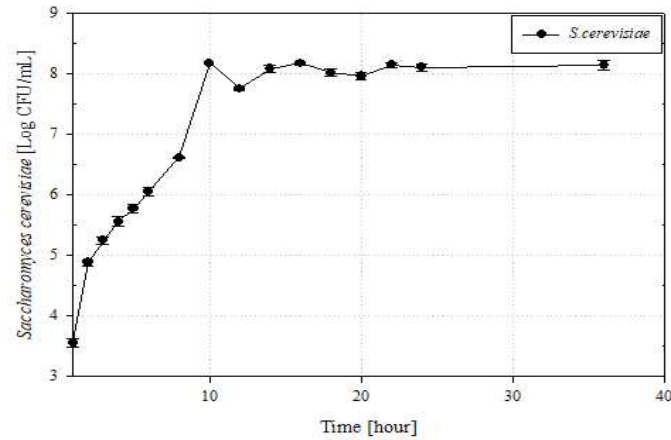


그림 2-16. *S.cerevisiae* 의 성장곡선

- *Escherichia.coli* (K-12) 균주는 TSB 배지에 배양 후 약 10시간 이후 9.0 log CFU/ml 로 균이 성장함을 확인
- *Saccharomyces cerevisiae* 균주는 YM 배지에 배양 후 약 10시간 이후 8.0 log CFU/mL로 균 이 성장함을 확인

다. 원료육의 펄스전기장(PEF), 콜드플라즈마(CP) 처리 효과검증

(1) 원료육 표면에서의 오염균 및 기생충의 펄스전기장(PEF) 효과 검증

○ 펄스전기장 처리조건

- 미생물은 표면을 코팅한 샘플위에 0.2mL 분주하고 새로이 제작된 가동형 챔버를 통해 처리를 진행하였음.
- 기생충은 10 마리 이상 핀셋으로 골라내어 전극이 닿지 않은 표면위에 올려 놓은뒤 처리를 진행하였음.
- 펄스전기장 처리 조건은 표 0-12 와 같이 설정된 조건으로 진행하였음.

표 2-12. 미생물 및 기생충을 접종한 원료육의 펄스전기장 처리조건

Size (cm)	Field strength (kV/cm)	Out voltage (%)	Pulse width (μs)	Frequency (Hz)	Pulse number
2 x 2 x 2	1.0	13	20	50	150
	1.5	20			
	2.0	26			

○ 펄스전기장 처리효과 검증

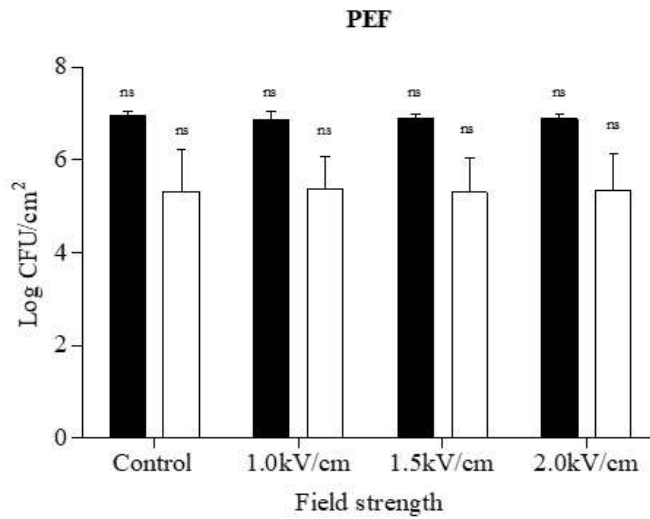


그림 2-17. 미생물을 접종한 원료육의 펄스전기장 처리 후 미생물 집락 수 (■-*E. Coli*, □-*S. Cerevisiae*)

표 2-13. 펄스전기장 처리를 통한 기생충 사멸여부

Field strength(kV/cm)	Survival
0.5	Survived
1.0	Not survived
2.0	Not survived

- 펄스처리장 처리 결과 원료육의 표면 미생물의 경우 log scale 이상 감소시키지 못하였음 (그림 2-17).
- 기생충의 경우 0.5 kV/cm 에서는 일부 살아있는 개체를 발견 할 수 있었지만, 1.0 kV/cm 이상의 처리 강도에서는 모두 사멸한 것을 확인함 (표 2-13).
- 표면 미생물의 경우 액상시스템과 달리 전압이 충분히 상승하지 않기에 살균효과를 보기 어려웠고, 기생충의 경우는 효과가 상당히 있음을 확인하였음.

(2) 원료육 표면에서의 오염균 및 기생충의 콜드플라즈마(CP) 효과 검증

○ 콜드플라즈마 처리조건

- 펄스전기장 처리와 같은 방법으로 미생물과 기생충을 분주하였음.
- 콜드플라즈마를 처리하기 위해 플라스틱 package 에 샘플을 넣고 밀봉한 뒤 처리를 진행하였음.
- 콜드플라즈마 처리 후 충분한 반응을 위해 1시간동안 냉장고에서 반응을 시킨 뒤 미생물을 채취하였음.
- 콜드플라즈마는 표 2-13과 같은 조건으로 처리하였으며, 그림0-18,19과 같은 장치를 사용하여 조건을 설정하였음.

표 2-13. 미생물 및 기생충을 접종한 원료육의 콜드플라즈마 처리조건

Inlet Voltage(V)	Outlet Voltage(kV)	Treatment time(min.)	Electrode gap(cm)
100	18	3	0.5
130	24		



그림2-18. 콜드플라즈마 발생을 위한 전압설정



그림2-19. 콜드플라즈마 처리모습

○ 콜드플라즈마 처리 효과 검증

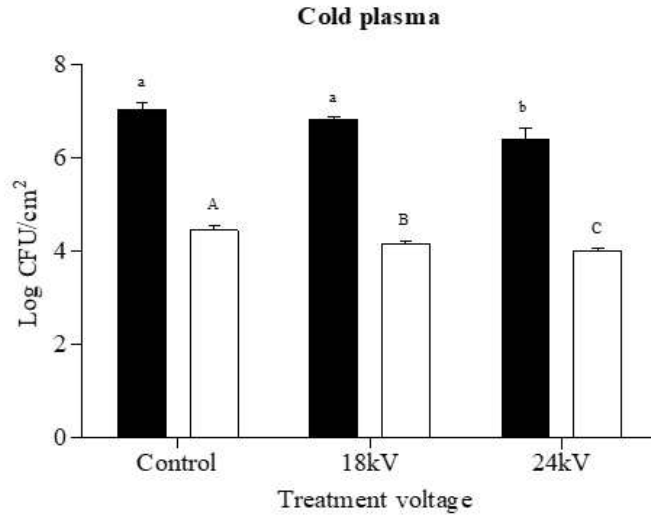


그림2-20. 미생물을 접종한 원료육의 콜드플라즈마 처리 후 미생물 집락 수 (■-*E. Coli*, □-*S. Cerevisiae*)

표 2-14. 콜드플라즈마 처리를 통한 기생충 사멸여부

Inlet voltage(V)	Outlet voltage(kV)	Survival
100	18	Survived
130	24	Not survived

- 콜드플라즈마 처리 시 24kV 처리군에서 *E. Coli*는 0.6 log *S. Cerevisiae*는 0.4 log가 유의적으로 감소함을 보였으나 1.0 log scale 이상 감소하지 않아 효과가 크지 않았음(그림2-20).
- 콜드플라즈마에서는 모든 처리군에서 생존하는 개체가 발견되었음 (표 2-14).
- 미생물 살균에 있어서는 두 처리방법 모두 효과를 볼 수 없었지만, 기생충 저감화에서 펄스 전기장처리가 효과가 있음을 확인하였음, 따라서 추후 생선회등 기생충에 위험이 있는 식품에 적용이 가능할 것으로 사료됨.
- 살균효과 검증 이후 모든 연구는 펄스전기장 처리만 진행하였음.

3. 펄스전기장(PEF) 처리에 의한 원료육의 품질특성 변화

가. 펄스전기장 처리한 원료육의 물리적 특성

(1) 원료육의 펄스전기장 처리조건

- 원료육의 펄스전기장 처리를 위해 지방함량이 매우 적고, 근섬유 조직이 균일하고, 육회등의 원료로 널리 이용되는 소고기 흉두깨살을 사용하였음.
- 원료육의 펄스전기장 처리를 통한 물리적 특성변화를 확인하기 위해 처리조건은 가동형 챔버의 내부의 전기장형성 결과를 종합하여 결정하였음 (표 2-15).

표 2-15. 원료육의 물리적 특성변화 확인을 위한 펄스전기장 처리 조건

Size (cm)	Field strength (kV/cm)	Out voltage (%)	Pulse width (μs)	Frequency (Hz)	Pulse number
2 x 2 x 1	0.5	5	30	20	100
	1.0	10			
	1.5	15			
	2.0	20			

*Biological electric conductivity was treated with the above conditions and cut into 1 x 1 x 1 cm.

*Cutting force was treated with the above conditions and cut into 2 x 1 x 1 cm.

- pH, temperature 측정 시에는 소고기의 사이즈를 2 x 2 x 1cm로 절단한 다음 펄스전기장의 field strength를 0.5 kV/cm ~ 2.0 kV/cm로 처리하여 실험을 진행하였음.

(2) 원료육의 근섬유 조직 방향에 따른 펄스전기장 처리

- 고기조직은 근섬유의 결에 따라 방향성이 존재한다. 원료육의 펄스전기장 처리는 방향성에 따라 다른 효과를 가져올 수 있으므로 근섬유의 방향성에 따른 펄스전기장 처리를 정의하였음.
- 근섬유 결에 수직인 방향으로 처리 및 측정하는 것을 longitudinal PEF treatment, 결이 수평인 방향으로 처리 및 측정하는 것을 transverse PEF treatment로 지칭함 (그림 2-21).

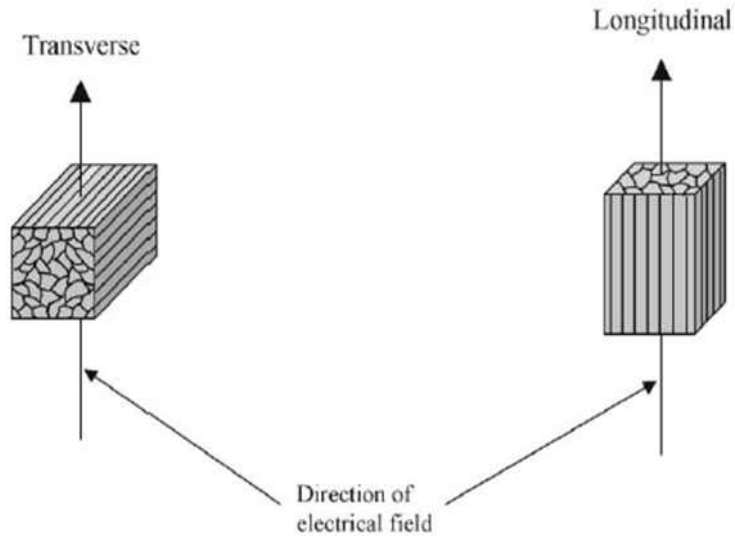


그림 2-21. 원료육(소고기 홍두깨 살)의 근섬유 결 방향에 따른 펄스전기장 처리

(3) 원료육의 펄스전기장 처리에 의한 생물학적 전기전도도 측정

- 원료육의 전기화학적 특성분석을 위해 생물학적 전기 전도도 (Biological electric conductivity) 측정을 수행함. 전기전도도란 전기가 통하기 쉬운 정도를 나타내는 것으로 전기 저항의 역수로 나타낼 수 있음. 펄스전기장 처리전후 시료의 생물학적 전기전도도의 측정은 LCR meter를 이용하여 1 V에서 frequency를 1 KHz ~ 2 MHz까지 변화시키며 측정하였음 (그림 2-22).
- 생물학적 전기전도도 측정 시에는 소고기의 사이즈를 2 x 2 x 1cm로 절단한 다음 펄스전기장의 field strength를 0.5 kV/cm ~ 2.0 kV/cm로 처리한 후 1 x 1 x 1cm로 절단하여 실험을 진행하였음.

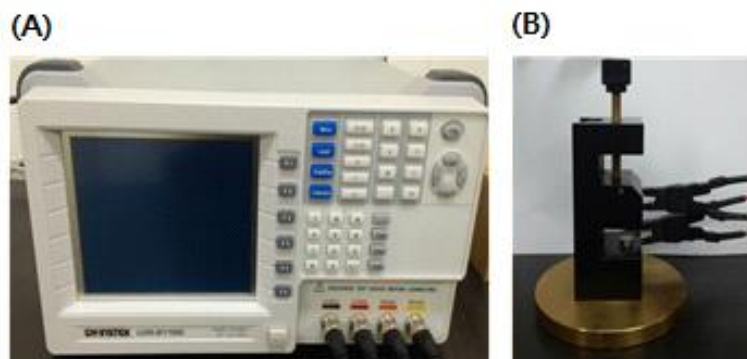


그림 2-22. 전기화학적 특성분석을 위해 사용된 LCR meter (A) 및 시료 로딩용 probe (B)

- 전기전도도에 따라 원료육 내 세포막의 파괴되었음을 간접적으로 나타낼 수 있으며, 전기전도도가 클수록 세포막이 더 크게 파괴되었음을 예측할 수 있음.
- 펄스전기장 처리 전후 원료육 시료의 전기전도도 측정은 그림 0-26의 측정 장치를 이용하였으며 측정직전 원료육 시료는 1x1x1 cm 로 절단하여 사용하였음.
- 측정된 교류저항 impedance 값은 아래의 식을 이용해 전도도 값으로 전환됨. 이때 l은 sample의 길이, A는 sample의 단면적, $Z(j\omega)$ 는 impedance를 나타냄.

$$\sigma(\omega)^s = \frac{1}{A|Z(j\omega)^s|}$$

(4) 펄스전기장 처리 및 처리 방향에 따른 원료육의 생물학적 전기전도도 변화

○ Longitudinal 방향 처리 후 전기전도도 변화

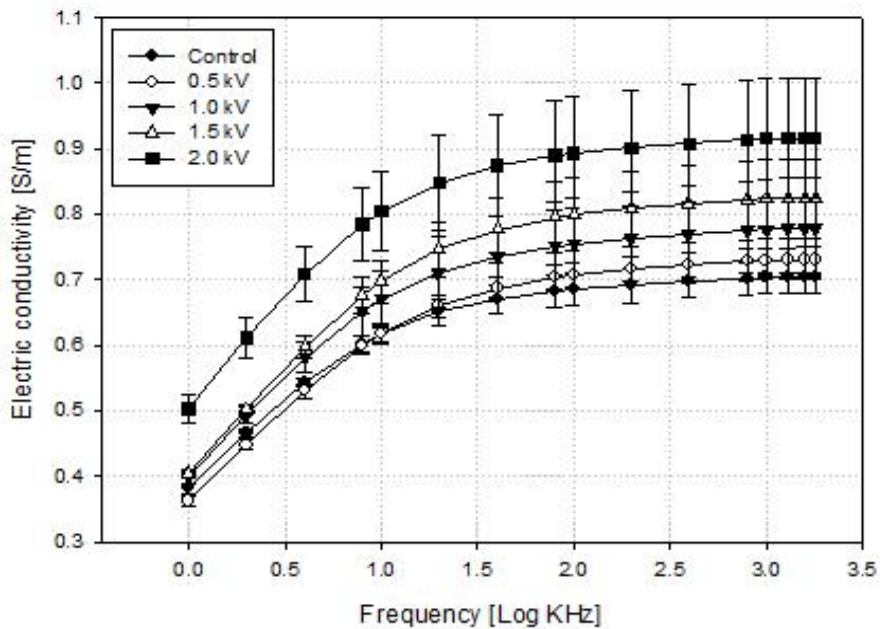


그림 2-23. 원료육 시료의 펄스전기장 처리 (longitudinal direction) 에 따른 전기전도도 변화

- 원료육 시료의 펄스전기장 처리 (longitudinal direction) 에 따른 전기전도도 변화를 그림 2-23에 제시하였음.

- 대조군은 최대 전기전도도가 약 0.7 S/m로 가장 낮았고, 2.0 kV/cm 처리를 한 소고기의 최대 전기전도도는 약 0.9 S/m로 가장 높았으며, 이는 펄스전기장의 처리 강도가 강한 처리를 받은 소고기 일수록 생물학적 전기전도도가 점차 증가하는 추세를 보이고 있음.
- 이 결과, longitudinal 방향에서 측정된 전기전도도는 펄스전기장의 처리 강도가 강할수록 조직의 파괴된다고 판단할 수 있으며, 펄스전기장 처리의 효과가 나타났다고 판단됨.

○ Transverse 방향 처리 후 전기전도도 변화

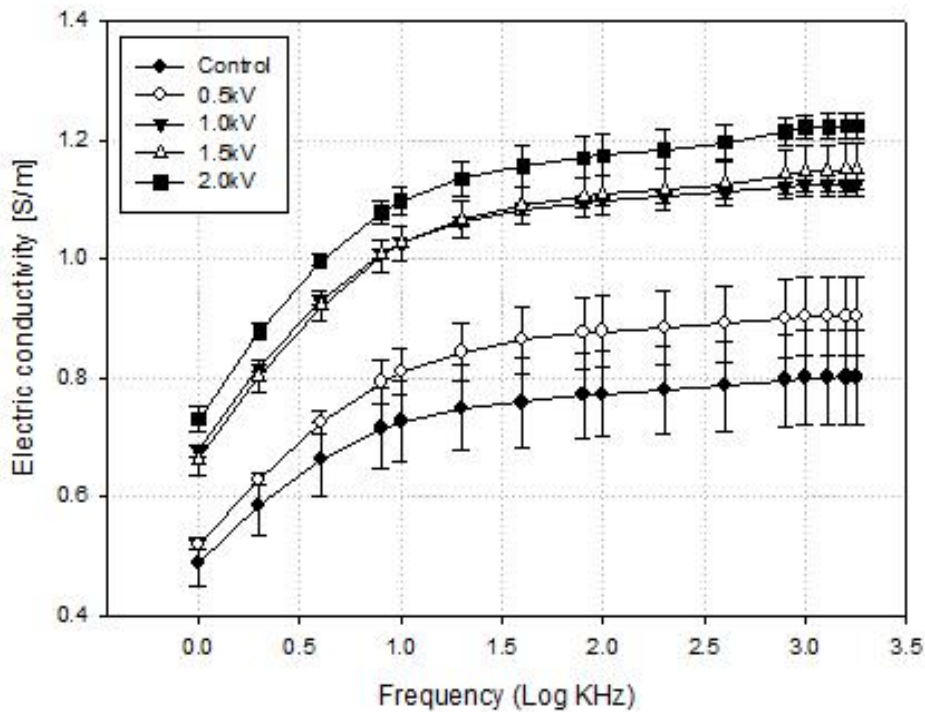


그림 2-24. 원료육 시료의 펄스전기장 처리 (transverse direction) 에 따른 전기전도도 변화

- 원료육 시료의 펄스전기장 처리 (transverse direction) 에 따른 전기전도도 변화를 그림 0-24 에 제시하였음.
- Control은 최대 전기전도도가 약 0.8 S/m로 가장 낮았고, 2.0 kV/cm 처리를 한 소고기의 최대 전기전도도는 약 1.2 S/m로 가장 높았으며, 이는 longitudinal 방향과 동일한 추세를 보이며, 펄스전기장의 처리 강도가 강한 처리를 받은 소고기 일수록 생물학적 전기전도도가 점차 증가하는 추세를 보이고 있음.
- 이 결과, transverse 방향에서 측정된 전기전도도 역시 펄스전기장의 처리 강도가 강할수록 조직의 파괴된다고 판단할 수 있으며, 펄스전기장 처리의 효과가 나타났다고 판단됨.

(5) 펄스전기장 처리에 의한 원료육의 표면구조 변화

- 펄스전기장 처리 후 원료육의 표면 관찰은 절편화 작업 없이 직접 관찰 할 수 있는 Dino-lite (AM-7013MZT, AnMo Electronics Corporation, Taiwan)를 이용하여 관찰하였음.
- 소고기의 펄스전기장 처리 강도 별 표면 관찰 결과는 그림 0-14 에 제시되어 있으며, 소고기의 사이즈는 2 x 2 x 1 cm로 진행하였음.
- 대조군에서는 표면 관찰 시 조직의 분리 현상을 볼 수 없었으나, 펄스전기장 처리한 소고기의 경우에는 근섬유와 근섬유막 사이의 결합이 분리됨을 볼 수 있음.
- 0.5 kV에서는 조직의 결합이 일부 분리된 모습을 볼 수 있었으며, 1.0 kV, 1.5 kV, 2.0 kV로 처리 강도가 강해질수록 조직의 분리 현상이 증가됨을 확인함.

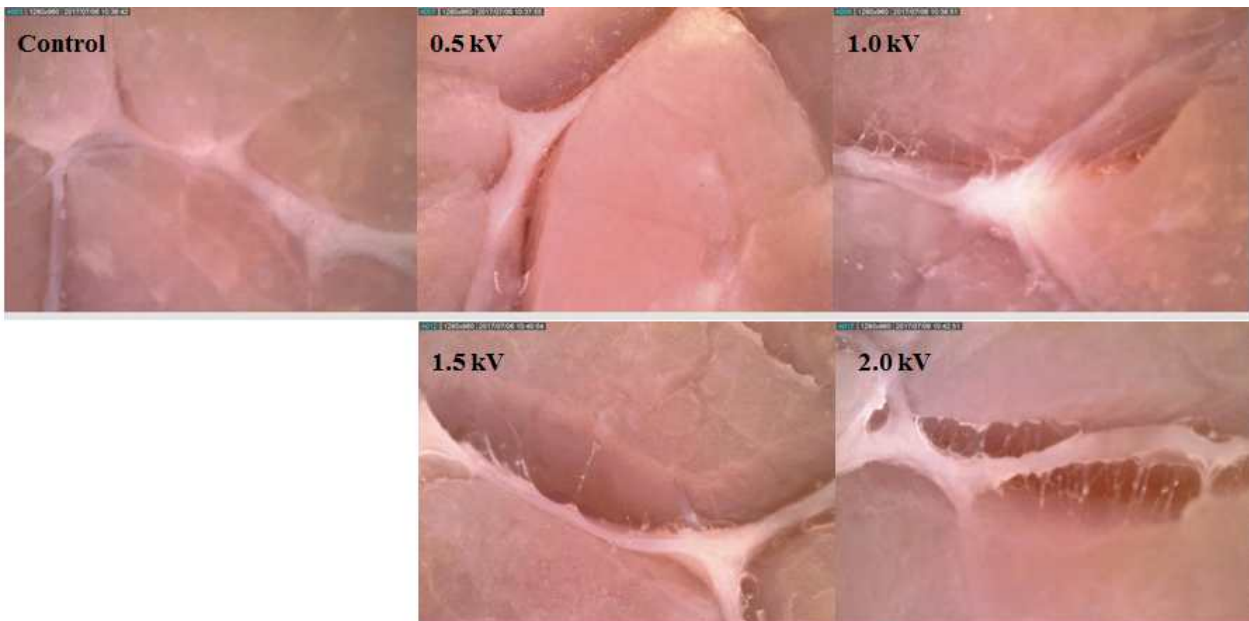


그림 2-25. 펄스전기장 처리에 의한 원료육의 표면 변화

(6) 펄스전기장(PEF) 처리한 원료육의 Cutting force 측정

○ Cutting force 측정방법

- Cutting force란 절삭 중 blade가 시료에 가하는 힘을 뜻함. 소고기의 cutting force는 texture analyser를 이용하여 blade형 probe를 사용하여 소고기의 중심부를 절단하는 것으로 측정하였음.

- 그림 0-26는 texture analyser의 모습 (A)이며, (B)는 blade형 probe를 이용하여 테스트 시료인 무를 절단하는 모습을 보여주고 있음.
- Cutting force 측정을 위한 소고기 sample의 크기는 2 x 1 x 1cm를 사용하였음.
- 소고기의 cutting force 측정 시, 소고기 결에 따라 cutting force의 영향을 미칠 것을 고려하여 longitudinal 방향과 transverse 방향을 각각 측정하였음.

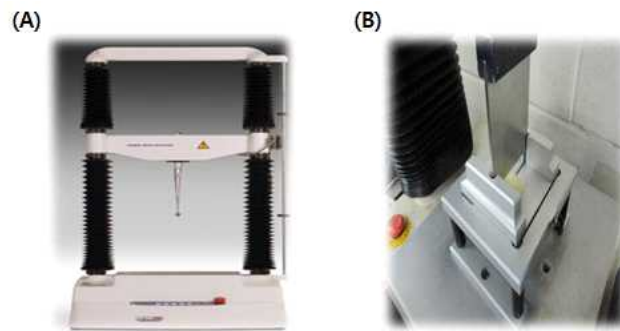


그림 0-26. 소고기의 cutting force 측정을 위한 texture analyser (A), blade형 probe (B).

○ Longitudinal 방향의 Cutting force

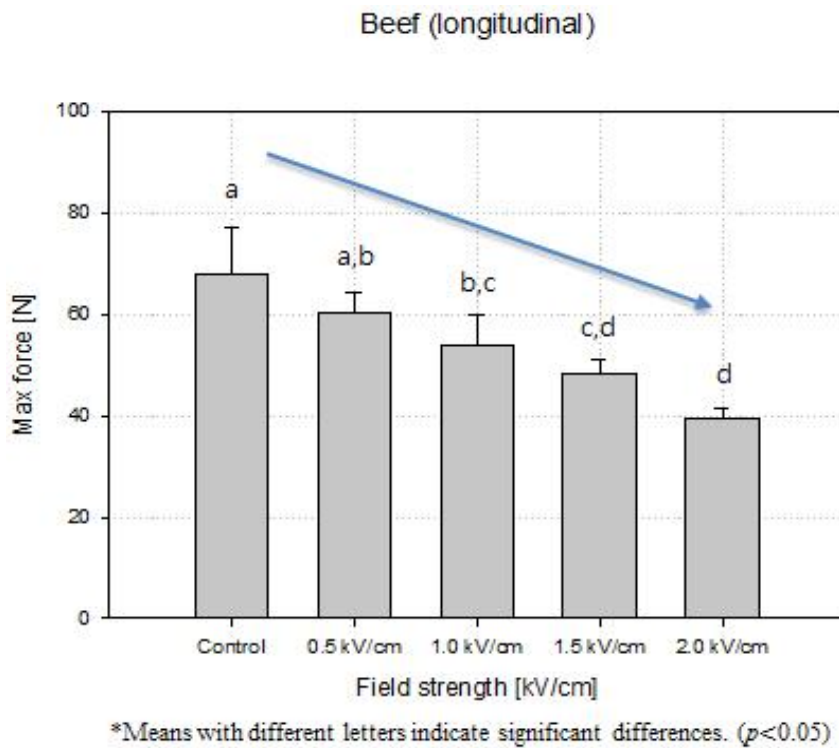


그림 2-27. 펄스전기장 처리 (longitudinal direction) 에 따른 원료육의 cutting force 변화

- 소고기의 결의 longitudinal 방향에서의 Cutting force 결과는 그림 0-27에 제시되어 있으며, 소고기의 사이즈는 1 x 1 x 1 cm로 진행하였음.
- Control은 cutting force가 67.74N로 가장 높았고, 2.0 kV/cm 처리를 한 소고기의 cutting force는 39.57N으로 가장 낮았으며, 펄스전기장의 처리 강도가 강한 처리를 받은 소고기 일수록 cutting force가 점차 감소하는 추세를 보이고 있음.
- 이 결과, longitudinal 방향에서 측정된 cutting force는 펄스전기장의 처리 강도가 강할수록 낮아짐을 볼 수 있으며, 펄스전기장 처리의 효과로 처리 강도가 강할수록 부드러워진다고 볼 수 있음.

○ Transverse 방향에서의 cutting force

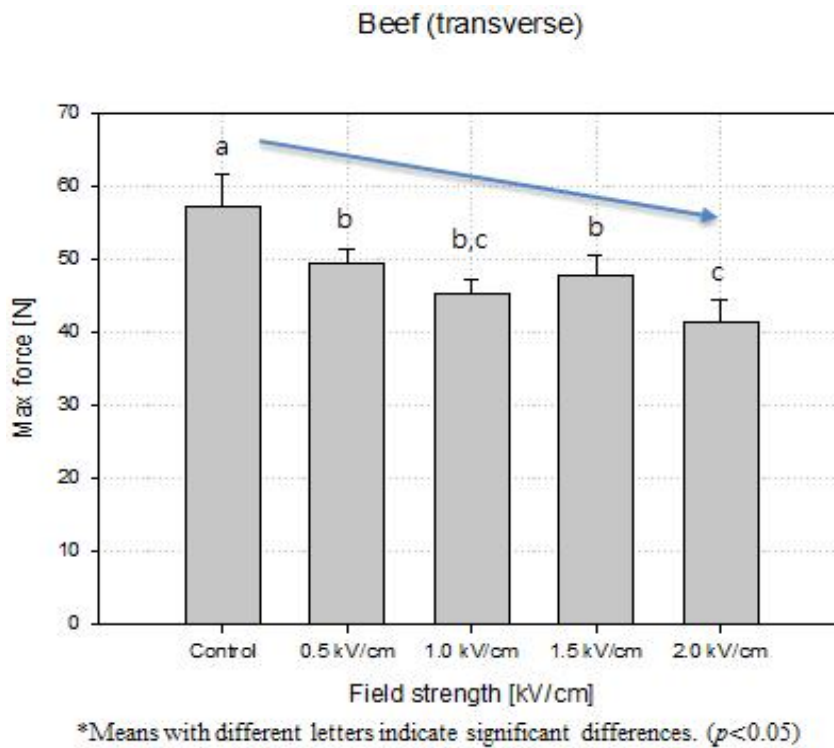


그림 2-28. 펄스전기장 처리 (transverse direction) 에 따른 원료육의 cutting force 변화

- 소고기의 결의 transverse 방향에서의 cutting force 결과는 그림 2-28에 제시되어 있으며, 소고기의 사이즈는 1 x 1 x 1 cm로 진행하였음.
- Control은 cutting force가 57.25N으로 가장 높았고, 2.0 kV/cm 처리를 한 소고기의 cutting

force는 41.18N으로 가장 낮았으며, 펄스전기장의 처리 강도가 강한 처리를 받은 소고기 일 수록 cutting force가 점차 감소하는 추세를 보이고 있음.

- 이 결과, transverse 방향에서 측정된 cutting force는 펄스전기장의 처리 강도가 강할수록 낮아짐을 볼 수 있으며, 펄스전기장 처리의 효과로 처리 강도가 강할수록 부드러워진다고 판단됨.

(7) 펄스전기장 처리한 원료육의 texture profile analysis

○ Texture profile analysis (TPA) 측정방법

- Texture profile analysis (TPA)란 식품의 조직, 육질 등이 재질, 표면구조 등에 의하여 생기는 표면의 시지각의 속성 또는 이들의 특성인자를 널리 포함하고 본래 역학적 성질을 나타내는 관능평가 분석을 나타냄.
- 소고기의 texture profile analysis (TPA)는 texture analyser를 이용하여 직경이 35mm인 원통형 probe (SMS P/35R)를 사용하여 소고기의 물성을 측정하였음.
- 그림 0-29는 texture profile analysis의 측정그래프이며, TPA 측정을 위한 소고기 sample의 크기는 2 x 2 x 1cm를 사용하였음.
- 소고기의 TPA 측정 시, 소고기 결에 따라 물성의 영향을 미칠 것을 고려하여 longitudinal 방향과 transverse 방향을 각각 측정하였음.

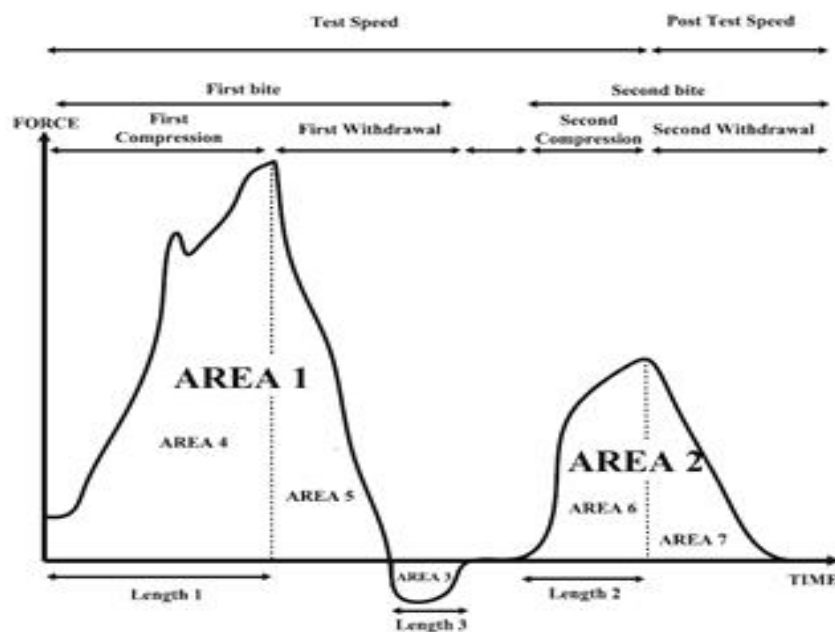


그림 2-29. Texture profile analysis (TPA) 측정 그래프

- Texture profile analysis (TPA)는 두 개의 큰 피크를 가지는 그래프를 형성하며, 이것은 사람이 입에서 식품을 두 번 씹는 모습을 형상화한 그래프로 나타냄.
- TPA의 parameter로는 hardness, springiness cohesiveness, chewiness, gumminess, resilience 등이 있음.
- Hardness는 주어진 시료의 변형을 위해 누르는 최대 힘이며, springiness는 시료가 압축되면 원래 모양으로 돌아오는 정도를 나타내며, chewiness는 시료를 씹기 위해 필요한 시간의 길이 등으로 나타낼 수 있음.
- TPA 테스트를 통하여 사람이 식품을 먹는데 느낄 수 있는 물성을 수치화하여 나타낼 수 있으며, 소고기에 펄스전기장 처리를 통하여 변하는 물성을 나타낼 수 있음.

○ Longitudinal 방향의 TPA

- 소고기의 결의 longitudinal 방향에서의 TPA 결과는 표 0-16에 제시되어 있으며, 소고기의 사이즈는 2 x 2 x 1cm로 진행하였음.
- Hardness의 경우, control이 413.44 ± 66.33 으로 가장 높았고, 2.0 kV/cm 처리를 받은 소고기가 239.97 ± 38.97 로 가장 낮았으며 처리 강도가 강해질수록 hardness가 점차 낮아짐을 볼 수 있음. 그러나 통계적으로 펄스전기장 처리 군 간의 유의차는 나타나지 않음을 볼 수 있음.
- Springiness, cohesiveness, resilience의 경우, control과 펄스전기장 처리 군 간 약간의 차이는 있었지만 통계적으로 유의차는 나타나지 않음을 볼 수 있음.
- Chewiness의 경우, control이 264.59 ± 27.12 로 가장 높았고, 2.0 kV/cm 처리를 받은 소고기가 167.77 ± 26.75 로 가장 낮았으며 처리 강도가 강해질수록 chewiness가 점차 낮아짐을 볼 수 있음.
- 위 결과로, 소고기의 결의 longitudinal 방향에서 펄스전기장 처리 후 연화가 되었다고 볼 수 있음.

표 2-16. 펄스전기장 처리 (longitudinal direction) 에 따른 원료육의 물성변화

	Hardness	Springiness	Cohesiveness	Chewiness	Resilience
Control	413.44 ± 66.33 ^a	0.95 ± 0.02 ^a	0.68 ± 0.03 ^b	264.59 ± 27.12 ^a	0.23 ± 0.02 ^a
0.5 kV	303.46 ± 18.74 ^b	0.97 ± 0.01 ^a	0.71 ± 0.01 ^{a,b}	207.43 ± 15.01 ^b	0.20 ± 0.04 ^a
1.0 kV	277.33 ± 22.29 ^b	0.96 ± 0.01 ^a	0.70 ± 0.02 ^{a,b}	185.71 ± 9.55 ^{b,c}	0.18 ± 0.02 ^a
1.5 kV	255.55 ± 28.73 ^b	0.97 ± 0.01 ^a	0.73 ± 0.02 ^a	180.93 ± 14.95 ^{b,c}	0.21 ± 0.04 ^a
2.0 kV	239.97 ± 38.97 ^b	0.96 ± 0.01 ^a	0.73 ± 0.01 ^a	167.77 ± 26.75 ^c	0.18 ± 0.00 ^a

*The values are expressed as mean ± standard deviation. Means with different letters indicate significant differences. ($p < 0.05$)

○ Transverse 방향에서의 TPA

- 소고기의 결의 transverse 방향에서의 TPA 결과는 표 0-17에 제시되어 있으며, 소고기의 사이즈는 2 x 2 x 1cm로 진행하였음.
- Hardness의 경우, control이 745.45 ± 42.78로 가장 높았고, 처리 강도가 강해질수록 hardness가 점차 낮아짐을 볼 수 있음. 통계적으로 펄스전기장 처리 강도가 1.5 kV/cm 이상부터 유의차가 나타남을 볼 수 있음.
- Springiness, cohesiveness, resilience의 경우, control과 펄스전기장 처리 군 간 약간의 차이는 있었지만 통계적으로 유의차는 나타나지 않음을 볼 수 있음.
- Chewiness의 경우, control이 463.40 ± 27.68로 가장 높았고, 2.0 kV/cm 처리를 받은 소고기가 315.78 ± 26.59로 가장 낮았으며 처리 강도가 강해질수록 chewiness가 점차 낮아짐을 볼 수 있음.
- 위 결과로, 소고기의 결의 transverse 방향에서 펄스전기장 처리 후 연화가 되었다고 볼 수 있음.

표 2-17. 펄스전기장 처리 (transverse direction) 에 따른 원료육의 물성변화

	Hardness	Springiness	Cohesiveness	Chewiness	Resilience
Control	745.45 ± 42.78 ^a	0.93 ± 0.02 ^a	0.67 ± 0.01 ^a	463.40 ± 27.68 ^a	0.27 ± 0.01 ^a
0.5 kV	678.69 ± 44.97 ^a	0.91 ± 0.02 ^a	0.66 ± 0.01 ^a	407.18 ± 23.76 ^{a,b}	0.27 ± 0.01 ^a
1.0 kV	654.85 ± 122.14 ^a	0.89 ± 0.05 ^a	0.65 ± 0.04 ^a	374.14 ± 38.97 ^{b,c}	0.26 ± 0.01 ^a
1.5 kV	501.99 ± 62.93 ^b	0.94 ± 0.03 ^a	0.70 ± 0.02 ^a	330.21 ± 61.08 ^c	0.25 ± 0.02 ^a
2.0 kV	507.96 ± 34.50 ^b	0.90 ± 0.03 ^a	0.69 ± 0.02 ^a	315.78 ± 26.59 ^c	0.28 ± 0.02 ^a

*The values are expressed as mean ± standard deviation. Means with different letters indicate significant differences. ($p < 0.05$)

(8) 펄스전기장(PEF) 처리에 따른 원료육의 색도, pH, 온도 변화

○ 펄스전기장 처리 후 원료육의 색도변화

- 색도 측정 시에는 소고기의 사이즈를 3 x 3 x 1cm로 절단한 다음 펄스전기장의 field strength를 0.5 kV/cm ~ 2.0 kV/cm로 처리하여 실험을 진행하였음.
- 원료육의 펄스전기장 처리 후, control, 0.5 kV, 1.0 kV, 1.5 kV, 2.0 kV의 색도 분석 결과는 표 0-18에 제시되어 있음.
- 원료육의 펄스전기장 처리 후 색도 측정 결과 처리 강도가 1.0kV/cm 이상 강한 처리를 받았을 때부터 백색도 (lightness)가 약간 낮아짐을 볼 수 있었음. a*(적색도)는 18.0 부근의 값을 가지며, b*(황색도)는 12.0 부근의 값을 보이며 통계적으로 펄스전기장 처리 전후 유의차는 나타나지 않음을 볼 수 있음.
- dE(색차)는 대조군과 펄스전기장 처리군 간 약 3정도 차이가 남을 볼 수 있음. 이것은 사람의 눈으로는 구별할 수 없는 영역임.
- 위 결과로, 펄스전기장 처리로 인한 소고기의 색은 영향을 받지 않는다고 볼 수 있음.

표 2-18. 펄스전기장 처리에 따른 원료육의 색도 변화

	L*	a*	b*	dE*
Control	42.52 ± 1.11 ^a	17.67 ± 2.52 ^a	11.92 ± 1.48 ^a	-
0.5 kV	41.83 ± 0.62 ^a	19.59 ± 0.27 ^a	13.00 ± 0.48 ^a	2.40 ± 0.18
1.0 kV	40.15 ± 0.47 ^b	18.00 ± 3.17 ^a	11.71 ± 1.25 ^a	3.68 ± 0.41
1.5 kV	39.89 ± 0.15 ^b	18.66 ± 0.87 ^a	12.47 ± 0.67 ^a	3.00 ± 0.21
2.0 kV	40.07 ± 0.54 ^b	17.78 ± 1.35 ^a	11.95 ± 0.30 ^a	2.68 ± 0.66

*The values are expressed as mean ± standard deviation. Means with different letters indicate significant differences. ($p < 0.05$)

○ 펄스전기장 처리 후 원료육의 pH 및 온도 변화

- pH, temperature 측정 시에는 소고기의 사이즈를 2 x 2 x 1cm로 절단한 다음 펄스전기장의 field strength를 0.5 kV/cm ~ 2.0 kV/cm로 처리하여 실험을 진행하였음.
- 원료육의 펄스전기장 처리 후, control, 0.5 kV, 1.0 kV, 1.5 kV, 2.0 kV의 pH 및 온도변화 분석 결과는 표 0-19에 제시되어 있음.
- pH는 펄스전기장 처리 강도가 1.0kV/cm까지는 조금 감소하다가 그 이후에는 일정하게 유지됨을 볼 수 있음. 그러나 이는 미세한 차이기 때문에 펄스전기장 처리가 pH의 변화에 큰 영향을 주는 것은 아니라고 판단됨.
- 펄스전기장 처리 직후 온도변화는 처리 강도가 강해질수록 비례적으로 상승하는 것을 볼 수 있음. 이는 펄스전기장의 처리 강도에 영향을 받는 것으로 판단됨. 하지만 온도 변화가 급격하지는 않기 때문에 식육으로서의 판매에는 무리가 없을 것으로 판단됨.

표 2-19. 펄스전기장 처리에 따른 원료육의 온도 및 pH 변화

	pH	Temperature (°C)
Control	5.40 ± 0.01 ^a	19.3 ± 0.15 ^c
0.5 kV	5.36 ± 0.01 ^b	22.2 ± 0.46 ^d
1.0 kV	5.32 ± 0.02 ^c	23.7 ± 0.26 ^c
1.5 kV	5.31 ± 0.01 ^c	26.2 ± 0.15 ^b
2.0 kV	5.32 ± 0.01 ^c	29.4 ± 0.20 ^a

*The values are expressed as mean ± standard deviation. Means with different letters indicate significant differences. ($p < 0.05$)

나. 펄스전기장 처리한 원료육의 화학적 특성

(1) 펄스전기장 처리 후 원료육의 유리아미노산 분석

○ 원료육의 유리아미노산 분석 방법

- 펄스전기장 처리 후 원료육의 아미노산 변화를 측정하기 위해 유리아미노산 함량을 측정함.
- 실험은 처리 후 10g을 취한 뒤 10mL의 ultrapurewater를 가하여 1분간 균질화과정을 거친 뒤 원심분리를 진행함(3000rpm, 10분).
- 원심분리 후 상층액만을 5mL 취하여 10%의 Trichloroacetic acid 5mL를 가하여 다시 원심분리를 진행함(10000rpm, 10분).
- 상층액을 0.2 μ m membrane filter(Millipore Co.)로 여과한 뒤 아미노산 분석기(HITACHI L-8900, Hitachi, Ltd., Japan)에 20 μ L 주입하여 분석을 진행함.
- 분석은 UV detector 440nm 에서 570nm 로 분석하였으며, 아미노산 표준용액으로는 (Wako L-8500 buffer solution PF-1,2,3,4, RG ninhydrin coloring solution set, Wako, USA)를 사용하였음.

○ 유리아미노산 분석 결과

- 표 0-20 은 30 μ s의 고정 펄스 폭과 20Hz의 펄스 주파수 그리고 100 pulse number를 사용하여 대조군, 1.0 kV/cm, 2.0 kV/cm 의 서로다른 처리강도의 샘플을 가지고 진행하였음
- 총 아미노산 함량은 대조군 2805.55 mg/kg, 1.0kV/cm 2640.95 mg/kg, 2.0kV/cm 2421.41 mg/kg으로 처리강도가 증가 할 수록 아미노산의 함량이 감소하였음
- Glycine, alanine, valine, leucine, isoleucine, serine, threonine, asparagine, glutamic acid, arginine, histidine, lysine, methionine, phenylalanine, tyrosine, proline은 펄스전기장 처리 강도가 강해질수록 감소하였으며, aspartic acid와 cystine과 tryptophan은 소고기 내에 존재하지 않았다. 이 결과로 펄스전기장 처리가 소고기에서 유리되는 아미노산을 감소시킨다는 것을 확인하였음.

표 2-20. 펄스전기장 처리한 원료육과 대조군의 유리아미노산 함량

Amino acid (mg/kg)	Control
Glycine	110.48
Alanine	419.24
Valine	167.34
Leucine	237.27
Isoleucine	123.89
Serine	143.13
Threonine	100.78
Aspartic acid	16.65
Asparagine	53.16
Glutamic acid	242.64
Glutamine	479.12
Arginine	121.88
Histidine	57.85

(2) 펄스전기장 처리 후 원료육의 연화 지표 단백질 분석

○ SDS-PAGE 및 Western blot 방법

- 펄스전기장 처리 후 고기의 연화정도를 확인하기 위해 연화 지표 단백질인 Troponin-T와 동물세포에만 존재하는 단백질 가수분해 효소인 μ -calpain을 분석함
- 도축 후 사후강직이 일어나면서 Troponin-T와 Tropomyosin과의 결합이 유지되며 근육 수축이 발생되며, 강직이 풀리면서 Troponin-T와 Tropomyosin의 결합이 점점 풀리면서 고기가 연화하며 troponin-T의 함량이 감소 할 것으로 판단함
- 고기의 단백질이 가수분해되면, 물성이 연해지고 μ -calpain의 양이 늘어날 것으로 판단함
- 실험은 고기내의 단백질을 추출한 뒤 진행하였음
- 단백질 추출은 가동형 chamber로 펄스전기장 처리를 진행한 뒤 5g의 조각으로 잘라 15mL의 homogenizing buffer (100 mM Tris-HCl, 5 mM EDTA, 0.05% beta-mercaptoethanol, pH 8.3)에 넣고 Polytron homogenizer (T 18 digital ULTRA-TURRAX®, IKA, USA)로 균질화작업을 진행함 (13500 rpm, 2°C, 30초)

- 균질화 작업 뒤 원심분리기를 이용하여 원심분리를 진행함 (5500*g, 4°C, 30분)
- 원심분리 후 혈장단백질을 함유하는 상층액을 1mL을 추출하여 다시 원심분리를 진행함 (15000g, 4°C, 15분).
- 상층액은 μ -calpain에 대한 SDS-PAGE 분석을 위해 동결시킴.
- 원심분리 후 남은 펠렛을 15mL의 균질화 완충용액으로 2회 세척후 원심분리를 진행함 (2300g, 4°C, 10분).
- 원심분리를 마친 뒤 항온수조에서 80°C로 가열하였고, 혈장단백질을 포함하는 상층액 1mL을 추출한 뒤 다시 원심분리를 진행한 뒤 (15000g, 4°C, 15분) Troponin-T에 대한 SDS-PAGE 분석을 위해 동결 시킴
- 추출물의 단백질 농도는 BSA 방법에 의해 결정되었고, 단백질 샘플은 SDS-PAGE gel에 제조되었음. 단백질 겔 시료를 적재하고 5 % acrylamide stacking gel을 사용하여 poly acrylamide gel (μ -calpain 및 troponin-T의 경우 10 % gel에 16 μ g)으로 분리하였음. 겔은 120V의 일정한 전압에서 Bio-Rad Mini-Protean II 시스템 (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA)에서 전기영동을 진행함.
- 전기 영동 후, 12.5 % 겔은 Coomassie brilliant blue R-250을 사용하여 염색하였고, 10 % 겔에서 분리된 단백질은 transfer buffer 용액(25 mM Tris, 192 mM glycine, and 10% (v/v) methanol)의 polyvinylidene difluoride (PVDF) membranes에 의해 blotting 되었음
- PVDF막은 실온에서 0.1 % Tween-20을 함유 한 1 x Tris buffered saline (TBS) 중 5 % (w/v) 탈지 분유에서 1시간 blotting 되었으며, Blot을 1 : 1,000으로 희석된 troponin-T antibody (mouse monoclonal anti-rabbit Troponin-T, clone JLT-12, T 6277, Sigma, St. Louis, MO)와 μ -calpain antibody mouse monoclonal anti-bovine μ -calpain, MA3-940, Thermo Scientific, Rockford, IL)를 1 : 1,000으로 희석하여 제조 하였음.
- 배양 후, 막을 TBS-Tween (TTBS : 0.05 % Tween 20, 20 mM Tris, 137 mM NaCl, 5 mM KCl)으로 세척 하였고, troponin-T와 μ -calpain 블롯을 각각 1 : 3,000으로 희석된 peroxidase conjugated anti-mouse IgG (Sigma A 2554) 항체와 함께 실온에서 1 시간 동안 배양 하였음.
- 면역 반응성 밴드는 화학 발광(ELC Plus Western Blotting Detection reagent, GE Healthcare, Buckinghamshire, UK)에 의해 검출되었으며, 밴드 강도 측정은 AlphaEaseFC 소프트웨어 (Ez-Capture MG, ATTO, Japan)를 사용하여 측정하였음.

○ μ -calpain 및 troponin-T 함량 분석 결과

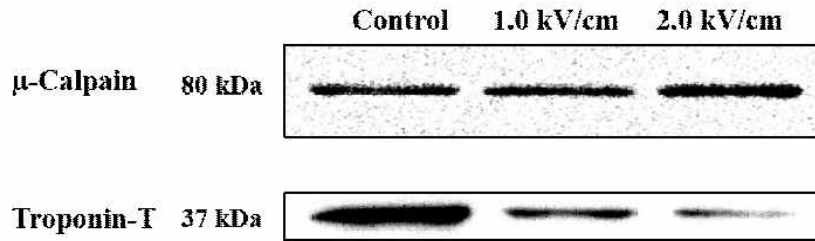


그림 2-34. 대조군 및 펄스전기장 처리 한 원료육의 μ -calpain 과 troponin-T의 western blot 결과

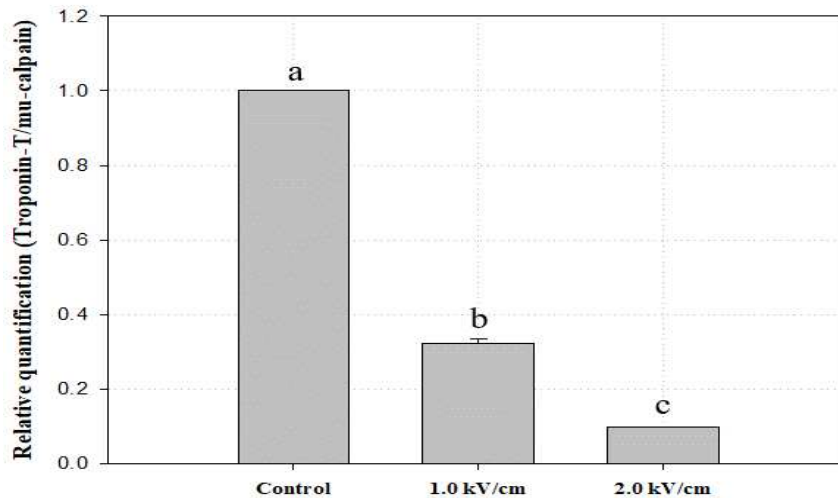


그림 2-30. 대조군과 펄스전기장 처리군의 Troponin-T/ μ -calpain의 상대량

- western blot 결과 Troponin T의 경우 처리강도가 증가할 수록 감소하는 것을 볼 수 있지만 μ -calpain의 경우 유의적인 차이를 보이지 않았음, Troponin/ μ -calpain의 경우를 볼 때 펄스전기장처리를 하였을 시 더 연화됨을 알 수 있음 (그림 2-30).

(3) 펄스전기장 처리 후 원료육의 지방산화도 측정

○ TBARs 방법

- 가공육 품질에 영향을 끼치는 주요 요인중 하나인 지방의 산화도를 측정하기위해 TBARs 방법을 사용하였음.

- 실험방법은 원료육을 5g을 증류수 15mL에 넣고 균질화한 뒤, 원심분리를 진행하였음(2000g, 15분)
- 상층액 1mL을 2mL의 trichloroacetic acid/thiobarbituric acid (TCA/TBA)용액에 넣음.
- 시험관에 3mL 의 2% butylated hydroxytoluene(BHT)(w/v)을 첨가 한뒤 교반한 다음 95°C의 항온수조에서 15분간 가열 뒤 실온에서 냉각후 원심분리를 진행함(1000g, 10분)
- 흡광도는 분광광도계를 이용하여 531nm에서 측정하였으며, 증류수 및 2 mL TCA-TBA-HCl solution을 빛을 차단시킨 상태에서 진행하였음.
- TBARs는 1,1,3,3-tetraethoxypropane standard curve를 사용하여 계산하였고, 단위는 mg MDA/kg로 표현하였음.

○ 펄스전기장 처리 후 지방산화도 분석결과

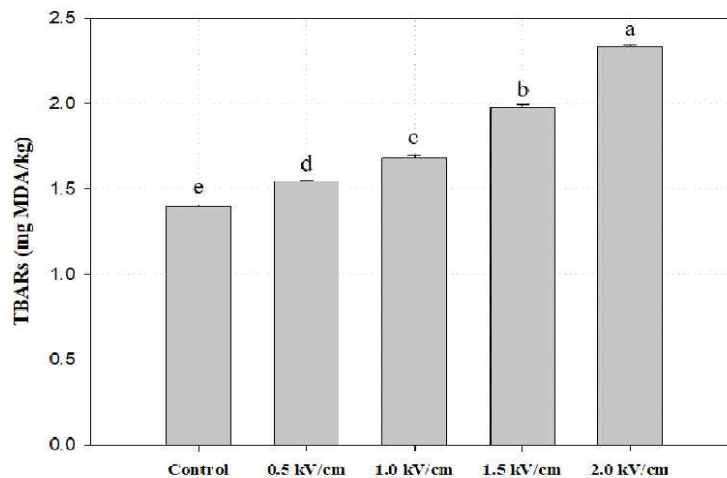


그림 2-31. 대조군 및 펄스전기장 처리한 원료육의 지방산화도

- 그림 0-31. 은 30 μ s의 고정 펄스 폭과 20 Hz의 펄스 주파수 그리고 pulse number 100을 사용하여 control, 0.5 kV/cm, 1.0 kV/cm, 1.5 kV/cm, 2.0 kV/cm의 서로 다른 처리 강도에서 처리 된 소고기 시료의 지방 산화도를 나타냄.
- 실험결과 대조군의 TBARs는 1.40 ± 0.01 mg MDA/kg로 측정되었으며, 2.0 kV/cm의 펄스전기장 처리를 받은 소고기의 TBARs는 2.33 ± 0.01 mg MDA/kg로 측정되었음.

- TBARs는 처리 강도가 증가 할 수록 비례적으로 증가하였으며, 대조군과 2.0kV/cm 처리군의 TBARs 값이 0.9 mg MDA/kg 인것을 확인, TBARs 값이 1.0 이상 차이 날 경우 관능검사시 이취를 느낀다는 연구보고가 있어 2.0kV/cm 이하로 처리 할 시에는 이취를 느낄 수 없음.

4. 비열처리 원료육의 가공식품 적용

가. 펄스전기장(PEF) 전처리 및 수비드 공법 조리

(1) 펄스전기장 처리를 응용한 2차 가공품 선정

- 1,2차년도 연구과정으로 생고기 상태에서의 펄스전기장 처리 효과를 검정하였기에, 3차년도에 산업적으로 응용이 가능한 제품에 적용하였음.
- 2차가공품은 최근 대중적으로 많이 알려진 진공포장 후 항온수조에서 장시간 조리하는 수비드 조리 제품과, 원물형태의 간식으로 잘 알려진 소고기 육포를 선정하였음.
- 수비드조리는 진공포장채로 장시간 조리하여 육즙의 손실을 최소화하고 저온에서 조리하기에 부드러운 식감을 가지고 있어, 레스토랑에서 고급메인요리로 많이 이용되고 있으며 또한 최근에는 수비드 공법을 응용한 닭가슴살 제품등도 있어 점점 대중화 되고있음.
- 최근 1인 가구 증가 및 웰빙트렌드에 원물채로 먹을 수 있는 간식류의 시장이 크게 성장하고 있음, 따라서 소고기 육포는 이러한 시장상황에 적합한 제품이며 레저식품이나 술안주 뿐만 아니라 반려동물의 간식까지 성장할 수있는 잠재력을 가지고 있음.

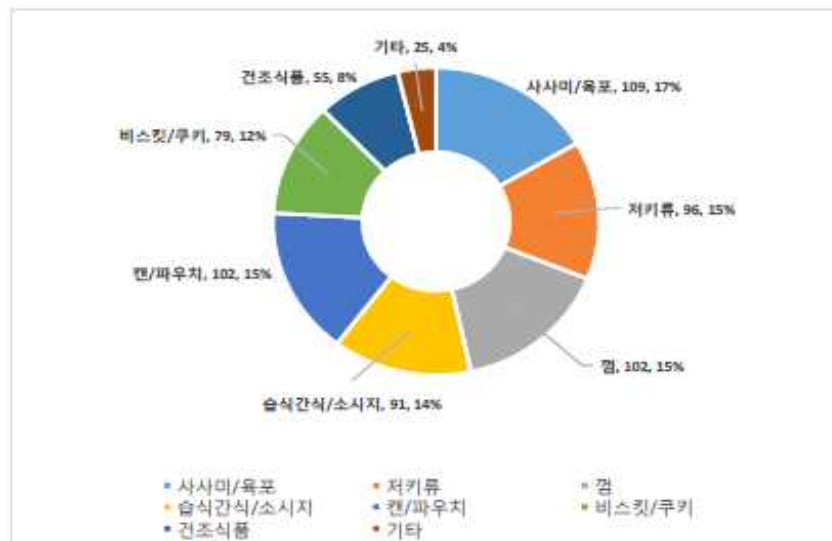


그림 2-32. 반려동물 간식시장 현황 [출처: 한국농수산물유통공사]

(2) 수비드 조리를 위한 원료육의 펄스전기장(PEF) 처리 조건

- 원료육의 펄스전기장 처리를 위해 지방함량이 매우 적고, 근섬유 조직이 균일하고, 육회등의 원료로 널리 이용되는 소고기 흉두깨살을 사용하였음.
- 2차년도에서 원료육의 펄스전기장 처리를 용이하게 하기 위해 가동형 챔버를 제작 하였지만, scale up 작업에 있어 샘플 사이즈에 따른 처리강도 저하 및 현 시점에서의 펄스전기장 장치의 한계등으로 인해 대량처리작업이 불가능함.
- 따라서 2차가공에서는 물에넣고 처리하는 기존 챔버를 활용하였으며, 물로인한 손상을 최소화 하기 위해 표 2-21 와 같은 처리조건으로 진행하였음.

표 2-21. 수비드 조리를 위한 펄스전기장 전처리 조건

Size (cm)	Field strength (kV/cm)	Out voltage (%)	Pulse width (μ s)	Frequency (Hz)	Pulse number
3 x 6 x 3	1.0	30	20	50	200
	1.5	45			
	2.0	60			

- 2차년도의 가동형 챔버를 통한 펄스전기장 처리 시 시료의 크기가 증가하면 Field strength가 낮게 증가하기에 실험에 어려움이 있고 또한, 열을 가하면서 부피의 감소가 있기때문에 작은 크기의 고기 조각으로 하기 어려움이 있어 표와 같은 크기를 설정함.
- 20 μ s 의 펄스 폭과 50 Hz의 진동수 200 pulse number를 고정한 상태에서 out voltage를 달리하여 처리하였으며, 시료의 크기가 크기에 편차가 생겨 설정된 field strength는 최소값이며, 크기 및 조성에 따라 0.1~0.2 kV/cm 정도 높게 처리되었음.

(3) 펄스전기장 전 처리 후 원료육의 중량손실, 보수력, 전기전도도 변화

○ 중량손실, 보수력, 전기전도도 측정방법

- 물에 의한 손실을 확인하기 위해 수비드 조리전 펄스전기장 처리후 중량손실 및 보수력 측정과 생물학적 전기전도도 측정등을 실시하였음.(표 2-22 그림 2-33)
- 중량손실은 처리 전의 무게와 처리 직후의 무게를 측정하여 계산하였으며, 보수력 측정은 drip loss를 측정하였음.

- Drip loss의 측정방법은 시료를 10g으로 자른 뒤, 메쉬타입의 거즈와 필터페이퍼에 감싸 원심 분리(1000rpm, 4°C, 10분)를 진행 한뒤 무게를 측정하여 계산함.
- 생물학적 전기전도도 및 z-index는 앞서 가동형chamber로 처리한 원료육의 전기전도도를 측정한 방법과 동일하며, longitudinal 방향으로 펄스전기장을 처리하였음.

○ 중량손실 및 보수력 변화

- 펄스전기장 처리 후 중량 손실은 처리 강도가 증가에 비례하였지만, 통계적으로 유의적인 차이를 보이지 않으며, 보수력을 가늠할 수 있는 drip loss 역시 유의적인 차이를 보이지 않았음.
- 펄스전기장 처리 후 중량손실 및 보수력은 유의적인 변화가 없으며, 이는 매우 짧은 시간만 처리한 결과여서 2차 가공 제품에는 큰 영향을 주지 않을 것으로 판단함.

표 2-22. 펄스전기장 처리 직후 Weight loss 및 drip loss

Sample	Weight loss(%)	Drip loss(%)
Control	-	4.29 ±0.82
1.0kV/cm	0.16 ±0.10	3.46 ±0.80
1.5kV/cm	0.18 ±0.09	4.47 ±0.36
2.0kV/cm	0.28 ±0.18	4.36 ±0.28

○ 전기전도도 변화 및 Z-index

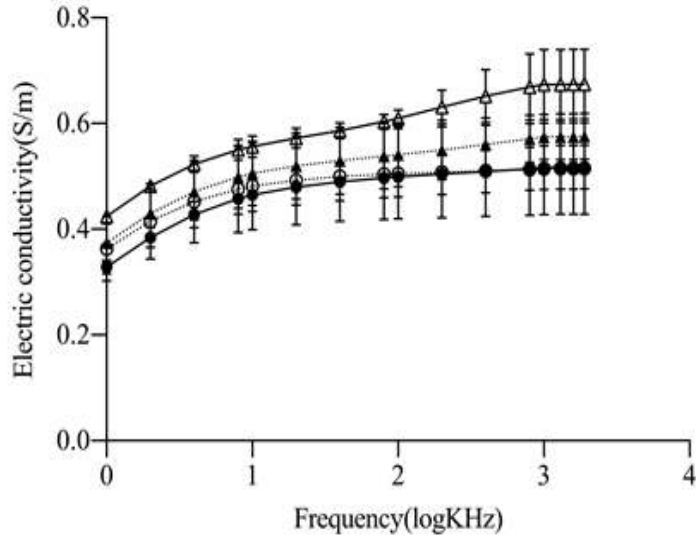


그림 2-33. 기존 chamber를 통한 펄스전기장 전처리 후 생물학적 전기전도도

(●-control, ○-1.0 kV/cm, ▲-1.5 kV/cm, △-2.0 kV/cm)

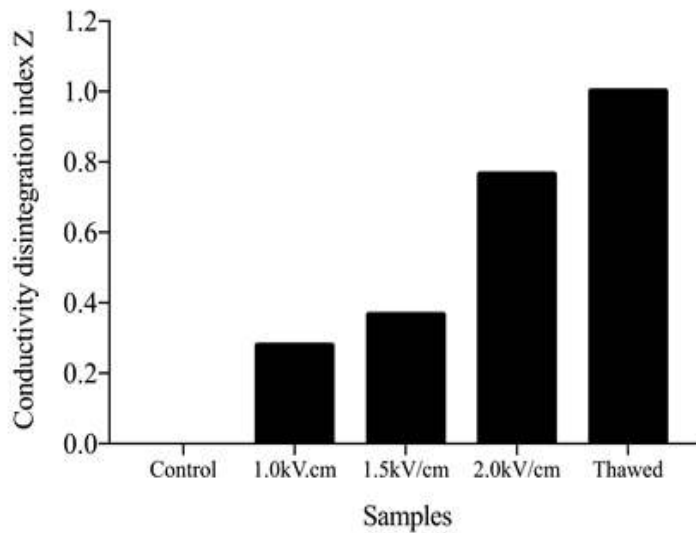


그림 2-34. 대조군 및 냉동 후 해동한 샘플과 펄스전기장 처리군의 Z-index

- 생물학적 전기전도도는 가동형 chamber 처리결과와 마찬가지로 처리강도가 증가함에 따라 전도도가 상승하였음.
- Z-index는 펄스전기장 처리를 하지 않은 시료를 0, 냉동 후 해동한 시료를 1로 하였을 때 상대적으로 세포내부가 얼마나 손상되어있는지를 보여주는 지표이며, 마찬가지로 처리강도가

증가함에 따라 비례하여 증가하였음(그림 2-34).

- Size up된 시료에서도 가동형 chamber 처리와 유사한 효과를 얻음을 확인하였음.

(4) 펄스전기장 전처리한 원료육의 수비드 조리조건

- 수비드 조리는 펄스전기장 전처리한 시료를 진공포장하여 온도가 설정된 항온수조에 넣고 조리하였음.

- 수비드 조리온도를 설정하기 위해 50℃ 부터 90℃ 의 범위에서 항온수조에 1시간 조리하여 cutting force를 측정하였음(표 2-23,그림 2-35).

표 2-23. Cutting force 측정하기 위한 세부설정

Pre test speed	10.0 mm/s
Test speed	4.0 mm/s
Post test speed	10.0 mm/s
Probe	Blade (Warner Bratzler & reversible)
Distance	30 mm
Sample size	1cm x 3cm x 1cm

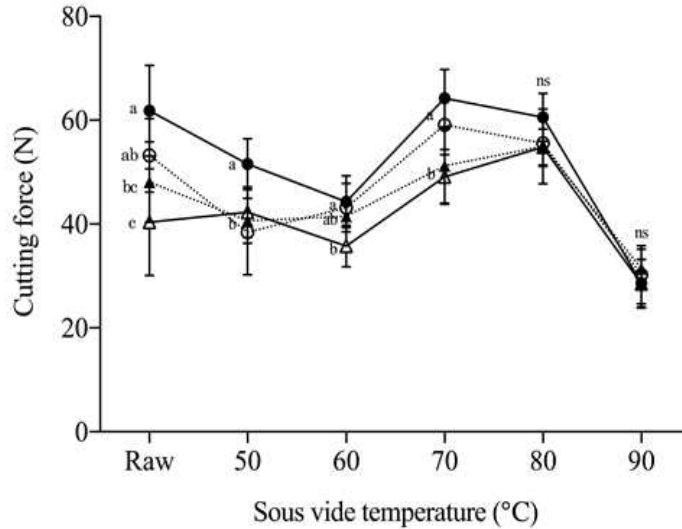


그림 2-35. 수비드 조리 온도에 따른 Cutting force

(●-control, ○-1.0 kV/cm, ▲-1.5 kV/cm, △-2.0 kV/cm)

- 생고기 상태에서 Cutting force 측정시 가동형 chamber와 유사한 경향으로 처리강도가 증가할수록 cutting force가 감소함(대조군 $61.83\text{N} \pm 8.72$, 1.0kV/cm $53.24\text{N} \pm 7.05$, 1.5kV/cm $48.13\text{N} \pm 7.73$, $2.0\text{kV/cm} \pm 10.29$)을 확인하였음.
- 50°C 에서 90°C 까지 소고기를 수비드 조리한 뒤 cutting force를 측정한 결과 70°C 까지는 펄스전기장 처리효과로 인한 cutting force 감소가 유지됨을 확인하였으며, 80°C 이상으로 조리하였을 시에는 펄스전기장 효과가 사라지는 것을 확인하였음(ns = $p > 0.05$).
- 70°C 이상 조리시 cutting force가 증가한 것은 고기를 65°C 이상 조리시 고기 내 결체조직의 수축으로 인하여 cutting force가 급격히 증가한 것으로 판단됨.
- 90°C 에서 급격히 감소하는 원인은 고온에서 장시간 조리하여 근섬유와 근섬유막 사이의 결합력이 매우 약해져 일어난 현상으로 판단됨.
- 수비드 조리온도는 실험결과 중에서 펄스전기장 처리효과가 유지된 처리 온도 중 가장 낮은 cutting force을 보이며, 일반적인 소고기 수비드 요리에서 많이 이용되는 60°C 조건 하에 진행하였고, 처리 시간을 달리하여 물리 화학적 특성을 분석함.
- 이후 실험은 조리온도를 60°C로 고정된 상태에서 1시간에서 24시간 까지 수비드 조리를 진행하였음.

(6) 조리시간에 따른 펄스전기장 처리 및 수비드 조리한 원료육의 물리적 특성

○ Cutting force 변화

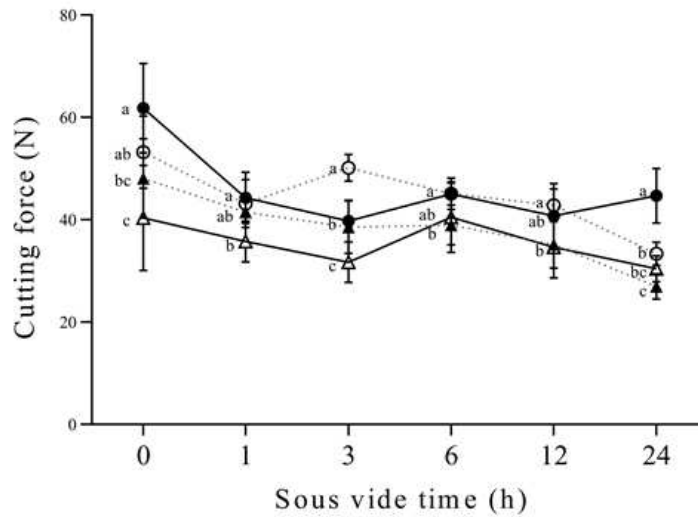


그림 2-36. 60°C 에서 조리시간에 따른 cutting force 변화

(●-control, ○-1.0 kV/cm, ▲-1.5 kV/cm, △-2.0 kV/cm)

- 수비드 시간을 달리 하였을 때 cutting force는 처리군이 대조군에 비해 낮은 수치를 보였고, 3시간 처리군에서 1.0kV/cm 처리군이 대조군보다 높은 수치를 보였지만, 모든 시간대에서 2.0kV/cm 처리군은 대조군에 비해 낮은 수치를 보였음 (그림 2-36).

○ Texture profile analysis (TPA)

- TPA는 지름 35mm probe로 시료가 50% 압축일 될 때까지 힘을 가하여 측정하였으며, 8회 반복측정 후 최대값과 최소값을 제외한 측정값을 사용하였음.
- TPA의 세부조건은 표 2-24 와 같음

표 2-24. Texture profile을 측정하기 위한 세부설정

Pre test speed	10.0 mm/s
Test speed	2.0 mm/s
Post test speed	2.0 mm/s
Probe type	SMS P/35R
Distance	50%
height	20.0 mm
Sample size	1cm x 1cm x 1cm

- TPA 결과 모든 조리 시간에서 hardness와 chewiness에서 처리군이 대조군에 비해 낮은 수치를 보였음(표 2-25).
- Springness와 cohesiveness, resilience는 대부분 처리강도에 따른 유의적인 차이가 없었음.
- Cutting force와 종합하였을 때 조리를 하지 않은 0시간 부터 24시간 조리까지 모두 펄스전 기장의 처리효과로 인한 고기연화가 유지된 것을 확인함.

표 2-25. 60°C 에서 각 조리 시간 별 대조군 및 펄스전기장 처리군의 Texture profile

Sample	Hardness(N)	Springiness	Cohesiveness	Chewiness(N)	Resilience	
0h	Control	11.70±5.06 ^a	0.98±0.01 ^a	0.62±0.03 ^a	7.02±3.22 ^a	0.55±0.08 ^a
	1.0kV/cm	9.74±3.78 ^a	0.95±0.07 ^a	0.59±0.03 ^a	5.54±2.55 ^a	0.50±0.07 ^a
	1.5kV/cm	8.51±2.27 ^a	0.92±0.04 ^a	0.57±0.03 ^a	4.52±1.52 ^{ab}	0.38±0.10 ^b
	2.0kV/cm	2.86±2.03 ^b	0.97±0.03 ^a	0.59±0.02 ^a	1.57±1.02 ^b	0.23±0.04 ^c
1h	Control	21.20±3.04 ^a	0.64±0.08 ^a	0.63±0.03 ^a	8.70±2.55 ^a	0.32±0.03 ^a
	1.0kV/cm	15.88±2.13 ^b	0.62±0.05 ^a	0.61±0.01 ^{ab}	6.02±0.82 ^b	0.32±0.01 ^a
	1.5kV/cm	21.77±3.99 ^a	0.66±0.44 ^a	0.63±0.02 ^a	9.03±2.14 ^a	0.30±0.02 ^a
	2.0kV/cm	10.10±1.05 ^c	0.62±0.04 ^a	0.59±0.02 ^b	3.68±0.47 ^c	0.25±0.01 ^b
3h	Control	19.35±1.57 ^a	0.53±0.02 ^a	0.52±0.02 ^c	5.32±0.44 ^b	0.25±0.02 ^b
	1.0kV/cm	16.43±1.69 ^{bc}	0.58±0.08 ^a	0.57±0.03 ^b	5.45±1.22 ^b	0.30±0.01 ^a
	1.5kV/cm	18.44±1.31 ^{ab}	0.58±0.03 ^a	0.62±0.01 ^a	6.59±0.50 ^a	0.29±0.01 ^a
	2.0kV/cm	15.42±3.09 ^c	0.58±0.01 ^a	0.54±0.01 ^c	4.79±0.96 ^b	0.24±0.01 ^b
6h	Control	20.30±3.02 ^{ab}	0.57±0.05 ^a	0.54±0.02 ^a	6.23±1.06 ^a	0.25±0.02 ^a
	1.0kV/cm	22.03±1.60 ^a	0.56±0.04 ^a	0.51±0.01 ^{ab}	6.37±0.91 ^a	0.23±0.01 ^a
	1.5kV/cm	19.34±2.17 ^{ab}	0.51±0.03 ^a	0.49±0.02 ^b	4.86±0.62 ^b	0.23±0.02 ^a
	2.0kV/cm	17.44±1.49 ^b	0.53±0.05 ^a	0.49±0.03 ^b	4.53±0.75 ^b	0.23±0.02 ^a
12h	Control	24.64±1.49 ^b	0.52±0.04 ^{ab}	0.49±0.02 ^b	6.40±0.98 ^b	0.22±0.01 ^b
	1.0kV/cm	21.29±3.74 ^{bc}	0.51±0.05 ^b	0.43±0.02 ^c	4.74±1.28 ^b	0.19±0.03 ^c
	1.5kV/cm	28.36±3.01 ^a	0.57±0.03 ^a	0.56±0.02 ^a	9.07±1.45 ^a	0.26±0.02 ^a
	2.0kV/cm	18.21±2.05 ^c	0.56±0.03 ^{ab}	0.51±0.02 ^b	5.23±1.01 ^b	0.22±0.01 ^b
24h	Control	24.49±4.52 ^a	0.61±0.05 ^a	0.46±0.06 ^a	6.72±1.06 ^a	0.22±0.02 ^a
	1.0kV/cm	20.86±3.36 ^{ab}	0.61±0.06 ^a	0.43±0.04 ^a	5.50±1.42 ^{ab}	0.21±0.03 ^a
	1.5kV/cm	19.91±2.94 ^b	0.65±0.11 ^a	0.43±0.04 ^a	5.49±0.98 ^{ab}	0.21±0.02 ^a
	2.0kV/cm	15.16±1.69 ^c	0.56±0.06 ^a	0.49±0.03 ^a	4.21±1.04 ^b	0.20±0.01 ^a

*The values are expressed as mean ± standard deviation. Means with different lowercase letters indicate significant differences. ($p < 0.05$)

○ 색도 측정결과

- 색도 측정은 수비드 처리한 뒤 단편으로 잘라서 내부의 육색만을 측정하였음.
- 색도 측정결과 적색의 지표인 a^* 값이 같은시간에서 대조군에비해 처리군들이 낮은 수치를 보였음, 이러한 현상은 펄스전기장처리 효과로 근섬유와 근섬유막간의 공간이 늘어나면서 열교환이 더 원활하게 일어나 같은 시간에서 더 많이 익은 것으로 판단됨(표 2-26).
- L^* 와 b^* 값은 일부 유의적 차이가 있는 처리군들이 있지만, 펄스전기장 처리의 영향에 의한 변화라고 보기 어려움.

표 2-26. 60°C 에서 각 조리 시간 별 대조군 및 펄스전기장 처리군의 색도측정 결과

Sample	L^*	a^*	b^*	
0h	Control	41.22±2.28 ^a	17.11±1.01 ^a	13.83±0.94 ^a
	1.0kV/cm	40.39±1.31 ^a	16.87±1.74 ^a	13.74±1.08 ^a
	1.5kV/cm	39.58±1.49 ^a	15.81±0.58 ^a	13.61±0.63 ^a
	2.0kV/cm	40.80±2.10 ^a	16.50±1.08 ^a	12.83±0.55 ^a
1h	Control	52.16±1.71 ^a	18.24±1.03 ^a	19.05±1.09 ^a
	1.0kV/cm	52.41±1.47 ^b	17.96±0.39 ^a	18.47±0.80 ^a
	1.5kV/cm	54.72±1.53 ^{bc}	15.88±1.52 ^b	18.21±1.90 ^a
	2.0kV/cm	57.28±1.26 ^c	15.47±0.66 ^b	18.41±0.78 ^a
3h	Control	54.68±0.75 ^b	13.19±0.56 ^a	16.65±0.60 ^a
	1.0kV/cm	58.26±1.04 ^a	10.98±0.68 ^b	15.23±1.37 ^{ab}
	1.5kV/cm	59.65±1.08 ^a	10.78±1.16 ^b	15.84±1.38 ^a
	2.0kV/cm	55.89±1.65 ^b	10.82±0.57 ^b	14.11±0.67 ^b
6h	Control	59.46±1.97 ^a	10.21±0.54 ^a	14.56±0.43 ^a
	1.0kV/cm	61.14±0.69 ^a	8.02±0.49 ^b	13.80±0.71 ^a
	1.5kV/cm	58.82±2.01 ^a	8.88±0.69 ^{bc}	13.80±1.60 ^a
	2.0kV/cm	55.44±2.97 ^b	7.75±1.18 ^c	12.27±2.96 ^a
12h	Control	61.91±0.84 ^a	6.82±0.19 ^a	12.90±0.40 ^a
	1.0kV/cm	59.74±1.43 ^b	6.62±0.46 ^a	12.04±0.81 ^a
	1.5kV/cm	58.79±1.71 ^b	6.97±1.14 ^a	12.18±1.12 ^a
	2.0kV/cm	58.29±1.55 ^b	6.21±0.30 ^a	11.80±0.52 ^a
24h	Control	57.42±0.69 ^a	6.83±0.46 ^a	11.90±0.83 ^a
	1.0kV/cm	60.02±2.90 ^a	6.44±0.30 ^a	12.41±0.40 ^a
	1.5kV/cm	58.22±0.26 ^a	6.63±0.22 ^a	12.82±0.29 ^a
	2.0kV/cm	57.65±1.05 ^a	6.77±0.10 ^a	12.04±0.41 ^a

*The values are expressed as mean ± standard deviation. Means with different lowercase letters indicate significant differences. ($p < 0.05$)

○ 보수력 변화

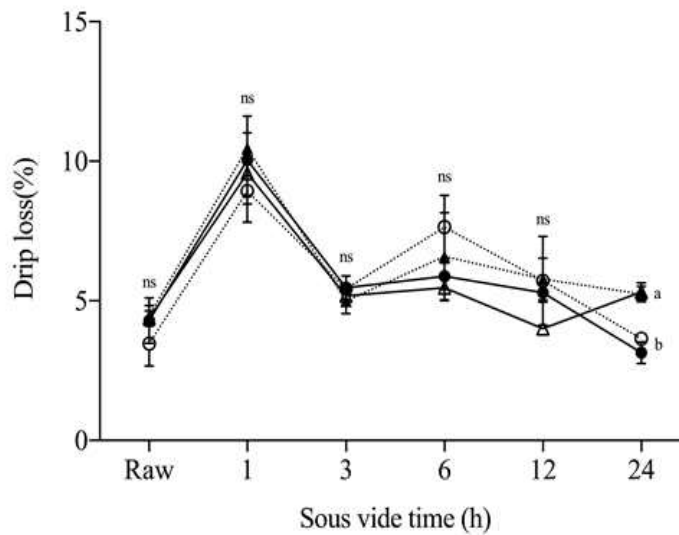


그림 2-37. 60°C 에서 조리시간에 따른 drip loss 변화 (●-control, ○-1.0 kV/cm, ▲-1.5 kV/cm, △-2.0 kV/cm)

- 보수력 측정은 처리직후 Drip loss 측정과 같은 방법으로 진행 하였으며 결과는 그림 2-37과 같음.
- 보수력은 24시간 처리군을 제외한 모든 시간대에서 대조군 및 처리군간 유의적인 차이가 없었음(ns = p > 0.05)
- 1시간 처리군에서 drip loss가 증가한 원인은 1시간 조리시 육안으로 확연하게 구분될 정도로 샘플의 수분감이 가장 많으며, 단백질 변성이 시작되는 단계이기 때문에 drip loss의 양이 증가한 것으로 판단됨.
- 24시간 처리군에서 대조군과 1.5 kV/cm 처리군 1.0 kV/cm와 2.0 kV/cm 처리군으로 구분되지만 차이가 매우 적고, 전체적인 경향을 보았을 때 drip loss는 펄스전기장 처리로 인해 영향을 받지 않음으로 판단됨.

(6) 조리시간에 따른 펄스전기장 처리 및 수비드 조리한 원료육의 화학적 특성

- 표에서 나타난 적색도의 감소를 화학적으로 규명하기 위해 고기가 붉은 색을 띄게하는 색소인 myoglobin의 함량을 측정함.
- 고기의 육색소인 myoglobin은 공기와 접촉하면서 oxymyoglobin으로 변하고 고기가 열에 의해 익어가는 과정에서 metmyoglobin이 고기가 완전히 익게 되면 metmyochromgen으로 변함.
- 따라서 전체 myoglobin 함량을 측정하면 metmyochromogen으로 변한 myoglobin 함량은 제외되고 수비드 조리과정중에서 육즙과 함께 빠져나간 myoglobin 까지 제외되기에 고기의 익힘 정도를 간접적으로 확인 할 수 있음.
- 실험방법은 펄스전기장 처리 및 수비드 조리한 고기의 중심부분을 2g 취한뒤 0.04M의 PBS 용액 10mL에 넣고 균질화 시킨뒤 얼음물에 1시간 휴지시킨 뒤 원심분리를 진행함(10000g, 4℃, 30분)
- 원심분리 후 상층액을 Whatman No.1 filter로 여과한 뒤 PBS용액으로 25mL를 만듦.
- 분광광도계로 525nm와 700nm에서 흡광도를 측정하고 아래와 같은 공식을 이용하여 total myoglobin 함량을 계산함
- Total myoglobin (mg/g) = (A₅₂₅-A₇₀₀) x 2.303 x dilution factor
- 실험결과는 그림 0-39 과 같으며 색도측정에서 적색도의 변화만을 그림 0-38에 표현하였음.

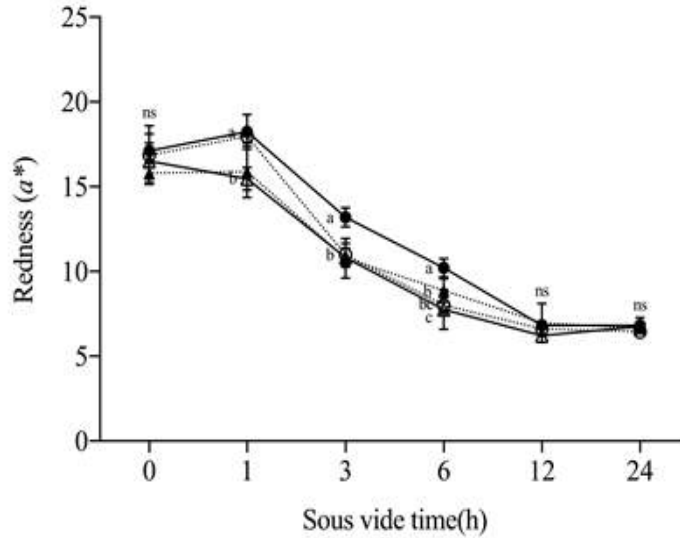


그림 2-38. 60°C 에서 조리시간에 따른 적색도 변화 (●-control, ○-1.0 kV/cm, ▲-1.5 kV/cm, △-2.0 kV/cm)

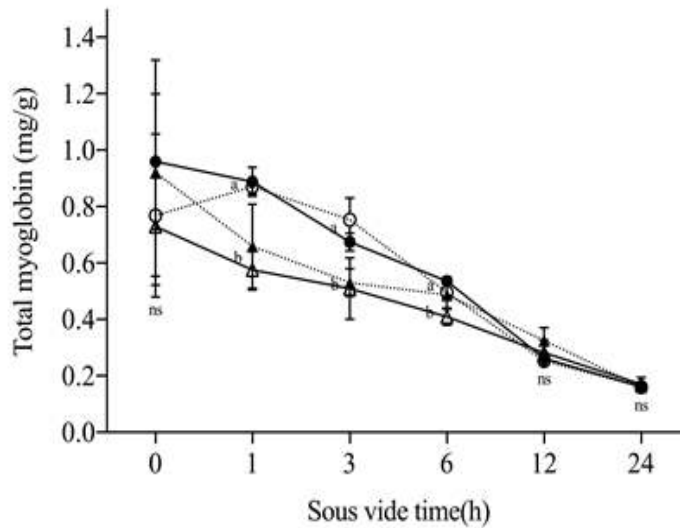


그림 2-39. 60°C 에서 조리시간에 따른 myoglobin 변화 (●-control, ○-1.0 kV/cm, ▲-1.5 kV/cm, △-2.0 kV/cm)

- 처리 직후 myoglobin은 적색도와 마찬가지로 대조군 및 처리군간 유의적인 차이를 보이지 않았음(ns = p > 0.05).
- 실험결과 적색도 감소와 같은 경향으로 myoglobin의 함량이 감소하였으며 6시간 까지는 처리군이 대조군에 비해 더 낮은 함량을 보였으며, 12시간 이후는 유의적인 차이가 나타나지 않음(ns = p > 0.05).

- 색도측정과 myoglobin 함량 측정결과를 토대로 펄스전기장 처리한 고기가 수비드 조리시 조리시간을 단축할 수 있음을 확인함.

나. 펄스전기장(PEF) 전 처리 및 육포제작

(1) 펄스전기장 전 처리한 육포제조 조건설정

- 수비드 조리과 마찬가지로 대량처리 작업시 가동형 chamber는 이용하기 어려운 단점이 있음.
- 수비드 조리과 달리 육포제조는 제혈과정이 있기에 기존 chamber의 단점이었던 부분이 공정 시간 단축에 용이할 것이라 판단함.
- 산업적으로 제혈과정은 시간이 많이 소요되기에 미생물 오염의 문제와 생산비 증가의 문제점을 가지고 있음.
- 원료육의 펄스전기장 처리를 위해서는 지방함량이 적고 조직이 균일하며 육포 등의 원료로 널리 사용되는 소고기 흉두깨살을 사용하였음.
- 육포 제조에 이용된 펄스전기장 조건은 표 2-27,28과 같으며, 시료의 사이즈는 펄스전기장 처리에 최소 1 x 1 x 1cm이상 되어야 하고 육포의 특성상 세로가 4cm는 되어야 했기 때문에 2 x 4 x 1, 2 x 4 x 2cm 사이즈로 각각 예비실험을 실시한 결과 2 x 4 x 1cm보다 2 x 4 x 2cm 시료가 건조과정 이후 더 좋은 상태를 보여 펄스처리 육포에 적합한 사이즈는 2 x 4 x 2 사이즈로 결정하여 진행하였음.

표 2-27. 펄스처리 육포의 Field strength와 Out voltage 차이에 따른 처리조건

Size (cm)	Field strength (kV/cm)	Out voltage (%)	Pulse width (μs)	Frequency (Hz)	Pulse number
	0.5	14			
2 x 4 x 2	1.5	38	30	25	500
	2.5	60			

표 2-28. 펄스처리 육포의 Pulse number 차이에 따른 처리 조건

Size (cm)	Field strength (kV/cm)	Out voltage (%)	Pulse width (μs)	Frequency (Hz)	Pulse number
					100
2 x 4 x 2	2.5	60	30	25	300
					500

- 표 2-27 에서 Out voltage 14%에서 Field strength가 0.5 kV/cm로 처리할 수 있었음.
- 표 2-27 에서 Out voltage 38%에서 Field strength가 1.5 kV/cm로 처리할 수 있었음.
- 표 2-27 에서 Out voltage 60%에서 Field strength가 2.5 kV/cm로 처리할 수 있었음.
- 표 2-28 에서 Out voltage 60%에서 Field strength가 2.5 kV/cm로 Pulse number 100, 300, 500 처리 조건으로 처리할 수 있었음.

(2) 육포의 제조공정 설계

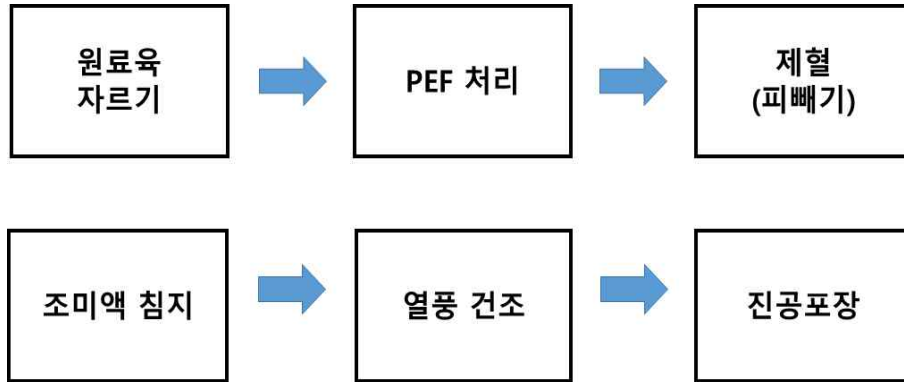


그림 2-40. 펄스전기장처리를 이용한 육포제작 공정도

- 육포의 제조공정은 원료육 자르기, 제혈, 조미액 침지(염 침지), 건조 등의 단계가 있음(그림 2-40)
- 각 단계에서 나타나는 영향을 살펴보기 위해서 원료육 자른 이후 바로 펄스전기장 처리를 하는 공정을 설정.
- 제혈, 염지, 건조 이 공정들 중에서 시간이 단축되는 공정이 있다면 육포제조에 있어 생산비 감소효과를 얻을 수 있음.

- 제조과정 중 제혈과정은 일반적으로 물에 담가둔 상태로 2시간을 진행하기 때문에 공정이 길어질 수록 미생물 오염등의 문제를 야기할 수 있으며, 육즙손실의 우려도 있음.
- 따라서, 경제성과 식품 안전성 확보에 측면에서 제혈 공정에서 소요되는 시간을 펄스전기장 처리된 원료육의 육포 제조를 통해 공정시간을 단축시킬 수 있을 것이라 판단함.

(3) 펄스전기장 전처리한 육포의 제혈 공정 시간 단축

- 원료육의 제혈 공정 단축 시간을 알아보기 위해 펄스전기장 처리후 고기에서 흘러나오는 핏물의 전기전도도 변화를 측정하였음.
- 전기전도도 측정은 대조군과 pulse number 500으로 처리한 2.5 kV/cm 처리군을 가지고 진행하였으며 원료육을 300mL 증류수에 침지한 상태에서 2시간동안 흘러나오는 핏물에 의해 증가하는 전기전도도를 측정하였음(그림 2-41).

○ 핏물의 전기전도도

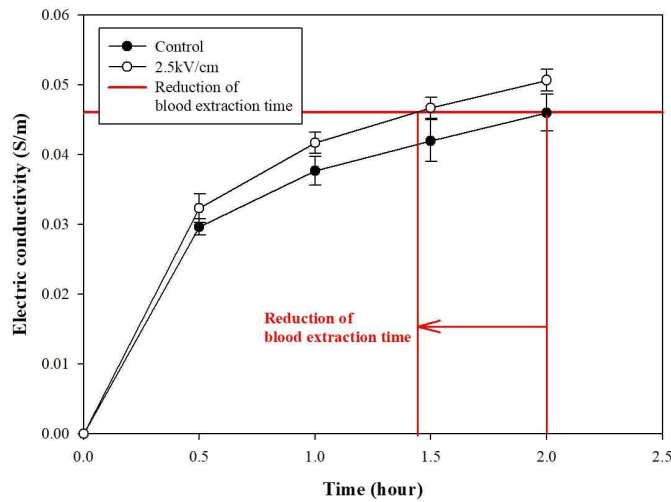


그림 2-41. 펄스처리 육포에서 흘러나온 핏물의 전기전도도 측정

- 펄스전기장 처리한 원료육을 침지한 상태에서 30분후, EC meter를 이용하여 측정한 전기전도도는 대조군은 0.030 ± 0.001 S/m, 처리군은 0.032 ± 0.002 S/m이었음.
- 펄스전기장 처리한 원료육을 침지한 상태에서 60분후, EC meter를 이용하여 측정한 전기전도도는 Control은 0.038 ± 0.002 S/m, 처리군은 0.042 ± 0.002 S/m이었음.
- 펄스전기장 처리한 원료육을 침지한 상태에서 90분후, EC meter를 이용하여 측정한 전기전도도는 Control은 0.042 ± 0.002 S/m, 처리군은 0.046 ± 0.002 S/m이었음.

도도는 대조군은 0.042 ± 0.003 S/m, 처리군은 0.047 ± 0.002 S/m이었음.

- 펄스전기장 처리한 원료육을 침지한 상태에서 120분후, EC meter를 이용하여 측정한 전기전도도는 대조군은 0.046 ± 0.003 S/m, 처리군은 0.051 ± 0.002 S/m이었음.
- 이후 추가적으로 더 살펴본 결과 펄스전기장 처리한 원료육을 침지한 상태에서 180분후인 3시간 후, EC meter를 이용하여 측정한 전기전도도는 대조군은 0.051 ± 0.002 S/m, 실험군은 0.057 ± 0.002 S/m이었음.
- 따라서, 펄스전기장 처리한 원료육에서 2시간동안 흘러나오는 핏물에 의해 증가하는 전기전도도 측정을 EC meter통해서 실시한 결과 보통 육포의 제조 공정에서 제혈 공정에 소요되는 시간이 2시간이므로, 대조군 2시간에 해당하는 전기전도도는 0.046 ± 0.003 S/m이었고, 이는 처리군이 90분이 경과했을 때 전기전도도가 0.047 ± 0.002 S/m이었으므로 최소 30분, 즉 제혈 공정 소요시간의 25% 시간을 단축할 수 있음을 간헐적으로 알 수 있었음.

(4) 펄스처리 육포 sample 자체의 전기전도도 변화 측정

- 앞서 EC meter를 이용해서 펄스처리 원료육에서 흘러나온 핏물에 의해서 대조군에 비해 처리군이 전기전도도 증가 속도가 빠른 것을 볼 수 있었음.
- 이 결과를 참고하여 원료육 자체에서는 핏물이 빠져나갔기 때문에 이론적으로는 전기전도도는 더욱 감소할 것이라 판단함.
- 육포 샘플 자체에서도 처리군과 대조군의 전기전도도 감소폭이 다른지 확인하기 위해서 샘플 내 전기전도도를 측정함.
- 육포 sample이 가진 전기전도도 변화를 측정하기 위해서 앞서 펄스전기장 처리한 원료육의 생물학적 전기전도도 측정에 이용된 LCR meter(LCR-8000G, Gwinstek, Taiwan)를 사용하였음.
- LCR meter를 활용해서 실험을 진행하기 위해서 육포 sample은 $1 \times 1 \times 1$ cm cube형태로 자른 뒤 진행함.
- Frequency는 1KHz에서 2MHz까지 측정을 하였고 0~3시간은 1시간 간격으로 측정을 실시하였고, 0~1시간은 20분 간격으로 측정을 실시하였음.
- 원료육의 제혈 공정 단축 시간을 알아보기 위해 펄스처리 육포 sample 자체의 전기전도도 변화 측정 실험의 펄스전기장 처리조건은 앞서서 말한 조건들 중 대조군과 처리군은 Field strength 2.5 kV/cm, Out voltage 60 %, 펄스 폭 30[μ s], 진동 수 25 Hz, Pulse number 500으로 처리하여 전기전도도를 비교하는 실험을 진행하였음.

○ 육포의 전기전도도

- 앞선 연구에서 LCR meter를 이용하여 펄스전기장 처리한 원료육이 대조군보다 생물학적 전기전도도가 높아지는 결과와 유사하고, 제철 시간의 변화에 따른 전기전도도 변화를 확인하였음.
- 그림 2-42 을 통해서 빨간색으로 표시된 처리군이 파란색으로 표시된 대조군보다 전기전도도 감소폭이 더 큰 것을 확인할 수 있음.
- 그림 2-43 를 통해서 빨간색으로 표시된 처리군이 파란색으로 표시된 대조군보다 전기전도도 감소폭이 더 큰 것을 확인할 수 있음.

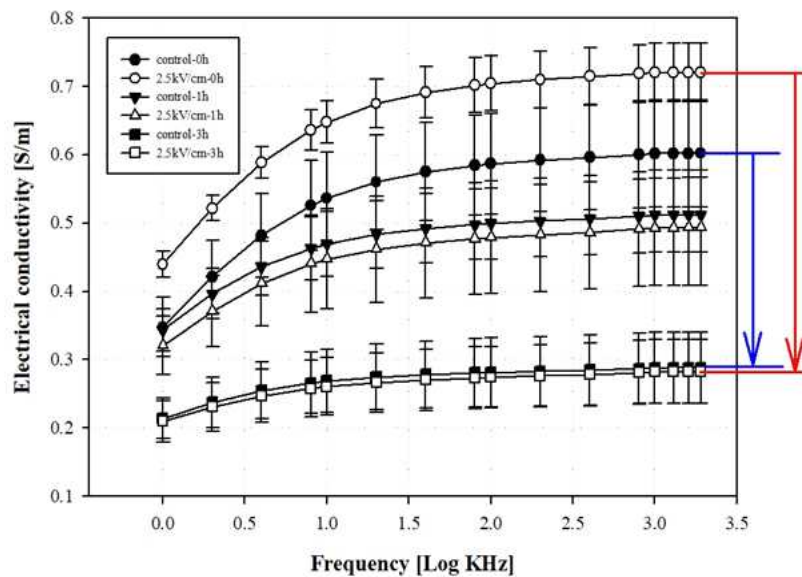


그림 2-42 펄스처리 육포 sample 자체의 전기전도도 변화(0~3시간, LCR meter)

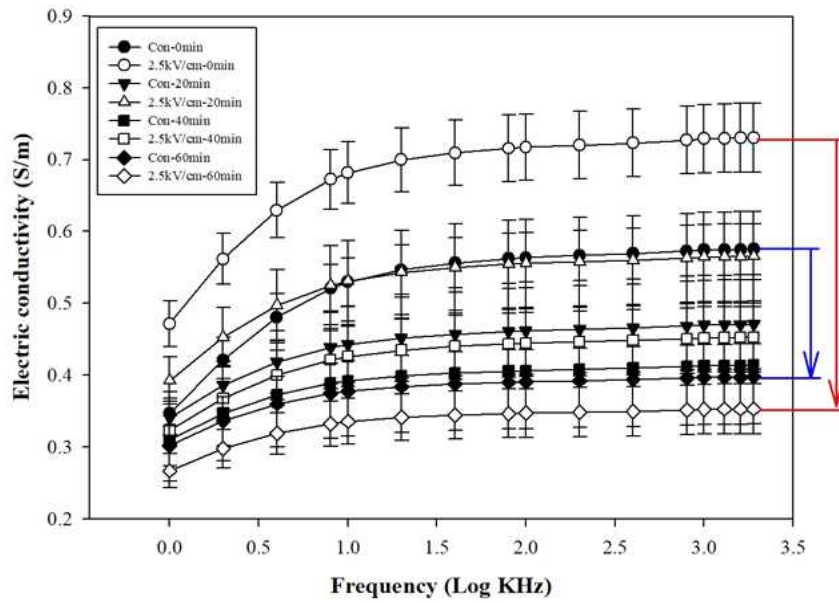


그림 2-43 펄스처리 육포 sample 자체의 전기전도도 변화(0~1시간, LCR meter)

- 그림 2-43 를 통해서, 3시간동안의 전기전도도 감소폭보다 1시간동안의 전기전도도 감소폭이 더 큰 것을 확인할 수 있었음.
- 초반 1시간동안 펄스처리 원료육이 대조군보다 피가 빠지는 속도가 크게 증가하는 것을 확인함.
- 따라서, 그림 2-41,42,43를 통해 알 수 있었던 전기전도도 변화량으로 펄스전기장 처리한 원료육이 대조군보다 제혈 공정이 더 빠르게 일어나 공정의 시간을 단축 할 수 있음.

(5) SLS-method를 통한 펄스처리 육포에서 흘러나온 핏물 변화량 측정

○ SLS-method

- EC meter와 LCR meter를 이용하여 흘러나온 핏물과 육포 sample 자체의 전기전도도 변화량을 측정하여 펄스전기장 처리한 원료육이 제혈 공정의 시간을 단축시킬 수 있다는 사실을 간헐적으로 확인하였음.
- 추가적으로, 구체적인 수치적으로 정확히 얼마나 제혈 공정의 시간을 단축시킬 수 있는지 알아 볼 수 있는 실험을 통해 증명이 필요함.
- 사람의 적혈구양을 측정하는데 사용하는 SLS (Sodium Lauryl Sulfate)-Hb method를 펄스전기

장 처리한 육포에 적용하여 제혈 공정의 시간 단축을 수치화 시킴.

- SLS (Sodium Lauryl Sulfate)-Hb method는 Hemoglobin determination의 대표적인 방법 중 하나로 이외에 Cyanide hemoglobin(HiCN)등이 있음.
- HiCN (Cyanide hemoglobin)-method 대신에 SLS (Sodium Lauryl Sulfate)-Hb method를 선택한 이유는 앞선 HiCN방법은 인체에 유해한 toxic한 물질을 생성하고 환경적으로 문제를 일으킬 수 있는 물질들을 생성해서 인체에 덜 무해하고 non-toxic한 물질을 생성하는 SLS-method를 적용하기로 결정하였음.
- SLS-Hb 실험방법은 Sodium Lauryl Sulfate를 이용하여 hemoglobin과 반응시켜 SLS-Hb를 형성시켜서 Spectrophotometer를 이용하여 539nm에서 흡광도 측정하여 수치적으로 환산함.
- SLS solution을 만들기 위해서 SLS 6g에 0.3M Phosphoric acid buffer solution (pH 7.2) 20ml를 더한 뒤 7mL의 Triton X-100을 더하게 되는데 이는, 5°C 이하에서 SLS의 침전을 억제하는 역할을 하게됨.
- 용질이 완전히 용해될 때까지 잘 섞어 준 다음 이 용액을 같은 buffer solution을 이용해서 100mL를 정량하여 만듦.
- 이 용액을 Stock solution으로 사용하고 Working solution은 100배 희석하여 사용함.
- Working solution을 이용한 실질적인 실험방법은 6mL의 소고기 육포에서 흘러나온 핏물 (300mL 증류수 안)에 5mL의 Working solution을 더하고 교반 한 후 5분 동안 충분히 반응시킴.
-
- 반응 시킨 후 539nm에서 분광광도계를 사용하여 흡광도를 측정하여 Hb의 수치를 측정하였다.
- SLS-Hb method는 Pulse number 차이와 Field strength 차이를 준 조건차이로 실험을 실시하였음.

○ 핏물 변화량 측정

- 실험1) Pulse number 조건차이는 Field strength 2.5 kV/cm, Out voltage 60 %, 펄스 폭 30 μ s, 진동 수 25 Hz, Pulse number 100, 300, 500으로 처리하여 SLS-Hb method를 통해 제혈 공정이 진행되면서 시간에 흐름에 따라 흡광도 차이를 비교하는 실험을 진행하였음.
- 실험2) Field strength 조건차이는 Field strength 0.5, 1.5, 2.5 kV/cm, Out voltage 60%, 펄스 폭 30 μ s, 진동 수 25 Hz, Pulse number 500으로 처리하여 SLS-Hb method를 통해 제혈 공정

이 진행되면서 시간에 흐름에 따라 흡광도 차이를 비교하는 실험을 진행하였음.

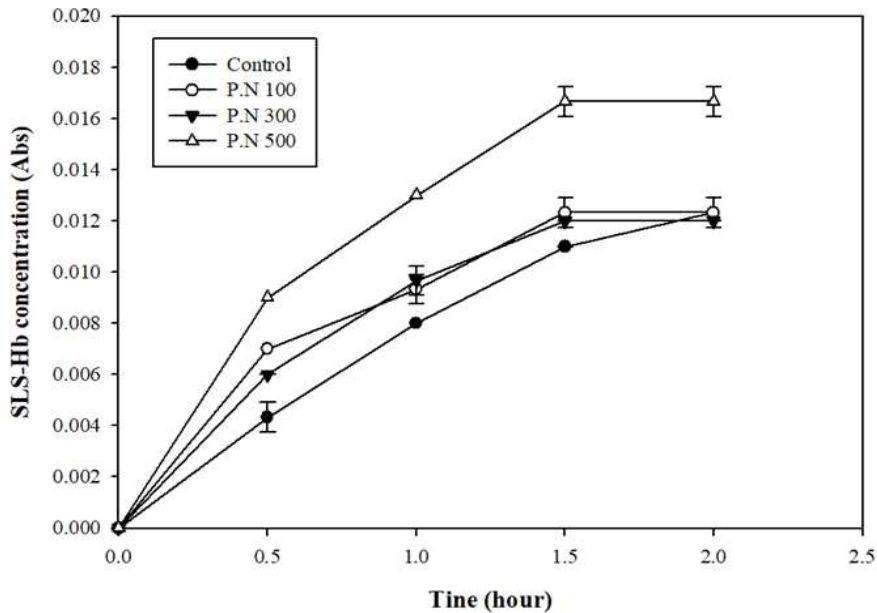


그림 2-44. 실험1) Pulse number 차이를 준 조건에서 SLS-Hb 흡광도 변화

- 펄스처리 원료육을 침지한 상태에서 30분후, SLS-Hb의 흡광도는 Control에서 0.004 ± 0.001 [Abs], Pulse number 100에서 0.007 ± 0.000 [Abs], Pulse number 300에서 0.006 ± 0.000 [Abs], Pulse number 500에서 0.009 ± 0.000 [Abs]로 이었음.
- 펄스처리 원료육을 침지한 상태에서 60분후, SLS-Hb의 흡광도는 Control에서 0.008 ± 0.000 [Abs], Pulse number 100에서 0.009 ± 0.001 [Abs], Pulse number 300에서 0.010 ± 0.001 [Abs], Pulse number 500에서 0.013 ± 0.000 [Abs]로 이었음.
- 펄스처리 원료육을 침지한 상태에서 90분후, SLS-Hb의 흡광도는 Control에서 0.011 ± 0.000 [Abs], Pulse number 100에서 0.012 ± 0.001 [Abs], Pulse number 300에서 0.012 ± 0.000 [Abs], Pulse number 500에서 0.017 ± 0.001 [Abs]로 이었음.
- 펄스처리 원료육을 침지한 상태에서 120분후, SLS-Hb의 흡광도는 Control에서 0.012 ± 0.001 [Abs], Pulse number 100에서 0.012 ± 0.001 [Abs], Pulse number 300에서 0.012 ± 0.000 [Abs], Pulse number 500에서 0.017 ± 0.001 [Abs]로 이었음.
- Pulse number 차이 조건에서는 Pulse number 500인 조건이 월등하게 높은 SLS-Hb 흡광도를 보였고 보통 육포의 제조 공정에서 제혈 공정에 소요되는 시간이 2시간이므로, 대조군이 120분, 즉 2시간이 흘렀을 때 흡광도는 0.012를 나타냈고 실험군 중 가장 효과가 좋았던 Pulse

number 500은 30분 경과시 0.009, 60분 경과시 0.013이므로 최소 1시간 이상 즉, 제혈 공정 소요시간의 50% 이상을 단축시킨다고 볼 수 있음.

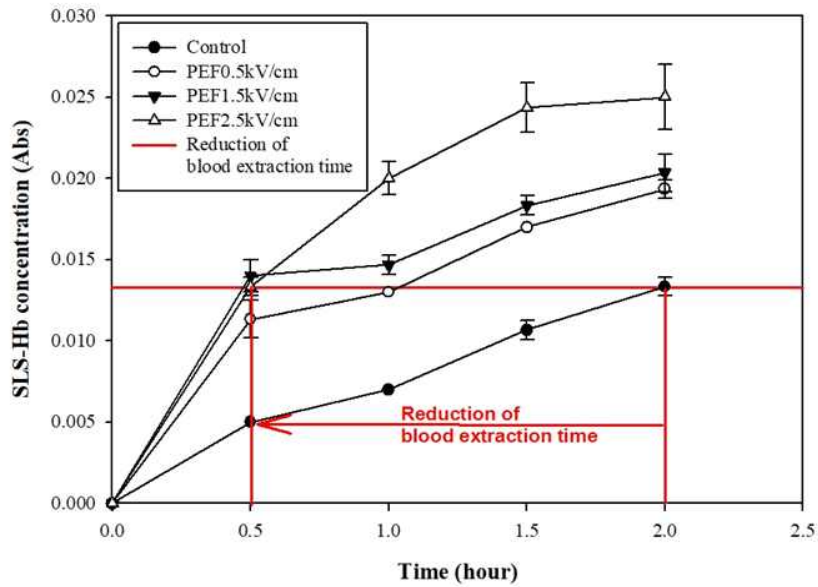


그림 2-45. 실험2) Field strength 차이를 준 조건에서 SLS-Hb 흡광도 변화

- 펄스처리 원료육을 침지한 상태에서 30분후, SLS-Hb의 흡광도는 Control에서 0.005 ± 0.000 [Abs], Field strength 0.5 kV/cm에서 0.011 ± 0.001 [Abs], Field strength 1.5 kV/cm에서 0.014 ± 0.001 [Abs], Field strength 2.5 kV/cm에서 0.013 ± 0.001 [Abs]로 이었음.
- 펄스처리 원료육을 침지한 상태에서 60분후, SLS-Hb의 흡광도는 Control에서 0.007 ± 0.000 [Abs], Field strength 0.5 kV/cm 에서 0.013 ± 0.000 [Abs], Field strength 1.5 kV/cm에서 0.015 ± 0.001 [Abs], Field strength 2.5 kV/cm 에서 0.020 ± 0.001 [Abs]로 이었음.
- 펄스처리 원료육을 침지한 상태에서 90분후, SLS-Hb의 흡광도는 Control에서 0.011 ± 0.001 [Abs], Field strength 0.5 kV/cm에서 0.017 ± 0.000 [Abs], Field strength 1.5 kV/cm에서 0.018 ± 0.001 [Abs], Field strength 2.5 kV/cm에서 0.024 ± 0.002 [Abs]로 이었음.
- 펄스처리 원료육을 침지한 상태에서 120분후, SLS-Hb의 흡광도는 Control에서 0.013 ± 0.001 [Abs], Field strength 0.5 kV/cm에서 0.019 ± 0.001 [Abs], Field strength 1.5 kV/cm에서 0.020 ± 0.001 [Abs], Field strength 2.5 kV/cm에서 0.025 ± 0.002 [Abs]로 이었음.
- Field strength 차이 조건에서는 Field strength 2.5 kV/cm인 조건이 월등하게 높은 SLS-Hb 흡광도를 보였고 보통 육포의 제조 공정에서 제혈 공정에 소요되는 시간이 2시간이므로, 대

조균인 Control이 120분, 즉 2시간이 흘렀을 때 흡광도는 0.013을 나타냈고 실험군 중 가장 효과가 좋았던 Field strength 2.5 kV/cm은 30분 경과시 0.013 최소 1시간 30분 이상 즉, 제혈 공정 소요시간의 75%를 단축시킨다고 볼 수 있음.

- 실험1) Pulse number 차이와 실험2) Field strength 차이 사이에 원료육 샘플이 완전히 같지는 않기 때문에 1시간 단축, 1시간 30분 단축의 차이는 발생했지만 실제로 1시간에서 1시간 30분이상 단축시킬 수 있다는 실험적 결과를 얻음.
- 펄스전기장 처리한 원료육이 육포의 제혈 공정에서 시간 단축은 월등한 효과를 보였고 앞선 데이터들을 종합해보면 1시간에서 1시간 30분인 즉, 제혈 공정 총 2시간에서 50~75%의 시간을 단축시키는 효과를 보임.

제 3절 식육제품 비가열 살균 시스템 구축 및 현장 적용을 통한 산업화

1. 식육제품의 초고압 기술 적용을 위하여 식육제품에 적합한 처리 조건 분석

가. 국내외 사례 조사

(1) 국내외 초고압기 생산 업체 조사

- 다음 표와 같이 국내에 식품산업과 관련된 초고압기 생산업체를 조사하여 정리함.

표 3-1. 국내외 초고압기 생산 업체

회사명	국가	회사 소개	용량	압력
ABB Pressure Systems	스웨덴	1950년대에 다이아몬드 생산을 위해 설립된 회사로 90년대부터 식품의 초고압 가공에 관심을 갖기 시작하여 ultra HPP 시스템 공급을 선도함		600 MPa
ACB Pressure System	프랑스	유압가공과 금속성형 분야의 경험을 바탕으로 1992년에 산업용과 연구용 초고압 장치의 설계와 제작을 시작함	50~420 L	700 MPa
Avure Technologies Inc.	미국/스웨덴	2005년, The Gores Group, LLC에 의해 Flow International Corp으로부터 독립함.		600 MPa
Baotou Kefa Co. Ltd	중국	2001년에 설립된 회사로 초고압 기술, cold sterilization, cold isostatic pressing 등에 집중함	30~300 L	600 MPa
Elmhurst Research Inc.	미국	1988년에 설립되어 식품에의 적용을 중점적으로 개발해 왔으며 rotary HPP vessel의 특허를 보유함	22 L	689 MPa
Engineered Pressure Systems Inc.	벨기에/미국	40년 전 설립된 회사로 다양한 vessel 디자인 등 초고압 시스템 설계와 산업용, 실험용 초고압기를 제공함		100-900 MPa

Flow International Corporation	미국/스웨덴	1974년 Ultra HPP water-jet cutting을 위해 설립되어 1993년에 초고압 식품가공에 관심을 갖기 시작하여 1999년에 ABB를 인수함. 후에 Avure라는 이름으로 분리됨		600 MPa
Fresher Evolution HPP	미국	All Natural Freshness와 협력하여 초고압기를 설계, 개발, 생산함	175~525 L	600 MPa
Hiperbaric	스페인/미국	1999년 설립되어 초고압기의 설계, 기술발전, 상용화에 기여해 오고 있음	55~525 L	600 MPa
INNOWAY CO LTD,	한국	국산 초고압기 생산 기술을 보유한 회사로 초고압하의 단백질 효소 가수분해를 연구 개발함		
Kobe Steel, Ltd.	일본	1911년 설립된 회사로 90년대 후반 초고압 기술을 통해 잼, 과일 주스, 생과일 등을 연구개발함	130 L	392 MPa
Mitsubishi Heavy Industries, Ltd.	일본	1950년대 설립되어 90년대 첫 상용 식품가공을 위한 초고압 vessel을 생산함으로서 일본의 초고압 혁명에 기여함	140 L	600 MPa
MULTIVAC	독일	1961년 설립되어 포장수를 비롯한 포장기까지 선도하는 기업이 된 후 UDHE와 전략적 파트너십을 통해 초고압을 시작함	55~350 L	600 MPa
Resato International	네덜란드	1985년부터 초고압설비의 개발 및 생산 전문기업으로 waterjet cutting 기기 공급이 가장 전문임		1400 MPa
Stansted Fluid Power LTD.	영국	1970년 설립된 회사로 액체 가공 적용을 위한 초고압기 생산을 전문으로 함	10 mL~5 L	1400 MPa
Uhde High Pressure Technologies	독일	1930년대 설립되어 암모니아 공장의 초고압기 생산 경험을 통해 여러 용도를 위한 산업용, 연구용의 많은 초고압 장치를 개발함		
UNIPRESS	폴란드	1972년 반도체 초고압을 위해 설립된 회사로 1993년 처음 초고압기 연구 프로그램을 수행함	1.5 L	500 MPa

- 주요 생산업체 초고압기 사진



그림 3-1. Avure Technologies Inc.의 초고압기 사진



그림 3-2. Hiperbaric의 초고압기 사진



Baotou Kefa HPT (China)
 2x400 L – 600 MPa HPP system Horizontal
 Capacity: 3.2 tons/h
 (5 min holding, 2 min loading & unloading, 5 min pressure increase time, total cycle time 12 min)

그림 3-3. Baotou Kefa Co. Ltd의 초고압기 사진

(2) 초고압의 식육제품 적용 사례

○ Cargill, Inc.의 fressure[®] ground beef patties

- 초고압 식육제품 개발을 위해 벤치마킹 할 필요가 있는 국외의 사례를 통해 식육제품에 적합한 처리조건을 분석함.
- 네덜란드의 세계적인 식품회사 Cargill, Inc.는 2011년부터 기존에 얼려서 유통하거나 유통 전 pre-cooking했던 햄버거 패티를 초고압 처리하여 냉장유통 할 수 있는 fressure[®] ground beef patties를 판매해 오고 있음.



그림 3-4. fressure[®] ground beef patties 사진

- Cargill, Inc.에 따르면 초고압 처리를 통해 경쟁사의 신선한 패티보다 신선도를 더 오래 유지할 수 있으며 항상 일관되고 맛있는 패티를 제공할 수 있음. 또한 E. coli O157:H7, 살모넬라 및 부패를 일으킬 수 있는 많은 다른 미생물과 식품 매개 병원균을 감소시켜 식품 안전성을 향상시킴(Fressure[®] Ground Beef Patties, 2016).

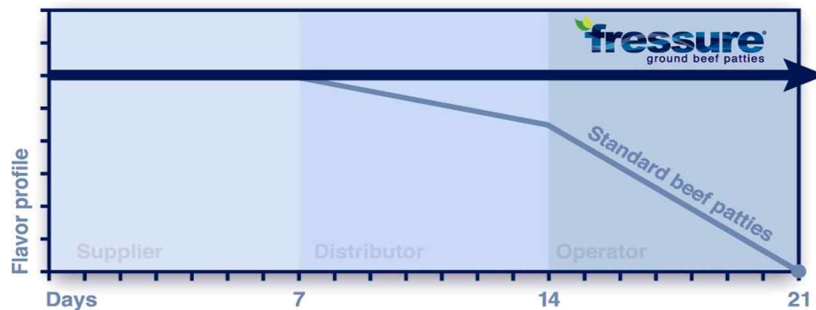


그림 3-5. fressure[®] ground beef patties의 유통기한 연장 효과

○ fressure[®] ground beef patties 공정 분석

- <http://fressure.com/>를 참고하여 fressure[®] ground beef patties의 공정을 모식도로 나타내면 다음과 같음.

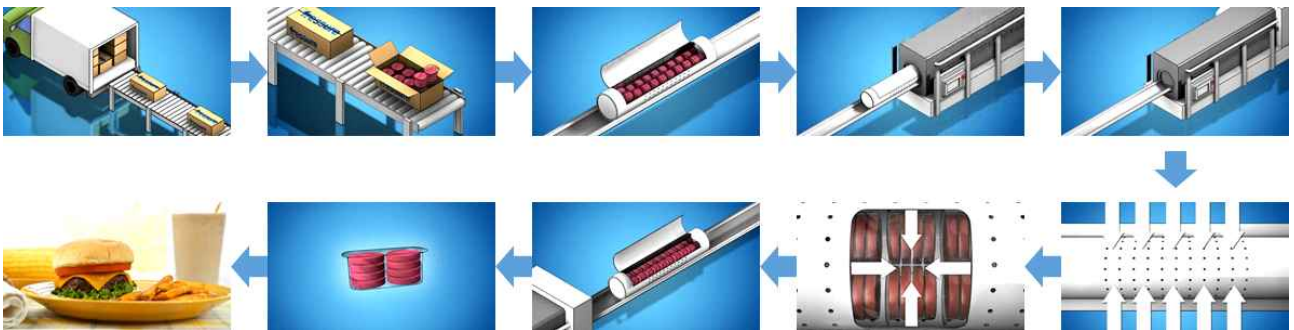


그림 3-6. fressure[®] ground beef patties의 생산 공정도

- Cargill, Inc.이 보유한 ‘High Pressure Pasteurizing of Ground Meats’의 특허

(US20120269952 A1)를 분석하여 위의 공정상의 자세한 처리 조건을 알아보면 다음과 같음 (Cargill, 2012),

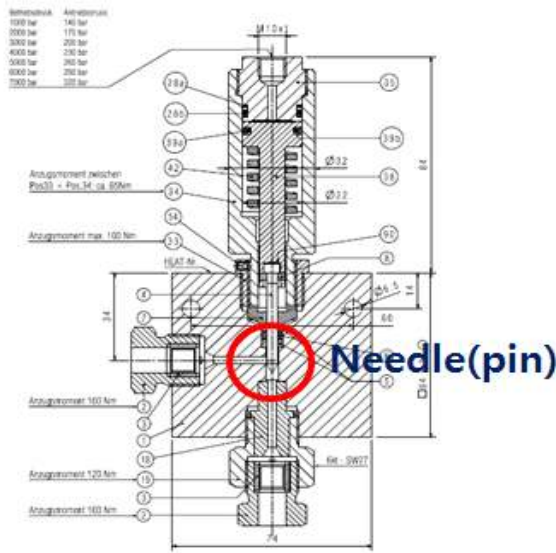
- 진공포장
- 처리 온도: 약 0-7 ° C(약 30-45 ° F)
- 처리 압력: 350-900 MPa(50,000-130,500 psi)
- 처리 시간(holding time): 5분
- 가압 시간: 약 30초에서 150초

2. 초고압 살균 시스템 구축을 위한 설비 보완 및 개선

가. 초고압 기기 진단 및 보완 계획

(1) 고압밸브

- 해외 설비 업체(Sitec)의 고압밸브 내부의 pin 부분을 참고하여 기존설비 개선 예정
- 고압밸브 내의 pin은 압력을 올려줄 때 열고 닫힘을 조절하여 Vessel내로 압력을 충전 시켜 주는 역할을 하며, 이 부분에 마모 또는 손상이 생길 경우 압력 상승시간 및 유지 기능이 손실됨
- 기존 설비의 고압밸브의 경우 pin의 재질이 마모가 쉽게 발생하여 교체 주기가 이르며 이로 인한 생산 중 설비 점검 작업으로 상당한 시간을 필요로 함
- 현재 부품 공급 업체(Baotao Kefa)에 기존 pin의 재질 상 문제 또는 고압밸브 내부에서의 고정 문제가 있는지 문의하였으며 해외 Sitec 업체의 부품을 참고하여 개선 요청함



<Sitec (Switzerland)>

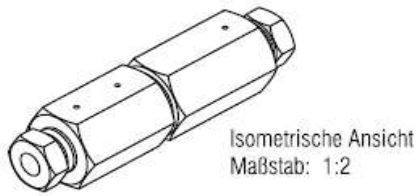


<기존 설비 고압밸브>

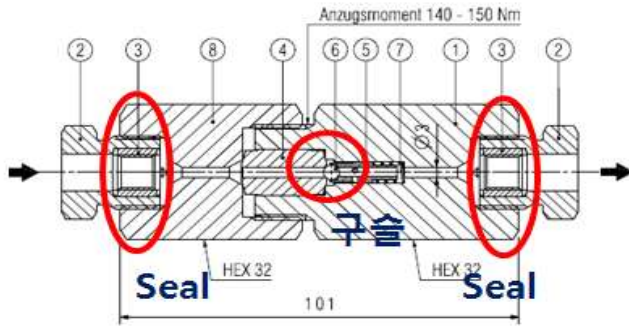
그림 3-7. 스위스 Sitec사의 고압밸브(좌), 뉴트렉스테크놀러지의 고압밸브(우)

(2) 체크밸브

- 체크밸브의 고압밸브로부터 진입된 압력을 유지시켜주거나 압력이 빠질 때 짧은 시간 내에 압력이 방출 될 수 있게끔 도와주는 역할을 함.
- 초고압기는 압력이 방출 될 때 단시간 내에 압력이 방출되어야 초고압 효과를 볼 수 있으며 체크 밸브의 기능이 상실 될 시 압력에 의한 효과가 감소하게 됨.
- 체크밸브의 출/입 부분 양쪽에 고무 Seal과 중간에 구슬 부분의 이 부품의 기능을 수행하는데 있어서 핵심적인 역할을 함. 고무 Seal은 외부 공기와의 차단, 구슬은 압력 방출시 일정하고 안정함을 위해 유지함
- 현재 사용 중인 기존 설비의 경우 내부의 고무 Seal의 잦은 파손과 구슬의 마모로 압력 방출 시 시간 소요가 다소 일정하지 못함
- 내구성 향상을 위해 해외 설비 업체(Sitec)의 부품을 참고하여 고무 Seal 및 구슬의 개선 제작을 요청함



<기존 설비 체크밸브>

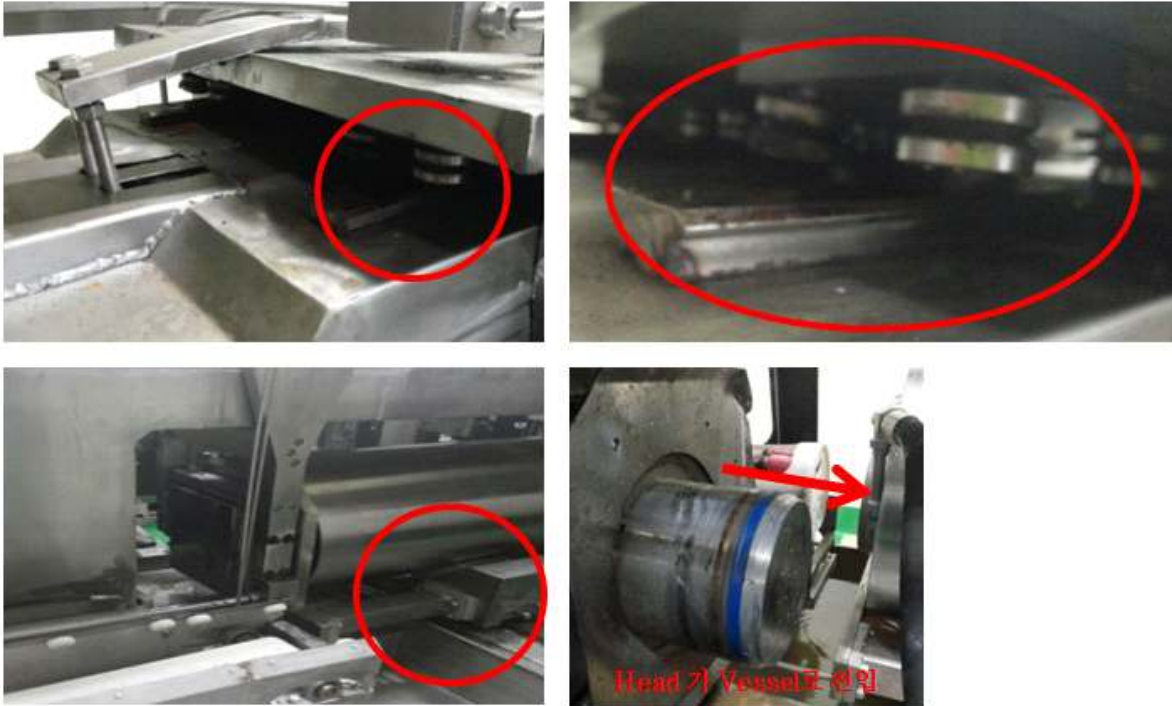


<Sitec (Switzerland)>

그림 3-8. 스위스 Sitec사의 체크밸브(좌), 뉴트렉스테크놀러지의 체크밸브(우)

(3) Cylinder sliding

- Cylinder(Vessel)의 Sliding 접촉 부위의 이탈 및 부식으로 인해 정교한 작업이 필요로 한 Head 진입과정에서 오차가 발생하여 압력 상승에 영향을 줌
- Cylinder의 하부 및 상부의 Sliding 면 접촉 부위에 부식 부분 교체 및 교정 진행할 예정



<Cylinder sliding 접촉 부위>

그림 3-9. 뉴트렉스테크놀러지 초고압기의 Cylinder sliding 문제 위치

(4) Intensifier

- 증압기는 높은 압력을 유압 및 수압을 이용하여 공급하는 장치로 내부에서 물과 기름의 혼합이 발생할 수 있음. 내부의 고무 Seal은 물과 기름의 혼합을 방지하나 쉽게 파손되어 기기 전체에 기름이 퍼지게 됨.
- 증압기의 내부 Seal은 고무 제질로 제조되어 높은 압력에 의해 형태가 변할 수 있음.
- 이에 기기 설비 업체에 Seal을 고무 제질이 아닌 고정이 잘되는 다른 제질로 제작이 가능한지 문의를 한 상태이며 3차년 도에 보완할 예정임.

나. 식육제품의 생산 공정시스템에 따른 초고압 기기의 증압기, 유압펌프 등의 부품장치 재구축을 통한 기기 제작

(1) 증압기 및 부품장치 수리 및 보완(2차년도 진행)

(가) 증압기(Intensifier)



그림 3-10. 증압기 분리과정

그림 3-11. 증압기 내부 Seal 교환

- 초고압기의 핵심인 증압기의 효율을 높이기 위해 증압기를 수리하였음
- 총 4개의 증압기, 각 증압기당 두 군데에는 증가되는 압력이 세어나가지 않도록 Sealing이 고정되어 있음
- 기존에는 고무로 된 Sealing을 사용하였으나, 내구성이 떨어져 압력을 상승 시키는데 상당한 시간이 소요 됐음
- 이에, 생산 효율을 증가시키기 위해 기계 제작에 기존 고무 Sealing을 동(bronze) Sealing으로 제작 주문하여 교체하였음

(나) 고압밸브

- 고압밸브는 증압기로부터 전달받은 압력을 Vessel 내로 유입시켜주는 동시에 내부의 압력이 외부로 빠져 나가지 않도록 제어 해주는 장치로 내부에 위치하는 Needle 과 Sealing이 결정적인 역할을 함
- 기존 Needle이 장착되어있던 방법이 다소 느슨하여 잦은 파손이 발생 하였으며 이에 중간에 고정 장치를 장착하여 좌, 우로 미세하게 흔들리는 것을 개선하였음
- 고압밸브 하부의 Sealing은 기존 철틀로 된 제질에서 동으로 제질을 제작 교체하였음



그림 3-12. 고압밸브 상부 Needle 교환 및 고정기 장착



그림 3-13 고압밸브 하부 Sealing 제질 교환

(다) Plug

- Vessel로 유입되는 Plug에는 4개의 Ring이 장착 되어있으며 외부로 압력 및 물이 새어 나가는 것을 방지해줌
- 실링의 파손은 주로 plug의 흔들림에 의해 발생하며, 이는 주기적으로 교체 작업을 해주는 방법 외에는 달리 방법이 없음
- Plug의 교체를 위해 ring을 주문하여 교체하였으며, 동시에 교정 작업도 진행하였음



그림 3-14. Plug ring 교체 및 교정

(2) 초고압 전체 설비 시스템 변경(3차년도 진행)

(가) 초고압기 대량 살균 시스템 구축을 위한 주요 부품 교체

○ 주요 설비 및 부품 교체 작업

- 2차년도 증압기 수리로 작업 속도를 향상하려 하였으나 대량 생산을 하는데에 한계가 있음
- 생산성이 떨어지는 이유는 초고압기 자체가 연속적인 작업이 될 수 없는 것이고 이를 개선하기 위해서는 압력 상승 속도가 신속히 이루어져야 하지만 본사의 증압기는 1회 600Mpa 까지 압력을 상승 시키는데 상당한 시간이 소요되어 대량 생산 산업에 적용하는데 한계가 있음
- 본사 공장에 설치되었던 기존 증압기의 경우 약 10년전 제작된 장비로 전 세계 주요 초고압 설비 회사에서 널리 사용되고 있는 증압기 성능에 한참 뒤쳐짐
- 본 연구의 대량 생산 시스템 구축 목표를 달성하기 위해서 증압기 및 주요 부품을 내구성이 보증된 제품으로 교체 하였음
- 체크밸브 및 압력밸브의 경우 내부의 Seal을 교체 할 필요 없는 내구성이 보장된 제품으로 반영구적으로 사용 가능하여 작업 효율이 상당히 향상됨
- 원료를 기기 내부로 옮겨줄수 있는 자동화 Converyor 제작으로 작업 효율이 향상됨

표 3-1. 주요 설비 및 부품의 교체 전, 후 사진

	교체전	교체후
증압기		
체크밸브		
압력밸브		
초고압 케이스		

○ 증압기 세부 정보

QUOTATION

QU180503-01 | 03.May.2018

Flow Waterjet
HyperJet® 94i-D Intensifier Pump



PICTURE ABOVE DEPICTS HYPERJET® 94i-D

그림 3-15. TOPS사의 증압기

- 초고압기의 핵심 설비인 증압기의 교체로 기기 전체적으로 안정화 되는 효과를 보임
- 미국 T.O.P.S 사의 Waterjet(수압 절단기) 용도로 제작된 증압기를 본사의 초고압기에 설치하여 전력, 작업시간, 내구성 등을 향상하여 해당 과제 목표인 대량 생산 시스템의 구현 가능성을 확인함(그림 3-15).

○ 주요 설비 및 부품 교체에 따른 작업 효율 변화

표 3-2. 주요 설비 및 부품 교체 전후의 효율 비교

	교체전	교체후
증압기 전력 소모량	135kWh	75kWh
작업속도	600kg/h	1300kg/h
부품 교체 주기	-	-
체크밸브	Operating time 기준 100h	반영구
압력밸브	Operating time 기준 150h	반영구
증압기 Seal	Operating time 기준 1000h	Operating time 기준 4000h

다. 협동기관 살균 기술의 미생물 제어 기작연구 결과에 따른 대량시스템 적용 검증

(1) 생산 현장 방문을 통한 대량 생산 시스템 방향 설정

- 롯데리아의 패티 생산 공장을 방문하여 공장 설비 및 생산 라인 견학을 통해 초고압 패티 대량 생산 가능성을 파악함
- 현재 초고압 생산 capa의 경우 롯데리아 패티 라인의 생산 capa의 1/20 정도로 생산 적인 한계를 가지고 있으며, 이는 초고압 기계의 연속적 생산이 불가하기 때문임
- 따라서 생산적인 한계를 극복하기 위해 일반 패티 제품이 아닌 Premium 초고압 패티/육가공 제품 생산을 목표로 본 연구의 방향을 계획 설정함



그림 3-16. 롯데리아 패티 생산라인 현장 방문

3. 기술이전을 통한 식육제품 신 살균 공정 현장 적용

가. 식육제품의 유해 미생물 살균을 위한 최적조건에 따른 초고압기기 생산 공정시스템 확립

(1) 식육제품의 유해 미생물 살균을 위한 최적조건 설정

- 유산균 균의 내압성을 확인해 본 결과 *L. acidophilus* 유산균이 타 유산균에 비하여 초고압처리 이후에도 유의적으로 가장 높은 생존율을 보였으며, 육가공 제품에 접종 후 일반미생물 감소량도 높은 것으로 확인됨. 따라서 *L. acidophilus*를 적용 미생물로 선정.
- 유산균 용량을 4, 8, 12 log CFU/g으로 선정, 최적조건을 확인해 본 결과 효과적인 측면과 육가공 품질의 영향 측면에서 8 log CFU/g을 선정
- 현재 (주)뉴트렉스테크놀러지에서 사용되고 있는 초고압 기계의 가동범위 압력 중 가장 높은 500 MPa의 압력에서 미생물 저감화가 가장 높았으며, 이에 최적압력 조건으로 선정.
- 초고압 적용 시간의 최적조건으로 10분은 초고압기기의 무리를 주어 제품화에 적합하지

못함. 초고압 기기의 무리가 없는 조건인 1분과 5분 중, 5분을 처리했을 때의 미생물 저감효과가 상대적으로 높음, 이에 5분의 처리기간을 최적처리 조건으로 선정

표 3-3. 미생물 살균을 위한 최적 조건 설정

조건	세부조건	균	최적조건
유산균	균종	<i>L. acidophilus</i>	<i>L. acidophilus</i>
		<i>L. lactis ssp. lactis</i>	
		<i>L. plantarum</i>	
	용량	<i>L. casei</i>	8 log CFU/g
		<i>L. rhamnosus</i>	
		4 log CFU/g 8 log CFU/g 12 log CFU/g	
초고압	압력	300 MPa	500 MPa
		400 MPa	
		500 MPa	
	시간	1 min	5 min
		5 min	
		10 min	

(2) 초고압 생산 공정 시스템 확립

- 초고압 생산 공정 시스템 확립을 위해 공정 관리 기준 및 제품 표준서를 설정하여 기준 규격에 맞게 공정 작업을 실행할 계획

(가) 공정 관리 기준/제품 표준서 설정

공정명	원자재명, 투입반제품(*)	해당 설비	작업 조건	공정 관리
제품입고	포장 분쇄육		냉장/냉동 입고시 온도 측정	
원료 칭량	포장 분쇄육	전자저울, 유관	포장량 확인 포장, 라벨 불량 여부 확인	
미생물 검사	포장 분쇄육		초고압 처리 전 미생물 검사	품질관리
초고압 처리	포장 분쇄육	초고압기	500Mpa, 5min	
미생물 검사	포장 분쇄육		초고압 처리 후 미생물 검사	품질관리
포장	* 고압처리 완료된 포장 분쇄육		박스 포장 단위 : 10kg, 20kg	
냉장보관	* 포장 완료된 초고압 분쇄육		냉장 : 5℃ 미만 냉동 : 0℃ 미만	포장자재 인쇄사항, 내용량 등

(나) 공정중의 검사

제 형	제조 공정	검 사 항 목	검 사 시 기 및 빈 도	검 사 자	
				제조관리	품질관리
포장 분쇄육	고압처리	중량편차	모든 제품 중량 체크	0	
		외관	고압처리 전 확인	0	
	라벨	외관/포장상태	라벨부착시	0	
		표시상태	라벨부착전	0	

(다) 품질향상 및 위해요소제거를 위한 중점관리 대상 및 관리방법

공 정	품질/위해요소	관 리 방 법	결 과
칭 량	<ul style="list-style-type: none"> 교차오염 	<ul style="list-style-type: none"> 원료 포장상태 확인 원료 포장 외 에어로 분진제거 	<ul style="list-style-type: none"> 교차오염방지
초 고 압 처리	<ul style="list-style-type: none"> 교차오염 미생물오염 금속성이물질 	<ul style="list-style-type: none"> 압력 및 시간을 설정된 표준방법으로 처리한다. 사용설비의 청소가 완료되었는지 확인 후 사용한다. 사용설비의 기기 부품이 식품에 접촉하지 않도록 한다. 실내온도 및 시간을 설정된 표준방법으로 확인한다. 	<ul style="list-style-type: none"> 교차오염 방지 미생물오염 방지 이물혼입 방지
포 장	<ul style="list-style-type: none"> 교차오염 미생물오염 불량품혼입 	<ul style="list-style-type: none"> 사용설비의 청소가 완료되었는지 확인 후 사용한다. 설정된 주기에 따라 공정관리를 실시하고 불량품은 별도 분리 보관하였다가 폐기 또는 재처리한다. 제품공급 충전부의 공극을 조절하여 마찰이 일어나지 않도록 한다. 	<ul style="list-style-type: none"> 교차오염방지 기름혼입 방지 미생물오염 방지 품질유지
표 시 사 항	<ul style="list-style-type: none"> 미생물오염 이물혼입 	<ul style="list-style-type: none"> 비닐의 밀봉이 되었는지 확인한다. 제품 포장상태를 확인한다.(갈라진곳) 	<ul style="list-style-type: none"> 기밀도유지 이물혼입 방지

나. 기술이전을 통한 식육제품 신 살균 공정 현장적용

(1) 식육제품 신 살균 공정 연구 내용

○ 발명의 명칭

- 보존기간이 연장된 냉장보관을 분쇄 생육의 제조방법 및 이를통해 제조된 냉장보관용 분쇄 생육

○ 기술분야

- 본 발명은 산패방지 효과가 있으며, 보존기간을 연장시킬 수 있는 냉장보관용 분쇄 생육의 제조방법 및 이를 통해 제조된 냉장보관용 분쇄 생육에 대한 것임

○ 발명의 배경이 되는 기술

- 최근 국민 생활 수준의 향상으로 인한 사회구조의 다양성 및 복합성은 식생활의 변화를 이끌었으며, 간편성을 추구할 수 있는 즉석 섭취식품의 수요가 점차 증가하는 추세에 있다. 특히 즉석 소시지, 떡갈비, 햄버거 패티 등 여러 종류의 분쇄육 제품에 대한 소비자들의 수요는 날로 상승하고 있으며, 실제 편의점 또는 대형마트 등의 소비처에서 어렵지 않게 찾아볼 수 있게 됨
- 대부분의 분쇄육 제품은 육류의 분쇄, 포장 및 유통과정을 통하여 소비자에게 전달되는데, 분쇄시 주변환경 및 육제품 자체의 풍부한 영양원으로 인해 저장, 유통 단계에서 미생물이 급속증식되어 품질이 저하되게된다. 특히, 냉장 유통의 경우 유통과정에서 분쇄육의 산패효과 및 유해미생물 증식으로 인해 식품안전성이 낮아진다는 문제점이 있으며, 냉동유통의 경우, 유해미생물에 대한 안전성은 높아지지만 분쇄육이 냉동되고 해동되는 과정에서 식품 본연의 맛, 향, 질감이 변성되어 고기의 품질이 저하되고, 이로 인해 소비자의 선호도가 낮아진다는 문제점이 발생함
- 분쇄육의 유통 및 보존상의 산패발생 문제를 해결하기 위해 소시지 등의 분쇄가공육의 경우 기존에는 식품 가공과정에서 아질산나트륨과 같은 아질산염을 첨가하여 분쇄가공육을 제조하여왔다. 하지만, 아질산염은 체내, 특히 위에서 니트로소늄 이온으로 변하게 되고, 음식을 구성하는 단백질 또는 핵산 등의 유기 물질에 포함되어 있는 2급 아민과 반응하여 니트로스 아민을 형성하게 된다. 이렇게 생성된 니트로스 아민은 발암물질로써, 다양한 방향으로 인체 내의 유전자를 변형시켜 인체에 유해한 영향을 끼칠 수 있다는 문제점이 있음
- 한편, 미생물 안정성을 높이기 위한 방법으로 냉장 또는 냉동 유통되는 식품의 살균 처리 과정의 필요성이 증가하게 되었고, 이에 따라 다양한 식품 살균방법들이 대두되어왔다. 식품 살균방법은 가열방법과 비가열 방법으로 구분될 수 있으며, 가열방법의 경우 미생물의 증식을 억제하여 저장기간을 연장할 수 있으나, 식품 고유의 품질 및 기능성에 부정적인 영향을 미치는데 특히, 육류에 적용할 경우 고유의 색, 향 및 조직감이 손실되는 문제점이 있다. 비가열방법으로는 마이크로파, 적외선 또는 자외선을 이용한 전자파, 방사선 조사(gamma irradiation), 광 펄프, CO2 처리, 천연 항균제 및 항균성 효소를 이용하는 방법 등이 있다. 이 중에서 식품 방사선 조사 기술은 열 처리를 실시할 수 없는 식품에도 이용이 가능하며 완포장 상태에서 살균하기 때문에 교차 오염이 없다는 장점이 있다. 그러나, 시설의 특수함으로 인해 설치 및 유지, 관리를 위한 시설을 갖추어야하며, 관리를 위한 전문인력이 요구된다. 또한, 아직까지 소비자들이 방사성 조사 식품에 대한 거부감을 가지고 있어 실질적인 상용화에 어려움을 겪고 있음.

- 이와 같이 종래에 이용되어 왔던 아질산염첨가 및 살균처리를 통한 분쇄육의 산패 및 미생물증식 방지 방법은 발암물질 발생, 고기의 식품성 저하 및 상용화 어려움 등의 문제점이 있다. 따라서, 분쇄육의 산패효과를 억제하고, 미생물 위험성을 낮추는 동시에, 고기의 색, 향 및 조직감을 손상시키지 않으며, 소비자에게 거부감이 들지 않는 친환경적 분쇄육 처리 방법이 필요한 실정임.
- 이에, 가공되지 않은 분쇄 생육에 초고압 처리 및 유산균 첨가를 동시에 수행하여 처리할 경우, 분쇄 생육의 색, 향 및 조직감을 손상시키지 않으면서, 분쇄 생육의 냉장유통 및 냉장보관시에도 산패효과 및 유해미생물의 증식을 억제시킬 수 있다는 것을 발견하고 본 발명을 완성하게 됨.

○ 기술이전 실시권 설정 계약

- 해당 특허 기술을 바탕 (주)뉴트렉스테크놀러지와 연세대학교 산학협력단간 실시권 설정 계약을 진행함

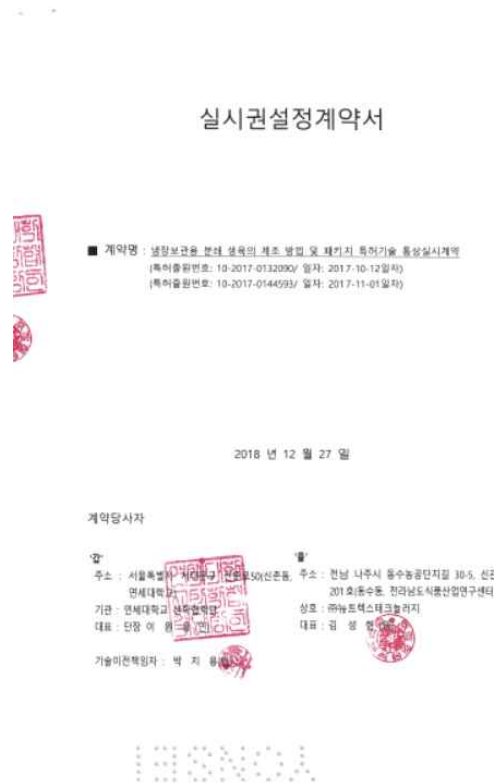




그림 3-17. 기술이전, 실시권설정계약서

(2) 신 살균 공정 현장 적용을 위한 위생교육 및 축산물유통판매업 취득

- 축산물유통관리판매업이란 축산물의 가공 또는 포장처리를 축산물가공업의 영업자 또는 식육포장처리업의 영업자에게 의뢰하여 가공 또는 포장처리된 축산물을 자신의 상표로 유통 판매하는 여업임

- 축산물유통관리판매업 취득으로 OEM업체로부터 포장육을 받아 해당 공장에서 초고압 처리 후 유통 판매가 가능해짐

수료증 번호 2018 - 091-053 호			
축산물 위생교육 등 수료증			
교육이수자 성명	유성열	직책	주임
영업소 명칭 또는 상호	㈜뉴트렉스테크놀로지	대표자 성명	김성한
영업소의 소재지	상남시 분당구 대왕관교로 670 (☎ 031-628-6190)		
영업의 종류	축산물판매업(유통전문)	교육과정	<input type="checkbox"/> 위생교육
			<input checked="" type="checkbox"/> 신규교육
			<input type="checkbox"/> 정기교육
			<input type="checkbox"/> 기타
교육일시(시간)	2018.11.21(6시간)		
교육실시기관명	축산기업중앙회	교육구분	<input type="checkbox"/> 온라인교육 <input checked="" type="checkbox"/> 집합교육
<p>위 사람은 「축산물 위생관리법」 제30조에 따른 축산물 위생교육 및 같은 법 시행령 제18조의2 규정에 따른 검사원의 교육을 이수하였으므로 수료증을 교부합니다.</p> <p style="text-align: right;">2018년 11월 2일</p> <p style="text-align: right;">사단법인 축산기업중앙회 </p>			

[별지 제24호서식]		(앞 쪽)	
제	2018-0473247	호	
신고필증			
대표자	김성한	(생년월일)	1969년 2월 11일
	(뉴트렉스테크놀로지)		110111-2528747
영업장의 명칭(상호)	뉴트렉스테크놀로지		
소재지	충청남도 금산군 추부면 송암로 135		
영업의 종류	축산물판매업	품목등의 종류	축산물유통전문판매업
「축산물위생관리법」 제24조제1항 및 같은 법 시행규칙 제35조제6항에 따라 영업의 신고를 수리합니다.			
2018년 12월 24일			
			
금산군수			

210mm×297mm(보존용지(1종 120g/㎡))

그림 3-18. 축산물 위생교육 수료증 및 축산물유통전문판매업 신고필증

4. 개발 기술의 살균 표준화 공정 확립 및 공정의 현장실증

가. 기존 냉동 유통되는 분쇄가공육 제품과의 비교를 통한 공정 확립

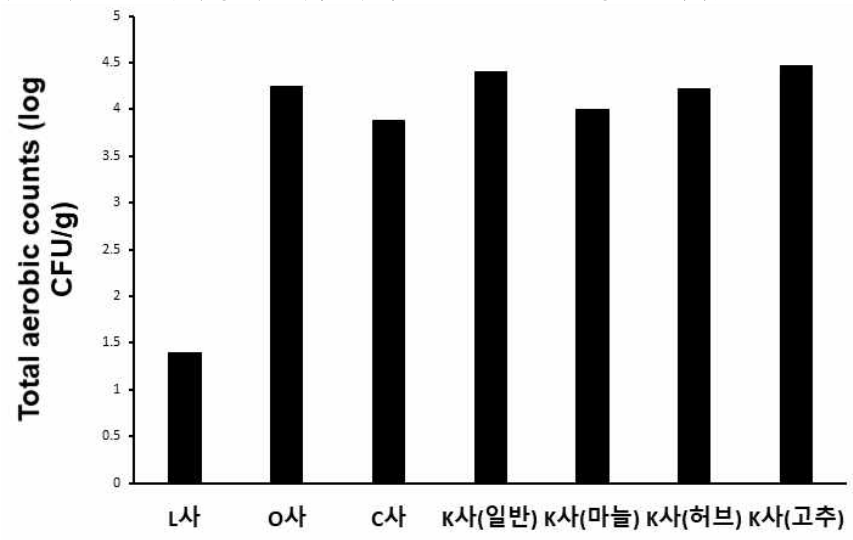


그림3-19. 냉동 유통되는 여러 제조업체의 분쇄가공육 제품

- 국내 유통되고 있는 8개의 비살균 분쇄가공육 제품(4사)의 미생물 수치를 확인, 비교하여 초고압과 유산균의 병합처리 공정을 확립.
- L사, O사, C사의 제품은 냉동보관 제품으로 제조일로부터 6개월(C사), 3개월(L사)의 유통기간의 표기를 확인하였다. 하지만 냉동유통이 가능한 육가공제품을 제조, 판매하려는 본 제품과 비교하기에 부적절하다 판단.
- 이후 제품을 급냉하여 냉동유통을 하고 있으나 구매 후 냉장 보존기간을 표기한 K사의 제품 4종을 미생물 분석함.
- K사 4종 모두 4 log CFU/g 이상의 초기균을 확인 하였으며 제품 설명서에 냉장보관시 보존기간을 7일로 표기한 것을 확인함.
- 유산균과 초고압 공정이 병합처리 된 육가공제품이 최소 7일 이상의 냉장보관이 가능하도록 공정기준 설정이 필요
- 유산균과 초고압 공정의 최적조건 적용 후 유통기간이 10일까지 연장되는 것을 확인, 기존 제품과 비교했을 때 현 처리조건의 공정을 적용 및 확립할 수 있다.

나. 신 살균 공정의 생산용 초고압기 현장 실증

- 신 살균 기술업체(뉴트렉스)의 공장을 방문하여 육가공 제품의 생산과 신 살균 기술이 적용의 용이함을 확인.



그림 3-20. 뉴트렉스테크놀로지 초고압 공장 현장 실증

다. 각 유해미생물 별 표준화 공정 확립

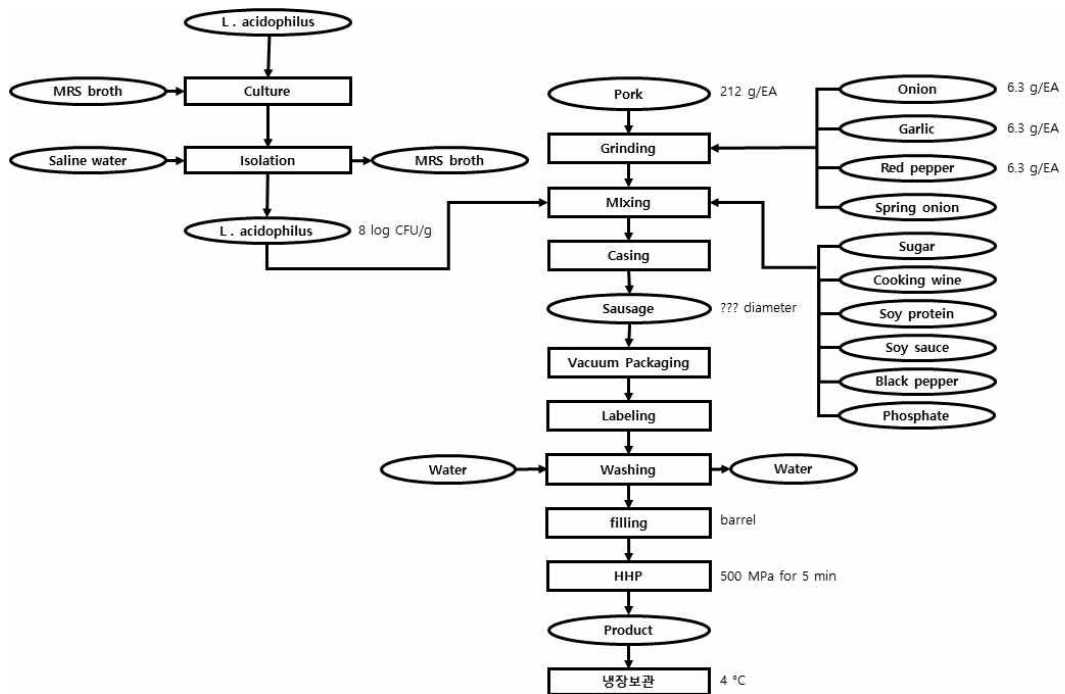
- 유해미생물 별(총 균수 및 대장균) 표준화 공정의 확립을 위하여 다음과 같은 표준작업지침서(SOP)를 마련함.

표준작업지침서(SOP)

제 목	초고압과 유산균을 이용한 식육제품의 비열 살균											
개정번호: No. 001	발효일자: 2019.01.01.											
작성자:	확인자:	검토자:	승인자:									
관련 규정	식품의약품안전처 고시 <식품의 기준 및 규격> 제8. 일반시험법											
<p>1. 실시 목적</p> <p>○ 유산균을 접종 및 초고압 처리를 통한 생육 가공품을 제조 방법과, 해당 가공품의 저장성 증진 효과를 확인하기 위한 자연균의 수 측정 방법을 설명하는 것이다. 이를 통해 새로운 생육 가공품 제조 및 살균 공정을 이해하고, 생육 가공품의 안전성을 검토하는 것에 도움이 될 것이다.</p> <p>2. 실시 대상</p> <p>○ 초고압 유산균 패티 ○ 초고압 유산균 생소시지</p> <p>3. 실시 항목 및 기준</p> <p>3.1. 실시 항목</p> <p>○ 유산균 초고압 공정 ○ 미생물 분석</p> <p>3.2. 기준</p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="width: 30%;"></th> <th style="width: 35%;">총 균수</th> <th style="width: 35%;">대장균</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>패티</td> <td>2 log CFU/g 이하</td> <td>불검출</td> </tr> <tr> <td>소시지</td> <td>5 log CFU/g 이하</td> <td>불검출</td> </tr> </tbody> </table> <p>4. 공정 절차</p> <p>4.1. 유산균 접종 및 초고압 처리를 통한 패티의 제조 공정 절차</p>					총 균수	대장균	패티	2 log CFU/g 이하	불검출	소시지	5 log CFU/g 이하	불검출
	총 균수	대장균										
패티	2 log CFU/g 이하	불검출										
소시지	5 log CFU/g 이하	불검출										



4.2. 유산균 접종 및 초고압 처리를 통한 소시지의 제조 공정 절차



5. 미생물 분석 절차

5.1. 일반세균수

가. 표준평판법

1) 시험조작

제조법에 따른 시험용액 1 mL와 10배 단계 희석액 1 mL씩을 멸균 페트리접시 2매 이상씩에 무균적으로 취하여 약 43~45°C로 유지한 표준한천배지(배지 1) 약 15 mL를 무균

적으로 분주하고 페트리접시 뚜껑에 부착하지 않도록 주의하면서 조용히 회전하여 좌우로 기울이면서 검체와 배지를 잘 혼합하여 응고시킨다.

확산집락의 발생을 억제하기 위하여 다시 표준한천배지 3~5 mL를 가하여 중첩시킨다. 응고시킨 페트리접시는 뒤집어 35±1℃에서 48±2시간(시료에 따라서 30±1℃ 또는 35±1℃에서 72±3시간) 배양한다.

2) 집락수 산정

배양 후 생성된 집락수를 신속히 계산한다. 집락수의 계산은 확산집락이 없고 1개의 평판당 15~300개의 집락을 생성한 평판을 택하여 집락수를 계산하는 것을 원칙으로 한다.

3) 세균수의 기재보고

① 15 - 300CFU/ plate인 경우

$$N = \frac{\Sigma C}{\{(1 \times n_1) + (0.1 \times n_2)\} \times (d)}$$

N = 식육 g 또는 mL 당 세균 집락수

ΣC = 모든 평판에 계산된 집락수의 합

n1 = 첫 번째 희석배수에서 계산된 평판수

n2 = 두 번째 희석배수에서 계산된 평판수

d = 첫 번째 희석배수에서 계산된 평판의 희석배수

구 분	희 석 배 수		CFU/g(mL)
	1:100	1:1,000	
집 락 수	232	33	24,000
	244	28	

$$N = \frac{(232+244+33+28)}{\{(1 \times 2) + (0.1 \times 2)\} \times 10^{-2}} = 537/0.022 = 24,409 = 24,000$$

② 15 CFU / plate 미만인 경우

구 분	희 석 배 수		CFU/g(mL)
	1:10	1:100	
집 락 수	14	2	120
	10	1	

$$N = \frac{(14+10)}{(1 \times 2) \times 10^{-1}} = 24/0.2 = 120$$

4) 식육의 세균수 산출 방법

소 및 돼지 도체의 경우 균수는 도체 표면적당 집락수(CFU/cm²)로서 환산되어야 한다. 희석배수 × 10(배지 접종량이 0.1 mL일 경우) × 집락수 × 25(재료 채취 용량)/10 cm × 10 cm(1개부위 채취인 경우, 단 3개 부위를 채취할 경우는 300 cm²로 나누어 준다)로 산출한다.

4.8 대장균

대장균의 시험법에는 최확수법 및 건조필름법에 의한 정량시험과 일정한 한도까지 균수

를 정성으로 측정하는 한도시험법이 있다.

가. 최확수법

1) 제1법

4.3 제조법에 따른 연속한 3단계 이상의 희석시료(10, 1, 0.1 또는 1, 0.1, 0.01 또는 0.1, 0.01, 0.001)를 각각 5개 또는 3개의 EC 배지(배지 10) 발효관에 접종한 다음 44.5±0.2℃ 항온수조에서 24±2시간 배양한다. 시험용액 10 mL를 첨가할 경우 배농도의 배지 10 mL를 이용한다. 가스발생을 인정한 발효관을 대장균(E. coli) 양성이라고 판정하고 별표 1 또는 별표 2 최확수표에 따라 검체 1 mL 또는 1 g 중의 대장균수를 산출한다.

2) 유가공품·식육가공품·알가공품

가) 최확수법

최확수법(3개 또는 5개 시험관을 이용한 MPN법)으로 대장균군수 검사에서 사용한 BGLB배지에서 가스생성 양성인 시험관으로부터 EC-MUG배지(또는 BGLB-MUG, LST-MUG)에 접종하여 44.5℃에서 24시간 배양한 후 자외선 조사하에 푸른 형광이 관찰되는 시험관을 대장균 양성으로 판정하고 최확수표에 근거하여 대장균수를 산출한다.

나. 건조필름법

제조법에 따른 시험용액 1 mL와 각 단계 희석액 1 mL를 2매 이상씩 대장균 건조필름 배지 I(배지 55) 또는 대장균 건조필름배지 II(배지 71)에 접종한 후, 35±1℃에서 24~48 시간 배양한다. 대장균 건조필름배지 I에서는 푸른 집락 중 주위에 기포를 형성한 집락수를 계산하고, 대장균 건조필름배지 II에서는 남색 및 보라색의 집락수를 계산하여 그 평균집락수에 희석배수를 곱하여 대장균 수를 산출한다. 균수 산출 및 기재보고는 4.5.1 일반세균수에 따라 한다.

5. 활용

5.1. 관리

- (1) 생산 부서장은 공정별 작업표준을 작성하여 활용토록 한다.
- (2) 작업자는 제품 생산을 위한 작업표준을 숙지한다.

5.2. 생산

- (1) 작업자는 작업지시서에 따라 생산한다.
- (2) 작업의 방법과 순서는 특별한 지시가 없는 한 해당 작업표준에 따른다.
- (3) 생산 각 팀장은 그날의 작업내용을 생산보고서에 작성하여 생산부서장에게 보고한다.
- (4) 작업자는 작업 실시중에 공정관리를 실시하여 공정관리기록부에 기록한다.

5.3. 제조 설비 관리

- (1) 제조설비는 청소하기 쉽고 작업에 지장이 없도록 배치한다.
- (2) 제조설비는 제조설비관리 절차서에 따라 관리한다.

5.4. 이상조치 절차

- (1) 공정중 부적합 제품 발견시 작업자는 생산책임자에게 보고하며 부적합 제품 관리 절

차에 따라 조치한다.

(2) 설비 고장시 제조설비관리 절차에 따라 이상보고 및 적절한 시정조치를 취한다.

5. 살균 제품 품목에 적합한 실생산 공정 운용 최적화

가. 식육제품 생산에 적용 가능한 초고압 기기 공정의 전처리 기술(포장시스템) 개선

(1) 초고압 패티 포장지 개발

- Cargill사의 fressure® ground beef patties의 생산 공정도를 참고하여 본 공장에 적용 가능한 초고압 포장지를 디자인하여 특허 출원을 하였으며, 그에 맞는 케이스를 제작하였음.
- 초고압 포장지의 경우 내압성 PE제질로, 상, 하로 패티를 진공 포장하여 외부로부터 오염균을 최소화 할 수 있게끔 디자인 되었고, 포장지 한 편에는 TTI(Time Temperature Indicator)를 부착하여 실시간으로 제품의 선도를 확인 할 수 있도록 설계됨.

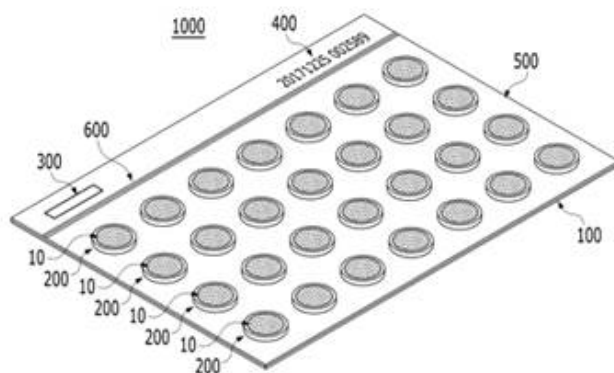


그림 3-21. 초고압 패티 생산을 위한 패키치 및 케이스 제작

(2) 초고압 패티 포장지 연구 내용

○ 발명의 명칭

- 패티 패키지

○ 기술분야

- 초고압진공 포장 시 압력에 의해 패티 고유의 형상이 변형되지 않고 유지될 수 있는 패티 패키지를 개발함

○ 발명의 배경이 되는 기술

- 질 좋고 영양가 높은 음식에 요구가 늘어나면서 초고압을 이용한 가공방법은 주목받고 있다. 초고압을 이용하여 음식을 가공하는 방법은 상온에서 미생물을 살균하고 효소를 불활성화 시키면서도 조직감, 풍미, 그리고 영양 성분의 변화를 최소화할 수 있기 때문에 음식이 보유하고 있는 유효한 성분의 손상을 최소화 할 수 있음

- 한편, 음식이 보유하고 있는 유효한 성분이 파괴되지 않고 신선도가 유지된 상태로 소비자에게 전달되기 위해서는 공기와의 접촉을 최소화하여야 할 필요가 있음.

- 공기와의 접촉을 막고 식품의 신선도를 유지하면서 유통기한을 연장 시키기 위해 대부분 식품의 포장은 진공 포장 방법을 이용한다. 진공 포장 방법은 유연한 플라스틱 필름에 식품을 싼 상태에서 식품 주변의 공기를 흡입하여 제거하는 포장 방법으로 공기가 제거되는 과정에서 공기가 형성될 수 있는 공간이 줄어들면서 차츰 플라스틱 필름이 물건 둘레에 밀착되어 밀봉됨으로써 물건과 공기가 접촉되는 것을 차단할 수 있음.

- 하지만, 상기와 같은 진공 포장 방법은 플라스틱 필름이 수축하는 과정에서 내용물의 종류에 따라 내용물의 형태를 변형시키고 물기가 많이 포함된 음식물의 경우 물기가 음식물 주변으로 흘러나와 플라스틱 필름의 접착을 방해할 수 있다. 또한, 이러한 현상은 상품의 저장, 운반 과정에서 식품의 형태가 쉽게 변형될 수 있어 상품가치를 떨어뜨리고 결국 제품의 가격 경쟁력을 떨어뜨리는 요소로 작용할 수 있음.

- 특히, 초고압을 이용한 가공방법에서 이러한 통상의 진공 포장 방법은 내용물의 형태가 변형이 될 수 있고, 또한 초고압 과정에서 진공 포장이 찢어져서 내용물이 유출되는 문제도 발생할 수 있음

- 본 발명은 전술한 문제를 해결하고자 안출된 것으로서, 본 발명의 일 실시예에 따르면 식품의 초고압 가공에 의해서도 고유의 형태를 유지할 수 있는 패티 패기지를 제공함

○ 기술이전 실시권 설정 계약

- 해당 특허 기술을 바탕으로 (주)뉴트렉스테크놀러지와 연세대학교 산학협력단간 실시권 설정 계약을 진행함

실시권설정계약서

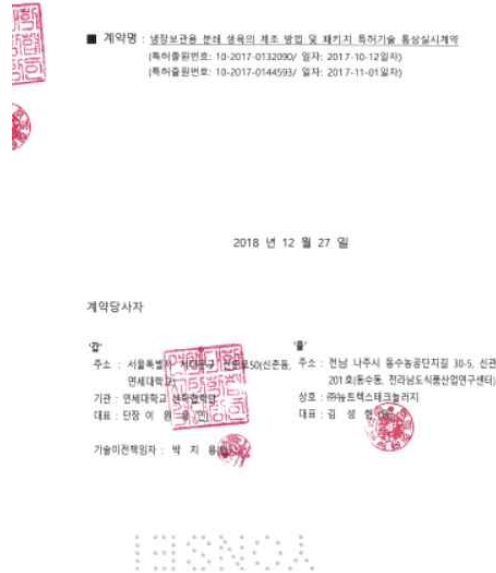


그림 3-22. 기술이전, 실시권설정계약서

나. 식육제품의 초고압 공정 처리 후 사후 품질관리 방향 설정

(1) 포장시스템을 이용한 사후 품질관리

- 식육제품의 초고압 신 살균 공정 처리 후 유통기간 동안의 사후 품질 또한 관리 되어야 함. 소비자들은 구매한 제품의 안전성 여부를 평가할 수 있는 방법을 요구하고 있으며, 이를 위해 지금까지는 포장재 등에 유효 기간 만료일을 기입하는 것으로 정보를 제공하고 있음.
- 하지만 제품의 상태는 시간뿐만 아니라 온도와 같은 여러 조건과 상관관계가 있으며, 조작 또한 용이하므로 유효 기간 만료일만으로는 제품의 상태를 정확히 판단하는 것이 불가능함. 이에 따라 제품의 상태를 보다 사실적이고 실시간으로 보여줄 수 있는 장치가 필요함.
- 시간-온도 이력지시계(Time-temperature indicator, TTI)는 유통과정 및 저장 기간 동안에 온도 변화로 인해 변질되기 쉬운 제품에 부착되어 시간에 따른 온도 변화 이력을 지속적으로 모니터링 할 수 있는 장치임.
- TTI는 기본적으로 기계적, 화학적, 효소적, 미생물학적 등의 비가역적 변화에 의해 작동되며 변화의 결과가 TTI의 변형, 색 발현, 색 변화, 표시선 이동 등의 가시적인 변화이기 때문에 변화한 가시적 특성을 주어진 비교 등급과 비교함으로써 TTI가 부착된 제품의 상태를 알 수 있음.

- 전개물질의 확산(전개) 방식의 기술을 이용하여 제조하는 기계식 방식의 TTI는 화학물질의 어는점을 이용한 것으로, 화학물질에 색소를 포함시켜 여지에 전개되도록 하여 화학물질의 누적된 확산 거리를 측정함으로써 비정상 온도에 노출된 시간을 확인하는 원리임. 하지만, 시스템 특성상 시간이 경과할수록 전개속도가 떨어지며 제품의 구조가 클 수밖에 없음(예: 3M사의 MonitorMark, Timestrip Plc.사의 Timestrip).
- 중합폴리머를 사용하는 화학적 TTI는 온도 의존성의 투명한 폴리머가 온도 변화에 의해 중합반응을 일으키면서 색상 변화를 유도하는 원리이며, 고체반응 방식의 TTI는 광과민성 화합물이 파장이 긴 빛에 노출 될 경우 온도와 연관되어 색이 변화되는 작동 방식을 가짐. 두 방식 모두 작고 얇은 장점이 있지만, 제어장치가 없어 부착 전 필히 냉동 보관을 해야 하며 의양성이 존재하는 단점이 있음(예: Temptime corp. 사의 Fresh-Check / Freshpoint 사의 OnVu).
- 효소를 이용하는 TTI는 지질 기질의 효소적 가수 분해를 통해 pH가 감소하여 지표에서 색 변화를 일으키는 원리임. 하지만, 제어장치가 없어 부착 전 필히 냉동 보관을 해야 하며 의양성이 존재하는 단점이 있음.
- 생물학적 방식을 이용하는 TTI는 온도에 민감한 미생물이 성장하면서 발생하는 유기산에 의해 pH가 변화됨에 따라 함유된 지시약의 색상 변화를 이용한 것임. 이 방식 역시 작동 제어장치가 없어 제품부착 전에 반드시 냉동 보관을 해야 하며 색도계로 관독해야 진행 단계를 정확히 분석가능 하므로 의양성이 존재함(예 : 파스퇴르연구소의 eO).

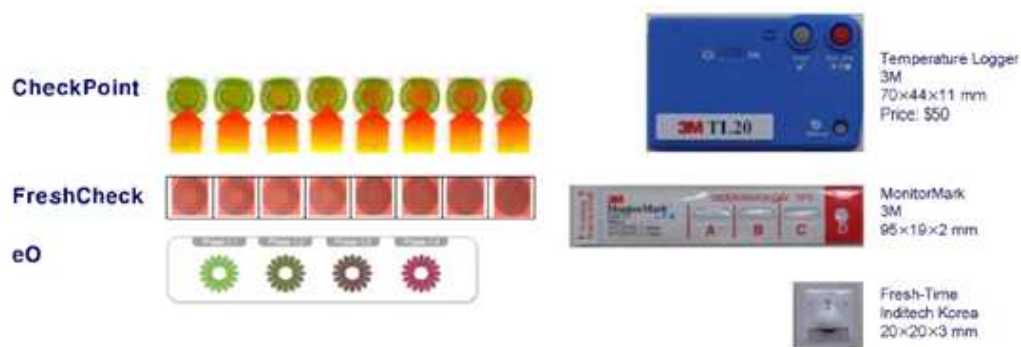


그림 3-23. TTI 기술 현황

- 본 연구에서 사용한 TTI는 확산을 이용한 기계적 TTI를 개선 시킨 방식으로써 TTI를 구성하는 지방산 에스테르와 미세다공성필름은 박리형 접착 테이프, 열접착용착 필름 등으로 작동개시 전에는 반응할 수 없도록 분리가 되어 있다가 자외선, 열 등의 외력에 의해 박리형 접착 테이프, 열접착용착 필름 등이 박리되면 지방산 에스테르가 어는점 이상의 온도에서 미세다공성필름과 반응을 하게 됨.
- 미세다공성필름은 지방산 에스테르와 반응하여 투명하게 변하고, 투명해진 필름을 통해 미리 표지해 둔 적색 실선 또는 색 필름 등을 가시적으로 확인함으로써 제품이 설정 온도

이상에 노출되었음을 알 수 있음.

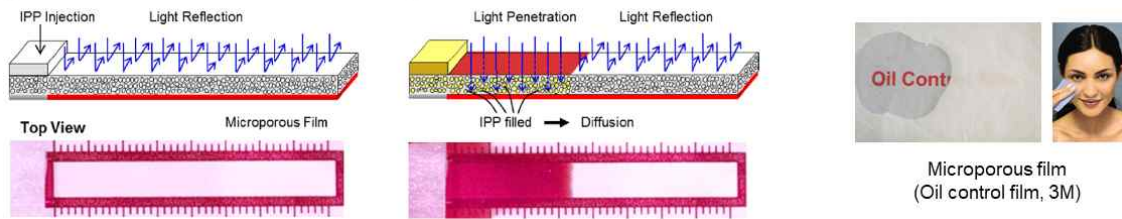


그림3-24. 본 연구에서 사용한 TTI의 원리

(2) 사후 품질 모니터링을 위한 TTI 확산 특성 분석

- 시차 주사 열량계(DSC)는 온도의 증가 또는 감소 내에서 발생하는 고분자 재료의 열용량을 직접 측정하는 데 사용되는 열적 특성 분석 기술임. DSC는 용융의 시작을 나타낼뿐만 아니라 유기물의 완전한 용융 및 용융 전이가 발생하는 데 필요한 에너지에 해당하는 최고 온도를 나타냄.
- DSC의 결과는 가열 및 냉각 곡선을 포함하는데 isopropyl palmitate (IPP)에서 발생하는 특성 전이 (1차 용융 및 2 차 흡열 전이)를 나타냄. 13.5 °C의 온도에서 전이에 해당하는 피크(용융 개시)는 본 연구에서 사용된 IPP (14.8 °C)의 녹는점을 보여줌.

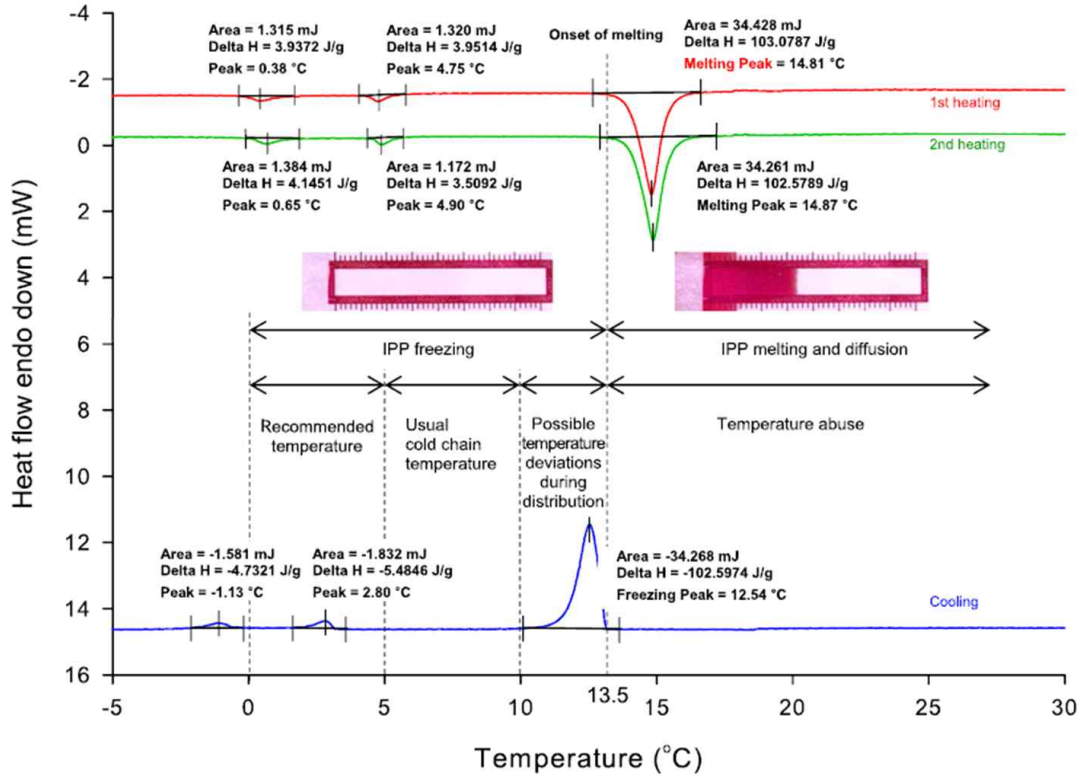


그림3-25. 확산 물질 isopropyl palmitate의 녹는점을 보여주는 DSC thermogram과 그에 따른 TTI의 확산 반응

- 이러한 IPP는 TTI 내에서 엠보싱으로 이루어진 다공성 막을 통해 확산됨. 엠보싱은 IPP가 일정하게 확산되게 해주고, 다공성 막은 IPP의 확산을 통해 투명해 지면서 아래 프린팅을 나타나게 함.

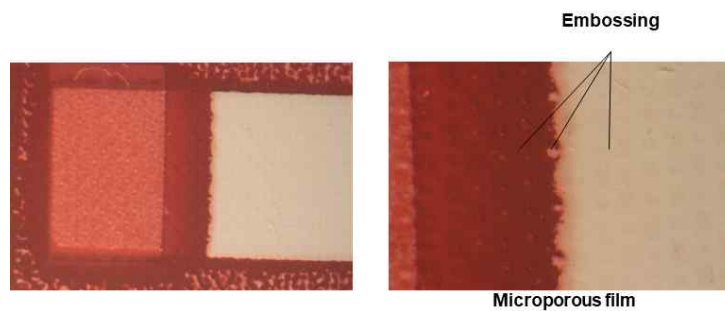


그림3-26. TTI 내 다공성 막을 통한 isopropyl palmitate의 확산 모습

- 이러한 다층 구조로 이루어져 있는 TTI의 단면을 전자현미경으로 촬영해 확대해 보면 transparent film, coating film, microporous film, base film으로 구성되어 있는 것을 알 수 있고, 이들은 각각 protection, diffusion channel, diffusion of FAE, red color coating의 역할을 함.

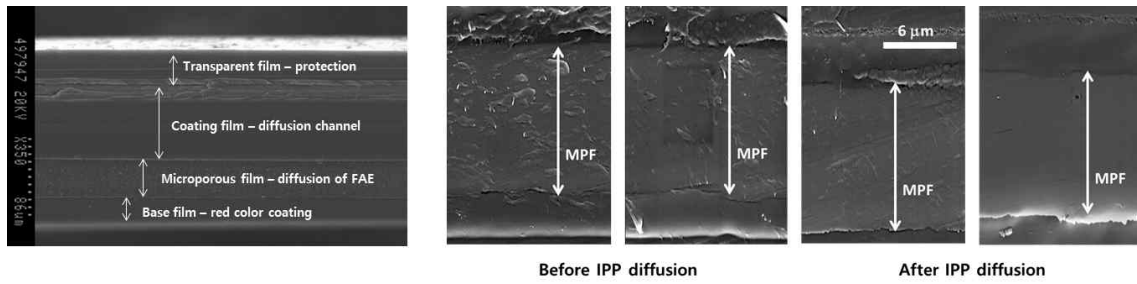


그림3-27. TTI 다층성 막과 isopropyl palmitate의 확산 모습의 전자현미경 사진

- 온도에 따른 TTI의 확산 속도를 알아보기 위하여 다음 그림과 같이 항온기 안에 카메라를 설치하고 확산 물질인 IPP를 시작점에 주입하면서 TTI의 확산을 일으킴.
- 일정한 온도에서 일정한 시간 간격으로 사진을 촬영하고 추후 촬영된 사진을 이용하여 IPP의 확산거리를 측정함

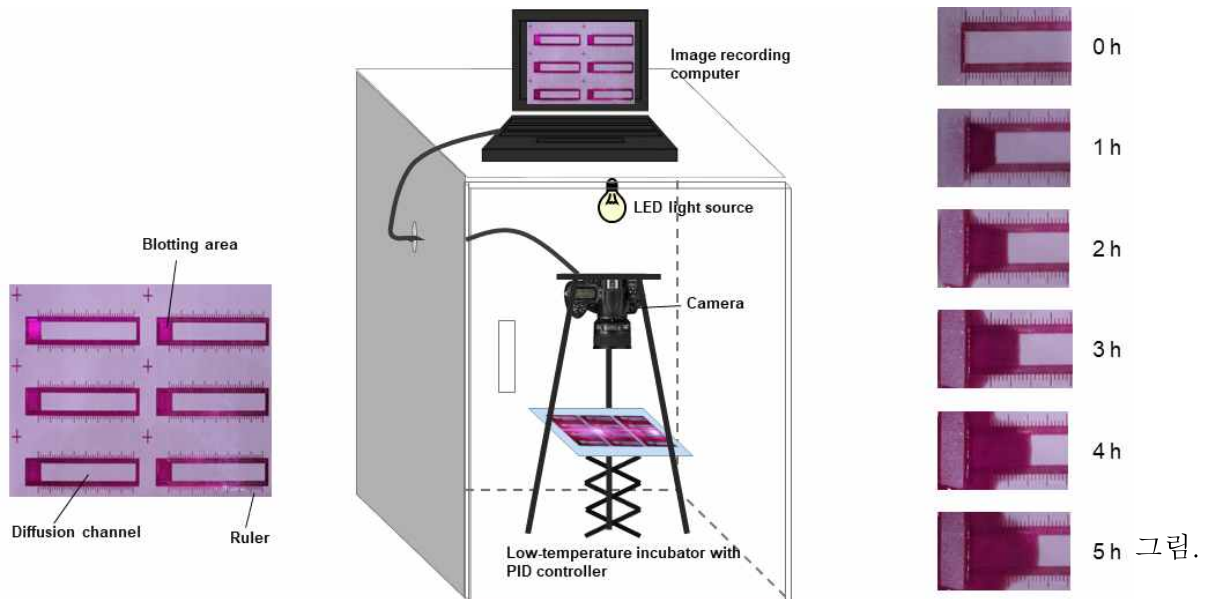


그림3-28. TTI 확산 속도 측정 방법

- 15, 20, 25, 30, 35 °C의 5가지 온도에서 48시간 동안 확산되는 TTI를 촬영하여 다음 그림과 같이 그래프로 나타냄. 확산시간에 따른 확산 거리는 확산속도가 시간이 지남에 따라 감소하는 루트함수로 나타났고, 예상대로 온도가 높을수록 확산이 더 빨리 일어남.

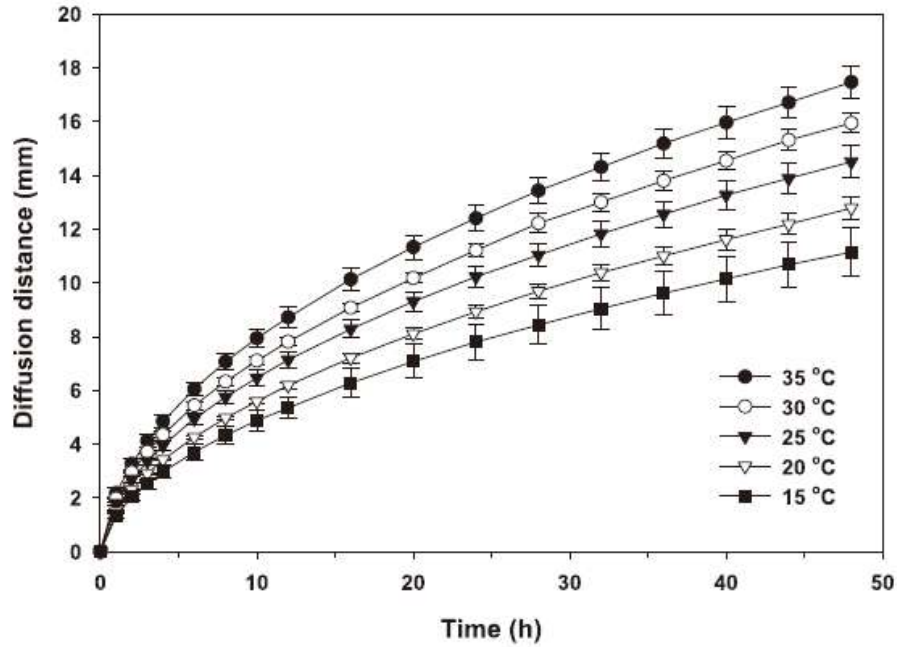


그림3-29. 5가지 등온 온도에서 48시간 동안 TTI 필름 내 isopropyl palmitate의 확산

- 식 1(Fick의 확산 제 1법칙)을 변형한 식 2(Fick의 확산 제 2법칙)를 통해 유도된 식3을 식 4의 형태에서 위의 데이터 값을 대입하면, 온도에 따른 확산계수 D값을 구할 수 있음.
- 여기서 구한 확산계수 D값을 아레니우스 방정식에 대입하여 좌변을 정리하여 X로 나타내면 식 6과 같음. 식 6을 이용하면, 등온조건에서 온도와 시간만 알면 TTI의 확산속도를 예측할 수 있음.

표3-4. 각종 도출 공식

식 1(Fick의 확산 제 1법칙)	$J = -D \frac{dC}{dx}$
식 2(Fick의 확산 제 2법칙)	$\frac{\partial C}{\partial t} = -D \frac{\partial^2 C}{\partial x^2}$
식 3	$X^2 = 2Dt$
식 4	$D = \frac{X^2}{2t}$
식 5	$\ln D = -\left(\frac{E_a}{R}\right) \frac{1}{T} + \ln D_0$
식 6	$X = \sqrt{2t \times e^{-\left(\frac{E_a}{R}\right) \frac{1}{T} + \ln D_0}}$

- 이렇게 구한 모델식의 정확도를 검증하기 위하여 식 유도 과정에서 레퍼런스로 이용한 15, 20, 25, 30, 35 °C 이외에 세 가지 온도 13, 23, 33 °C에서 추가로 TTI의 시간에 따른 확산거리를 관찰 및 측정하여 다음 그림과 같이 실선으로 나타내고, 같은 온도에서 모델식을 이용한 시간에 따른 확산거리를 점으로 나타냄.

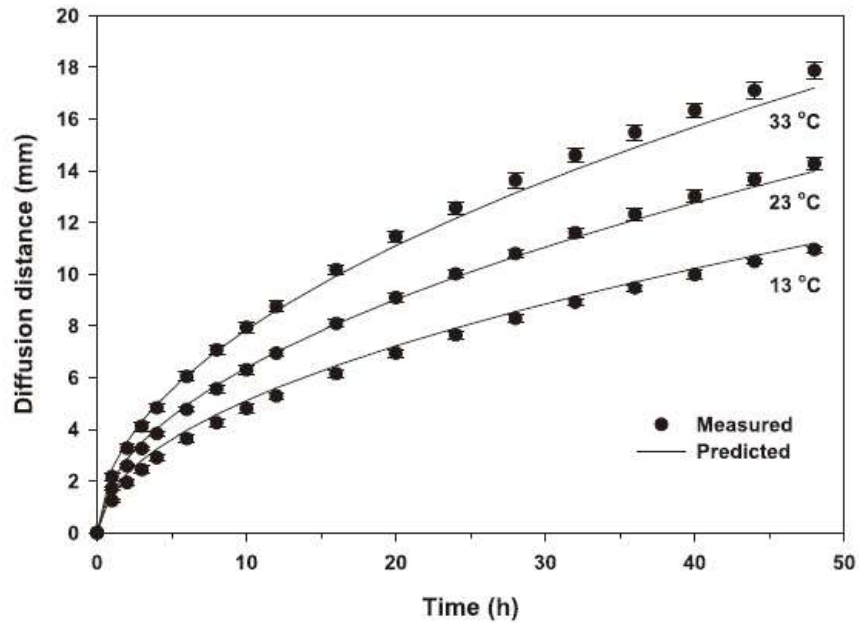


그림3-30. TTI 확산속도 측정값과 모델을 이용한 예측값

- 측정값과 예측값의 일치율을 구해보면 13, 23, 33 °C에서 각각 95.3, 97.8, 96.7%의 결과를 보여 모두 95% 이상으로 일치함을 알 수 있음. 따라서 위 모델을 이용해 TTI의 확산 속도와 식육제품의 부패의 상관관계를 분석하여 사후 품질관리에 이용할 수 있음.

다. 제품의 보존기간 연장 확인 및 설정 계획

(1) 육가공 제품의 보존기간 기준 확인

- 식품의약품안전처에서 발표한 보고서(식육의 미생물 위생관리기준 적정성 조사 연구, 2015)에 따르면 주요국과 비교하였을 때, 우리나라는 유통단계의 식육에 대해 높고 단편화된 권장기준을 가지고 있고 이에 따른 권장기준 강화가 필요하다고 판단.
- 현재 단일화되어 있는 유통단계의 일반세균수 권장기준을 세분화하여 제시하는 것이 바람직하다고 제시하였으며 이를 아래와 같이 설정.

표3-5. 유통단계의 신선육의 미생물(일반세균수) 권장기준

우수 (Good microbiological condition)	주의 (Critical microbiological condition)	부적합 (Not acceptable)
5×10^6 CFU/g미만	5×10^6 CFU/g이상 -1×10^7 CFU/g이하	1×10^7 CFU/g초과

- 위에서 언급한 기준 중 우수를 육가공 제품의 보존기간 기준으로 설정할 시 6.69 log CFU/g 값이 보존 최대 일반미생물 수이며 아래의 공정의 최적조건에 처리된 패티와 소시지의 미생물 저장성 결과와 비교해 보존기간 연장을 확인.

(2) 패티 제품의 보존기간 연장확인

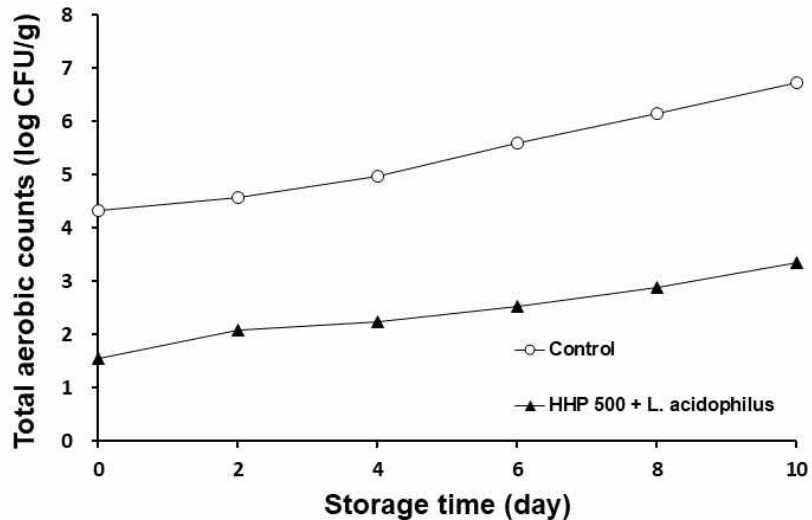


그림3-31 . 패티 제품의 보존기간 연장확인

- 패티의 경우 초고압과 유산균 처리를 하지 않은 군은 6일 차에서 5.6 log CFU/g으로 측정되어 보존기간이 6일로 확인 되었다. 반면 초고압과 유산균을 처리했던 군은 10일차에서 3.35 log CFU/g으로 측정되어 비처리 군에 비하여 더욱 긴 보존기간을 확인.

(3) 소시지 제품 보존기간 연장확인

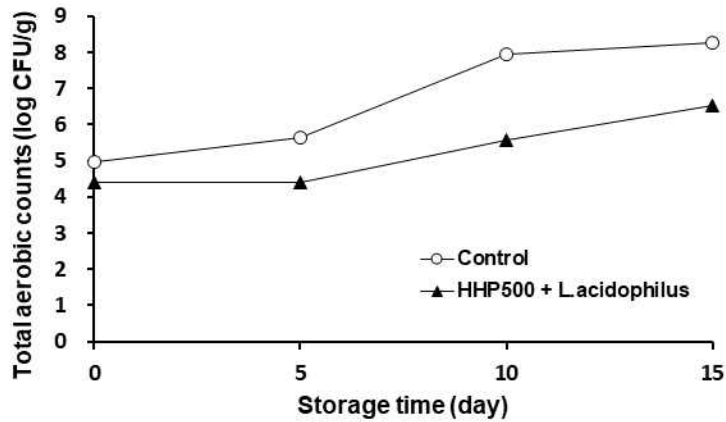


그림3-32. 소세지 제품의 보존기간 연장확인

- 위는 소시지 제품의 실험결과로 초고압과 유산균 처리를 하지 않은 군은 5일 차에서 5.6 log CFU/g으로 측정되어 보존기간이 5일로 확인 되었다. 반면 초고압과 유산균을 처리했던 군은 10일차에서 5.5 log CFU/g으로 측정되어 비처리 군에 비하여 더욱 긴 보존기간을 확인.

-패티와 소시지 제품의 초고압과 유산균 처리를 하지 않은 군은 각각 5, 6일의 보존기간을 확인 하였으며 공정의 최적 처리 조건이 적용된 군에서는 두 제품 모두 10일 이상의 보존기간을 보여주어 기존 육가공제품에 비해 높은 보존기간의 연장성을 확인.

-위의 미생물(일반세균수) 권장기준과 제품의 미생물 저장성 실험과를 바탕으로 보존기간 설정을 10일로 설정.

(4) 제품의 유통기간 설정 계획

-식품의약품안전처에서 발표한 식품공전에 따르면 ‘제품의 유통기간 설정은 당해 제품의 제조가공업자, 식육포장처리업영업자, 식육판매업영업자, 식용란수집판매업영업자, 식육즉석판매가공업영업자, 수입업자(수입 냉장식품 중 보존 및 유통온도가 국내와 상이하여 국내의 보존 및 유통온도 조건에서 유통하기 위한 경우 또는 수입식품 중 제조자가 정한 유통기한 내에서 별도로 유통기한을 설정하는 경우에 한함)가 포장재질, 보존조건, 제조방법, 원료배합비율 등 제품의 특성과 냉장 또는 냉동보존 등 기타 유통실정을 고려하여 위해방지와 품질을 보장할 수 있도록 정하여야 한다.’ 라고 고시하였으며 ‘식육, 포장육 및 식육가공품의 냉장 제품은 -2~10℃(다만, 가금육 및 가금육 포장육 제품은 -2~5℃)에서 보존 및 유통하여야 한다.’ 라고 고시

- 이를 바탕으로 제조 후의 유통과정의 보존 및 온도 조건을 확인하여 적합한 유통기간 설정을 계획함.

라. 저장성 실험 진행

(1) 유산균 저장성 분석

(가) 실험방법

- 시중 내에 판매되고 있는 소고기 등심을 구입 후 실험실 내의 고기분쇄기 (PM-70, Manica, Spain)를 사용하여 고기를 분쇄함
- 분쇄된 소고기를 80g/EA patty로 나눈 후 KCCM에서 구입한 유산균 *L. acidophilus*을 8 log CFU/g만큼 접종하여 반죽함.
- 분쇄 후 12cm 지름의 성형기를 사용하여 패티를 만들고 진공포장을 통해 외부 균이 유입되지 않도록 함.
- 진공으로 포장한 제품을 초고압 장치를 사용하여 살균 후 미생물 총균수 실험을 진행함.
- 4° C incubator에 10일간 저장을 통해 0, 2, 4, 6, 8, 10일 미생물 저감화 실험을 진행함.
- Stomaching bag에 패티 1개와 BPW(Buffered Peptone Water) 각각의 패티 무게에 2배만큼(1:2 dilution)을 넣고 2분간 stomaching 하여 실험을 진행함.
- 패티 내 존재하는 미생물 측정을 위해 샘플 1mL를 멸균 희석액을 이용하여 연속 희석법을 시행하였으며, Latobaclilli MRS Agar 배지를 사용하여 혼합 평판법으로 측정하였음.
- 37° C incubator에 48시간 배양한 후 계수 함.

(나) 실험결과

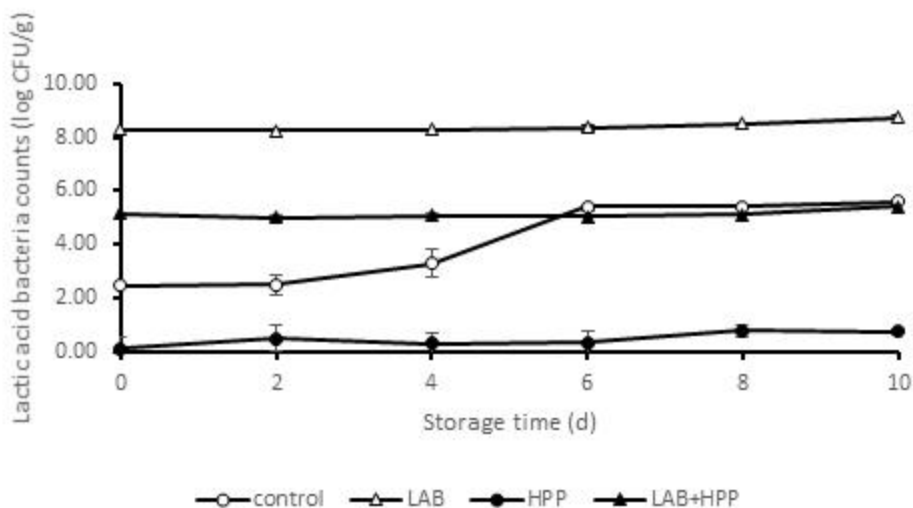


그림3-33. 유산균 및 초고압 처리에 따른 분쇄육의 저장성 실험

- Control 패티의 경우 초기 유산균이 2.47 log CFU/g임을 확인 할 수 있었으며, 저장기간이 늘어남에 따라 최대 5.6 log CFU/g (10일 차)까지 증가함을 확인함.
- *L. acidophilus*을 처리한 군은 8.28 log CFU/g으로 증가됨을 확인하였고, 저장기간이 늘어남에도 최대 10일 차 (8.74 log CFU/g)까지 유의적으로 증가하지 않는 것을 확인함.
- 500 MPa를 단독 처리한 군은 압력에 의해 초기 2.33 log CFU/g의 감소를 확인하였으며, 저장기간에 따라 0.14 log CFU/g에서 0.8 log CFU/g으로 유산균의 수가 유지됨을 확인하였다. control 패티에 비하여 감소를 확인할 수 있었으며, 아무것도 처리하지 않은 군, *L. acidophilus*, *L. lactis ssp. Lactis*은 각각 2.10, 1.54, 2.31 log CFU/g으로 미생물 총균수의 감소를 확인 할 수 있었음.
- 유산균을 접종한 패티에 초고압 기술을 접목한 군은 초기에 미생물 접종 군 대비 3.11 log CFU/g 감소를 확인하였으며 유산균과 초고압을 적용한 패티는 저장기간이 늘어남에도 유산균 수가 유지되다 10일 차에 5.41 log CFU/g으로 소폭 증가함을 확인함.

(2) 시제품 미생물 저감화 분석

(가) 실험방법

- 육가공 업체 (풀빛농장)에서 제조한 유산균 (*L. acidophilus*) 적용 소시지를 진공으로 포장하여 외부 균의 유입을 막고 초고압 처리를 가능하도록 함.
- 진공으로 포장한 시제품을 초고압 장치를 사용하여 살균 후 미생물 총균수 실험을 진행함.
- 4° C incubator에 15일간 저장을 통해 0, 5, 10, 15일 미생물 저감화 실험을 진행함.
- Stomaching bag에 소시지 1개와 BPW(Buffered Peptone Water) 각각의 소시지 무게에 2배만큼(1:2 dilution)을 넣고 2분간 stomaching 하여 실험을 진행함.
- 소시지 내 존재하는 미생물 측정을 위해 샘플 1mL를 멸균 희석액을 이용하여 연속 희석법을 시행하였으며, NA(Nutrient Agar) 배지를 사용하여 혼합 평판법으로 측정하였음.
- 37° C incubator에 48시간 배양한 후 계수 함.

(나) 실험결과

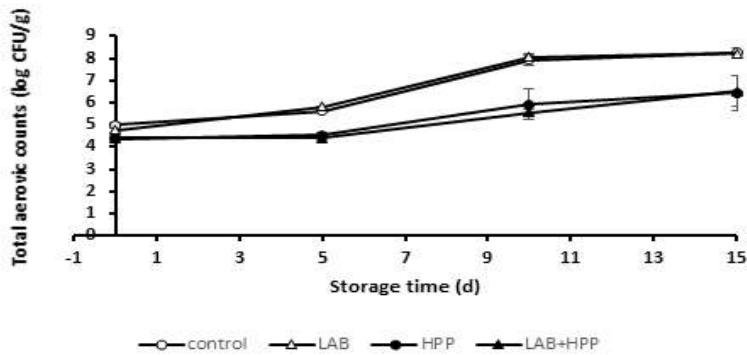


그림3-34. 초고압 및 유산균 처리에 따른 저장성 분석

- Control 소시지의 경우 초기 총 균이 4.98 log CFU/g임을 확인 할 수 있었으며, *L. acidophilus*를 처리한 군은 4.76 log CFU/g으로 약간 감소하는 것으로 확인됨.
- 저장 기간의 증가에도 Control 소시지와 *L. acidophilus*를 처리한 군에서 미생물 총 균의 차이는 나타나지 않는 것이 확인됨.
- 초기에 control 군 대비 500 MPa를 처리한 군은 0.6 log CFU/g의 미생물 감소를 확인할 수 있었으며, *L. acidophilus*와 초고압을 동시에 처리한 군은 0.58 log CFU/g의 미생물 총균수의 감소를 확인 할 수 있었음.
- 저장기간이 늘어남에 따라 균의 빠른 증식을 확인하였다. 압력을 처리하지 않은 군은 15일 차 때 8.24 log CFU/g의 균이 검출되었으며, *L. acidophilus*를 처리한 군은 8.22 log CFU/g, 압력을 처리한 군은 6.43 log CFU/g, *L. acidophilus*와 초고압을 동시에 처리한 군은 6.52 log CFU/g으로 초고압 처리의 유무에 따라 유의적인 차이를 보이는 것으로 확인됨.
- 저장기간이 증가함에 따라 초고압 처리군과 비교군의 총 균 차이가 늘어나는 것을 확인하였으며 15일 차에서 *L. acidophilus*와 초고압을 동시에 처리한 군과 control군의 차이가 2.36 log CFU/g로 가장 큰 것을 확인 할 수 있었음.
- 사전 lab scale로 진행된 패티 미생물 결과와 마찬가지로 육가공 시제품에서도 500 MPa 초고압 처리 및 유산균 병합이 효과적임을 입증할 수 있었음.

(3) 저장기간 내의 시제품 색차 분석

(가) 실험방법

- 육가공 업체 (풀빛농장)에서 제조한 유산균 (*L. acidophilus*) 적용 소시지를 진공포장하여 외부 균의 유입을 막고 초고압 처리를 가능하도록 함.

- 진공으로 포장한 시제품을 초고압 장치를 사용하여 살균 후 100° C waterbath에서 10 min 처리하여 가열 전, 가열 후의 저장성 색차 실험을 진행함.
- 4° C incubator에 15일간 저장을 통해 0, 5, 10, 15일 소시지 표면 내 색 변화를 실험실 내의 색차색도계를 이용하여 L* (lightness), a* (redness), b* (yellowness)를 측정하였음.
- 또한, 이를 토대로 control과 비교하여 색 변화 정도를 확인 할 수 있는 척도인 ΔE (total color difference) = $\sqrt{(L_0 - L^*)^2 + (a_0 - a^*)^2 + (b_0 - b^*)^2}$ 를 계산하여, Control 소시지와 각 처리군 소시지 별로 색 변화의 진행 된 정도를 확인해 보았음.

(나) 실험결과

표 3-6. 가열 전 저장기간 내의 시제품 색차 분석

Treatment condition	Storage (days)															
	0				5				10				15			
	L*	a*	b*	ΔE	L*	a*	b*	ΔE	L*	a*	b*	ΔE	L*	a*	b*	ΔE
Control	51.88 ± 8.59	6.72 ± 0.99	11.48 ± 0.45		59.59 ± 0.72	5.95 ± 1.2	9.85 ± 0.19		61.68 ± 0.36	5.82 ± 0.55	9.46 ± 0.09		59.82 ± 0.26	6.47 ± 0.05	9.46 ± 0.12	
<i>L. acidophilus</i>	58.76 ± 0.55	6.59 ± 0.47	11.26 ± 0.31	7.36 ± 10.4	61.01 ± 1.24	4.65 ± 0.68	10.22 ± 0.31	3.70 ± 1.75	58.77 ± 0.14	5.16 ± 0.09	8.64 ± 0.00	3.64 ± 0.18	58.51 ± 1.08	4.58 ± 0.67	9.01 ± 0.06	4.04 ± 0.19
HHP 500	60.03 ± 3.79	5.34 ± 0.2	11.47 ± 0.15	10.93 ± 10.17	64.72 ± 0.46	3.98 ± 0.16	9.59 ± 0.38	5.92 ± 0.54	66.65 ± 0.49	3.27 ± 0.08	9.64 ± 0.2	5.70 ± 0.55	66.07 ± 0.24	3.35 ± 0.19	10.33 ± 0.13	6.85 ± 0.31
HHP 500 + <i>L. acidophilus</i>	62.77 ± 0.78	5.50 ± 0.72	11.03 ± 0.22	11.05 ± 10.08	65.51 ± 1.12	3.67 ± 0.1	9.99 ± 0.1	6.74 ± 1.35	66.03 ± 0.72	3.19 ± 0.27	9.45 ± 0.13	5.15 ± 0.93	65.53 ± 0.84	3.34 ± 0.22	10.23 ± 0.44	6.40 ± 0.89

- Control 소시지는 저장기간 동안 L*= 51.88 ~ 59.82, a*= 6.72 ~ 6.47, b*= 11.48 ~ 9.46의 값을 가짐.
- 500 MPa의 압력으로 5분 동안 초고압 공정을 거친 0일 차 소시지의 경우 저장기간 동안 L*= 60.03 ~ 66.07 a*= 5.34 ~ 3.35 b*= 11.47 ~ 10.33의 값을 측정하여 얻었음.
- 유산균을 첨가한 소시지의 경우 저장기간 동안 L*= 58.76 ~ 58.51 a*= 6.59 ~ 4.58 b*= 11.26 ~ 9.01의 값을 측정하여 얻었음.

- 500 MPa 압력과 유산균을 병합한 색 변화는 저장기간 동안 $L^* = 62.77 \sim 65.53$, $a^* = 5.50 \sim 3.34$, $b^* = 11.03 \sim 10.23$ 의 값을 측정하여 얻었음
- 유산균 처리를 한 군의 ΔE 결과는 저장기간 동안 7.36 ~ 4.04로 측정되었고 500 MPa의 압력으로 5분간 초고압 공정을 처리한 군의 경우는 저장기간 동안 $\Delta E = 10.93 \sim 6.85$ 의 값을 얻었으며, 유산균을 병합한 결과는 저장기간 동안 $\Delta E = 11.05 \sim 6.4$ 로 측정하여 얻었음
- 초고압 처리된 군은 Control 소시지와 비교하면 L^* 값은 증가하고 a^* 값은 감소하며 b^* 값은 변하지 않는 결과를 보임. 초고압 공정 중 단백질 변성으로 인해 변화를 하는 것으로 파악이 됨.

표 3-7. 가열 후 저장기간 내의 시제품 색차 분석

Treatment condition	Storage (days)															
	0				5				10				15			
	L^*	a^*	b^*	ΔE	L^*	a^*	b^*	ΔE	L^*	a^*	b^*	ΔE	L^*	a^*	b^*	ΔE
Control	59.80 ± 1.15	3.59 ± 0.26	12.75 ± 0.48		60.78 ± 0.2	3.40 ± 0.25	11.53 ± 0.2		54.56 ± 1.19	5.02 ± 0.75	12.50 ± 0.08		58.20 ± 0.23	6.11 ± 0.14	10.46 ± 0.43	
<i>L. acidophilus</i>	59.10 ± 1.77	2.90 ± 0.46	12.47 ± 0.12	1.96 ± 1.1	60.37 ± 0.52	3.34 ± 0.4	12.28 ± 0.12	2.19 ± 0.12	50.92 ± 0.48	4.46 ± 0.23	11.97 ± 0.13	4.56 ± 0.4	53.48 ± 4.79	5.21 ± 0.04	10.04 ± 0.13	6.11 ± 5.57
HHP 500	62.56 ± 0.79	2.55 ± 0.35	11.66 ± 0.58	3.29 ± 1.48	64.62 ± 0.52	2.45 ± 0.21	10.33 ± 0.52	4.50 ± 0.29	61.26 ± 0.43	2.40 ± 0.11	12.31 ± 0.28	8.58 ± 0.52	63.87 ± 0.42	2.72 ± 0.22	10.33 ± 0.1	6.88 ± 0.52
HHP 500 + <i>L. acidophilus</i>	64.23 ± 0.34	2.24 ± 0.52	11.90 ± 0.96	4.79 ± 1.08	69.18 ± 4.93	2.44 ± 0.22	10.46 ± 0.39	8.85 ± 5.89	61.65 ± 1.2	2.46 ± 0.18	12.29 ± 0.36	8.93 ± 1.36	62.52 ± 1.11	2.87 ± 0.11	11.66 ± 0.31	5.77 ± 1.0

- 가열 처리된 모든 군은 가열 전과 비교하면 L^* 값이 상승하고 a^* 값은 감소하는 것을 확인함
- Control 소시지는 저장기간 동안 $L^* = 59.8 \sim 58.2$, $a^* = 3.59 \sim 6.11$, $b^* = 12.75 \sim 10.46$ 의 값을 가짐.
- 500 MPa의 압력으로 5분 동안 초고압 공정을 거친 소시지의 경우 저장기간 동안 $L^* = 62.56 \sim 63.87$, $a^* = 2.55 \sim 2.72$, $b^* = 11.66 \sim 10.33$ 의 값을 측정하여 얻었음.
- 유산균을 첨가한 소시지의 경우 저장기간 동안 $L^* = 59.1 \sim 53.48$, $a^* = 2.9 \sim 5.21$, $b^* = 12.47$

~ 10.04의 값을 측정하여 얻었음.

- 500 MPa 압력과 유산균을 병합한 색 변화는 저장기간 동안 $L^* = 64.23 \sim 62.52$, $a^* = 2.24 \sim 2.87$, $b^* = 11.9 \sim 11.66$ 의 값을 측정하여 얻었음
- 유산균 처리를 한 군의 ΔE 결과는 저장기간 동안 1.96 ~ 6.11로 측정되었고 500 MPa의 압력으로 5분간 초고압 공정을 처리한 군의 경우는 저장기간 동안 $\Delta E = 3.29 \sim 6.88$ 의 값을 얻었으며, 유산균을 병합한 결과는 저장기간 동안 $\Delta E = 4.79 \sim 5.77$ 로 측정하여 얻었음
- 초고압 처리된 군은 Control 소시지보다 L^* 값은 증가하고 a^* 값은 감소하며 b^* 값은 변하지 않는 결과를 보임. 초고압 공정 중 단백질 변성으로 인해 변화하는 것으로 파악이 됨.

(4) 저장기간 내의 pH 분석

(가) 실험방법

- 육가공 업체 (폴빛농장)에서 제조한 유산균 (*L. acidophilus*) 적용 소시지를 진공포장하여 외부 균의 유입을 막고 초고압 처리를 가능하도록 함.
- 진공으로 포장한 시제품을 초고압 장치를 사용하여 처리 후 100° C waterbath에서 10 min 처리하여 가열 전, 가열 후의 저장성 pH 실험을 진행함.
- 4° C incubator에 15일간 저장을 통해 0, 5, 10, 15일 소시지를 바늘형태의 probe를 가진 pH meter기를 사용하여 실험을 진행함.

(나) 실험결과

표 3-8. 가열 전 저장기간 내의 pH 분석

Treatment condition	Storage (days)			
	0	5	10	15
Control	5.97 ± 0.03	6.05 ± 0.02	5.35 ± 0.4	4.81 ± 0.04
<i>L. acidophilus</i>	5.86 ± 0.02	6.01 ± 0.0	5.21 ± 0.12	4.92 ± 0.0
HHP 500	6.08 ± 0.01	6.18 ± 0.01	6.07 ± 0.02	5.95 ± 0.0
HHP 500 + <i>L. acidophilus</i>	6.06 ± 0.01	6.13 ± 0.0	5.87 ± 0.01	5.93 ± 0.02

- Control 소시지는 0일 차에서 5.97의 값을 가지며, 유산균 균은 5.86, 초고압 균은 6.08 그리고 병합처리 균의 결과는 6.06으로 나타남.
- 5일 차에서 pH가 소폭 증가하나 저장기간이 늘어남에 따라 pH가 감소되는 것을 확인했으며, 15일 차의 control균은 4.81, 유산균 균은 4.92, 초고압 균은 5.95 그리고 병합처리 균의 결과는 5.93으로 관찰됨.
- 10 이후 기간이 지나면서 초고압 유무에 따라 pH 감소의 차이 확인 할 수 있었으며 초고압 처리를 한 균은 상대적으로 감소되는 수치가 적은 것으로 관찰됨. 이는 미생물에 의한 산패가 초고압 기술에 의해 조절되는 것으로 판단됨.

표 3-9. 가열 후 저장기간 내의 pH 분석

Treatment condition	Storage (days)			
	0	5	10	15
Control	6.14 ± 0.01	6.24 ± 0.0	5.55 ± 0.37	5.06 ± 0.06
<i>L. acidophilus</i>	6.39 ± 0.36	6.23 ± 0.01	5.54 ± 0.14	4.94 ± 0.1
HHP 500	6.16 ± 0.01	6.23 ± 0.01	6.05 ± 0.0	5.95 ± 0.03
HHP 500 + <i>L. acidophilus</i>	6.16 ± 0.03	6.21 ± 0.0	6.04 ± 0.0	5.95 ± 0.02

- 가열 후 모든 소시지 균의 pH가 소폭 증가하는 것을 확인 할 수 있었으며, Control 소시지는 0일 차에서 6.14의 값을 가지며, 유산균 균은 6.39, 초고압 균은 6.16 그리고 병합처리 균의 결과는 6.16으로 나타남.
- 5일 차에서 pH가 소폭 증가하나 저장기간이 늘어남에 따라 pH가 감소되는 것을 확인했으며, 15일 차의, control균은 5.06, 유산균 균은 4.94, 초고압 균은 5.95 그리고 병합처리 균의 결과는 5.95로 관찰됨.
- 10 이후 기간이 지나면서 초고압 유무에 따라 pH 감소의 차이 확인 할 수 있었으며 초고압 처리를 한 균은 상대적으로 감소되는 수치가 적은 것으로 관찰됨. 이는 미생물에 의한 산패가 초고압 기술에 의해 조절되는 것으로 판단됨.

(5) 저장기간 내의 TBARS 분석

(가) 실험방법

- 육가공 업체 (폴빛농장)에서 제조한 유산균 (*L. acidophilus*) 적용 소시지를 진공포장하여

외부 균의 유입을 막고 초고압 처리를 가능하도록 함.

- 진공으로 포장한 시제품을 초고압 장치를 사용하여 살균 후 저장성 TBARS 실험을 진행함.
- 4° C incubator에 15일간 저장을 통해 0, 5, 10, 15일 소시지를 3g 씩 떼어낸 후에 NaOH, butylated hydroxyl toluene, trichloroacetic acid, 2-thiobarbituric acid를 첨가하여, spectrophotometer 기기를 이용해 532nm의 흡광도를 측정하여 지질산패의 정도를 측정하였음.

(나) 실험결과

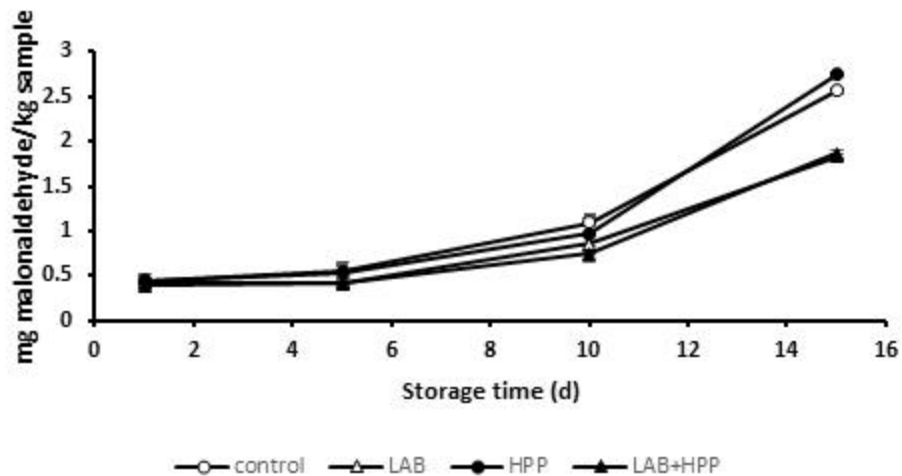


그림 3-35. 저장기간 내의 TBARS 분석

- Control 소시지는 0일 차에서 0.43 mg malonaldehyde/kg sample의 값을 가지며, 유산균 군과 초고압 군 그리고 병합실험을 통해 얻은 결과를 각각 살펴보면 0일 차에 0.42, 0.44, 0.38 mg malonaldehyde/kg sample의 값을 측정하여 얻었음.
- 15일이 경과한 후에는 지질산패의 값이 증가한 형태를 보이나 control 군에 비해 유산균을 첨가한 군과 병합처리한 군에서는 지질산패 증가율이 상대적으로 감소하는 형태를 보임.
- 이는 유산균에서 생성되는 젖산이 지질산패의 원인이 되는 Heme ion을 chelation시켜 control과 초고압군에 비하여 지질 산패가 적게 일어나는 것으로 판단됨.

(6) 저장기간 내의 Cooking Loss 분석

(가) 실험방법

- 육가공 업체 (폴빛농장)에서 제조한 유산균 (*L. acidophilus*) 적용 소시지를 진공포장하여 외부 균의 유입을 막고 초고압 처리를 가능하도록 함.
- 진공으로 포장한 시제품을 초고압 장치를 사용하여 살균 후, 무게를 측정하고 100° C waterbath에서 10 min 처리하여 가열 후 표면의 물기를 제거한 소시지 무게를 측정한다.
- $(\text{가열 전 무게(g)} - \text{가열 후 무게(g)}) / \text{가열 전 무게(g)} * 100$ 을 대입하여 Cooking Loss (%)를 계산한다.

(나) 실험결과

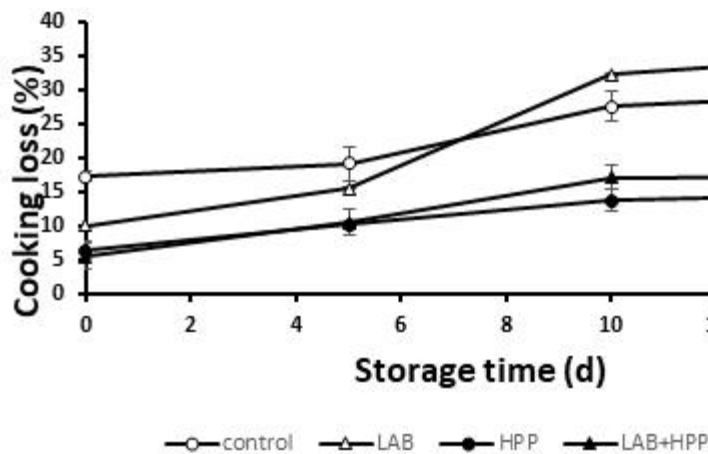


그림 3-36. 저장기간 내의 Cooking loss 분석

- Control 소시지의 경우 Cooking loss (CL) 는 저장기간에 따라 17.26 ~ 29.29%의 값을 확인하였으며 가열 후에 육안으로도 많은 양의 수분이 나온 것을 확인 할 수 있었다.
- 유산균을 접종한 군은 0일 차의 CL은 10.02로 control군보다 낮았으나 저장기간이 지날수록 CL 값이 빠르게 올라 15일 차 때는 34.93의 수분손실을 확인함.
- 초고압 처리를 한 군은 저장기간에 따라 6.36 ~ 14.74%의 CL값을 확인하였고 병합처리를 한 군은 5.56 ~ 17.43%의 CL값을 확인함.
- 초고압을 처리한 군의 CL값이 낮은 원인으로 압력에 의한 수용성 단백질이 용출되어 주변의 수분과 결합하여 젤을 형성, 수분손실이 줄어드는 것으로 파악됨

(7) 텍스처 분석

(가) 실험방법

- 육가공 업체 (폴빛농장)에서 제조한 유산균 (*L. acidophilus*) 적용 소시지를 진공포장하여 외부 균의 유입을 막고 초고압 처리를 가능하도록 함.
- 진공으로 포장한 시제품을 초고압 장치를 사용하여 살균 후 4° C incubator에 15일간 저장을 통해 0, 5, 10, 15일 소시지 균을 준비함.
- 준비된 소시지를 100° C waterbath에서 10 min 처리하고 물성 변화를 측정하기 위해 TA XT Express texture analyzer (Stable micro systems Co.) 기기를 이용하였음.
- 본 연구에서는 75mm 지름의 원통형 프로브를 이용했으며, 시료의 원형을 유지할 수 있는 선에서 시료 크기를 가로 1cm 세로 1cm로 맞추어 정밀성과 재현성을 향상시켰음.
- 각각의 실험군에 대해 Hardness, Chewiness, Cohesiveness, Springiness의 측정 척도를 이용하였음.

(나) 실험결과

표 3-10. 저장기간 내의 텍스처 분석

Texture profile analysis (Hardness)					Texture profile analysis (Chewiness)				
Treatment condition	Storage (days)				Treatment condition	Storage (days)			
	0	5	10	15		0	5	10	15
control	907.46	1102.64	1602.14	1210.33	control	571.66	572.98	579.19	662.89
LAB	936.70	998.23	1166.45	1320.82	LAB	698.90	740.32	829.48	980.20
HPP	830.65	813.92	809.12	800.92	HPP	576.92	571.37	555.02	553.44
LAB+HPP	811.17	792.74	763.85	787.93	LAB+HPP	530.26	542.21	470.51	633.64

Texture profile analysis (Cohesiveness)					Texture profile analysis (Springiness)				
Treatment condition	Storage (days)				Treatment condition	Storage (days)			
	0	5	10	15		0	5	10	15
control	0.66	0.63	0.61	0.61	control	0.94	0.92	1.03	0.88
LAB	0.76	0.74	0.71	0.69	LAB	0.98	1.01	1.00	1.06
HPP	0.75	0.74	0.72	0.72	HPP	0.82	0.85	0.96	0.97
LAB+HPP	0.70	0.71	0.68	0.74	LAB+HPP	0.84	0.89	0.90	1.09

- Texture Profile Analysis (TPA) 분석결과, 가장 큰 차이를 나타내는 항목은 경도(Hardness)와 씹힘성(Chewiness)였음.
- control과 유산균 균의 경우 높은 Cooking loss 값의 영향으로 경도(Hardness)가 초고압 균에 비하여 높은 것을 확인하였으며 저장기간이 지남에 따라 그 차이가 벌어지는 것을 확인함.

- 씹힘성(Chewiness) = 경도(Hardness) X 응집성(cohesiveness) X 탄력성(springiness)의 식으로 표현할 수 있음.
- 응집성과 탄력성의 경우 처리군 간 유의적인 차이가 없는 것으로 보아, 씹힘성의 유의적인 차이는 경도 간의 차이에 영향을 받아 나타난 값으로 추론할 수 있음.
- 초고압 군과 병합처리 군에서 저장기간 동안의 텍스처 변화가 적은 것을 확인, 본 과제와 신기술의 필요성을 확인할 수 있음.

6. 비가열 살균 공정 관리 기준

가. 공정을 조직적, 전체적으로 관리하기 위한 기준 설정

○ 공정의 조직적 관리 프로세스

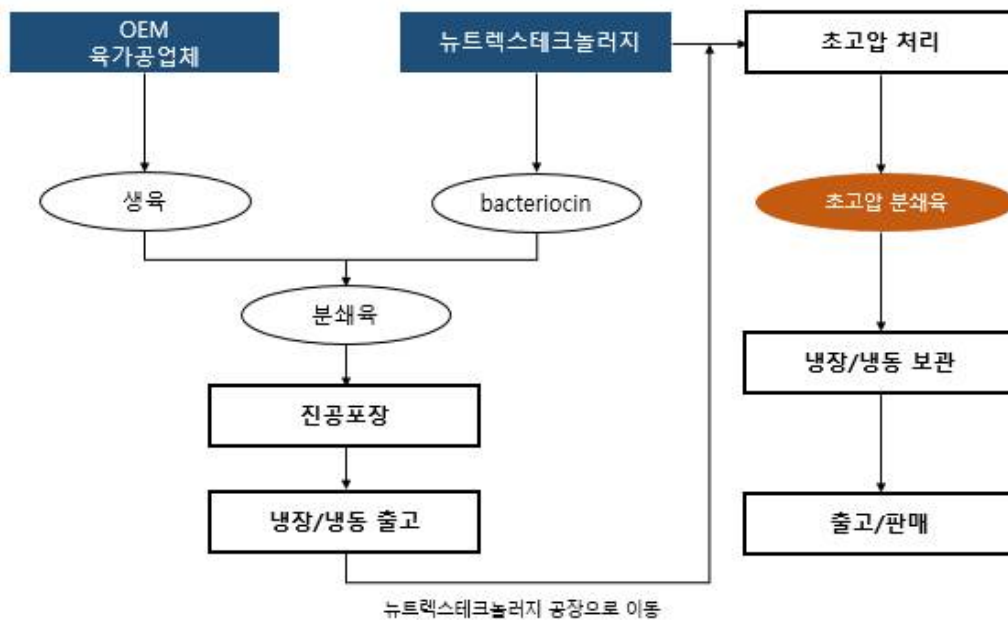


그림 3-37. 공정의 조직적 관리 프로세스 Flow chart

- 유산균의 배양 및 OEM 업체 전달은 뉴트렉스테크놀로지로부터 관리 된다
- 선정된 OEM 업체는 전달받은 유산균을 생육 생산시 활용하여 제품 생산을 한다
- 제조 완료된 분쇄육은 포장되어 다시 뉴트렉스테크놀로지로 전달되어 초고압 처리를 진행한다.

- 초고압 처리 후 냉장 또는 냉동 보관하여 출고 및 판매된다

○ 뉴트렉스테크놀러지 생산 공장의 시설 배치표 작성

- 공정 시설 배치표 설정을 통해 제품의 입고/출고 및 초고압 공정의 전체 동선을 확인함

- 축산물유통전문판매업 기준에 따른 냉장 창고의 보관구역, 반품 구역을 설정

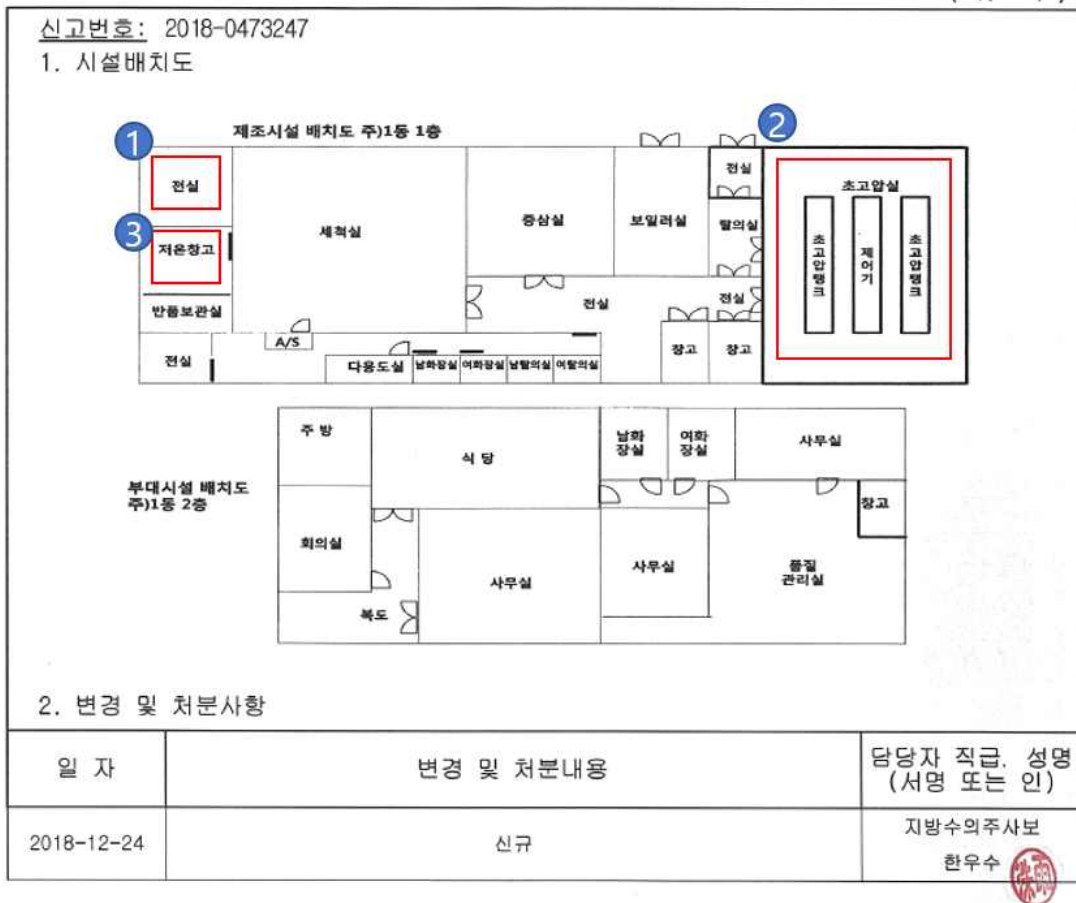


그림 3-38. 초고압 공장의 시설배치도 및 동선 확인

(2) 공정의 조직적 관리 프로세스 세부 관리 기준

관리 항목		관리 기준	측정 방법	주기
유산균 준비 공정	유산균 배양	충분한 유산균 증식 • 9 log CFU/mL 이상 증식 여부	흡광도 측정	공정 시 매회
	유산균 분리	• 원심분리 여부 • 배지로부터의 분리 여부	pH 및 당도 측정	일 1회
	유산균 배합	• 식육 g당 8 log CFU 첨가	유산균 수 측정	월 1회
분쇄육 준비 공정	생육 분쇄	• 일정한 크기	육안	매회
	분쇄기 세척	세척 작업 표준 준수 • 세척 수 이물질 없 을 것 • 세척 수 청정도 • 세척액 농도	육안 농도계	매회
	배합 및 혼합	• 재료 누락 여부 • 염도 확인 • 균일한 혼합 여부	육안 농도계	매회
	성형	• 성형 불량 여부	육안	매회
분쇄육 포장 공정	진공 포장	• 진공 압력 여부 • 포장 불량 여부	육안	매회
초고압 처리 공정	압력 처리	• 증압 여부	압력 게이지	매회
	유압유 관리	• 유압유 수위 확인	육안	주 1회

나. 작업 공정 및 순서, 재료, 처리조건 등을 공정표로 작성

(1) 패티 제품화 공정표

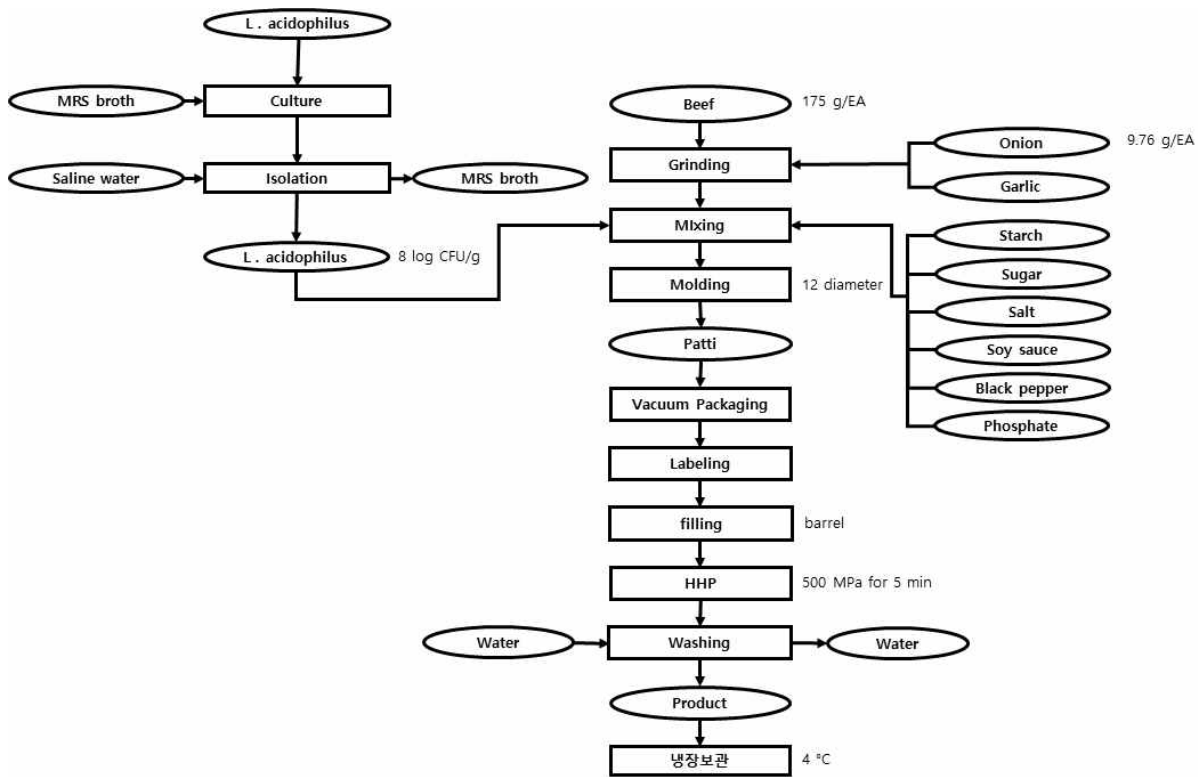


그림 3-39. 패티 시제품의 공정 프로세스 Flow chart

- 패티를 제작하기 전 기존에 동결시킨 *L. acidophilus*을 MRS broth에 넣고 37 ° C에서 48시간 동안 배양시킨 후 원심분리기를 이용하여 MRS broth 제거 후 미생물과 식품에 사용가능한 생리식염수에 희석하여 8 log CFU/g만큼 준비한다.
- 준비한 소고기에 양파와 마늘을 넣고 간 후 나머지 패티 재료를 첨가하여 섞어준다. 후에 패티모양으로 성형하고 진공포장, 라벨링 후 초고압처리 (500 MPa, 5분)를 진행, 세척 후 제조를 완성한다.

(2) 소세지 제품화 공정표

- 소시지를 제작하기 전 기존에 동결시킨 *L. acidophilus*을 MRS broth에 넣고 37 ° C에서 48시간 동안 배양시킨 후 원심분리기를 이용하여 MRS broth 제거 후 미생물과 식품에 사용가능한 생리식염수에 희석하여 8 log CFU/g만큼 준비한다.
- 준비한 돼지고기에 양파와 마늘, 고추, 파를 넣고 간 후 나머지 소시지 속 재료를 첨가하여 섞어준다. 후에 콜라겐막에 케이싱하여 소시지 모양으로 성형하고 진공포장, 라벨링 후 초고압처리 (500 MPa, 5분)를 진행, 세척 후 제조를 완성한다.

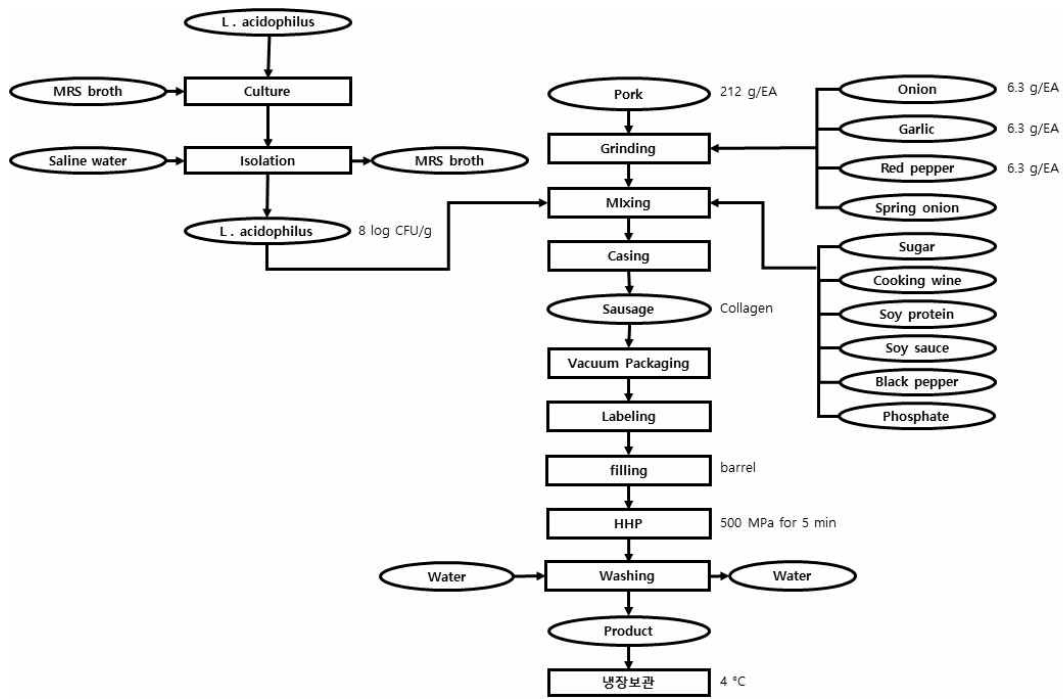


그림 3-40. 소세지 시제품의 공정 프로세스 Flow chart

7. 기술의 산업적 확산을 위한 활용도 제고 연구를 통한 부가 사업화 방안 연구

○ 개발된 공정관리 기준을 적용하여 시제품 생산 및 임가공 가능업체 선정 계획 수립

- 육가공 생산업체의 최소 생산량인 20kg의 돈육과 우육을 사용하여 제조하였으며 연구실에서 제조한 샘플에 비하여 대규모로 제조된 제품의 생산과정의 차이를 확인.
- 육가공 제품 생산 후 즉시 초고압기술에 필요한 전처리인 진공포장을 할 수 있어 외부 유입균과 지질산화감소 및 빠른 초고압 공정이 가능함을 확인.
- 육가공 제품 생산 이후 대용량의 초고압기기의 적용 현장 확인을 위해 금산에 있는 (주)뉴트렉스테크놀러지 공장으로 이동, 기술적용의 가능성을 확인.
- 해당 초고압기기의 경우, 증압기, 벨브, 플러그의 교체로 대량의 제품에 초고압 기술이 적용 가능함을 확인.
- 시제품 생산 실험 결과와 임가공 업체의 생산 현장의 세부 조건들을 확인 한 결과를 바탕으로 산업화 계획을 수립함



그림3-41. 육가공 공장 (폴빛농장)

8. 사업화 계획

항 목	세부 항목	성 과		
사업화 계획	사업화 소요기간(년)	냉장보관용 분쇄생육의 제조 및 그 외 제품 (사업화 소요기간: 1년)		
	소요예산(백만원)	-		
	예상 매출규모 (억원)	현재까지	3년후	5년후
		0.74	1.5	3.0
	향후 관련기술, 제품을 응용한 타 모델, 제품 개발계획	- 향후 개발된 기술을 이용한 냉장보관용 패티패키지 및 소시지 제품 개발 계획		

4. 목표 달성도 및 관련 분야 기여도

1. 목표

. 최종목표

- 식육제품에 오염 가능한 유해 미생물을 효과적으로 제어하여 미생물학적 안전성을 확립할 수 있는 비가열 살균 기술을 개발
- 개발된 기술을 대량생산 현장에 적용하는 연구를 하고, 이에 적합한 시스템 구축을 위한 설비 보완 및 개선
- 안전하고 우수한 품질의 식육제품을 제공하기 위한 비가열 신 살균 기술 개발 및 산업화 기반 연구

2. 목표 달성여부

가. 연차별 연구개발 목표 및 결과

구분	구분	연구개발의 목표	달성도	연구 내용	연구결과
1차년도 (2017)	제1세부 (주관)	신선육 및 식육제품에 적합한 비가열 살균 기술 분석 및 진단과 시스템 제작 계획 확립	100	- 식육제품의 초고압 기술 적용을 위하여 식육제품에 적합한 처리조건 분석 - 초고압설비진단 결과를 통한 기기보완/제작 작업 후 협동기관과의 협업을 통해 추후 실생산 공정에 적용하기 위한 공정관리기준 계획	국내외 초고압기 생산업체 조사 및 초고압의 식육제품 적용 사례를 확인함 해외 업체 부품을 참고하여 현재 기기의 고압벨브, 체크벨브, Cylinder sliding, Intensifier 기기보완 계획을 설정함
	제1협동	분쇄가공육, RTE 제품의 상품성 저하를 유발하는 오염균 분석	100	- 분쇄 가공육 오염균 분석을 위한 문헌 및 사례 조사 - RTE 식육제품 오염균 분석을 위한 문헌 및 사례조사	- 분쇄 가공육 및 RTE 식육제품의 오염균 분석을 위한 뉴스 기사 및 문헌 조사를 통해 여러 오염균을 확인할 수 있었음
		초고압, 항균제 등 비가열 기술의 미생물 제어 기작 연구	100	- 초고압 살균 기술을 통한 분쇄 가공육 및 RTE 제품의 오염 미생물 제어 효과	- 소고기 여러부위를 사용해서 분쇄가공육(패티)를 제조

				<ul style="list-style-type: none"> 및 기작 연구 - 나트륨 염, bacteriocin 또는 유기산 등 항균제를 이용한 분쇄 가공육의 오염 미생물 제어 효과 및 기작 연구 	<ul style="list-style-type: none"> - 초고압 기술을 사용하여 미생물 저감화에 효과를 보임 - 나트륨 염과 병합하여 단순 초고압 기술보다 미생물 저감화에 효과를 보임
제2협동	<p>식육제품 원료육의 상품성 저하를 유발하는 오염균 분석</p>	100	<ul style="list-style-type: none"> - 식육제품 원료육 오염 원인균 조사 연구 - 식육유래 오염균 펄스전기장 처리 및 플라즈마 처리 사례 조사연구 	<ul style="list-style-type: none"> - 식육제품의 오염으로 인해 세계적으로 인체에 많은 피해가 발생됨. - 식육 제품의 펄스전기장의 처리 사례는 없지만, 플라즈마 처리 사례는 존재함. 	
	<p>대상균주 선정 및 모델시스템에서의 효과 검증</p>	100	<ul style="list-style-type: none"> - 식육유래 오염균 살균처리 대상 선정 - 모델시스템에서 고전압 펄스전기장 효과 및 플라즈마 처리 효과 검증 	<ul style="list-style-type: none"> - 우선적으로 E.coli와 Lactobacillus를 모델시스템으로 처리한 결과 살균 효과가 있음. 	
2차년도	<p>제1세부 (주관) 초고압 살균 시스템 구축을 위한 설비 보완 및 개선</p>	100	<ul style="list-style-type: none"> - 협동기관 살균 기술의 미생물 제어 기작연구 결과에 따른 대량시스템 적용 검증 - 초고압기기 재구축을 위한 요소기술 분석 - 식육제품의 생산 공정시스템에 따른 초고압 기기의 증압기, 유압펌프 등의 부품장치 재구축을 통한 기기 확립 	<ul style="list-style-type: none"> - 협동 기관과의 살균 기술의 미생물 제어 기작 연구결과에 따른 대량 시스템 적용 검증 - 초고압기기 재구축을 위한 요소기술 분석 - 식육제품의 생산 공정 시스템에 따른 초고압 기기의 증압기, 고압밸브 등의 부품장치 재구축을 통한 기기 확립 	
	<p>제1협동 초고압, 항균제 등 비가열 기술</p>	100	<ul style="list-style-type: none"> - 초고압 살균 기술 적용으로 인한 	<ul style="list-style-type: none"> - 초고압 살균 기술을 통해 자연균 3 log 	

	적용에 따른 품질 분석		<ul style="list-style-type: none"> 분쇄가공육 및 RTE 제품의 연도, 색감, 질감 등 품질 변화 분석 및 한계점에 대한 연구 - 나트륨 염, bacteriocin 또는 유기산 등 항균제 적용으로 인한 분쇄가공육의 조직 파괴 및 관능검사 - 기존 공정 방식과의 비교 분석 	<ul style="list-style-type: none"> 이상의 살균 효과를 확인 할 수 있었으며, 연도, 색 등 품질 변화에서도 관능 평가에서 좋은 평가를 받음 - 유산균 (항균제) 접종 후 관능평가 진행 시 좋은 평가를 받음 - 외국의 단순 초고압 처리와 비교하여 유산균 접종한 분쇄가공육 제품이 더 좋은 평가를 받음
		초고압과 항균제 병합처리를 통한 신 살균 기술 개발	100	<ul style="list-style-type: none"> - 초고압 기술과 나트륨 염, bacteriocin 또는 유기산 병합으로 인한 초고압 신 살균 기술 개발 - 신 살균 기술의 미생물 안전성 및 품질 안정성을 위한 심층 연구
	제2협동	펄스전기장, 플라즈마 등 비가열 살균 기술 적용에 따른 품질 분석	100	<ul style="list-style-type: none"> - 원료육 처리를 위한 펄스전기장 chamber 제작 - 펄스전기장/플라즈마 처리에 따른 원료육의 물리적 특성변화 - 펄스전기장 처리에 따른 원료육의 관능적 특성변화
펄스전기장, 플라즈마 등 비가열 살균 기술 적용에 따른 살균 효과 분석		100	<ul style="list-style-type: none"> - 펄스전기장 처리에 따른 원료육의 살균 효과 검증 - 플라즈마 처리에 따른 원료육의 살균 효과 검증 	<ul style="list-style-type: none"> - 모델시스템에서 펄스전기장 및 플라즈마에 의한 <i>E.coli</i> 살균효과 확인 - 원료육에 대한 펄스전기장 및

3차년도	제1세부 (주관)	기술이전을 통한 식육제품 신 살균 공정 현장 적용	100	<ul style="list-style-type: none"> - 식육제품의 유해 미생물 살균을 위한 최적조건에 따른 초고압기기 생산 공정시스템 확립 - 기술이전을 통한 식육제품 신 살균 공정 현장적용 	<p>플라즈마 적용 중</p> <ul style="list-style-type: none"> - 초고압 공정관리 기준/제품 표준서 설정 - 유해 미생물 살균 최적 조건 설정 - 신 살균 공정 기술이전 및 현장 적용 완료 - 신살균 공정 현장 적용을 위해 위생교육, 축산물유통전문 판매업 등 법적 요구사항 취득
		살균 제품 품목에 적합한 실 생산 공정 운용 최적화	100	<ul style="list-style-type: none"> - 식육제품 생산에 적용 가능한 초고압 기기 공정의 전처리 기술(포장시스템) 개선 - 식육제품의 초고압 공정 처리 후 사후 품질관리 방향 설정 - 제품의 보존기간 연장 확인 및 설정 계획 	<ul style="list-style-type: none"> - 초고압 패티 포장 시스템 특허 출원 및 기술이전 완료 - TTI 기술 적용으로 사후 품질 관리 방향 설정 - 최적 조건 설정 후 시제품 생산하여 보존기간 연장 확인
		기술의 산업적 확산을 위한 활용도 제고 연구를 통한 부가 사업화 방안 연구	100	<ul style="list-style-type: none"> - 개발된 공정관리 기준을 적용하여 시제품 생산 계획 수립 - 기술이전 또는 임가공 가능업체 선정 계획 수립 	<ul style="list-style-type: none"> - 시제품 생산 실험 결과와 임가공 업체의 생산 현장의 세부 조건들을 확인 한 결과를 바탕으로 산업화 계획을 수립함
		시중내 유통되는 식육별 비가열 살균 처리효과 분석 및 식육별 최적 처리조건 확립	100	<ul style="list-style-type: none"> - 분쇄가공육 비가열 신 살균 기술의 최적 처리 조건 확립 - RTE 제품 비가열 신 살균 기술의 최적 처리 조건 확립 	<ul style="list-style-type: none"> - 패티 및 소시지 가공육에 초고압 기술을 처리시 500 MPa에 10 min처리의 최적조건을 확립
	제1협동	개발 기술의 살균 표준화 공정 확립 및 공정의		<ul style="list-style-type: none"> - 신 살균 기술의 표준 처리공정 연구 - 신 살균 공정의 	<ul style="list-style-type: none"> - 생산용 제품의 신 살균 기술을 스케일업하여 적용 시 미생물과

		현장실증		<p>생산용 초고압기 현장 실증</p> <ul style="list-style-type: none"> - 각 유해미생물 별 표준화 공정 확립 	<p>지방산화의 안정성을 확인</p> <ul style="list-style-type: none"> - 신 살균 공정의 생산용 초고압기 현장 실증 - 유해미생물 표준화 공정 확립을 위하여 표준작업지침서(SOP) 마련
		비가열 살균 공정관리기준 도출	100	<ul style="list-style-type: none"> - 공정을 조직적, 전체적으로 관리하기 위한 기준 설정 - 작업 공정 및 순서, 재료, 처리조건 등을 공정표로 작성 	<ul style="list-style-type: none"> - 공정의 조직적 관리 프로세스 확립 - 작업 공정 및 순서, 재료, 처리조건 등을 공정표로 작성
제2협동		육제품(육회용 중심) 기생충 저감 관련 부가 연구	100	<ul style="list-style-type: none"> - 펄스전기장 또는 플라즈마 처리에 따른 기생충 저감화 효과 검증 	<ul style="list-style-type: none"> - 기생충 저감화를 위한 기준 생물 선정 (<i>Anisakis spp.</i>) - 펄스전기장 및 콜드플라즈마 처리를 통해서 기생충의 사멸 여부를 확인한 결과 기생충 사멸은 펄스전기장 만 효과가 있음 - E.Coli 와 S.Cerevisiae 를 원료육에 접종하여 펄스전기장과 콜드플라즈마를 처리한 결과 고체시료에서는 큰 살균효과를 거두지 못함
		비열살균 원료육의 2차 가공 연구	100	<ul style="list-style-type: none"> - 펄스전기장 처리를 이용한 원료육의 2차가공(조리, 건조) - 2차 가공 제품의 특성분석 및 시제품화 	<ul style="list-style-type: none"> - 펄스전기장 처리를 이용하여 원료육의 2차가공을 실시함 (수비드조리, 육포제작) - 펄스전기장 전처리를 통해 수비드 조리시 펄스전기장 처리 효과로 인한

					물성연화효과를 유지하고 수비드 조리시간 단축효과를 얻음 - 육포제조과정 중 제혈공정에 펄스전기장처리 효과로 제혈시간을 단축하는 효과를 얻었고 특허를 출원함
--	--	--	--	--	---

나. 관련 분야 기여도

연구내용	관련 분야 기여도
식육제품을 위한 초고압 살균 시스템 구축 및 살균 제품 품목에 적합한 실 생산 공정 운용 최적화	<ul style="list-style-type: none"> - 초고압 기술은 비가열 살균 기술로써 열을 가하지 않고 압력으로 식품내 미생물을 살균하는 기술임. - 식육제품의 초고압 대량 생산 시스템을 도입하기 위해 초고압 처리에 적합한 제품군을 선정하였고 임가공 업체부터 초고압 처리까지 전체 공정시스템을 확립함. - TTI 포장 시스템 개발로 식육제품의 초고압 공정 처리 후 사후 품질관리 방향 설정
초고압 기술과 항균제 병합처리를 통한 신 살균 기술 개발	<ul style="list-style-type: none"> - 초고압 기술과 bacteriocin 또는 유기산 병합으로 인한 초고압 신 살균 기술 개발 - 시중내 유통되는 식육별 비가열 살균 처리효과 분석 및 식육별 최적 처리조건 확립 - Bacteriocin 또는 유산균을 초고압 기술과 병합 적용하여 미생물 저감효과를 검정하였음
개발 기술의 살균 표준화 공정 확립 및 공정의 현장실증	<ul style="list-style-type: none"> - 생산용 제품의 신 살균 기술을 스케일업하여 적용 시 미생물과 지방산화의 안정성을 확인 - 유해미생물 표준화 공정 확립을 위하여 표준작업지침서(SOP) 마련
초고압 처리를 이용한 분쇄가공육 시제품 생산	<ul style="list-style-type: none"> - 초고압 처리를 함으로써 기존 비가열 분쇄가공육의 유통기한을 30%이상 연장 시켰으며 유통 중 경제적 손실 및 판매점에서의 재고관리의 편의 등 비가열 분쇄가공육의 성장 가능성을 확인하였음
펄스전기장 및 콜드플라즈마등 비가열 살균기술을 통한 원료육 오염균 및 기생충 저감화	<ul style="list-style-type: none"> - 펄스전기장 및 콜드플라즈마는 비가열 살균 기술로써 열을 가하지 않고 식품내 미생물을 살균하는 기술임. - 기존 액체식품에서의 살균효과는 연구가 많이 진행되었으나, 본 과제에서는 고체식품에 적용하여 미생물 살균 및 기생충 저감효과를 검정하였음.

	- 펄스전기장 처리를 통한 기생충 사멸효과를 얻음으로써 추후 생선회등에 적용이 가능할 것으로 판단됨.
펄스전기장 처리를 통한 원료육의 연화 촉진	- 펄스전기장 처리를 통하여 생고기의 물성연화 효과를 얻었으며, 이를 고기연화지표 단백질 정량을 통해 규명하였음.
펄스전기장 전 처리를 이용한 2차 가공제품 생산	- 펄스전기장 전 처리를 이용한 수비드 조리를 통해 펄스전기장 효과가 저온 장시간 조리방법인 수비드 조리에서 유지됨을 확인하였고, 색도 및 myoglobin 분석을 통해 조리시간 단축의 효과도 확인하였음. - 펄스전기장 전 처리를 이용하여 육포 제조과정 중 제혈과정 시간을 단축시킴으로써 육포 제조시 안전성확보와 생산비 감소의 효과를 얻을 수 있음.

3. 목표 미달성 시 원인(사유) 및 차후대책(후속연구의 필요성 등)

(1) 비가열 분쇄가공육의 냉장 유통 기간

○ 냉장 분쇄가공육의 현황

- 현재 국내에서 유통되고 있는 냉장 분쇄가공육(비살균 제품)의 경우 유통기한이 최대 5일임을 과제를 진행하면서 확인함.
- 본 과제를 통해 신 살균 공정을 도입하여 기존 제품들의 비해 유통기한이 최대 30% 연장 및 초기균 감소를 확인함.
- 살균 분쇄육은 일반적으로 스모크하우스 살균 및 열수살균을 하며 유통기한은 최대 30일 까지 연장 됨.
- 본 과제를 통해 냉장 유통이 10일 이상 확보가 되었으나 적어도 30일 이상 되어야 유통 중 시간 경과 및 재고 문제를 해결을 통해 경제적으로 도움이 될 수 있다고 판단됨.
- 이에, 본 과제를 통한 생육의 유통기한 연장 효과를 보였으나 산업적, 경제적으로 활용 가치가 있기 위해서는 후속 연구가 필요하다고 판단됨.

표 3- . 분쇄육의 살균 방법에 따른 처리 조건 및 유통기한

	처리 조건	유통기한
스모크 하우스 살균	스팀온도: 68~78℃ 히터온도: 90℃	냉장 30일
열수 살균	80℃	냉장 30일
초고압 + 유산균	유산균 첨가, 압력 500MPa	냉장 10일
비 살균	없음	냉장 5일

○ 후속연구 방향 설정

- 생육의 초기균을 최소화하기 위한 도축 과정 및 공정의 관리 연구
- 가열 살균과 비가열 살균의 병합 처리를 통한 품질 향상 및 유통기한 30일 이상 확보

(2) 신 기술 적용 제품의 판매

- 본 과제를 통해 임가공 업체 선정, 초고압 공정 시스템화, 축산물 유통을 위한 위생교육 및 판매업 취득을 완료하여 시제품 생산 까지 모두 완료함
- 단, 판매 경로가 정해지지 않아 매출 발생의 목표를 달성하지 못함
- 향후 유통기한 후속 연구 및 판매 경로 확보를 목표로 계획을 설정하여 진행할 예정임.

5. 연구결과의 활용 계획

1. 실용화 제품화 방안

<냉동 패티의 프리미엄 대체재로 활용>

- 개인 햄버거 가게를 포함한 미국의 햄버거 식당의 수는 미국 전체 식당의 7.4%를 차지하며, 햄버거 시장 규모는 730억 달러로 추정됨. 또한 2014년 기준 우리나라 햄버거 시장 규모는 1조 5000억 원으로 추정되며 성장속도와 규모가 다른 식품에 비해 폭발적인 성장 산업으로 꼽힘
- 현재 햄버거 가게로 유통되고 있는 패티는 대부분 냉동상태이며, 냉장 패티에 비해 맛과 식감 등의 질이 매우 떨어짐. 냉장 패티의 경우 맛은 뛰어나지만 유통기한이 2~3일정도로 매우 짧아 현재 냉장 패티에 대한 요구는 있으나 공급이 현저히 부족한 상태임. 더욱이 저렴한 식사 한 끼의 대표였던 햄버거 시장이 수제버거 혹은 프리미엄 쪽으로 이동하면서 냉장 패티에 대한 요구가 증가하고 있음
- 분쇄된 고기의 경우 대장균과 같은 식중독 균에 의해 쉽게 오염되며 이때 오염균은 고기의 표면뿐만 아니라 안쪽에도 다량 존재함. 초고압을 이용하면 표면에 있는 균은 물론 패티 깊숙이 존재하는 오염균들을 효과적으로 저감화하여 유통기한을 늘릴 수 있음. 또한 초고압을 이용하면 초고압은 진공 포장한 뒤 살균처리를 하게 되므로 살균을 거친 뒤 별도의 포장 단계 없이 바로 유통될 수 있음

<익히지 않는 식육제품 요리 분야 활용>

- 우리나라의 육회, 육사시미를 비롯하여 rudos, steak tartare, carpaccio, ossenworst 등 전세계적으로 많은 사람들이 익히지 않은 고기 요리들을 즐기고 있음. 이러한 요리를 할 때 훈연 혹은 훈제, 건조 등의 방법으로 상대적으로 균이 자라기 어려운 환경을 만들어 주기도 하지만 육고기가 날 것인 상태를 유지하기 때문에 여전히 오염균에 취약함. 매년 이러한 요리에 의한 식중독 사건이 발생함
- 따라서 익히지 않는 육고기 요리는 살균이 필수적이지만 익지 않아야 하기 때문에 열처리로 살균하는 것은 불가능하여 비열살균이 필수적임. 초고압을 이용하면 이러한 요리들의 맛과 형태에 영향을 최소화하면서도 오염균은 효과적으로 저감화할 수 있음

<양념된 냉장고기 분야 활용>

- 택배 시스템이 발달로 모든 지방의 유명한 음식을 가정에서 맛볼 수 있게 되었으며 홈쇼핑을 통한 식품 구매도 늘고 있음. 식육제품의 경우 가열된 후 시간이 지나면 질감이 딱딱해지고 향과 맛이 변해 기호성이 떨어지므로 가열되지 않은 상태로 배달 되어야함. 그러나 가열되지 않은 육제품의 경우는 유통 과정에서 오염될 가능성이 높아 배달 식품 시장에 적용되기에는 한계가 있음
- 그러나 비열살균인 초고압을 이용하면 유통과정 중 육제품의 오염과 부패를 효과적으로

억제하여 안전한 상태로 소비자에게 전달될 수 있음. 양념된 고기의 경우 양념이 충전제 역할을 하므로 따로 물을 추가하지 않아도 효과적인 초고압 처리가 가능함. 진공포장을 한 뒤 초고압을 처리하면 유통기한이 10배 이상 증가하게 되는데, 이 경우 식육제품을 외국에 수출할 수 있게 되고, 이는 현재 한류열풍에 따른 해외의 한식에 대한 수요를 충족하는데도 큰 역할을 할 수 있음

- 최근 쿡방이라고 하는 요리에 관련된 콘텐츠가 폭발적으로 증가하고 있으며 이에 따라 외식을 하기보다는 가정에서 요리를 하고자 하는 욕구가 늘어나면서 반조리식품에 대한 수요가 증가하고 있음
- 또한 햄이나 소세지류에 대한 안전성 문제가 제기되면서 더 건강한 가공식육제품에 대한 소비자 욕구 증가하고 있으며, 냉동 육제품보다는 맛과 질이 더 좋은 냉장 육제품에 대한 관심이 증가하고 있음. 현재 주로 냉동 유통되는 동그랑땡, 미트볼과 같은 분쇄가공육에도 적용되어 프리미엄제품으로 개발될 수 있음

나. 미래원천기술 확보

- 또한 햄이나 소세지류에 대한 안전성 문제가 제기되면서 더 건강한 가공식육제품에 대한 소비자 욕구 증가하고 있으며, 냉동 육제품보다는 맛과 질이 더 좋은 냉장 육제품에 대한 관심이 증가하고 있음. 현재 주로 냉동 유통되는 동그랑땡, 미트볼과 같은 분쇄가공육에도 적용되어 프리미엄제품으로 개발될 수 있음

다. 신산업 창출

<애완동물의 생식사료 분야 활용>

- 우리나라 경기침체가 장기화되고 있음에도 불구하고 국내 애완동물 관련시장은 매년 두자리 수 이상 높은 성장세를 보이며 2020년에는 5조 8천 100억 원 규모가 될 것으로 예상되며 애완동물 식품시장 규모도 6천억원까지 성장할 것으로 전망됨. 한국소비자원의 조사 결과 가구당 월평균 5만 4천 793원을 사료, 간식비로 소비한다고 함
- 최근 애완동물을 가족처럼 생각하며 많은 사람들이 애완동물의 먹거리를 신중하게 선택하며 고급제품을 선호하는 경향이 높아짐. 특히 건식사료보다는 습식사료가 기호성이 높고 고급제품으로 인식되며, 고양이 습식사료 시장의 경우 매년 50%씩 늘고 있음. 이 밖에도 저키 제품이나 돼지 귀 등 애완동물 식품시장에서 육제품이 차지하는 비율이 매우 높음
- 그러나 한 연구에 따르면 애완동물 생식사료의 45%가 살모넬라, 리스테리아, 대장균등과 같은 위험한 세균에 오염되어 있으며, 오염된 사료는 애완동물의 건강뿐만 아니라 동물사료를 다루는 사람들에게도 질병을 유발하거나 심한 경우 사망에 까지 이르게 할 수 있는 잠재적 위험이 있다고 보고됨. 생고기를 이용한 애완동물의 습식사료나 건식사료의 경우에도 비가열살균이 요구됨. 초고압을 이용하면 보다 안전하고 질 좋은 애완동물 사료를 생산할 수 있음

라. 후속연구

- 식육제품의 경우 color shelf-life나 display-life로도 불리는 case-life라는 요소가 더

추가됨. 이는 식육제품의 색깔이 붉은 색에서 갈색과 같은 색깔로 변하여 소비자에게 좋지 않은 인상을 주어 미생물측면에서는 문제가 되지 않음에도 더 이상 유통될 수 없는 시간의 길이를 말함. 식육제품의 색변화는 마이오글로빈의 변형에 의해 발생되며 식육제품에서는 종종 shelf-life가 아닌 case-life가 기준이 되기도 함. 초고압을 이용하면 단백질이 변형되어 효소의 경우는 그 활성을 잃고 단백질의 성질이 달라지기도 함. 특히 진공포장을 하면 식육제품의 유통기한이 한달이상으로 늘어나게 되지만 식육제품이 보라색으로 변하는 단점이 있어 사용이 제한적임. 후속연구를 통하여 초고압으로 마이오글로빈의 활성을 저해하여 식육제품의 색변화를 막을 수 있다면 식육제품의 shelf-life뿐만 아니라 case-life를 극도로 연장할 수 있음

- 육류의 경우 미생물학적 안전성뿐만 아니라 광우병을 일으키는 prion 단백질에 대한 우려도 존재함. 이전 연구들에 따르면 prion 단백질은 현재 연구진이 보유한 초고압 장치 사양 이상인 690 MPa 또는 800 MPa 이상의 압력, 60~137 °C 이상의 온도에서 수십 분 처리했을 때 감소하는 결과를 보임. 초고압 살균기술이 prion 단백질 저감의 대안이 될 수 있다는 사실이 입증되었지만 열처리가 포함되어 비가열 기술이라고 할 수 없고, 현재 기술로 이와 같은 조건에서 식품을 처리할 수 있는 초고압 장치를 구축하기는 어려움. 그러나 소비자의 식육제품 안전인식을 높이기 위해서는 기술이 뒷받침 된다면 초고압 또는 그 밖의 비가열 살균기술을 이용한 prion 단백질 저감의 후속연구가 필요함

2. 및 파급효과

- 국외와 달리 우리나라에서는 초고압 살균이 대부분 액상식품에만 이루어지기 때문에 초고압 처리에 있어 상세한 내용이 액상식품에만 한정되어 있는 것이 사실인데 이 과제를 통해 새로이 식육제품, 더 나아가 액상식품 외의 제품에 적용할 수 있는 초고압 처리의 특정 조건 및 내용들을 발전시킬 수 있음
- 시중에 출시되는 육가공품의 절반가량이 비가열 제품인데 이와 같은 비가열 제품은 식품의 특성상 열처리가 어려운 것이 대부분임. 물론 조리하여 섭취하지만 제품 그 자체로는 미생물 오염이 심함. 따라서 제품의 관능에 큰 영향을 주지 않으면서 미생물 문제를 해결할 수 있는 기술인 초고압이 산업에 적용된다면 더욱 많은 고부가가치의 제품을 시장에 제공할 수 있을 것으로 사료됨
- 식품의약품안전처에서는 식육가공품의 첨가물인 아질산염의 위해성을 우려하여 햄, 소시지의 하루 안전 섭취 권고량을 공고하였고, 이에 따라 저염 제품의 개발이 강화되고 있는 상황. 실례로 이와 관련하여 CJ, 사조대립, 농협목우촌 등에서 개발된 무첨가 식육가공품 브랜드의 판매액이 지난 몇 년간 성장한 것으로 나타남. 염지의 목적에 미생물 감소 역할도 있다는 것을 고려하면 초고압 살균 처리는 보존료를 필요로 하지 않는 살균 방법이기 때문에 염을 적게 사용하더라도 무방할 것임. 따라서 산업적으로도 정부 정책과도 적합한 신기술이라 할 수 있음

- CJ제일제당의 최근 4년간 육가공 제품 시장조사 자료를 분석한 결과에 따르면 2012년 8000억 원 규모였던 국내 육가공 시장은 지난해 9000억 원으로 상승했음. 시장의 점진적 성장과 웰빙, 신선 식품에 대한 소비자들의 요구가 맞물려 비가열 처리한 프리미엄 제품에 대한 관심도도 높아지고 있음. 돈육의 경우를 보면, 프리미엄 제품의 2010년 판매액은 1,980억 원 규모이며 2011년에도 전년 대비 27.6% 증가했으나, 일반 및 기타 제품군의 판매액 또한 증가함에 따라 프리미엄 제품의 점유율은 2013년과 2014년에 비해 2015년에 단 0.2% 증가하는데 그침. 초고압 살균 처리된 프리미엄 제품의 보급화는 다양하고 새로운 상품의 보급으로 국민의 건강 및 행복 증진에 도움을 줄 수 있음
- 최근 세계보건기구(WHO) 산하 국제암연구소(IARC)에서 가공육을 1군 발암물질로 지정하고 '가공육을 매일 50g 먹을 경우 암에 걸릴 가능성이 18%나 높아진다.'고 밝혀 국내 가공육 시장이 크게 부진을 겪은 일이 있었음. 국제암연구소에서 밝힌 바로는 가공육을 만드는 과정인 연기를 쏘이거나 절이고 말리는 등에서 발암성분이 추가된다고 했는데 이와 같은 가공 과정의 원인에는 미생물 감소를 위한 목적도 포함됨. 따라서 초고압 살균을 했을 시, 불필요하게 과한 보존료 사용 및 공정의 필요도가 떨어지므로 이를 이용해 육가공품을 섭취하더라도 발암률이 증가하지 않는다는 점을 강조하여 소비자들에게 식육제품의 선호도를 높이고 보다 고부가가치의 식육제품 출시를 통해 시장을 성장시킬 수 있음
- 열처리 살균은 포장 후 살균 처리가 어렵기 때문에 추가 오염의 가능성이 높아 유통 및 보관에 각별히 신경을 써야하므로 추가 비용이 더 소모되고 또한 유통기한도 짧으므로 경제적 손실이 큰 편. 하지만 초고압 살균 방법은 포장 후 살균 처리가 가능하므로 완전 살균할 수 있고 추가 오염의 가능성이 낮으므로 유통 및 보관 과정에서 열처리 살균한 제품에 비해 비용을 절감할 수 있음. 더하여 유통기한도 신장되기 때문에 경제적 손실을 감소시킬 수 있을 뿐만 아니라 식품의 낭비도 막고 음식물 쓰레기 생산량도 줄일 수 있음
- 약 700만 명가량의 재외동포의 요구와 한류 열풍 및 한식의 글로벌화로 인하여 한식의 수출도 큰 경제적 가치를 가짐. 하지만 식품의 특성상 유통기간과 유통방법의 한계로 수출에 한계가 있었는데 초고압 살균을 통한 제품은 유통기한도 크게 늘리고 유통방법에서도 간소화가 가능함. 따라서 한식의 수출을 통해 약 5,000억 원의 경제적 이익을 예상하고 사회적으로도 한식의 위상을 제고할 수 있을 것임
- 한국보건사회연구원과 식품의약품안전청의 연구에 따르면 식중독으로 인한 사회경제적 비용은 연간 1조억이 넘으며 이는 정부예산의 1.16%에 해당함. 식중독은 여러 가지 식품군에서 발생할 수 있지만 대부분 생 식육제품에 의해 감염됨. 가열되지 않은 식육제품 섭취 뿐만 아니라 식육제품을 다루는 과정에서의 상호오염도 주요한 발병 원인이 됨. 따라서 날 것으로 섭취되는 식품뿐만 아니라 모든 생식육제품에 대한 비열살균이 필수적으로 요구되고 있음. 초고압을 통한 식육제품의 안전성 증진은 식중독 발병 비율을 낮춰 사회경제적 손실을 크게 절감할 수 있으며 국민의 삶의 질을 향상시킬 수 있음

참고문헌

- AOL.COM EDITORS. (2015) Health alert: almost all hamburger meat contains harmful bacteria.
<http://www.aol.com/article/2015/08/24/health-alert-almost-all-hamburger-meat-contains-harmful-bacteri/21226812/>
- Cabedo, L., Picart, I., Barrot, L., Teixidó, I., and Canelles, A. (2008) Prevalence of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* in ready-to-eat food in Catalonia, Spain. *Journal of Food Protection* 71, 855-9.
- Cargill. (2012) High pressure pasteurizing of ground meats. US patent. US20120269952 A1.
- CDC. (2015) Multistate outbreak of shiga toxin-producing *E. coli* O26 infections linked to Chipotle Mexican Grill in Washington and Oregon.
<http://www.cdc.gov/ecoli/2015/O26-11-15/index.html>
- Chinen, I., Tanaro, D. J., Miliwebsky, E., Lound, H. L., Chillemi, G., Ledri, Si., Baschkier, A., Scarpin, M., Manfredi, E., and Rivas, M. (2001) Isolation and characterization of *Escherichia coli* O157:H7 from retail meats in Argentina. *Journal of Food Protection* 64, 1346-1351.
- Fressure® Ground Beef Patties. (2016) <http://fressure.com/>
- Go, E., Park, H., Wee, S., Heo, E., Kim, Y., and Moon, J. (2011) Prevalence of *Listeria monocytogenes* isolated from livestock processed products in Korea. *Korean Journal of Veterinary Public Health* 35, 214-219.
- Ventanas, S., Ventanas, J., Tovar, J., García, C., and Estévez, M. (2007) Extensive feeding versus oleic acid and tocopherol enriched mixed diets for the production of Iberian dry-cured hams: Effect on chemical composition, oxidative status and sensory traits. *Meat Science* 77, 246-325
- Vieira, C., Diaz, M. T., Martínez, B., and García-Cachán, M. D., (2009) Effect of frozen storage conditions (temperature and length of storage) on microbiological and sensory quality of rustic crossbred beef at different states of ageing. *Meat Science* 83(3), 398-404
- Wheeler, T. L., R.K. Miller, J.W. Savell, and H.R. Cross. (1990) Palatability of chilled and frozen beef steaks. *Journal of Food Science* 55(2), 301-304.
- Zamorn, M. C., and Zaritzky, E. (1987) Potassium sorbate inhibition of microorganisms growing on refrigerated packaged beef. *Journal of Food Science* 52(2), 257-262
- Zhou, Y., Mukund, V., Karl, K., and Matthews, R. (2016) Differences in inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 strains in ground beef following repeated high pressure processing treatments and cold storage. *Food Microbiology* 58, 7-12
- Lagerstedt, Å., Enfältm, L., Johanssonm, L., and Lundström, K. (2008) Effect of freezing on sensory quality, shear force and water loss in beef *M. longissimus dorsi*. *Meat Science* 80(2), 457-461
- Lowder, A. C., Waite-Cusic, J. G. Mireles DeWitt, C. A. (2010) High pressure-low temperature processing of beef: Effects on survival of internalized *E. coli* O157:H7 and

- quality characteristics. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 26, 18-25
- Ma, H., and Ledward, D.A. (2004) High pressure/thermal treatment effects on the texture of beef muscle. *Meat Science* 68(3), 347-355
 - McArdle, R., Marcos, B., Kerry, J. P. and Mullen, A. (2010) Monitoring the effects of high pressure processing and temperature on selected beef quality attributes. *Meat Science* 86(3), 629-634
 - Hugas, M., Garriga, M., and Monfort, J. M. (2002) New mild technologies in meat processing: high pressure as a model technology. *Meat Science* 62(3), 359-371
 - Jean-Philippe, A. C., Richard, R. N., and Cheftel, J. (1994) Bacterial growth during chilled storage of pressure-treated minced meat. *LWT - Food Science and Technology* 27(1), 48-54
 - Jose, M.T., Iyer, R. P., and Prabhakaran, P. (1984) Influence of pH on keeping quality kerala. *Journal of Veterinary Sciences* 15, 135-139
 - Joseph, B. M., Anne, P. K., and Mullena, M (2010) High pressure induced changes on sarcoplasmic protein fraction and quality indicators. *Meat Science* 85(1), 115-120
 - Jung, S., and Lamballerie-Anton, M.G. M. (2003) Influence of high pressure on the color and microbial quality of beef meat. *LWT - Food Science and Technology* 36, 625-631
 - Kaale, L. D., Eikevik, T. M., Rustad, T., and Kolsaker, K., (2011) Superchilling of food: A review. *Journal of Food Engineering* 107(2), 141-146
 - Ketnawa, S., and Rawdkuen, S. (2011) Application of bromelain extract for muscle foods tenderization. *Food and Nutrition Sciences* 2, 393-401
 - Kim, K. W., Kim, Y., Kim, M., Noh, B., and Choi, W. (2014) Effect of high hydrostatic pressure (HHP) treatment on flavor, physicochemical properties and biological functionalities of garlic. *LWT - Food Science and Technology* 55(1), 347-354
 - Kim, S., Cho, A.R., Han, J. (2013) Antioxidant and antimicrobial activities of leafy green vegetable extracts and their applications to meat product preservation. *Food Control* 29(1), 112-120
 - McWatters, k. H., Ouedraogo, J. B., Anna, V. A., Hung, Y., and Phillips, R. D. (2003) Physical and sensory characteristics of sugar cookies containing mixtures of wheat, fonio (*Digitalia exilis*) and cowpea (*Vigna unguiculata*) flours. *International Journal of Food Science and Technology* 38(4), 403-410.
 - Meera, N.S. and Charitha, D. M. (2012). Partial characterization and optimization of parameters for bacteriocin production by probiotic lactic acid bacteria. *Journal of Microbiology and Biotechnology Research* 2(2), 357-365
 - Mújica-Paz, H., Valdez-Fragoso, A., Samson, C. T., Welti-Chanes, J., and Antonio Torres, J. (2011) High-pressure processing technologies for the pasteurization and sterilization of foods. *Food and Bioprocess Technology* 4, 969- 985
 - Nienaber, U., and Shellhammer, T. H. (2001) High-pressure processing of orange juice: combination treatments and a shelf life study. *Journal of Food Science* 66(2), 332-336
 - Oxen, P. and Knorr, D. (1993) Baroprotective Effects of high solute concentrations against inactivation of *rhodotorula rubra*. *LWT - Food Science and Technology* 26(3), 220-223

- Palou, E., López-Malo, A., Barbosa-Cánovas, G. V., Welti-Chanes, J., and Swanson, B. G. (1999) Polyphenoloxidase Activity and color of blanched and high hydrostatic pressure treated banana puree. *Journal of Food Science* 64(1), 42-45
- Paul, R., Morgan, R. S., and Hill, C. (2002) Preservation and fermentation: past, present and future. *International Journal of Food Microbiology* 79(1), 3-16
- Pilavtepe-Çelik, M. O., Alpas, B., and Yousef, A.E. (2008) Image analysis based quantification of bacterial volume change with high hydrostatic pressure. *Journal of Food Science* 73, 423-429
- Szerman, N., Barrio, Y., Schroeder, B., Martinez, P., Sancho, A. M., Vaudagna, C. S., and Ramón, S. (2011) Effect of high hydrostatic pressure treatments on physicochemical properties, microbial quality and sensory attributes of beef carpaccio. *Procedia Food Science* 1, 854-861
- Rangel, J. M., Sparling, P. H., Crowe, C., Griffin, P.M., Swerdlow, D. L. (2005) Epidemiology of *Escherichia coli* O157:H7 outbreaks, United States, 1982-2002. *Emerging Infectious Disease* 11, 603-609
- Rivalain, N., Roquain, J., and Demazeau, G. (2010) Development of high hydrostatic pressure in biosciences: Pressure effect on biological structures and potential applications in Biotechnologies. *Biotechnology Advances* 28(6), 659-672
- Rodgers, S. (2001) Preserving non-fermented refrigerated foods with microbial cultures—a review. *Trends in Food Science and Technology* 12(8), 276-284
- Ryu, B.M., Kim, J.S., Kim, M.J., Lee, Y.S. and Moon, G.S. (2008). Comparison of the quality characteristics of sikhye made with N₂-circulated low-temperature dry salt and commercial malts. *Korean Journal of Food Science and Technology* 40, 311-315
- Sánchez del Pulgar, J., Gázquez, A., and Ruiz-Carrascal, J. (2012) Physico-chemical, textural and structural characteristics of sous-vide cooked pork cheeks as affected by vacuum, cooking temperature, and cooking time. *Meat Science* 90, 828-835
- Sanz-Puig, M., Moreno, P., Pina-Pérez, M. C., Rodrigo, D., and Martínez, A. (2017) Combined effect of high hydrostatic pressure (HHP) and antimicrobial from agroindustrial by-products against *S. Typhimurium*. *LWT - Food Science and Technology* 77, 126-133
- Schuenzel, K. M. and Harrison, M. A. (2002) Microbial antagonists of foodborne pathogens on fresh, minimally processed vegetables. *Journal of Food Protection* 65, 1909-1915
- Sikes, A., Tornberg, E., and Tume, R. (2010) A proposed mechanism of tenderising post-rigor beef using high pressure-heat treatment. *Meat Science* 84, 390-399.
- Smelt, J. P. P. M. (1998) Recent advances in the microbiology of high pressure processing. *Trends in Food Science and Technology* 9(4), 152-158
- Smid, E. J., and Gorris, L. G. M. (1999) Natural antimicrobials for food preservation M.S Rahman (Ed.), *Handbook of Food Preservation*, Marcel Dekker, New York(1999), 285-308
- Sneed, J., Phebus, R., Duncan-Goldsmith, D., Milke, D., Sauer, K., Roberts, K. R., and Johnson, D. (2015) Consumer food handling practices lead to cross-contamination. *Food Protection Trends* 35, 39-48

- Stalikas, C. D., and Konidari, C. N. (2001) Analysis of malondialdehyde in biological matrices by capillary gas chromatography with electron-capture detection and mass spectrometry. *Analytical Biochemistry* 290(1), 108-115
- Stiles, M. E. (1996) Biopreservation by lactic acid bacteria. *Antonie van Leeuwenhoek* 70, 331-345
- Szerman, N., Barrio, Y., Schroeder, B., Martinez, P., Sancho, A. M., Vaudagna, C. S., and Ramón, S. (2011) Effect of high hydrostatic pressure treatments on physicochemical properties, microbial quality and sensory attributes of beef carpaccio. *Procedia Food Science* 1, 854-861
- Varela-Santos, E., Ochoa-Martinez, A., Tabilo-Munizaga, G., Reyes, J. E., Pérez-Won, M., Briones-Labarca, V., and Morales-Castro, J. (2012) Effect of high hydrostatic pressure (HHP) processing on physicochemical properties, bioactive compounds and shelf-life of pomegranate juice. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 13, 13-22
- Vega-Gálvez, A., López, J., Torres-Ossandón, M. J., Galotto, M. J., Puente-Díaz, L., Quispe-Fuentes, I., and Scala, K. (2014) High hydrostatic pressure effect on chemical composition, color, phenolic acids and antioxidant capacity of Cape gooseberry pulp (*Physalis peruviana* L.). *LWT - Food Science and Technology* 58(2), 519-526
- Marler, B. (2015) A history of hamburger E. coli outbreaks. <http://luckypeach.com/a-history-of-hamburger-e-coli-outbreaks/>
- Moss, M. (2009) The Burger That Shattered Her Life. *The New York Times*. <http://www.nytimes.com/2009/10/04/health/04meat.html?pagewanted=all>
- NEWS DESK. (2015) 13.5 Tons of Beef Recalled for Possible E. Coli Contamination. *Food Safety News*. http://www.foodsafetynews.com/2015/07/thirteen-and-a-half-tons-of-beef-recalled-just-ahead-of-4th-of-july/#.WEE39_mLRPY
- NSW government. (2016) Hamburger Food Safety. Department of Primary Industries.
- Park, H., Go, E., Wee, S., Yoon, H., Heo, E., Kim, Y., Lee, H., and Moon, J. (2012) Analysis of Foodborne Pathogenic Contamination of Cooked Hams and Sausages in Korean Processing Facilities, *Korean Journal of Food Science Animal Resources* 32, 103-111.
- WXYZ DETROIT. (2016) US Department of Agriculture. Huisken Meat Company Recalls Beef Products Due To Possible Foreign Matter Contamination. <http://www.wxyz.com/money/consumer/recalls/huisken-meat-company-recalls-beef-products-due-to-possible-foreign-matter-contamination>
- YTN. (2011) 미 칠면조 가공육 회수...살모넬라균 오염, <http://news.zum.com/articles/294073?c=04&sc=30&t=t>
- 뉴질랜드 투데이. (2015) 유명 브랜드 햄, 리스테리아 위험 리콜. <http://www.nztoday.net/news/articleView.html?idxno=2159>
- 벤쿠버 조선. (2006) 일부 칠면조 · 햄 제품 박테리아 오염. http://www.vanchosun.com/news/main/frame.php?main=1&boardId=5&bdId=21740&sbdtype=&cpa gel=1295&search_keywordtype=&search_type=&search_title=&search_typeId=&search_time1=&

search_time3=&search_view=&search_indexof=&search_start=&search_end=&search_terms=&search_sort=

- 식품저널. (2001) 美,리스테리아 감염위험 가공육 리콜.
http://www.hani.co.kr/arti/international/international_general/308010.html#csidx85166b9e8c7242ab6d1f6f01a3b53c7
- 연합뉴스. (1994) 美,소시지 먹고 22명 박테리아감염.
<http://realestate.daum.net/news/detail/all/MD19941210103100535.daum?rMode=list&allComment=T>
- 연합뉴스. (2016) 독일서 치명적 세균 소시지 판매 논란…해당 업체 파산 선언.
<http://www.yonhapnews.co.kr/bulletin/2016/06/15/0200000000AKR20160615195200082.HTML>
- 한국일보. (2010) ‘레스터스’ 가공육제품 리스테리아 오염 리콜.
http://www.koreatimes.net/Kt_Article_new/62364
- 한국일보. (2010) 월마트 가공육 38만파운드 리콜.
<http://ny.koreatimes.com/article/20100825/612682>
- Alahakoon, A., Oey, I., Bremer, P., & Silcock, P. (2018). Optimisation of Sous Vide Processing Parameters for Pulsed Electric Fields Treated Beef Briskets. *Food and Bioprocess Technology*, 11(11), 2055-2066.
- Antoniewski, M. N., Barringer, S., Knipe, C., & Zerby, H. J. *J. o. f. s.* (2007). Effect of a gelatin coating on the shelf life of fresh meat. 72(6), E382-E387.
- Baldwin, D. E. *J. I. J. o. G.*, & Science, F. (2012). Sous vide cooking: A review. 1(1), 15-30.
- Bekhit, A. E.-D. A., Carne, A., van de Ven, R., & Hopkins, D. L. *J. M. s.* (2016). Effect of repeated pulsed electric field treatment on the quality of hot-boned beef loins and topsides. 111, 139-146.
- Caine, W., Aalhus, J., Best, D., Dugan, M., & Jeremiah, L. *J. M. s.* (2003). Relationship of texture profile analysis and Warner-Bratzler shear force with sensory characteristics of beef rib steaks. 64(4), 333-339.
- Dávila, C., Malagón, D., Valero, A., Benítez, R., & Adroher, F. *J. J. E. p.* (2006). Anisakis simplex: CO₂-fixing enzymes and development throughout the in vitro cultivation from third larval stage to adult. 114(1), 10-15.
- Farag, K., Duggan, E., Morgan, D., Cronin, D., & Lyng, J. *J. M. s.* (2009). A comparison of conventional and radio frequency defrosting of lean beef meats: Effects on water binding characteristics. 83(2), 278-284.
- Karsan, A., Maclaren, I., Conn, D., & Wadsworth, L. (1993). An evaluation of hemoglobin determination using sodium lauryl sulfate. *American journal of clinical pathology*, 100(2), 123-126.
- Kim, J. E., Lee, D.-U., & Min, S. C. *J. F. m.* (2014). Microbial decontamination of red pepper powder by cold plasma. 38, 128-136.
- Kim, Y. H. B., Frandsen, M., & Rosenvold, K. *J. M. S.* (2011). Effect of ageing prior to freezing on colour stability of ovine longissimus muscle. 88(3), 332-337.
- Lewis, S., Garvey, B., Manning, R., Sharp, S., & Wardle, J. (1991). Lauryl sulphate haemoglobin: a non-hazardous substitute for HiCN in haemoglobinometry. *Clinical &*

Laboratory Haematology, 13(3), 279-290.

- Loginova, K., Lebovka, N., & Vorobiev, E. (2011). Pulsed electric field assisted aqueous extraction of colorants from red beet. *Journal of Food Engineering*, 106(2), 127-133.
- Magolski, J., Berg, E., Hall, N., Anderson, V., Keller, W., Jeske, T., & Carlin, K. M. J. M. s. (2013). Evaluation of feedlot cattle working chute behavior relative to temperament, tenderness, and postmortem proteolysis. 95(1), 92-97.
- O'Dowd, L. P., Arimi, J. M., Noci, F., Cronin, D. A., & Lyng, J. G. (2013). An assessment of the effect of pulsed electrical fields on tenderness and selected quality attributes of post rigour beef muscle. *Meat science*, 93(2), 303-309.
- O'Dowd, L. P., Arimi, J. M., Noci, F., Cronin, D. A., & Lyng, J. G. J. M. s. (2013). An assessment of the effect of pulsed electrical fields on tenderness and selected quality attributes of post rigour beef muscle. 93(2), 303-309.
- Oshiro, I., Takenaka, T., & Maeda, J. (1982). New method for hemoglobin determination by using sodium lauryl sulfate (SLS). *Clinical biochemistry*, 15(2), 83-88.
- Trout, G. R. J. J. o. F. S. (1989). Variation in myoglobin denaturation and color of cooked beef, pork, and turkey meat as influenced by pH, sodium chloride, sodium tripolyphosphate, and cooking temperature. 54(3), 536-540.
- Yong, H. I., Lee, H., Park, S., Park, J., Choe, W., Jung, S., & Jo, C. (2017). Flexible thin-layer plasma inactivation of bacteria and mold survival in beef jerky packaging and its effects on the meat's physicochemical properties. *Meat science*, 123, 151-156.
- 김수연, & 산업, 민. J. 식. (2017). 항균 가식성 필름/코팅 개발 현황. 50(2), 37-51.