

(옆면)

(앞면)

119028-3

보안 과제( ), 일반 과제( O ) / 공개( O ), 비공개( ) 발간등록번호( O )  
맞춤형혁신식품 및 천연안심소재 기술개발사업  
2021년도 최종보고서

발간등록번호

11-1543000-004023-01

한국형 육제품의 합성아질산염 대체 소재 개발  
및 산업화 2021  
식물성 천연물 및 김치 발효 미생물을 이용한  
농림축산식품부

농림식품기술기획평가원

# 식물성 천연물 및 김치 발효 미생물을 이용한 한국형 육 제품의 합성아질산염 대체 소재 개발 및 산업화

2022년 04월 05일

주관연구기관 / 우진비앤지 주식회사  
협동연구기관 / 경성대학교 산학협력단  
협동연구기관 / 한국식품연구원부설 세계김치연구소

농림축산식품부  
(전문기관)농림식품기술기획평가원

제출문

## 제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

본 보고서를 “식물성 천연물 및 김치 발효 미생물을 이용한 한국형 육제품의 합성아질산염 대체 소재 개발 및 산업화”(개발기간 : 2019. 05. 20 ~ 2021. 12. 31.)과제의 최종보고서로 제출합니다.

2022년 04월 05일

주관연구기관명 : 우진비앤지 주식회사

(대표자) 강석진



협동연구기관명 : 경성대학교 산학협력단

(대표자) 신강원



협동연구기관명 : 한국식품연구원부설 세계김치연구소 (대표자) 장해춘

(인)



주관연구책임자 : 이성호

협동연구책임자 : 정종연

협동연구책임자 : 홍성욱

국가연구개발사업의 관리 등에 관한 규정 제18조에 따라 보고서 열람에 동의합니다.

최종보고서						보안등급			
						일반 [ X ], 보안 [ ]			
중앙행정기관명	농림축산식품부			사업명	미래형 혁신식품기술개발				
전문기관명	농림식품기술기획평가원			내역사업명	맞춤형 혁신식품 개발				
공고번호	농축 2019-24호			연구개발과제번호	119028-3				
기술분류	국가과학기술 프론티어	1순위 LB1704	50%	2순위 LB1602	30%	3순위 Y02	20%		
	농림식품과학기술분류	1순위 PA0103	100%						
연구개발과제명		국문	식품성 천연물 및 김치 발효 미생물을 이용한 한국형 육제품의 합성아질산염 대체 소재 개발 및 산업화						
		영문	Development and industrialization of synthetic nitrite substitutes for meat products using plant based materials and microorganisms from Kimchi						
주관연구개발기관		기관명	우진비엔지 주식회사	사업자등록번호	124-01-14283				
		주소	(우10628)경기도 화성시 양감면 정문송산로 230	법인등록번호					
연구책임자		성명	이성호	직위	이사				
		연락처	직장전화 전자우편	휴대전화	국가연구지번호 1108 0388				
연구개발기간		전체	2019. 05. 20 - 2021. 12. 31 (2년 8개월)						
		1단계	1년차	2019. 05. 20 - 2019. 12. 31 ( 6개월)					
			2년차	2020. 01. 01 - 2020. 12. 31 ( 1년 1개월)					
			3년차	2021. 01. 01 - 2021. 12. 31 ( 1년 1개월)					
연구개발비 (단위: 천원)		정부지원 연구개발비	기관 부담 연구개발비	그 외 기관 협력 자정금 지방자치단체 거액( )				연구발 비회 자정금	
		현금	현금	현물	현금	현물	합계	합계	
총계		588,000	18,900	169,800			584,900	169,800	754,700
1단계	1년차	144,000	4,800	43,200			148,800	43,200	192,000
	2년차	208,000	6,900	61,800			212,900	61,800	274,700
	3년차	218,000	7,200	64,800			223,200	64,800	288,000
연구개발담당자 실무담당자		성명	김종욱		직위	차장			
		연락처	직장전화 전자우편		휴대전화	국가연구지번호 1108 03152			

이 최종보고서에 기재된 내용이 사실임을 확인하여, 만약 사실이 아닌 경우 관련 법령에 따라 제재처분 등의 불이익도 감수하겠습니다.

2022년 04 월 05 일

주관연구책임자: 이성호

주관연구개발기관의 장: 우진비엔지 주식회사

공동연구개발기관의 장: 경성대학교 산학협력단장

공동연구개발기관의 장: 한국식품연구원부설 세계합성연구조합

위탁연구개발기관의 장: 건국대학교 산학협력단장

위탁연구개발기관의 장: 주티모에프 대표이사

농림축산식품부장관·농림식품기술기획평가원장 귀하

## < 요약 문 >

사업명		미래형혁신식품기술개발			총괄연구개발 식별번호		
내역사업명		맞춤형 혁신식품 개발			연구개발과제번호		119028-3
기술 분류	국가과학기술 표준분류	1순위 LB1704	50%	2순위 LB1602	30%	3순위 Y02	20%
	농림식품 과학기술분류	1순위 PA0103	100%				
총괄연구개발명							
연구개발과제명		식물성 천연물 및 김치 발효 미생물을 이용한 한국형 육제품의 합성아질산염 대체 소재 개발 및 산업화					
전체 연구개발기간		2019. 05. 20 - 2021. 12. 31( 2년 8개월)					
총 연구개발비		총 천원 (정부지원연구개발비: 천원, 기관부담연구개발비 : 천원, 지방자치단체: 천원, 그 외 지원금: 천원)					
연구개발단계		기초[ ] 응용[ ] 개발[ ○ ] 기타(위 3가지에 해당되지 않는 경우)[ ]		기술성숙도 (해당 시 기재)		착수시점 기준( ) 종료시점 목표( )	
연구 개발 목표 및 내용	최종 목표		국산 채소류를 이용한 합성 아질산염 대체 소재를 개발함과 동시에 김치 유래의 발효미생물 중 최적의 질산염 환원활성 및 가공조건을 갖는 후보 종균을 선발하여 starter culture 화 및 대량생산 체계를 갖추어 산업화함으로써 한국형 합성아질산염 대체 기술로서 원천 기술을 확보하고 수입대체와 함께 고부가가치를 창출하여 국내 농식품산업의 활성화에 기여하고자 함				
	전체 내용		<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 김치유래 발효미생물의 선발 및 특성 규명.</li> <li>○ 김치 발효미생물의 starter culture 대량생산 체계 구축 및 산업화.</li> <li>○ 선발된 김치 유래 발효미생물의 독성학, 위생학적 안전성 확립.</li> <li>○ 국산 채소류 및 부산물을 이용한 합성 아질산염 대체 소재 개발.</li> <li>○ 국산 채소 소재 및 김치 발효미생물의 합성아질산염 대체 육제품 적용 검토.</li> <li>○ 국산 채소류 및 김치 발효미생물의 상업화를 위한 홍보 및 마케팅 강화.</li> </ul>				
	1차년도	목표	합성아질산염 대체 소재 발효를 위한 김치유래 미생물 발굴 및 국산 채소류를 이용한 합성 아질산염 대체 식품소재 개발				
		내용	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 고효성 질산환원능 김치유래 미생물 발굴 및 안전성 검토</li> <li>○ 선발된 김치 발효미생물의 배양조건 및 특성 조사</li> <li>○ 국산 채소류 및 부산물을 이용한 합성 아질산염 대체 식품소재 탐색</li> </ul>				
	2차년도	목표	종균 산업용 배양, 채소류 농축·분말화 최적조건 확립 및 김치유래 발효미생물을 활용한 합성아질산염 대체 육제품 적용				
내용		<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 합성 아질산염 대체용 채소류 발효특성 조사</li> <li>○ 국산 채소 분말화 최적조건 확립 및 발효미생물 산업용 배양조건 확인</li> <li>○ 선발된 김치유래 발효미생물을 활용한 합성 아질산염 대체 육제품 적용</li> </ul>					
3차년도	목표	국산 채소기반 합성 아질산염 대체 소재 및 김치 발효미생물 starter culture 대량생산체계 구축을 통한 육제품 개발 및 산업화					
	내용	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 선발된 발효미생물의 starter culture화를 통한 대량생산 체계 확립</li> <li>○ 개발된 채소분말과 starter culture를 활용한 육제품 개발</li> <li>○ 합성아질산염 대체소재 대량생산체계 구축 및 개발제품의 경제성 분석 및 홍보방안 마련</li> </ul>					



## < 요약 문 >

연구개발성과	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 국산 채소류를 이용한 식물성 천연 합성아질산염 대체 소재 개발 및 산업화             <ul style="list-style-type: none"> <li>- 질산염이온 함량(30,000 mg/kg 이상), 아질산이온 함량(20,000 mg/kg 이상) 목표로 농축분말화 및 표준화</li> <li>- 국산 천연 합성아질산염 대체 분말 적용 육제품 개발</li> </ul> </li> <li>○ 김치 유래 발효미생물의 starter culture화를 위한 대량생산 체계 구축             <ul style="list-style-type: none"> <li>- 아질산염 존재하에서 생존, 생육온도 10℃~40℃, 지방 및 단백질 분해효소 생성 없고, 질산환원 효소활성 높은 발효균을 종균으로 선발</li> <li>- 선발된 김치 발효미생물의 안전성 확보 및 starter culture화를 통한 생물자원 확보 및 대량생산</li> </ul> </li> <li>○ 식물성 천연 합성 아질산염 대체 소재 및 김치 유래 발효미생물의 starter culture화를 토대로 제품화 추진 및 육제품에서의 한국형 합성아질산염 대체 원천기술 확보</li> <li>○ 연구성과에 대한 논문(SCI급), 특허출원 및 등록, 학술대회발표 등 지식성과 창출</li> <li>○ 개발기술에 대한 기술이전, 제품화, 고용창출과 함께 고가의 외국산 제품에 대한 수입대체효과 및 국내 외 시장 진출을 통한 매출 극대화</li> </ul>												
연구개발성과 활용계획 및 기대 효과	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 기술적 측면             <ul style="list-style-type: none"> <li>- 국산 채소 유래 합성아질산염 대체 천연 신소재화 기술 확보</li> <li>- 김치 유래 발효미생물의 starter culture 대량생산기술에 대한 지적재산권 확보 및 응용범위 확대</li> </ul> </li> <li>○ 경제적·산업적 측면             <ul style="list-style-type: none"> <li>- 고가의 수입산 채소 분말에 대한 원료 수입대체 효과 및 수출 상품화</li> <li>- 기존 다국적 기업의 발효소시지용 starter culture에 대응하는 한국형 김치 발효미생물의 starter culture 발굴 및 고부가가치화를 통한 매출 극대화</li> </ul> </li> <li>○ 사회적 측면             <ul style="list-style-type: none"> <li>- 한국인이 주로 섭취하는 채소의 분말화로 기호성이 우수한 소재 발굴 및 기술 범용성 확대</li> <li>- 한국형 starter culture를 이용한 합성아질산염 대체공법의 브랜드화 및 대체시장 확대</li> </ul> </li> </ul>												
연구개발성과의 비공개여부 및 사유													
연구개발성과의 등록·기탁 건수	논문	특허	보고서 원문	연구 시설 ·장비	기술 요약 정보	소프트 웨어	표준	생명자원		화합물	신품종		
	8	8						1	2		정보	실물	
연구시설·장비 종합정보시스템 등 등록 현황	구입 기관	연구시설 ·장비명	규격 (모델명)	수량	구입 연월일	구입가격 (천원)	구입처 (전화)	비고 (설치장소)	ZEUS 등록번호				
국문핵심어 (5개 이내)	합성 아질산염 대체		천연 소재		김치		대량 생산 체계		질산환원효소				
영문핵심어 (5개 이내)	Synthetic nitrite replacement		Natural ingredients		Kimchi		mass production system		Nitrate reductase				

## < 목 차 >

1. 연구개발과제의 개요.....	6
2. 연구개발과제의 수행 과정 및 수행내용.....	13
3. 연구개발과제의 수행 결과 및 목표 달성 정도.....	174
4. 목표 미달 시 원인분석.....	183
5. 연구개발성과 및 관련 분야에 대한 기여 정도.....	184
6. 연구개발성과의 관리 및 활용 계획.....	185

별첨 자료

# 1. 연구개발과제의 개요

## 1-1. 연구개발의 필요성 및 중요성

### 가. 연구개발 필요성

#### 1) 합성 아질산염 대체 소재의 국산화 필요성

- 국내 시판중인 육제품 중 합성 아질산염 무첨가 제품들은 질산이온이 다량 함유된 채소 분말 및 발효유산균을 첨가하여 제조함.
- 이러한 채소분말은 대략 5~6만 원/kg, 발효유산균은 50~60만 원/kg 상당으로 대부분 수입에 의존하여 사용하고 있음.
- 국내 최대 식품 대기업인 CJ 제일제당은 육가공품 매출 중 'The(더) 건강한햄' 브랜드 (합성아질산염 무첨가 제품)를 통해 2018 년 1,000억 원의 매출실적을 달성함.
- 앞으로도 자연친화적, 친환경적 식품에 대한 소비자들의 요구와 소비 비중은 커질 것으로 전망됨.
- 국내 업체에서 사용하는 수입산 샐러리, 비트 등 채소들은 특유의 향이 강할 뿐만 아니라 국내 소비자들에게는 익숙하지 않은 이질적인 풍미로 인식되어 기호성이 저하됨.
- 이러한 값비싼 수입 채소분말 및 발효유산균은 모두 외국의 다국적 기업으로 부터 공급 되는 것으로 국산화가 절실히 요구됨.
- 새로운 합성아질산염 대체 방법으로서 국산 채소 및 전통 식품인 김치 유산균의 활용은 독창적이고 매우 효과 있는 성공적인 신기술 모델이 될 수 있음

#### 2) 국산 채소 및 미생물 발효균의 표준화 기술개발

- 한국인이 주로 섭취하는 채소 등의 분말화로 기호성이 우수한 소재를 발굴할 필요가 있음.
- 그러나 채소 중 존재하는 질산염의 함량은 산지, 계절, 수확시기, 품종, 시비 방법에 따라 차이가 있음.
- 채소분말을 국산화하기 위해서는 국내 채소의 다양한 재배조건에 따른 질산염 함량을 분석하고 이를 토대로 표준화할 필요가 있음.
- 또한 김치에 존재하는 질산환원효소를 갖는 한국형 발효미생물 균주에 대한 생육조건 및 활성을 검토하여 육제품 제조시 원활한 현장적용이 가능한 후보 균주들을 선별할 필요가 있음.
- 따라서 본 위탁과제에서는 선별된 후보 균주들의 미생물학적 안전성을 평가하여 인체 위해성이 없는 발효미생물 최종 선정의 자료로 활용하고, 최종적으로 분말화 및 표준화 기술을 개발함에 있어서 안전성 자료로 활용함에 있음.

#### 3) 김치 유래 발효균 대량생산 및 상업화

- 김치는 배, 무 등 질산염이 풍부한 채소를 주원료로 제조되며, 숙성이 진행됨에 따라 자체적으로 아질산염 함량이 증가함.
- 이러한 기작은 김치의 숙성에 관여하는 미생물 중 질산염을 아질산염으로 전환시키는 nitrate reductase를 갖는 균주가 존재한다는 사실을 반증함.
- 외국 기업에서 수입되는 배양 미생물인 *Staphylococcus xylosus*, *Staphylococcus carnosus*는 본래 생햄이나 살라미와 같은 발효 건조 육제품 생산용임.
- 또한 외국에서 기술개발이 이루어졌기 때문에 순수 국내 독자기술을 개발하여 새로운 원천기술을 확보할 필요가 있음.
- 한국의 대표적 전통 발효식품인 김치로부터 아질산염 대체공법에 최적화된 발효미생물

- 을 발굴하고 starter culture로서 대량생산 기술을 확립할 필요가 있음.
- 제품 산업화를 위해 보조제 및 부자재 탐색과 함께 제형화 연구가 필요함.
- 생물 다양성에 관한 협약(나고야의정서 발효, 2014년)으로 인해 국가 간 생물자원 확보경쟁이 치열할 것으로 예상됨에 따라 가능성이 우수한 유용 발효미생물을 선점하여 생물자원주권의 확보를 위해 전략적이고 혁신적인 대책이 수립되고 있는 실정임.
- 우리나라에서도 전통 발효미생물 자원 발굴을 통한 발효 종균의 개발과 유전자원 관련 데이터베이스 구축을 통해 전통지식을 보호할 가치가 있음.
- 기능성 미생물의 유전체 분석정보를 통해 미생물이 생산하는 물질의 발현이 예측 가능하며, 전체적인 유전자 지도를 확보할 수 있음.
- 현재 세계바이오시장에서 미생물이 차지하는 규모는 약 30% 정도로 미생물은 고부가가치 경제적 이윤 창출이 가능한 생물 소재로 점차 관심이 높아지고 있으며, 미생물의 산업적인 활용가치는 높게 평가되고 있음.
- 미생물 유전체의 변화를 빠르고 정확하게 검출할 수 있는 차세대 염기서열 분석기술(NGS, next generation sequencing technology)은 미생물기반 발효식품과 천연소재를 이용하고자 하는 소비자들의 안전성 요구를 충족시키는 최적의 방안이 될 수 있고 대량 생산을 위한 발효환경에서의 부적응과 종균의 문제점을 확인할 수 있다는 장점이 있음.

#### 4) 고가의 외국산 합성 아질산염 대체 채소분말과 발효미생물 수입대체 및 시장 파급효과

- 외국산 채소분말(약 5~6만 원/kg), 질산염 환원 발효균(약 50~60만 원/kg)에 대한 막대한 수입대체 효과가 예상됨.
- CJ 제일제당 냉장햄 제품 중 합성 아질산염 대체기술 적용 제품인 'The 건강한햄 시리즈' 2018년 매출액 1,000억 기준 채소분말은 25억 원(0.3% 첨가 기준), 질산염 환원 발효균은 25억 원(0.03% 첨가 기준)의 수입대체 효과를 보일 것으로 판단되며, 2022년 매출 예상액인 3,000억 원 기준으로도 각각 75억 원씩 총 150억 원의 수입대체 효과를 예측할 수 있음.
- 세계 육가공품 시장 규모는 2017년 8,010억 달러에서 지속적으로 성장하여 2021년 1조 595억 달러에 이를 전망임(Technavio.com). 2017년~2021년 연평균 성장률은 7.12%로 예상됨. 이에 따라 2017년 채소분말(0.3% 첨가 기준)과 질산염 환원 발효균(0.03% 첨가 기준)은 각각 6억 75만 달러(한화 약 6,752억 원), 총 1조 3,504억 원으로 추산됨
- 따라서 세계 육가공품 중 합성 아질산염 대체 원천기술 확보에 따른 상용화와 더불어 세계시장에 대한 수출 증대 효과를 기대할 수 있음.
- 특히, 합성아질산염을 대체하여 천연 식물성 분말 소재는 한국산 채소뿐만 아니라 많은 양의 폐기되는 채소부산물(2013년 기준 45,169톤 폐기)을 유용 자원화 하여 상용화시 경제적 파급효과가 매우 클 것임.

### 1-2. 연구개발 대상의 국내·외 현황

#### 가. 국내 기술 수준 및 시장 현황

##### 1) 기술현황

- 아질산염의 기능은 특유의 염지육색과 풍미를 부여하며 식중독 유발균인 *Clostridium botulinum*의 생육을 억제하며 육색소의 구성성분인 철이온에 대한 산화방지 효과가 있음.



- 특히 육제품 특유의 pink color 형성과 맹독성 신경가스를 발생시키는 *Clostridium botulinum*의 억제에 절대적인 영향.
- 아질산염은 육제품에서 우수한 기능을 가지고 있으나 상업적으로 사용되는 '합성 아질산염'은 화학적으로 합성된 것이기 때문에 소비자들은 합성 아질산염의 첨가를 부정적인 인식이 있음.
- 현대 소비자들의 건강 지향적 소비패턴과 합성 첨가물에 대한 부정적 인식과 더불어 이를 대체시키기 위한 연구가 활발히 진행 중임.
- 이러한 문제들을 인식하여 합성아질산염을 대체하기 위해 아질산염이 육제품에 부여하는 각각의 기능을 다른 소재로 대체하는 직접적인 대체기술과 질산염이 많이 함유된 채소를 원료로 하여 질산환원효소가 있는 미생물을 배양시켜 아질산염으로 전환한 것을 사용하는 간접적인 대체기술이 시도되어 왔음.
- 특히 간접적인 아질산염 대체기술은 국내외적으로 실제 상업화된 육제품 생산에 적용되어 대중화된 방식임.
- 일부 연구에서는 합성 아질산염의 염지 육색 발현을 대체하기 위한 방법으로 토마토, 백년초, 비트 분말과 같은 적색의 천연원료들을 이용하는 기술을 시도하였지만, 이러한 방법은 착색에 불과한 1차원 적인 기술로서 한계가 있으며, 육제품 열처리 가열공정 중 붉은 육즙이 용출되는 문제가 있음.
- 한국의 전통식품인 김치는 주재료인 배추, 무 등 채소와 함께 젓갈류가 함유되어 질산염이 풍부한 채소가 주원료임.
- 김치는 숙성이 진행됨과 동시에 아질산염 함량이 증가되는데, 질산염이 아질산염으로 전환되는 중요한 인자는 온도, 시간, 질산 환원균의 활성도 등이 있음.
- 그러므로 질산염을 아질산염으로 환원시키는 효소 갖는 미생물(nitrate reductase containing bacteria)을 선정하고, 1~2% 염농도 및 아질산염 존재하에서 생육이 가능하고 저온조건에서 활성을 갖는 발효미생물을 선발하여 합성 아질산염 무첨가 육제품 제조를 위한 starter culture로 발굴하여 한국형으로 산업화할 필요가 있음.

## 2) 지식재산권현황

- 한국 특허청의 출원건을 기준으로 육제품 합성아질산염 대체 기술개발 분야의 연도별 특허동향을 살펴보면, 90년대 중반부터 해당 분야의 특허출원이 시작되어 증감을 반복하다가 2000년대 중반에 급증하였으나, 이후 감소하여 증감이 반복되고 있는 것으로 나타남.
- 본 제안기술인 '김치 유산균을 활용한 한국형 육제품 합성아질산염 대체 기술'에 대한 특허출원은 아직 전무한 것으로 판단됨.
- 국내 육제품 중 합성아질산염 대체 기술 분야의 국가별/출원인 국적별 특허출원동향을 살펴보면, 내국인의 점유율은 90%로 나타나 내국인에 의한 활동이 압도적임을 알 수 있음.
- 국내에서 내국인의 출원이 강세를 나타내는 것은 초기 우리나라 국민의 주된 식생활이 서구화되지 않아 외국인의 진입이 어려운 점이 반영된 것으로 판단됨.
- 외국인 중에서는 미국 출원인의 활동이 강세(75%)이며, 그 뒤를 이어 일본 출원인이 25% 차지하여 있음. 이는 육제품을 주식으로 삼고 있는 국가일수록 당 분야의 특허출원율이 높은 것으로 판단됨.
- 전체적인 출원의 흐름이 내국인에 의해 주도되며, 외국인의 출원은 그에 영향을 끼치지 못할 정도로 미미함.

- 아질산염의 식품 특히 육류 가공시 사용을 줄이거나 사용치 않는 연구들이 지속되고 있으며 현재 유지되는 관련 특허는 아질산염 대체부분 보다는 체내·외의 아질산염을 측정하는 방법에 대한 특허가 주를 이루고 있음.
- 특히 천연 아질산염을 사용하는 방법으로 시금치 분말과 락토바실러스 파르시미니스를 첨가하여 발효시킨 산물을 이용하여 천연 아질산염을 만들어내는 방법에 관한 특허(대한민국 특허 제101873988호)가 본 연구개발과는 가장 유사한 연구 특허로 조사되었음.
- 이외에 해조류나 야채 등에서 추출한 성분들을 이용해 질산염을 환원시켜 특정 식품에 첨가하는 방법 등이 조사되었으나 염지방법, 훈연 등의 방법에 대한 고찰이고 실질적으로 국산 채소 및 김치 유래 발효미생물을 이용한 합성아질산염 대체에 관한 선행연구는 없는 실정임.
- 전반적으로 국내 출원인들이 1~3건의 특허출원을 하고 있는 것으로 보아, 독보적으로 기술개발을 주도하는 출원인은 없으며, 당 분야의 기술 개발단계는 성장기인 것으로 판단됨.
- 그 중에서 다출원인인 한국식품연구원은 질산염이 다량 함유된 국내 채소류(시금치)와 질산염 환원균을 이용한 합성 아질산염을 사용하지 않는 육제품 제조 기술에 대해 특허출원을 한 것으로 나타남.

## 나. 국외 기술 수준 및 시장 현황

### 1) 기술현황

- 아질산염의 사용이 법적으로 규제되기 시작한 것은 1925년부터 이지만(Shahidi and Pegg, 1992), 오늘날까지 염지육 풍미 등과 같이 아질산염의 독특한 특성을 갖도록 하는 대체제는 발견되지 않았음.
- 육가공 제품에서 아질산염의 사용을 배제하거나 대체하기 위한 방법은 크게 직접적 대체방법 및 간접적 대체방법으로 구분됨.
- 직접적인 대체방법의 또 다른 시도로서 아질산염의 발색에 관련하여 나이트로실화 헴 색소(nitrosylated heme pigment)의 이용성에 대해서도 조사되었음. 소위 가열 염지육색소(cooked cured-meat pigment, CCMP)를 화학적으로 합성된 형태로 아질산염을 대체하여 아질산염이 첨가된 제품과 유사한 색도와 외관을 갖도록 한 것이지만, 이 또한 화학적 합성품을 이용한 것이므로 대중화되지 못함.
- 간접적인 대체방법은 염지 가공공정에서 질산염 및 아질산염의 일부 또는 전부를 제거하는 대신 다른 공급원(예, 농축 채소분말)으로부터 질산염 및 아질산염을 대체하는 간접적인 방식으로 현재 육가공 산업에서 국내외적으로 상업화되어 있는 방식임.
- 간접적인 대체방법에서 중요한 요소는 질산 환원균인데, 질산염은 반응성이 없는 화합물이기 때문에 질산염 환원균을 이용하여 반응성있는 아질산염으로 전환되도록 하여야 일반적인 염지반응이 일어날 수 있기 때문임.
- 발효소시지에 사용하는 전형적인 유산균 starter culture(*Lactobacillus plantarum*, *Pediococcus acidilactici*)는 질산염을 아질산염으로 환원할 수 없으나, *Kocuria varians*, *Staphylococcus xylosum*, *Staphylococcus carnosus* 등과 같은 질산환원효소를 갖고 있는 배양균들이 질산염을 아질산 상태로 환원시킴(Sindelar and Houser, 2009).

- 간접적인 아질산염 대체방법을 적용하기에 앞서 검토해야할 중요한 사항은 채소분말의 사용량에 따른 소비자 기호성 검토임. 상업적으로 판매중인 채소분말은 대부분 표준화된 질산함량(약 30,000 ppm)을 갖고 있기 때문에 소량을 사용하게 되더라도, 본래의 식물 원료에서 기인된 냄새가 육제품에서는 이취로 받아들여질 수도 있기 때문에 과도하게 첨가하게 되면 관능적 품질 저하를 초래하게 되므로 적절한 첨가량과 함께 잔류 아질산이온 농도를 병행하여 고려해야 함.

## 2) 지식재산권현황

- 주요 3개국(일본, 미국, 유럽) 특허청 출원건을 기준으로 육제품 합성아질산염 대체 기술 분야의 연도별 특허동향을 살펴보면 일본을 제외한 나머지 미국과 유럽은 70년대부터 제안 기술분야와 관련된 특허출원이 시작되어 현재까지 증감을 반복하는 추세임. 그러나 전체적으로 출원건수가 적어 추세를 파악하기에는 다소 부족한 점이 있음.
- 본 제안기술인 ‘김치 유산균을 활용한 한국형 육제품 합성아질산염 대체 기술’에 대한 특허출원은 아직 전무한 것으로 판단됨.
- 국외에서도 천연 아질산염을 사용하는 방법으로 듀퐁, 대니스코 등의 기업에서 질산염과 스태필로코커스 중 특히 비틀리누스를 이용하여 고기 내에서 아질산염 발효물을 생성하는 방법으로 천연 아질산염을 대체하는 특허가 본 연구개발과 유사한 특허로 조사됨(PCT/IB2008/055672, PCT/EP2015/055682).
- 또한 대체로 국내와 비슷하게 육류 가공 시 아질산염을 많이 함유한 채소분말을 처리하거나 거기에 스태필로코커스와 같은 질소환원균을 추가적으로 처리하여 합성아질산염을 대체하고 있음.
- 육제품 합성아질산염 대체 기술개발 분야의 국가별/출원인 국적별 특허출원동향을 살펴보면, 일본 22%, 미국 58%, 유럽 20%로 미국이 특허출원을 주도하고 있는 것으로 나타남.
- 일본을 제외한 나머지 미국, 유럽에서 내국인의 점유율이 각각 74%, 60%로 나타나 외국인보다 내국인에 의한 특허활동이 활발한 것으로 나타남.
- 전반적으로 본 제안 기술분야에서 각국 상위 출원인들의 특허출원량은 많지 않은 것으로 나타났으며, 미국과 유럽의 경우 햄, 소시지 등 가공육 제품 생산이 활발한 국가이나, 합성 아질산염을 대체하는 기술은 아직 초기 단계인 것으로 판단됨.

### 1-3. 연구개발 최종 목표

## 최종목표 **식물성 천연물 및 김치 발효 미생물을 이용한 한국형 합성 아질산염 대체 소재 개발 및 산업화**

- 김치유래 발효미생물의 선발 및 특성 규명
- 김치 발효미생물의 starter culture 대량생산 체계 구축 및 산업화
- 선발된 김치 유래 발효미생물의 독성학, 위생학적 안전성 확립
- 국산 채소류 및 부산물을 이용한 합성 아질산염 대체 소재 개발
- 국산 채소 소재 및 김치 발효미생물의 합성아질산염 대체 육제품 적용 검토
- 국산 채소류 및 김치 발효미생물의 상업화를 위한 홍보 및 마케팅 강화

### 연차별 목표

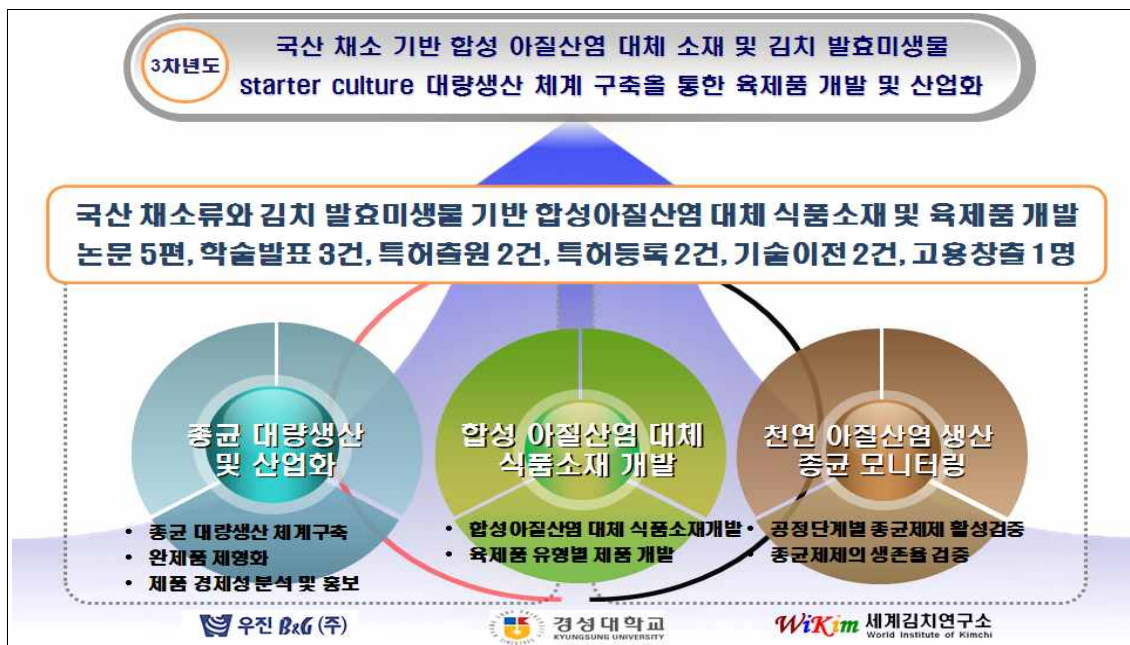
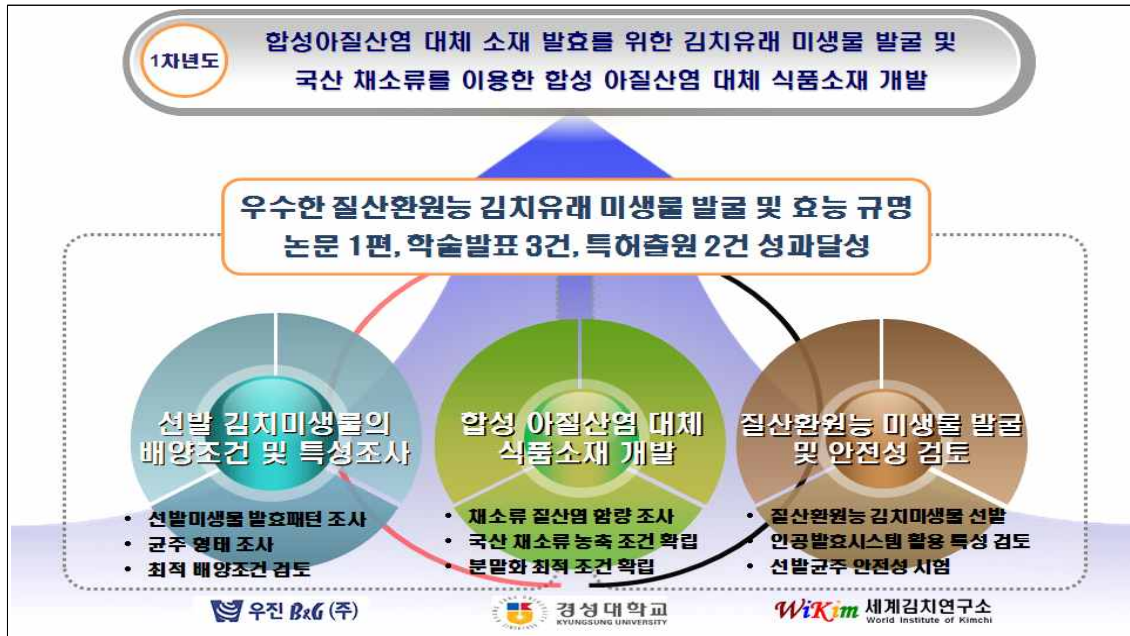
- 1차년도: 합성아질산염 대체 소재 발효를 위한 김치유래 미생물 발굴 및 국산 채소류를 이용한 합성 아질산염 대체 식품소재 개발**
  - 고효성 질산환원능 김치유래 미생물 발굴 및 안전성 검토
  - 선발된 김치 발효미생물의 배양조건 및 특성 조사
  - 국산 채소류 및 부산물을 이용한 합성 아질산염 대체 식품소재 탐색
- 2차년도: 종균 산업용 배양 채소류 농축·분말화 최적조건 확립 및 김치 유래 발효미생물을 활용한 합성아질산염 대체 육제품 적용**
  - 합성 아질산염 대체용 채소류 발효특성 조사
  - 국산 채소 분말화 최적조건 확립 및 발효미생물 산업용 배양조건 확인
  - 선발된 김치 유래 발효미생물을 활용한 합성 아질산염 대체 육제품 적용
- 3차년도: 국산 채소 기반 합성 아질산염 대체 소재 및 김치 발효미생물 starter culture 대량생산 체계 구축을 통한 육제품 개발 및 산업화**
  - 선발된 발효미생물의 Starter culture화를 통한 대량생산체계 확립
  - 개발된 채소분말과 starter culture를 활용한 육제품 개발
  - 합성아질산염 대체 소재 대량생산체계 구축 및 개발제품의 경제성 분석 및 홍보 방안 마련

### 우수역량보유

우진B&G(주) (주관)	경성대학교 (제1협동)	세계김치연구소 (제2협동)	(주)티오에프 (제1위탁)	건국대학교 (제2위탁)
<ul style="list-style-type: none"> <li>• 백신 등 동물약품 생산</li> <li>• 미생물발효 및 제형화 설비 등 인프라 보유</li> <li>• 부설 연구소 등 전문연구인력 확보</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• CJ제일제당 육가공품 개발실적 보유</li> <li>• 육제품의 아질산염 및 육색소화 학 분야 다수 SCI 논문발표</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 김치 발효 균주 관련 기반기술 보유</li> <li>• 김치 관련 우수한 연구개발 역량 및 인적자원 확보</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 식품첨가물 생산 및 유통업체</li> <li>• 천연물 분말화 기반 인프라(시설, 설비) 확보</li> <li>• 국내외 유통망 확보</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 미생물 특성 및 안전성 관련 연구실적 보유</li> <li>• 육가공 pilot 설비 확보</li> <li>• 다수의 우수한 연구인력 확보</li> </ul>



1-4. 연차별 연구개발 로드맵



## 2. 연구개발과제의 수행 과정 및 수행 내용

### 2-1. 김치유래 발효미생물의 선발 및 특성 규명

세부 연구개발 목표	세부 연구개발 내용 및 범위	연구비(천원)	연구개발기관
<ul style="list-style-type: none"> <li>고활성 질산환원능 김치 유래 미생물 발굴</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>아질산염 내성 김치미생물 선발 및 선발미생물의 동정</li> <li>우수한 질산환원능 김치유래 미생물 선발</li> <li>선발미생물의 기능성 검증</li> <li>내산성/내담즙성/내열성 검사</li> <li>인공 발효시스템 활용 선발미생물의 생육특성 검토</li> </ul>	79,000	세계김치연구소 건국대학교
<ul style="list-style-type: none"> <li>합성아질산염 대체용 채소류 발효특성 조사</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>선발미생물 발효 최적조건 조사</li> <li>미생물 유래 질산환원 효소활성 및 특성조사</li> <li>선정한 천연아질산염 생산용 미생물 자원의 전체 유전체 정보서열 확보</li> </ul>	86,000	세계김치연구소
<ul style="list-style-type: none"> <li>천연 아질산염 생산용 김치유래 발효미생물의 종균 특성 검토</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Pilot scale 생산공정 조건 및 공정단계별 종균 제제 유래 질산환원 효소활성 검증 및 모니터링 조사</li> <li>고농도 배양조건시 종균제제의 생존을 검증</li> </ul>	52,000	세계김치연구소

### 선발된 김치 발효미생물(협동기관 : 세계김치연구소)의 배양조건 및 특성 조사

#### [세부 연구개발 목표 1] 고활성 질산환원능 김치유래 미생물 발굴

##### 가. 연구수행 방법

##### 1) 아질산염 내성 보유균주 분리 및 배양

- 본 실험에 사용한 미생물은 배추김치, 시금치김치, 갓김치, 순무김치, 총각김치, 깍두기 등을 수집하여 10 g을 채취하여 멸균 생리식염수로 십진희석한 후, 아질산염(200ppm)을 첨가한 MRS agar(BD Difco.) 배지에 도말하여 30℃에서 48시간 동안 배양함.

##### 2) 아질산염 생성능 우수균주 선발

- 다양한 김치에서 분리한 아질산염 내성 보유균주는 200 ppm 질산염( $\text{NaNO}_3$ )이 첨가된 MRS 액체배지에 0.5%(v/v) 각각 접종한 후, 30℃에서 48시간 동안 배양함. 배양액은 원심분리(8,000×g, 20min, 4℃)하여 배양상등액내 아질산염 농도를 아질산염 측정기(Nitrite meter)로 측정하였음. 선발한 미생물을 BBL-indole nitrate medium에서 25℃에서 36시간 동안 배양한 후, 배양액내 nitrite oxide 농도를 Griess` reagent kit(Promega Co.)을 이용하여 spectrophotometer(548 nm)에서 흡광도를 측정하여 생성능이 우수한 균주를 최종 선발함.

##### 3) 미생물의 동정

- 분리 선발한 김치유래 미생물의 동정은 Gram 염색과 현미경 관찰을 통해 형태학적 특성을 조사함. 생화학적 동정방법으로 API 50 CHL kit(bioMerieux Co., France)를 이용하여 49 개의 탄소원에 대한 당 이용성을 조사하였고 이 결과를 API 50 CHL database V3.0 (<http://apiweb.biomerieux.com>)를 통해 잠정적으로 동정함. 보다 더 정확한 동정을 위하여 16S ribosomal DNA gene sequencing 분석을 통하여 동정함. 선발균주의 chromosomal DNA를 분리한 다음 16S rDNA sequencing에 일반

적으로 사용하는 27F(5'-AGAGTTTGAT CATGGCTCAG-3')와 1492R(5'-GGATACCTTGTTACGAC TT-3') primer를 사용하여 94℃에서 1분간 denaturation, 51℃에서 1분간 annealing, 72℃에서 1분 30초 동안 polymerization 을 시키는 조건에서 PCR(Minicycler™, MJ research Inc., Waltham, MA, USA)로 증폭함. 증폭된 약 1400 bp의 fragment를 T vector(Invitrogen, Carlsbad, CA, USA)에 결합시킨 후 형질전환함. T vector sequencing primer를 이용하여 염기서열 결정을 수행하였으며 그 결과는 BLAST search(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) program을 이용하여 GENBANK(NCBI, Bethesda, MD, USA)의 ribosomal DNA gene sequencing과 비교하여 동정함.

#### 4) 선발된 김치유래 발효미생물의 기능성 검증

- 김치로부터 분리선발한 발효미생물의 단백질 분해활성은 2% skim milk agar 고체배지에 배양한 발효미생물의 배양액 10  $\mu$ l를 적가하여 30℃에서 48시간 동안 배양한 후, 콜로니 주변이 투명하게 분해된 환 형성 유무를 확인함.
- 항균활성 피검균주로 식중독 유발균인 *Clostridium perfringens*는 한국농업미생물자원센터(KACC)에서 분양받았으며, Reinforced clostridial 배지(Difco)를 사용하였고, 해당 배지에서 30℃에서 48시간 동안 배양함. 아질산염 생성능 우수 균주의 항균활성 측정을 위해 agar well diffusion method 방법을 사용함. *C. perfringens* 피검균주를 0.5%(v/v) 접종한 중층도말 고체 평판배지에 직경 8 mm의 well을 뚫고 well에 배양상등액을 100  $\mu$ l씩 분주함. 30℃에서 48시간 동안 배양한 후, well 주변으로 생성된 투명 환의 형성유무를 관찰함.
- 선발 균주의 내염성을 측정하기 위해 MRS broth에 NaCl을 각각 1~15%의 농도로 첨가 후 멸균하여 사용하였고, 내산성을 측정하기 위해 MRS broth에 HCl 용액을 이용해 pH 2.0, 2.5, 3.0, 3.5, 4.0, 4.5, 5.0, 5.5, 6.0 으로 조정된 배지를 제조하여 실험에 사용함.

#### 5) 김치유래 발효미생물의 내산성, 내담즙성, 내열성 검사

- 선발된 균주의 내산성을 측정하기 위해 기본배지(Lactobacilli MRS Agar, Tryptic Soy agar)의 pH를 2.5로 조절하여 균을 접종 하였으며 30℃에서 6시간 동안 배양 후 생육도를 측정함. 내담즙성을 측정하기 위해 기본배지(Lactobacilli MRS Agar, Tryptic Soy agar)에 0.3% oxgall을 첨가하여 균을 접종 하였으며 30℃에서 12시간 동안 배양 후 생육도를 측정함. 내열성을 측정하기 위해 기본배지(Lactobacilli MRS Agar, Tryptic Soy agar)에 균을 접종 하여 40, 50, 60℃에서 2시간 동안 배양 후 생육도를 측정함.

#### 6) 인공발효시스템 활용 선발미생물의 생육특성 검토

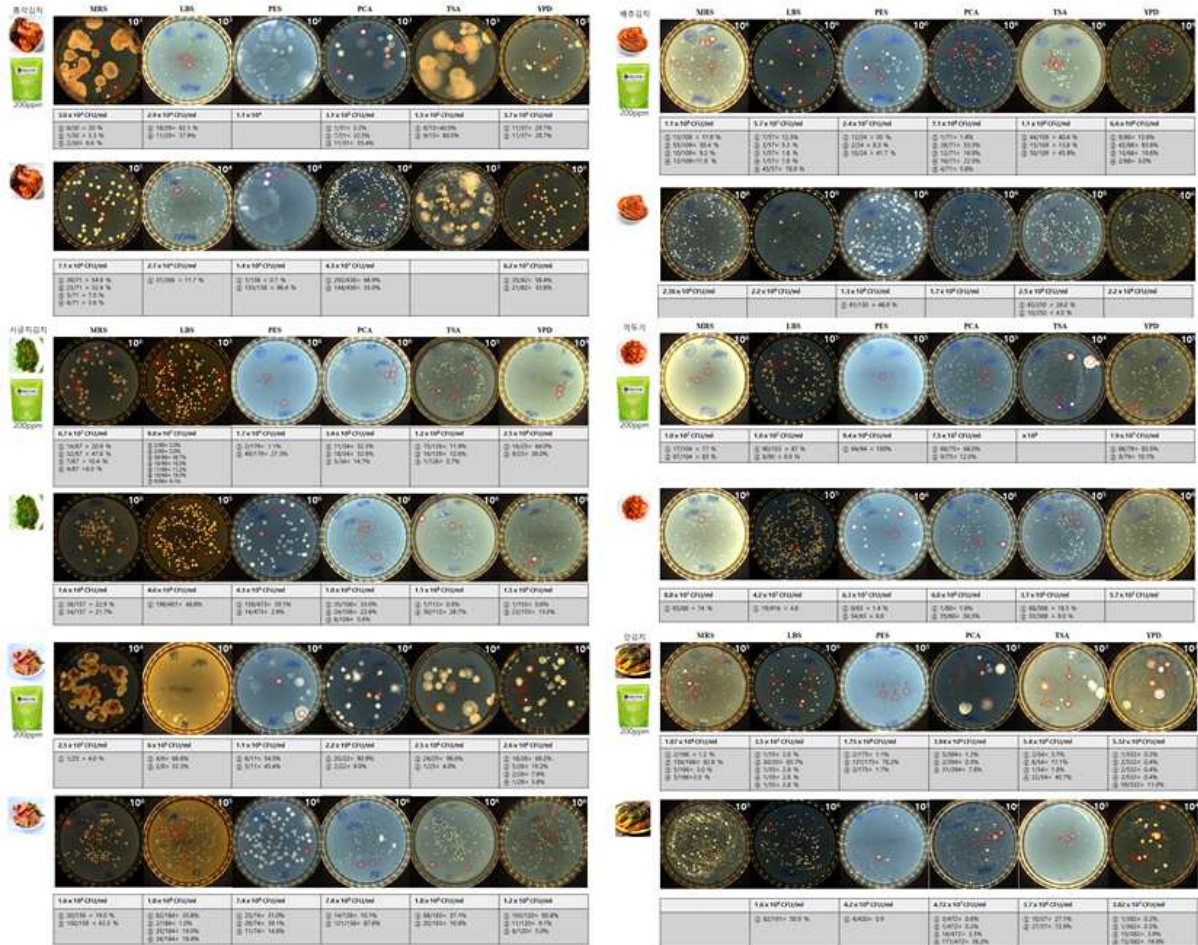
- 인공 발효시스템 MARADO-PDA(Bio CnS, Korea)을 이용하여 육제품 조성과의 유사한 PB medium에서 30℃에서 48시간 동안 배양하여 선발균주의 생육곡선은 spectrophotometer(600nm)를 이용하여 optical density를 측정하였고, 질산염과 아질산염의 감소 및 생성능은 질산염 측정기(Nitrate meter)와 아질산염 측정기(Nitrite meter)로 측정함.



나. 연구수행 내용 및 결과

1) 아질산염 내성 김치유래 발효미생물 분리 및 우수한 질산환원능 김치미생물 선발

- 질산염 함량이 많은 채소유래 김치인 배추김치, 시금치김치, 갯김치, 순무김치, 총각김치, 깍두기 등 김치 종류별(6 종)로부터 아질산염(200 ppm) 내성을 가진 *Leuconostoc*, *Weissella*, *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Staphylococcus* 속 1,000 종을 분리함.

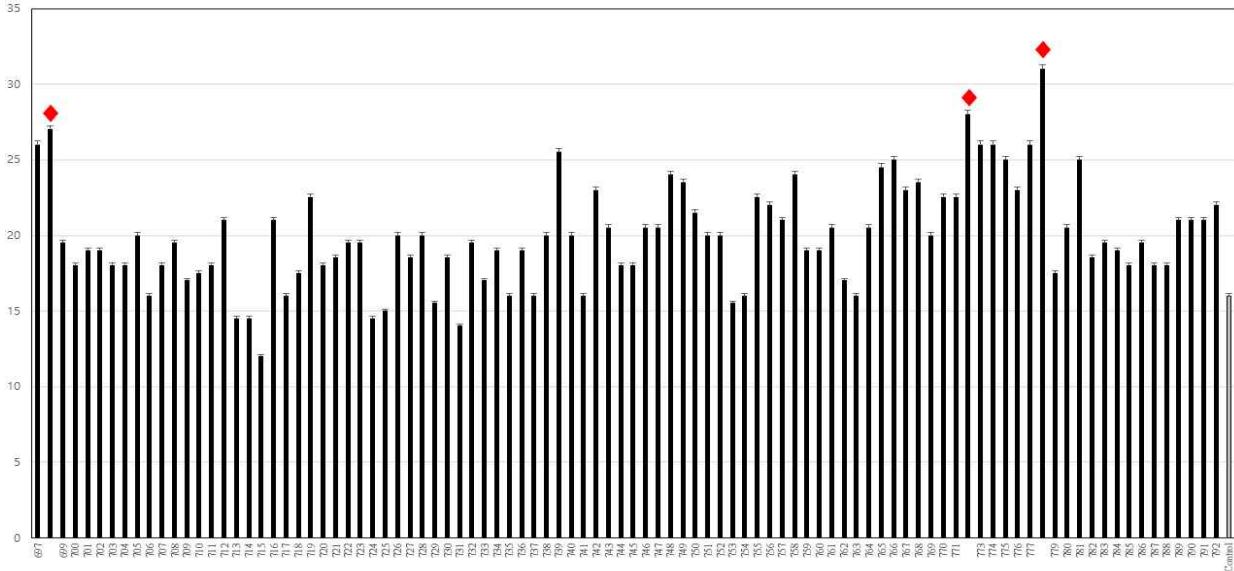


<그림 1> 아질산염 내성 김치유래 발효미생물 분리

- 분리한 1,000종의 김치유래 발효미생물 배양액내 nitrate 및 nitrite 측정을 통한 1차 및 2차 스크리닝을 통해 천연 아질산염(NO<sub>2</sub><sup>-</sup>) 생성이 우수한 김치유래 발효미생물 2종 (WiKim0112, WiKim0113)을 최종 선발함.



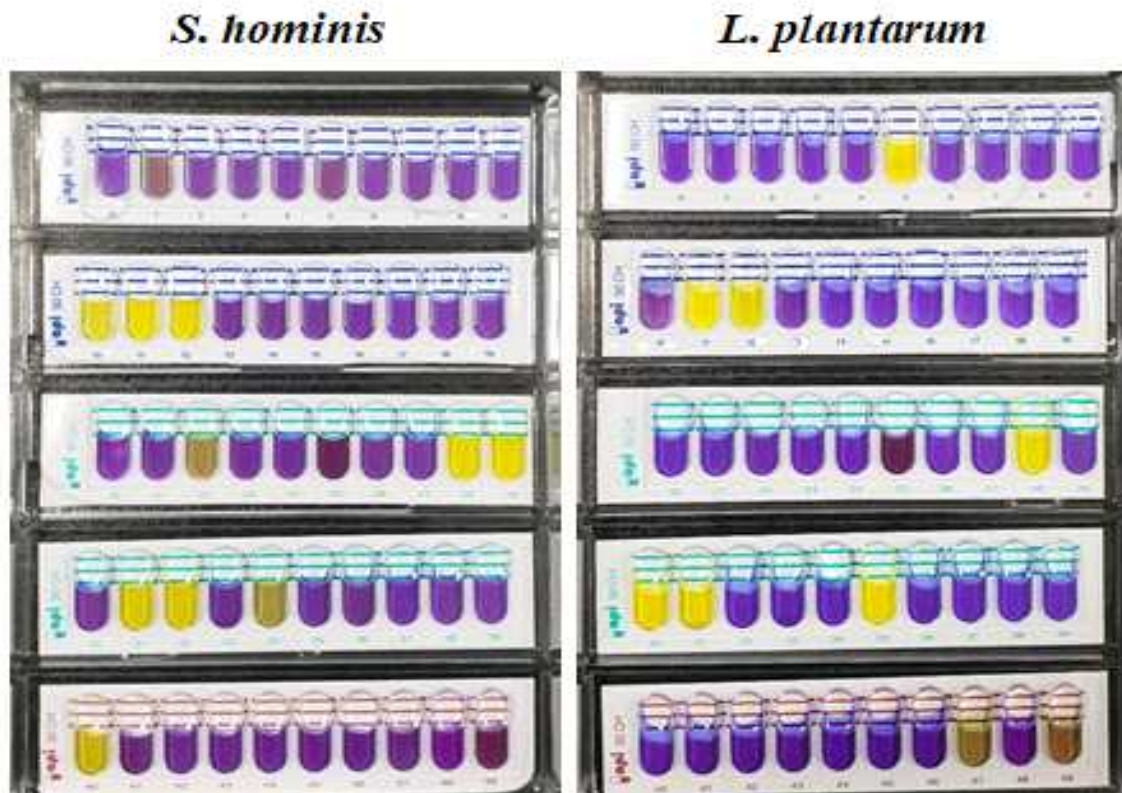
MGB 분양균주



<그림 2> 천연 아질산염 생성 김치유래 발효미생물 선발

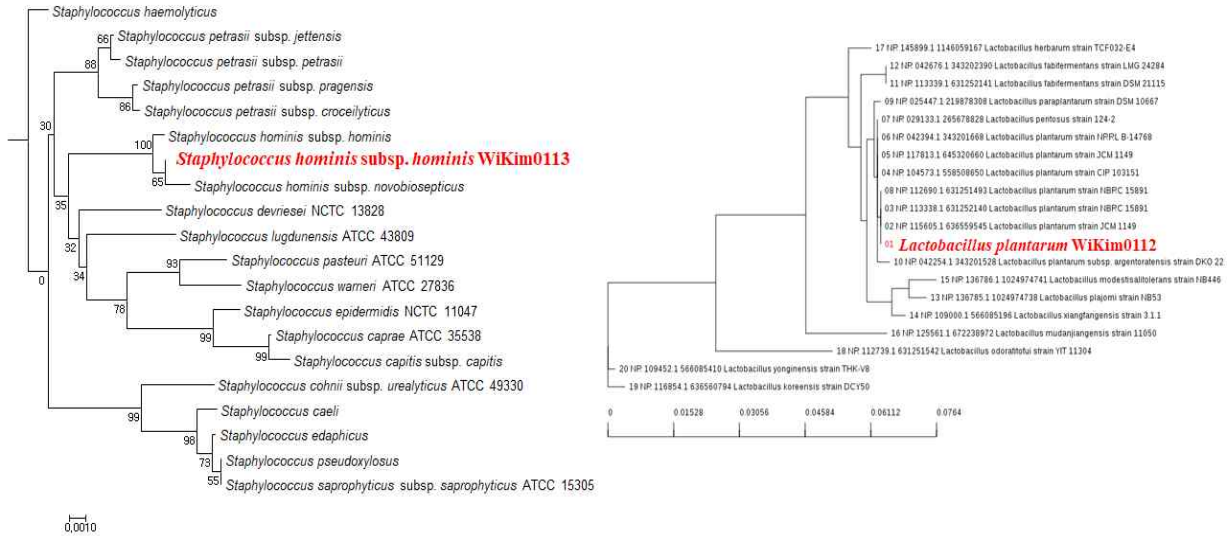
## 2) 선발미생물의 동정

- 선발한 김치유래 발효미생물의 당 이용성을 측정하기 위해 API 50 CHL kit로 49 개의 탄소원에 대한 이용성을 조사한 결과, 아질산염( $\text{NO}_2^-$ ) 생성이 우수한 김치유래 발효미생물 2 종(WiKim0113, WiKim0112) 균주 모두 glucose, fructose, maltose, saccharose를 이용하며, 추가적으로 WiKim0113 균주는 galactose, acetylglucosamine, lactose, trehalose, melezitose, turanose도 이용할 수 있으며, WiKim0112 균주는 xylose, melibiose, raffinose도 이용할 수 있음을 확인함. API 50 CHL database V3.0(<http://apiweb.biomerieux.com>)를 통해 잠정적으로 동정한 결과, WiKim0113 균주는 *Staphylococcus hominis*로 동정하였고, WiKim0112 균주는 *Lactobacillus plantarum*으로 동정함.



<그림 3> 천연 아질산염 생성 김치유래 발효미생물(2종)의 생화학적 동정

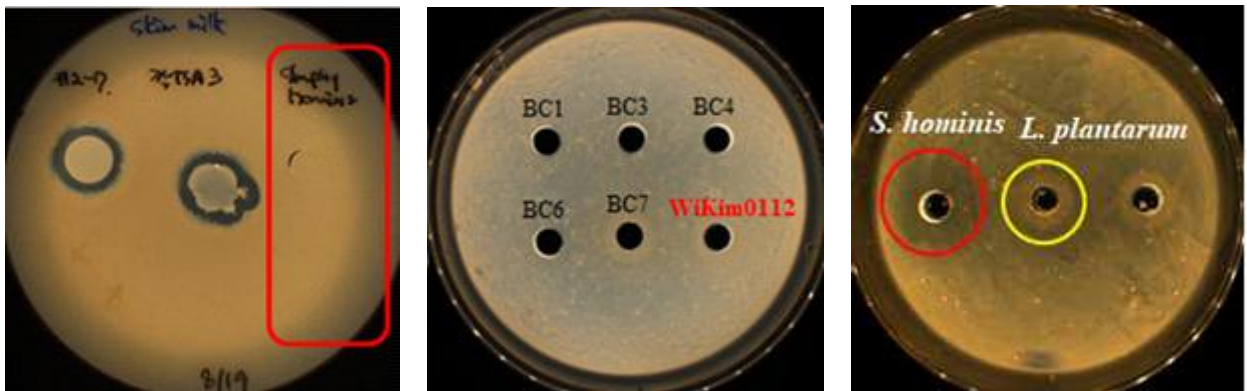
- 보다 더 정확한 유전학적(16S rRNA) 분석 방법을 이용하여 선발한 천연 아질산염 생성 김치 유래 발효미생물(2종)은 *Staphylococcus hominis* subsp. *hominis* WiKim0113(98% identity)와 *Lactobacillus plantarum* WiKim0112(99% identity)으로 동정함.
- 발효육제품 제조용 starter culture는 주로 2가지 종류가 사용되는데, lactic acid를 생산하는 유산균(*Lactobacillus*와 *Pediococcus*)과 color and flavor 생성미생물(*Staphylococcus*, *Kocuria*, *Micrococcus*)이 상업적으로 활용됨. 이들 미생물의 특징은 염지 및 발효과정 동안 질산염을 아질산으로 환원시켜주는 역할을 하며, 염에 대한 내성과 산소가 없는 조건에서도 생존해야 함. 또한 풍미 증진에 기여하는 것으로도 알려져 있음. 따라서 상업적으로 필요한 발효육제품 제조에 필요한 starter culture는 산도 조절 기능 및 풍미 생성 기능을 포함한 혼합된 starter가 필요함.



<그림 4> 천연 아질산염 생성 김치유래 발효미생물(2 종)의 유전학적 동정

### 3) 선발된 김치유래 발효미생물의 단백질 분해 및 항균활성 조사

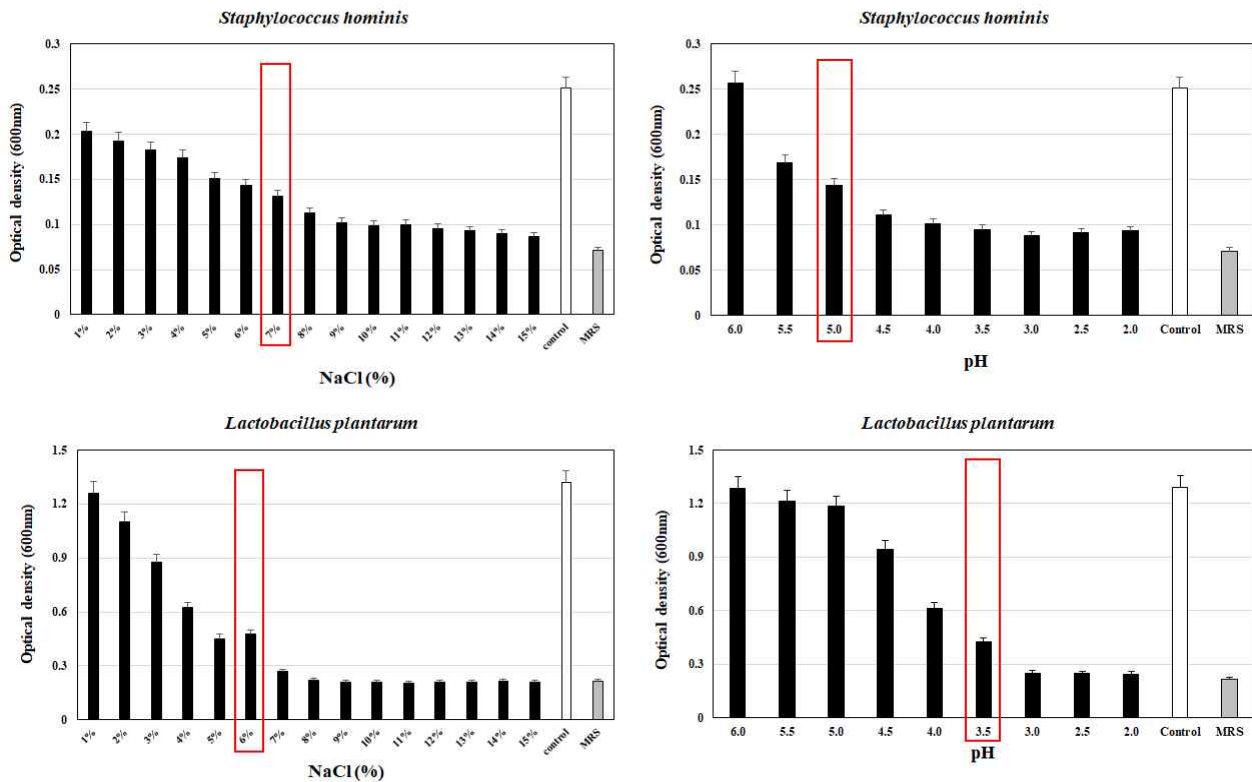
- 선발한 김치유래 발효미생물인 *Staphylococcus hominis* subsp. *hominis* WiKim0113 와 *Lactobacillus plantarum* WiKim0112을 2% skim milk 고체배지에서 배양하여 단백질 분해능을 조사한 결과, 선발한 김치유래 발효미생물 2 종 모두 단백질을 분해하지 않는 것을 확인함. 만약 단백질 분해활성이 있을 경우, 육제품 발효가공시 단백질 변패 또는 품질 변화를 유도할 수 있기 때문에 선발한 김치유래 발효미생물 2종은 단백질 미분해능 균주로 추후 발효육제품 적용시 유리한 균주로 확인함.
- 육류 제품의 식품매개 병원체 중에서 중요한 관심사는 *Clostridium* 속 특히 *Clostridium perfringens*와 *Clostridium botulinum*이 대표적임. 이들은 생고기 뿐만 아니라 조리한 고기나 조리하지 않은 염장 육류제품 모두에서 분리되고 있음. 오염된 식품을 통해 섭취된 *Clostridium* 포자와 영양세포는 위액의 산성조건에서도 견딜 수 있으며, 대장에서는 포자형성 또는 발아 과정 중에 enterotoxins이 생성되어 식품위생적인 측면에서 주의를 요구하고 있는 실정임. 따라서 선발한 김치유래 발효미생물인 *Staphylococcus hominis* subsp. *hominis* WiKim0113와 *Lactobacillus plantarum* WiKim0112을 질산염 배지에서 배양한 후, 식중독 위해미생물인 *Clostridium perfringens*에 대해 항균활성을 조사한 결과, *S. hominis* subsp. *hominis*와 *L. plantarum* 선발균주 모두 생육 억제환을 형성하여 항균효과가 있음을 확인함.



<그림 5> 선발 김치유래 발효미생물(2종)의 단백질 분해활성 및 항균활성

#### 4) 선발된 김치유래 발효미생물의 내염성 및 내산성 조사

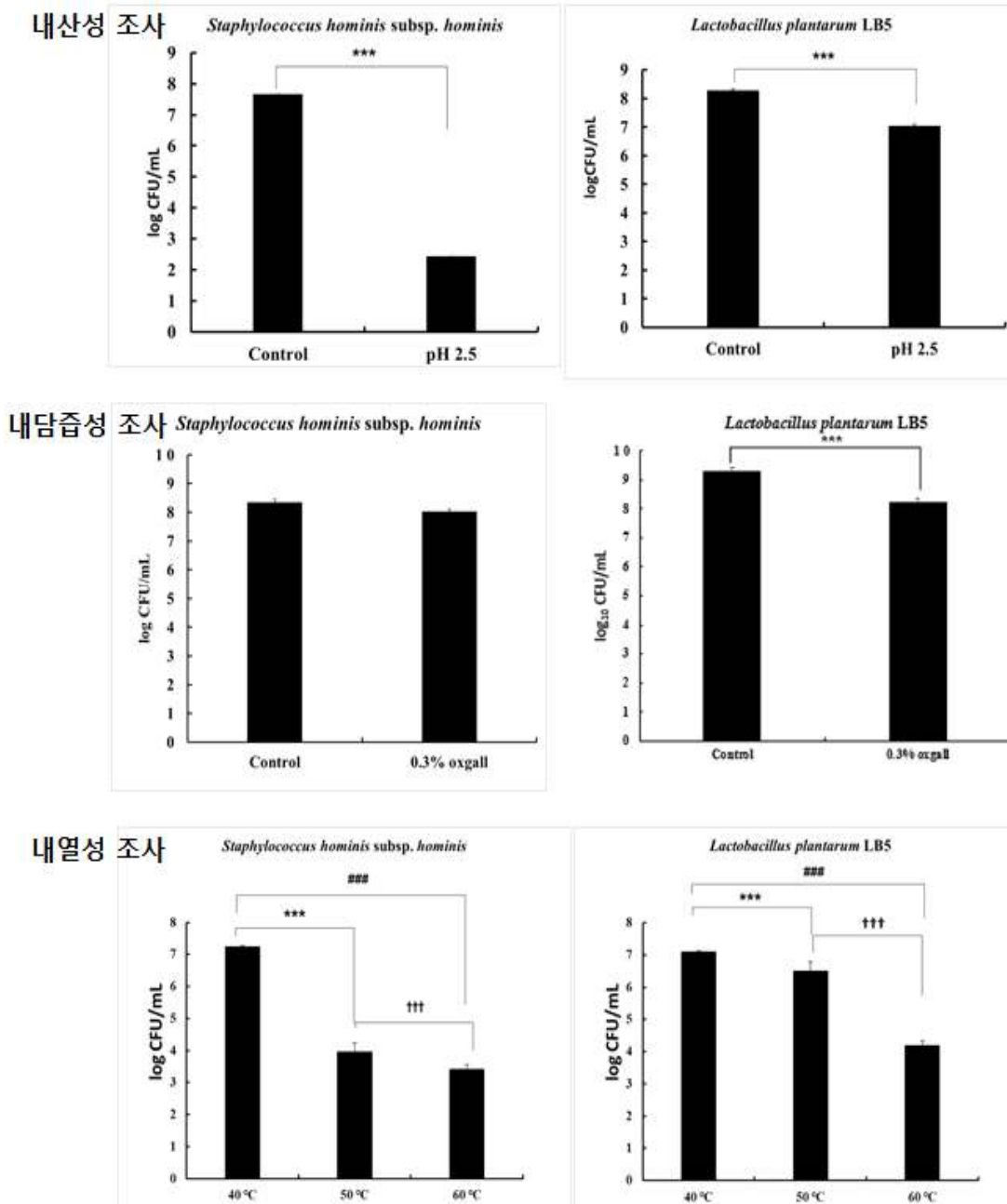
- 선발한 김치유래 미생물의 염과 산성 조건에 대한 생존율을 조사한 결과, *Staphylococcus hominis* subsp. *hominis* WiKim0113 균주는 7% NaCl과 pH 5.0 수준에서 내염성과 내산성을 확인하였으며, *Lactobacillus plantarum* WiKim0112 균주는 6% NaCl과 pH 3.5 수준에서 내염성과 내산성을 확인함.



<그림 6> 선발 김치유래 발효미생물(2종)의 염과 산성조건에 대한 생존율 결과

#### 5) 선발된 김치유래 발효미생물의 프로바이오틱스 특성조사

- 선발된 김치유래 발효미생물의 프로바이오틱스 특성인 내산성, 내담즙성, 내열성 조사 결과, *L. Lactobacillus plantarum* WiKim0112(LB5) 균주가 내산성이 가장 우수하였으며, 내담즙성은 선발균주 모두 우수함. 내열성 검사에서는 40, 50, 60℃에서 두 균주 모두 생존률이 유의적으로 감소하였고 특히, 50℃에서 *Lactobacillus plantarum* WiKim0112 균주는 *Staphylococcus hominis* subsp. *hominis* WiKim0113 균주에 비해 다소 강한 내열성을 보였음.



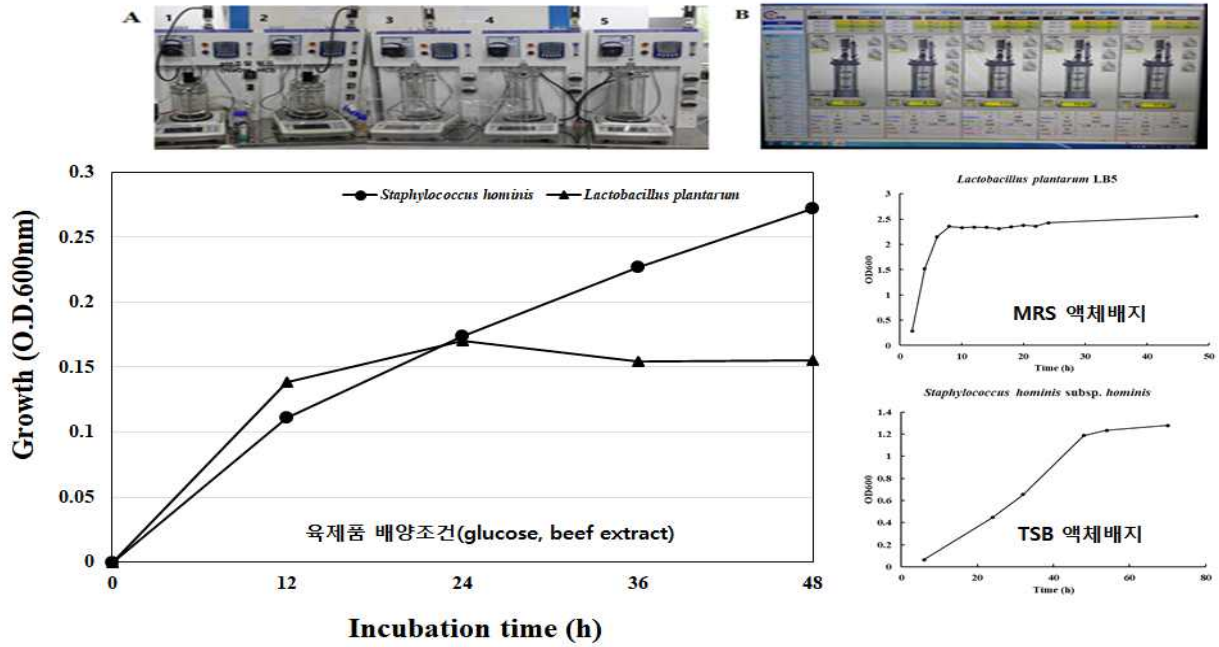
<그림 7> 김치유래 발효미생물(2종)의 내산성/내담즙성/내열성 조사

#### 6) 인공장 소화모델 발효시스템 활용 선발미생물의 생육특성 검토

- 인공 발효시스템을 활용한 육제품 배양조건에서의 생육특성 조사한 결과, 미생물 배양 배지 조건보다는 생육이 낮지만 *Lactobacillus plantarum* WiKim0112는 약 12시간부터 정지기(stationary phase)에 도달하였고 *Staphylococcus hominis* subsp. *hominis* WiKim0113는 48시간까지 서서히 증식하는 패턴을 나타내었음.

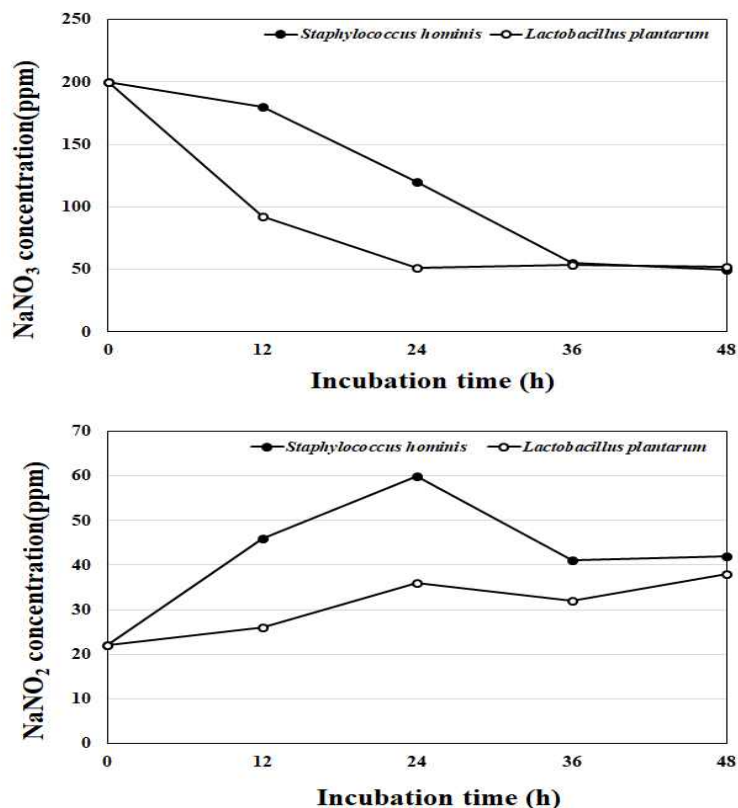


인공장 소화모델시스템의 장비(A)와 소프트웨어 프로그램 (B)



<그림 8> 인공장 소화모델 발효시스템 활용 선발미생물의 생육특성

- 선발균주인 *Staphylococcus hominis* subsp. *hominis* WiKim0113와 *Lactobacillus plantarum* WiKim0112의 육제품 배양조건에서 질산염 감소량과 아질산염 생성량을 분석한 결과, 초기 질산염 200 ppm 수준에서 24시간 배양시 *L. plantarum* WiKim0112의 균주의 경우, 50 ppm으로 감소하였고 *S. hominis* subsp. *hominis* WiKim0113는 24시간 배양시 60 ppm 아질산염을 생성하는 것으로 확인함.



<그림 9> 육제품 배양조건에서 선발미생물의 질산염 감소량과 아질산염 생성량

## [세부 연구개발 목표 2] 합성아질산염 대체용 채소류 발효특성 조사

### 가. 연구수행 방법

#### 1) 김치유래 발효미생물의 발효 최적조건 및 질산염/아질산염 함량 조사

##### 가) 탄소원별 환원능 측정

- 선발한 김치유래 발효미생물의 탄소원별 질산염 감소/아질산염 생성능을 측정하기 위해 탄소원 종류별(glucose, fructose, galactose, maltose, sucrose, lactose, raffinose)로 각각 0.1%, yeast extract 0.5%를 첨가한 최소배지에 24시간 배양하였고, 12시간과 18시간에서 배양액의 질산염 및 아질산염 함량은 질산염 측정기(Nitrate meter)와 아질산염 측정기(Nitrite meter)로 측정함.
- 탄소원 종류별 환원능 측정 결과에 따라 선정된 glucose를 농도별(0, 0.05, 0.1, 0.15, 0.2, 0.5, 1.0, 2.0%)로 0.5% yeast extract와 함께 첨가하여 만든 배지에 선발한 균주를 접종하여 24시간 동안 배양 후 12시간과 18시간에서 배양액의 질산염 및 아질산염 함량은 질산염 측정기(Nitrate meter)와 아질산염 측정기(Nitrite meter)로 측정함.

##### 나) 질소원별 환원능 측정

- 선발한 김치유래 발효미생물의 질소원별 질산염 감소/아질산염 생성능을 측정하기 위해 질소원 종류별(yeast extract, beef extract, malt extract, peptone, soytone, tryptone, casein)로 각각 0.5%, glucose 0.15%를 첨가한 최소배지에 24시간 배양하였고, 12시간과 18시간에서 배양액의 질산염 및 아질산염 함량은 질산염 측정기(Nitrate meter)와 아질산염 측정기(Nitrite meter)로 측정함.
- 질소원 종류별 환원능 측정 결과에 따라 선정된 beef extract와 yeast extract를 농도별(0, 0.05, 0.1, 0.15, 0.2, 0.5, 1.0, 2.0%)로 0.15% glucose와 함께 첨가하여 만든 배지에 선발한 균주를 접종하여 24시간 동안 배양 후 12시간과 18시간에서 배양액의 질산염 및 아질산염 함량은 질산염 측정기(Nitrate meter)와 아질산염 측정기(Nitrite meter)로 측정함.

##### 다) 선발 균주의 발효 온도 및 시간대별 생육도 측정

- 선발한 김치유래 미생물은 10, 15, 20, 25, 30℃로 온도별 조건과 18시까지 배양 시간 동안 3시간 간격으로 배양 상등액으로부터 질산염 감소 및 아질산염 생성능을 확인함.

#### 2) 선발한 김치유래 발효미생물의 전장 유전체 정보서열 분석

##### 가) 균주 라이브러리 제작 및 genome sequencing

- 선발 균주인 *S. hominis* subsp. *hominis* WiKim0113와 분양받은 *S. carnosus* KCTC3580 균주와 *S. vitulinus* TEXEL NatuRed LT 균주의 SMRTbell library는 BluePippin Size-Selection System의 프로토콜에 따라, Single molecule real time sequencing (SMRT) RSII 플랫폼을 사용하여 구성하였으며, P6-C4 화학 (Pacific Biosciences, USA)의 SMRT analysis software v2.3.0의 HGAP2를 이용하여 유전체 정보를 assemble하고 sequencing하여 유전체 정보를 확보함.

##### 나) 유전자 annotation 분석

- 선발 균주의 유전자 예측은 RAST(Rapid Annotation) 서버(<https://rast.nmpdr.org/rast.cgi>)를 활용하였으며, 질소 대사 연관 유전자 기능 annotation에는 EggNOG 데이터베이스와 KEGG(Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes) 데이터베이스를 기반으로 수행함.

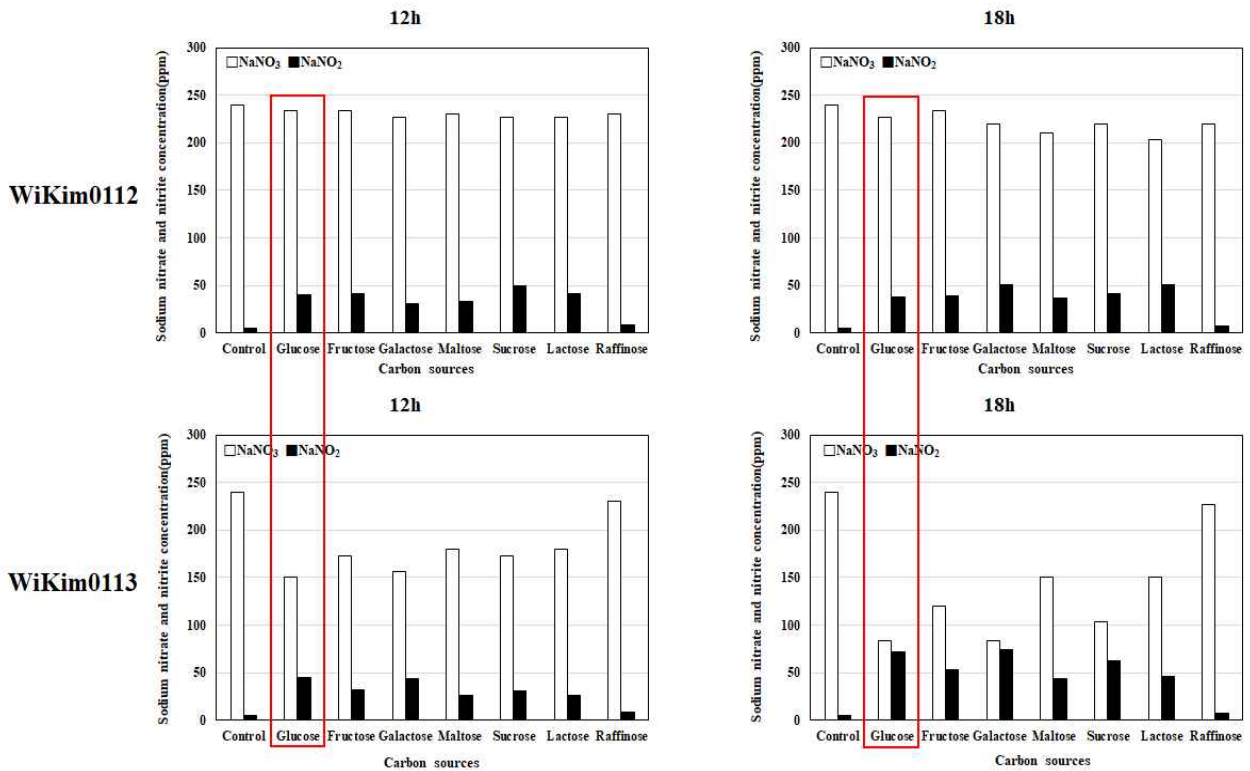


나. 연구수행 내용 및 결과

1) 김치유래 발효미생물의 발효 최적조건 및 질산염/아질산염 환원특성 조사

가) 탄소원별 김치 발효미생물의 질산염/아질산염 환원능 평가

- 선발한 김치유래 발효미생물의 탄소원 종류별(glucose, fructose, galactose, maltose, sucrose, lactose, raffinose) 질산염 감소/아질산염 생성을 배양 12시간과 18시간에서 확인한 결과, *L. plantarum* WiKim0112와 *S. hominis* subsp. *hominis* WiKim0113 균주 모두 glucose를 탄소원으로 사용하였을 때 질산염 감소 및 아질산염 생성이 가장 우수함.

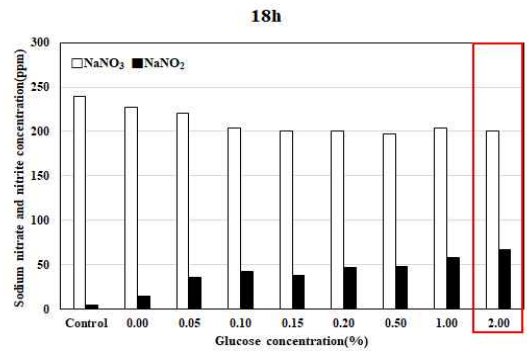
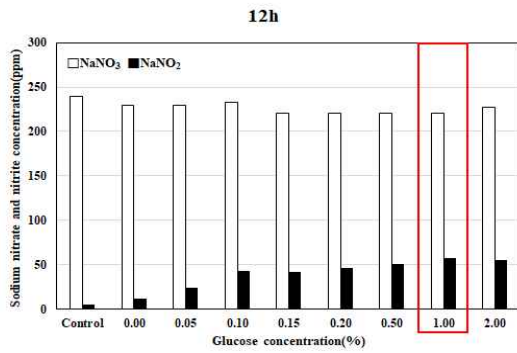


<그림 10> 탄소원별 김치 발효미생물의 질산염/아질산염 함량 측정

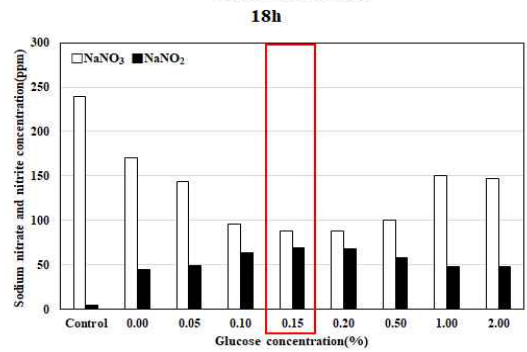
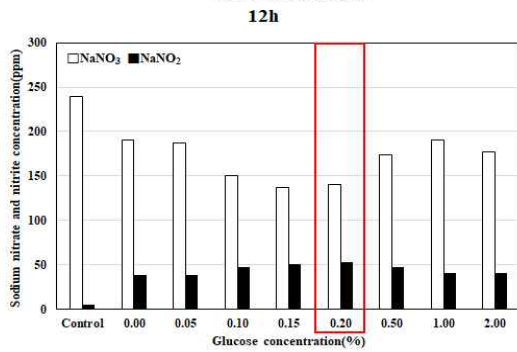
나) Glucose 농도별 김치 발효미생물 질산염/아질산염 환원능 평가

- 선발한 김치유래 발효미생물의 glucose 농도별(0, 0.05, 0.1, 0.15, 0.2, 0.5, 1.0, 2.0%) 질산염 감소/아질산염 생성을 배양 12시간과 18시간에서 확인한 결과, *L. plantarum* WiKim0112의 경우 glucose 1.0~2.0% 농도와 *S. hominis* subsp. *hominis* WiKim0113의 경우, glucose 0.15~0.2% 농도에서 질산염 감소 및 아질산염 생성이 가장 우수함.

WiKim0112



WiKim0113

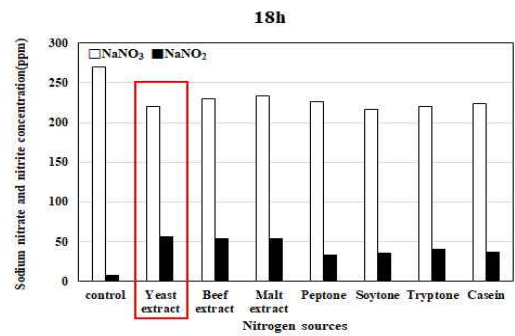
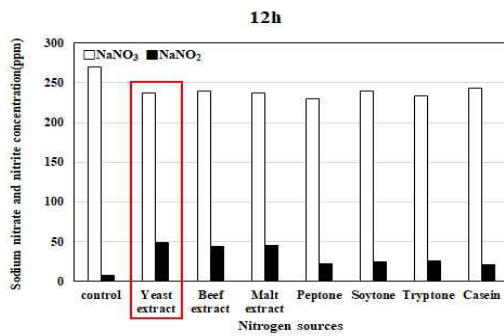


<그림 11> Glucose 농도별 김치 발효미생물의 질산염/아질산염 함량 측정

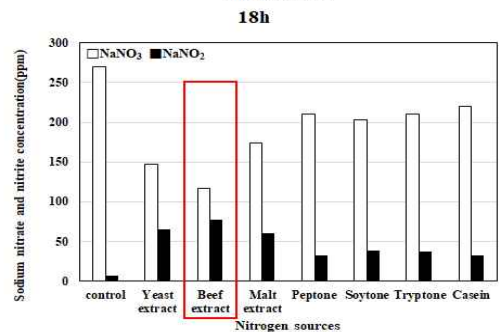
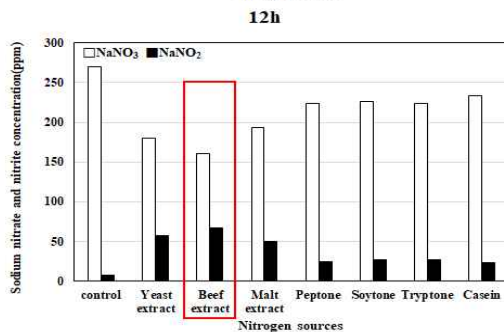
다) 질소원별 김치 발효미생물 질산염/아질산염 환원능 평가

- 선발한 김치유래 발효미생물의 질소원 종류별(yeast extract, beef extract, malt extract, peptone, soytone, tryptone, casein) 질산염 감소/아질산염 생성을 배양 12 시간과 18 시간에서 확인한 결과, *L. plantarum* WiKim0112는 yeast extract를 질소원으로 배양하였을 때 우수하였고 *S. hominis* subsp. *hominis* WiKim0113는 beef extract를 질소원으로 배양하였을 때 질산염 감소 및 아질산염 생성이 가장 우수함.

WiKim0112



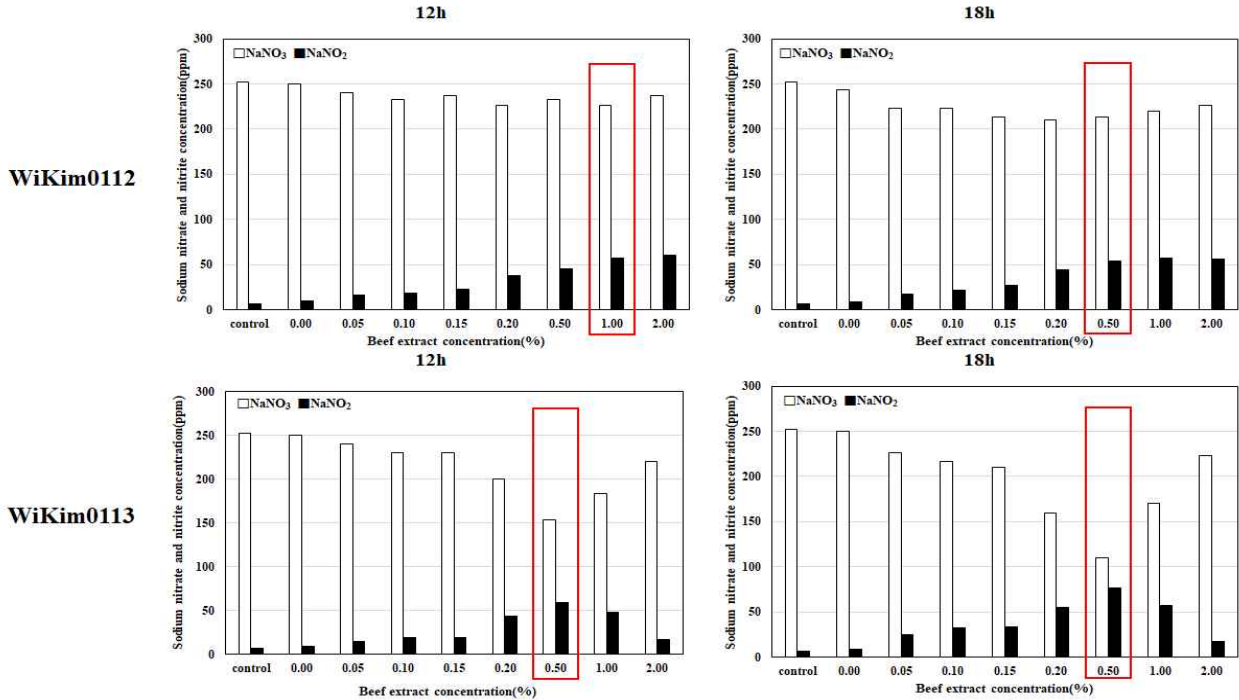
WiKim0113



<그림 12> 질소원별 김치 발효미생물의 질산염/아질산염 함량 측정

라) Beef extract 농도별 김치 발효미생물 질산염/아질산염 환원능 평가

- 선발한 김치유래 발효미생물의 beef extract 농도별(0, 0.05, 0.1, 0.15, 0.2, 0.5, 1.0, 2.0%) 질산염 감소/아질산염 생성을 배양 12시간과 18시간에서 확인한 결과, *L. plantarum* WiKim0112의 경우 beef extract 0.5~1.0% 농도와 *S. hominis* subsp. *hominis* WiKim0113의 경우, beef extract 0.5% 농도에서 질산염 감소 및 아질산염 생성이 가장 우수함.

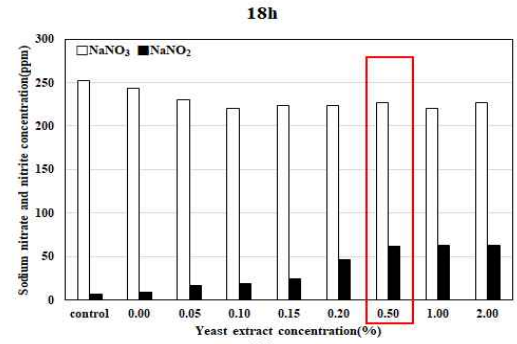
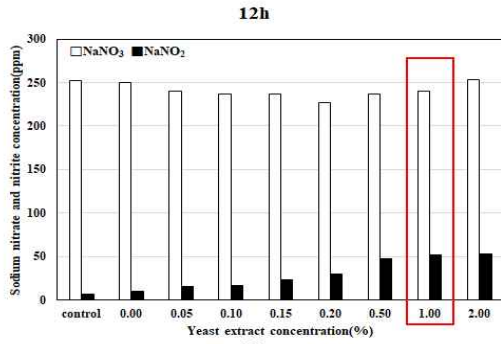


<그림 13> Beef extract 농도별 김치 발효미생물의 질산염/아질산염 함량 측정

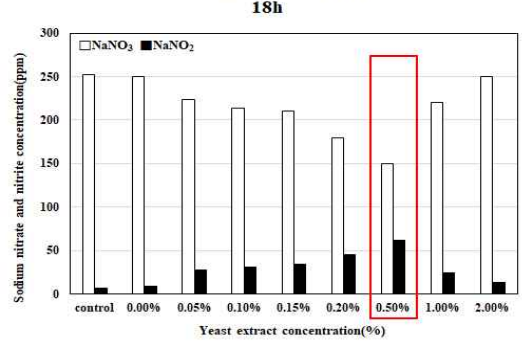
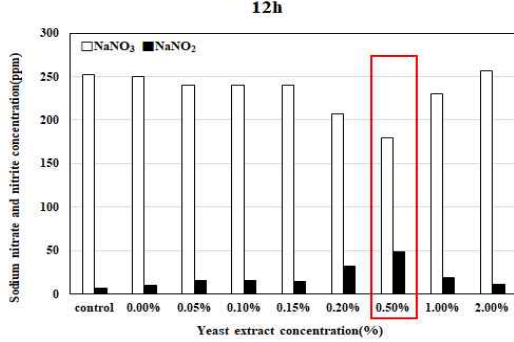
마) Yeast extract 농도별 김치 발효미생물 질산염/아질산염 환원능 평가

- 선발한 김치유래 발효미생물의 yeast extract 농도별(0, 0.05, 0.1, 0.15, 0.2, 0.5, 1.0, 2.0%) 질산염 감소/아질산염 생성을 배양 12시간과 18시간에서 확인한 결과, *L. plantarum* WiKim0112의 경우 yeast extract 0.5~1.0% 농도와 *S. hominis* subsp. *hominis* WiKim0113의 경우, yeast extract 0.5% 농도에서 질산염 감소 및 아질산염 생성이 가장 우수함.

WiKim0112



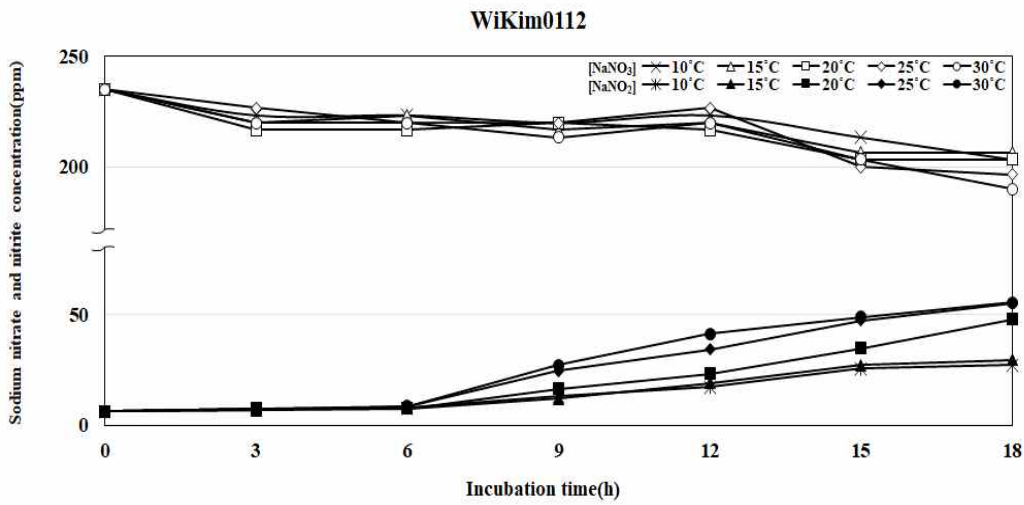
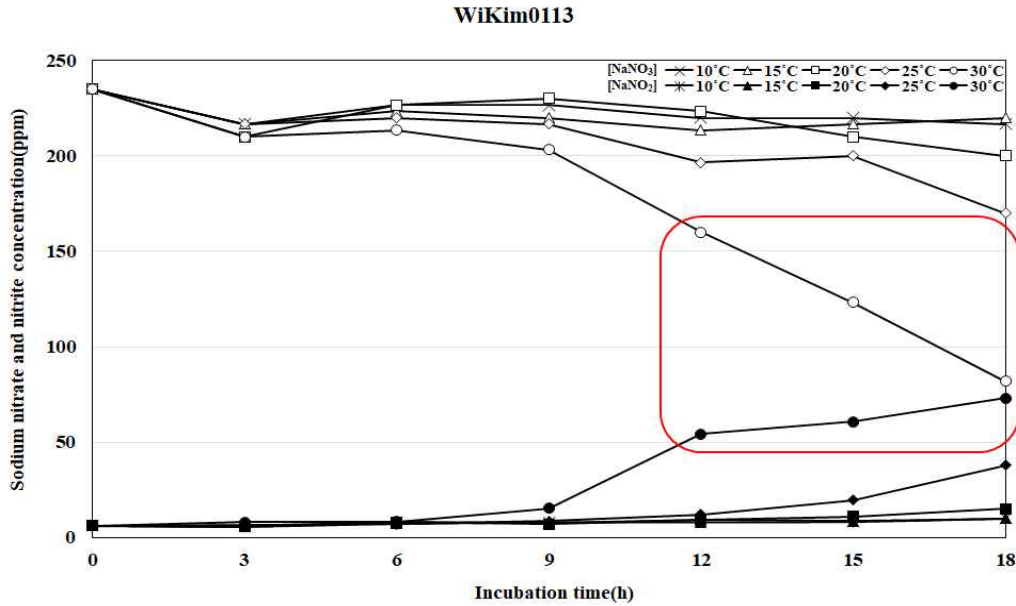
WiKim0113



<그림 14> Yeast extract 농도별 김치 발효미생물의 질산염/아질산염 함량 측정

바) 선발한 김치유래 발효미생물의 발효온도 및 시간대별 질산염/아질산염 환원능 평가

- 균주의 시간대별 생육도 측정에 사용한 배지는 앞서 수행한 최적배지 실험 결과에 따라 glucose 0.15%, beef extract 0.5%, NaNO<sub>3</sub> 300 ppm을 첨가한 배지에서 배양함.
- 선발한 김치유래 미생물인 *S. hominis* subsp. *hominis* WiKim0113 균주는 10, 15, 20, 25, 30°C로 온도별 조건과 배양 18시간까지 3시간 간격으로 배양상등액으로부터 질산염 감소 및 아질산염 생성능을 확인한 결과, 배양온도와 시간이 증가할수록 질산염 감소 및 아질산염 생성이 우수함. WiKim0113 균주는 30°C에서 18시간 배양시 질산염은 240 ppm에서 80 ppm으로 낮아졌으며, 아질산염은 5 ppm에서 75 ppm으로 증가함.
- *L. plantarum* WiKim0112 균주는 10, 15, 20, 25, 30°C로 온도별 조건과 배양 18시간까지 3시간 간격으로 배양 상등액으로부터 질산염 감소 및 아질산염 생성능을 확인한 결과, 동일하게 배양온도와 시간이 증가할수록 질산염 감소 및 아질산염 생성이 우수함. WiKim0112 균주는 30°C에서 18시간 배양시 질산염은 240 ppm에서 180 ppm으로 낮아졌으며, 아질산염은 5 ppm에서 60 ppm으로 증가함.



<그림 15> 선발균주의 발효온도 및 시간대별 질산염/아질산염 환원능 평가

2) 선발한 김치유래 발효미생물의 전장 유전체 정보서열 분석

- 선발한 김치유래 발효미생물인 *Staphylococcus hominis* subsp. *hominis* WiKim0113 균주의 전장 유전체를 분석함. Pacific Biosciences사의 Single molecule real time sequencing (SMRT) RSII 플랫폼을 이용하여 염기서열 데이터를 생성하였으며, SMRT analysis software v2.3.0의 HGAP2를 이용하여 assemble 하여 하나의 circular 형태의 유전체 정보를 확보하였고 GenBank/EMBL/DDBJ에 미생물 유전체 생명정보를 등록(accession no. PRJNA750864)함. *S. hominis* subsp. *hominis* WiKim0113 균주의 전장 유전체는 2,239,213 bp의 크기로 단일 contig로 구성되어 있었으며, GC 함량은 31.5%로 나타났음. 또한, 유전체는 62 개의 rRNA gene과 19 개의 tRNA gene을 포함함을 확인함. 전장 유전체 정보서열을 이용하여 계통 분석한 결과, *S. hominis* subsp. *hominis* WiKim0113 균주는 *S. carnosus* KCTC3580 균주 및 *S. vitulinus* TEXEL NatuRed LT 균주와 유사한 유전체 bp 크기와 GC 함량 및 유전체 수를 지님을 확인하였고, 이를 토대로 이후 선발 균주와의 유전자의 기능성 측면에 대해 비교 분석함.

- Gene annotation을 위해 Rast server annotation system의 전체 database (NR Database)를 이용하여 annotation을 실시하였으며, nitrogen metabolism에 관계된 유전자를 정보를 확보하여 예측되는 유전자의 기능을 분석함. *S. hominis* subsp. *hominis* WiKim0113 균주에서는 질소 대사와 연관된 narG, narH, narI, narV, narY, narZ, nirB, nirD, nxrA, nxrB 유전자가 발견되었으며, 이들은 각각 탈질화 과정에서 질산 환원효소의 작용을 돕는  $\alpha$  소단위체인 narG, narZ, nxrA 및  $\beta$  소단위체인 narH, narY, nxrB 그리고 NADH-subunit인 nirB, nirD로 구성되어, 선발 균주가 질산염을 아질산염으로 전환시키는 탁월한 유전자적 기능성을 지님을 확인함. 또한, 유전자 비교분석을 통해 *S. hominis* subsp. *hominis* WiKim0113 균주가 *S. vitulinus* TEXEL NatuRed LT 균주는 지니지 않는, nirB 및 nirD 유전자를 지님으로써 NADH 탈수소 효소의 작용을 도와 질소 대사 작용을 더욱 활발히 도울 수 있음을 확인함. 더불어, *S. carnosus* KCTC3580 균주와는 아주 유사한 nitrogen metabolism 연관 유전자 정보를 지님을 확인하면서, 종합적으로 *S. hominis* subsp. *hominis* WiKim0113 균주가 질소대사 기능성 유전적인 측면에서도 기존 상업용 균주들과 유사한 균주임이 확인됨.

<표 1> 선발 김치유래 발효미생물과 비교 균주들의 general genomic feature 분석

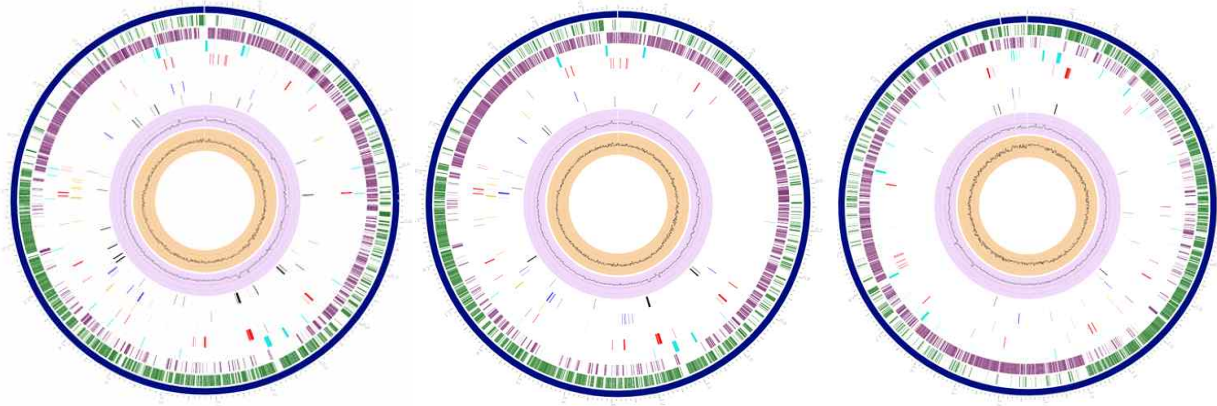
Strains	<i>Staphylococcus hominis</i>	<i>Staphylococcus carnosus</i>	<i>Staphylococcus vitulinus</i>
	subsp. <i>hominis</i> WiKim0113	subsp. <i>carnosus</i> KCTC3580	TEXEL NatuRed LT
Finishing quality	Complete	Complete	Complete
Sequencing platforms	PacBio RSII	PacBio RSII	PacBio RSII
Assembler	PacBio SMRT analysis	PacBio SMRT analysis	PacBio SMRT analysis
Method reads	2.3.0	2.3.0	2.3.0
Genome coverage	10,866	8,968	7,427
Assembly size (bp)	347.47	267.65	260.63
N50	2,239,213	2,571,334	2,667,911
Total contig	2,239,213	2,571,335	2,609,279
GC content(%)	1	1	2
CDS	31.5	34.7	32.5
tRNA	2,116	2,478	2,626
rRNA	62	61	58
	19	18	19



*Staphylococcus hominis* subsp. *hominis* WiKim0113

*Staphylococcus carnosus* subsp. *carnosus* KCTC3580

*Staphylococcus vitulinus* TEXEL NatuRed LT

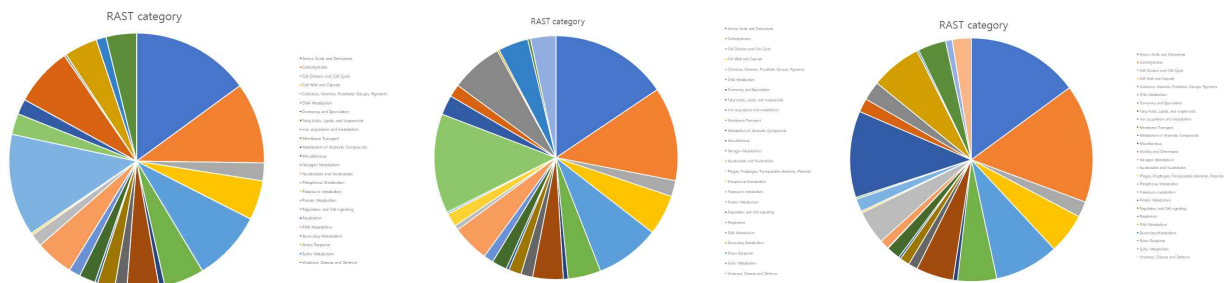


<그림 16> 선발균주와 비교 균주들의 circular genome map을 통한 comparative genome

*Staphylococcus hominis* subsp. *hominis* WiKim0113

*Staphylococcus carnosus* subsp. *carnosus* KCTC3580

*Staphylococcus vitulinus* TEXEL NatuRed LT



<그림 17> 선발균주와 비교 균주들의 annotation analysis

*Staphylococcus hominis* subsp. *hominis* WiKim0113

**Nitrogen metabolism**

M00530	EC	Dissimilatory nitrate reduction, nitrate => ammonia (5) (complete 2/2)
K00362	nirB 1.7.1.15	nitrite reductase (NADH) large subunit
K00363	nirD 1.7.1.15	nitrite reductase (NADH) small subunit
K00370	narG, narZ, nxrA 1.7.5.1 1.7.99.	nitrate reductase / nitrite oxidoreductase, alpha subunit
K00371	narH, narY, nxrB 1.7.5.1 1.7.99.	nitrate reductase / nitrite oxidoreductase, beta subunit
K00374	narI, narV 1.7.5.1 1.7.99.	nitrate reductase gamma subunit

*Staphylococcus carnosus* subsp. *carnosus* KCTC3580

**Nitrogen metabolism**

M00530	EC	Dissimilatory nitrate reduction, nitrate => ammonia (5) (complete 2/2)
K00362	nirB 1.7.1.15	nitrite reductase (NADH) large subunit
K00363	nirD 1.7.1.15	nitrite reductase (NADH) small subunit
K00370	narG, narZ, nxrA 1.7.5.1 1.7.99.	nitrate reductase / nitrite oxidoreductase, alpha subunit
K00371	narH, narY, nxrB 1.7.5.1 1.7.99.	nitrate reductase / nitrite oxidoreductase, beta subunit
K00374	narI, narV 1.7.5.1 1.7.99.	nitrate reductase gamma subunit

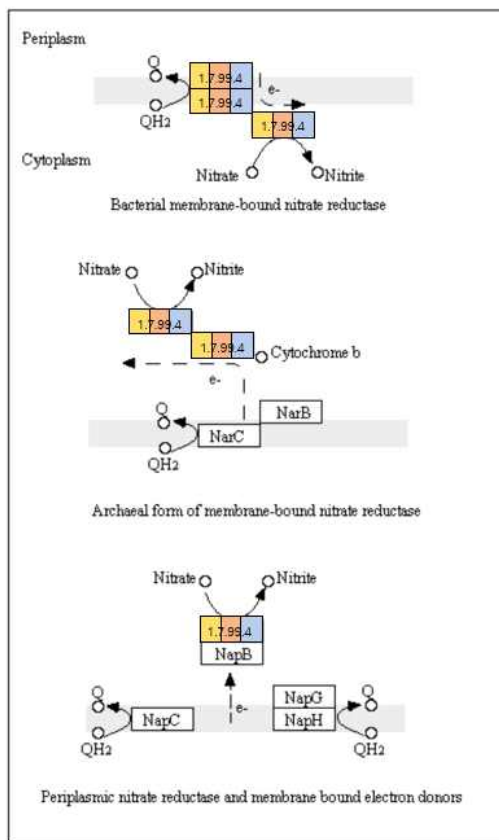
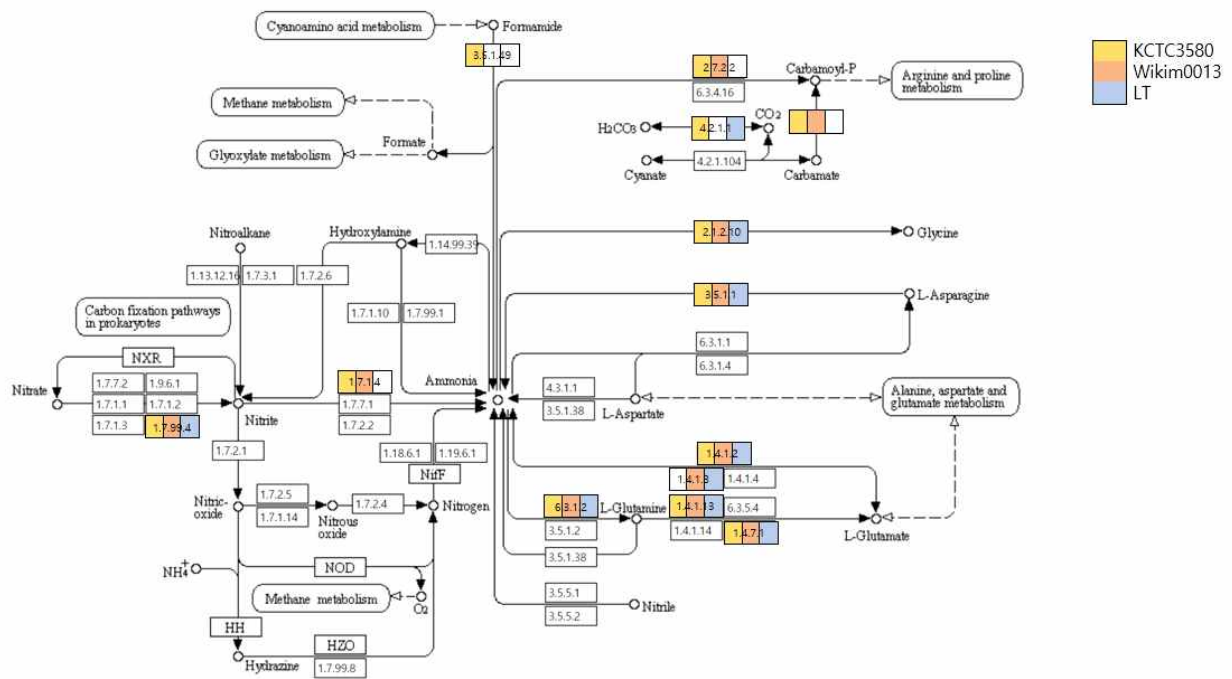
*Staphylococcus vitulinus* TEXEL NatuRed LT

**Nitrogen metabolism**

K00370	narG, narZ, nxrA 1.7.5.1 1.7.99.	nitrate reductase / nitrite oxidoreductase, alpha subunit
K00371	narH, narY, nxrB 1.7.5.1 1.7.99.	nitrate reductase / nitrite oxidoreductase, beta subunit
K00374	narI, narV 1.7.5.1 1.7.99.	nitrate reductase gamma subunit

<그림 18> 선발균주와 비교 균주들의 KEGG pathway





■ KCTC3580  
■ Wikim0013  
■ LT

EC number	Description
2.1.2.10	Aminomethyltransferase
3.5.1.1	Asparaginase
2.7.2.2	Carbamate kinase
4.2.1.1	Carbonate dehydratase
3.5.1.49	Formamidase
1.2.1.2	Formate dehydrogenase
1.4.1.2	Glutamate dehydrogenase
1.4.1.13	Glutamate synthase (NADPH)
1.4.7.1	Glutamate synthase (ferredoxin)
6.3.1.2	Glutamate ammonia ligase
1.7.99.4	Nitrate reductase
1.7.1.4	Nitrite reductase (NAD(P)H)

<그림 19> 선발균주와 비교 균주들의 nitrogen metabolism pathway

[세부 연구개발 목표 3] 천연 아질산염 생산용 김치유래 발효미생물의 종균 특성 검토

가. 연구수행 방법

1) Pilot scale 생산공정시 종균제제 적용 채소류 발효물의 이화학적 특성 및 질산환원 효소 활성 분석

가) pH 및 적정산도

- 종균제제를 접종하여 배양한 배추파우더와 무파우더 발효물 시료를 원심분리(8,000×g, 20min, 4℃)하였고 발효 상등액내 pH는 pH meter (Corning incorporated, USA)로 측정하였고, 적정산도는 pH를 측정한 발효 상등액에 0.1N NaOH 용액으로 pH가 8.3이 될 때까지 적정하여 0.1N NaOH 용액의 소비량을 구한 후 아래 식으로 계산함.

$$\text{산도(\%)} = \frac{0.1\text{N NaOH 소비량(mL)} \times \text{NaOH 용액의 역가} \times \text{젖산1당량지수} \times \text{희석배수}}{\text{시료량(mL)}} \times 100$$

나) 종균제제의 생균수 측정을 통한 생존을 검증

- 종균제제를 접종하여 배양한 배추파우더와 무파우더 발효물 시료를 무균적으로 취하여 멸균 필터백에 넣어 0.85% NaCl로 희석한 후 1분간 stomaching 함. 균질화한 후, 이 현탁액을 멸균 생리식염수로 십진희석한 후, 다음과 같은 분리용 고체배지에 도말하여 생균수를 측정함. *Lactobacillus plantarum* WiKim0112 종균제제는 LBS (Lactobacillus Selection) agar 를 사용하여 단계별로 희석한 시료를 spreading culture method로 접종한 후 30℃에서 48시간 배양하여 계수하였으며, *Staphylococcus hominis* subsp. *hominis* WiKim0113 종균제제는 TSA (Tryptic soy agar)를 사용하여 단계별로 희석한 시료를 spreading culture method로 접종한 후 30℃에서 24시간 배양 후 계수함.

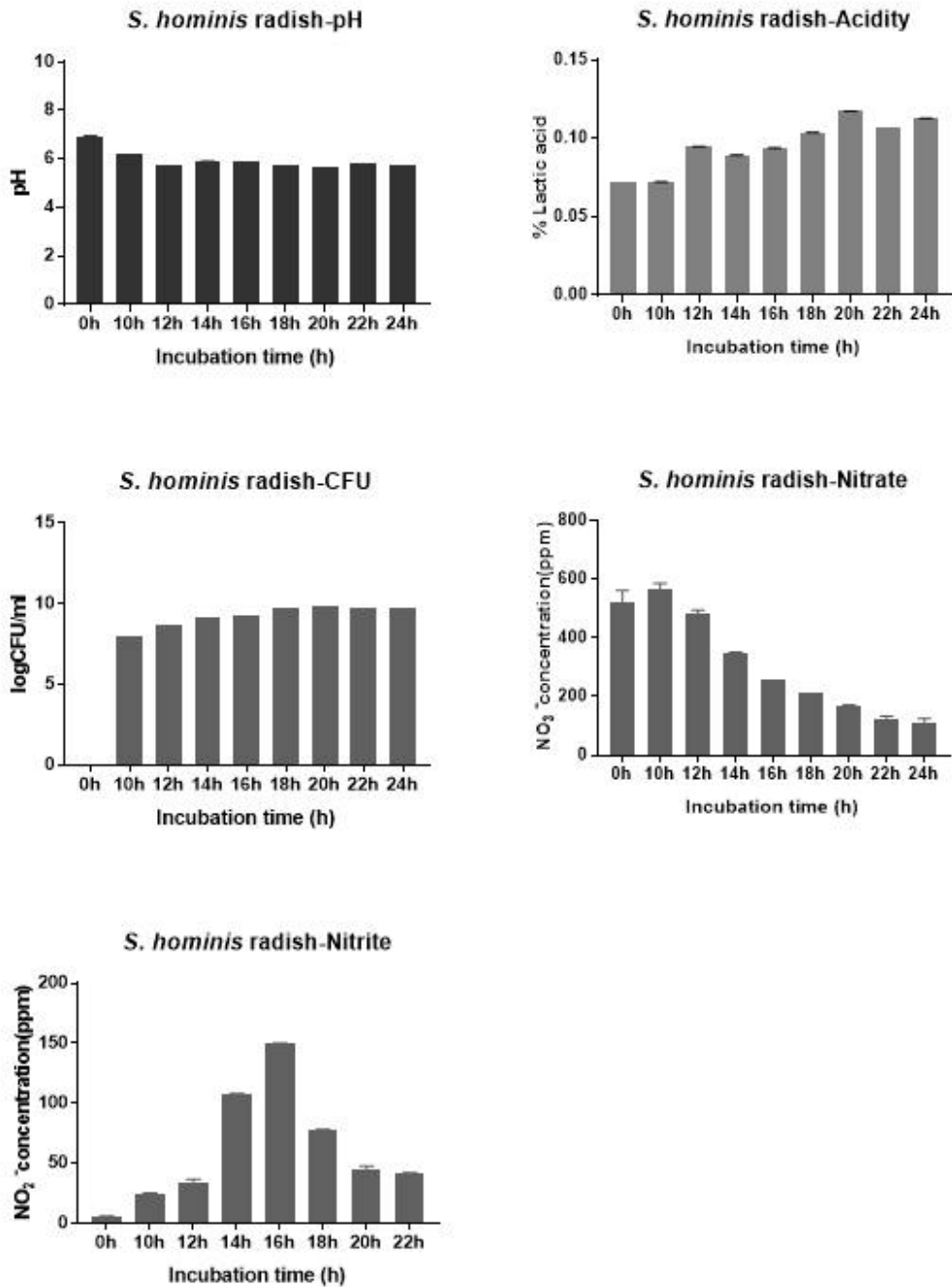
다) 채소류 발효물의 질산염과 아질산염 함량 측정

- 종균제제를 접종하여 배양한 배추파우더와 무파우더 발효물은 원심분리(8,000×g, 20min, 4℃)하여 발효상등액내 질산염과 아질산염의 감소 및 생성능은 질산염 측정기 (Nitrate meter)와 아질산염 측정기(Nitrite meter)로 측정함.

나. 연구수행 내용 및 결과

1) *Staphylococcus hominis* subsp. *hominis* WiKim0113 종균제제 적용 무 파우더 발효물의 특성조사

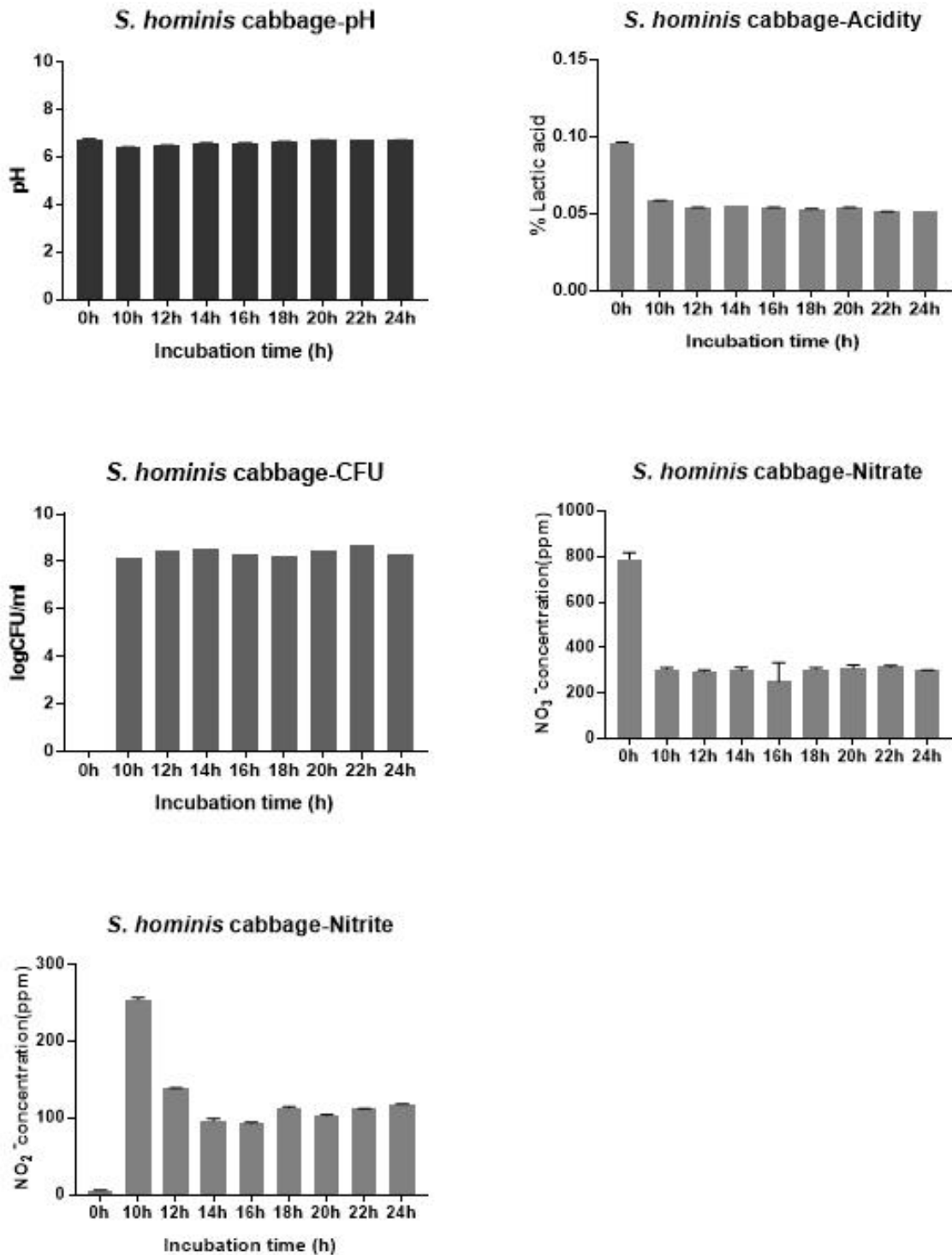
- 무 파우더 발효물의 pH는 5.8 ~ 6.9 수준으로 발효기간 동안 변화가 없었으며, 산도는 발효가 진행되면서 0.07%에서 0.11%로 점차 증가하는 것으로 확인함. *S. hominis* subsp. *hominis* WiKim0113 생균수는 8.0 ~ 9.9 log CFU/mL로 우수한 균주 생육을 나타내었음. 질산염은 초기 520 ppm에서 발효 24시간 경과시 110 ppm 수준으로 감소하였고, 아질산염 농도는 초기 5.5 ppm에서 발효 16시간에 최대 높은 함량인 149.5 ppm으로 27.2배 증가하는 것으로 확인함. 발효 16시간 이후로는 아질산염 농도가 점차 줄어드는 경향을 나타내었음.



<그림 20> WiKim0113 종균제제 적용 무 발효물의 이화학적 및 질산환원 특성

## 2) *Staphylococcus hominis* subsp. *hominis* WiKim0113 종균제제 적용 배추파우더 발효물의 특성조사

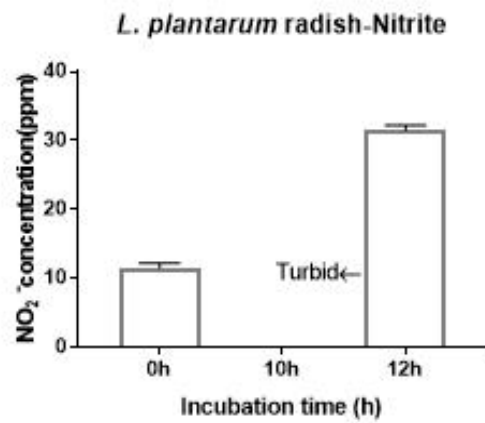
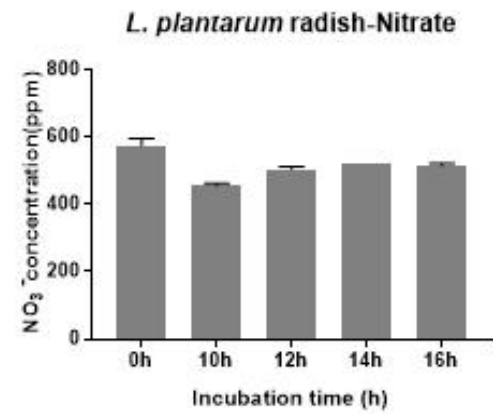
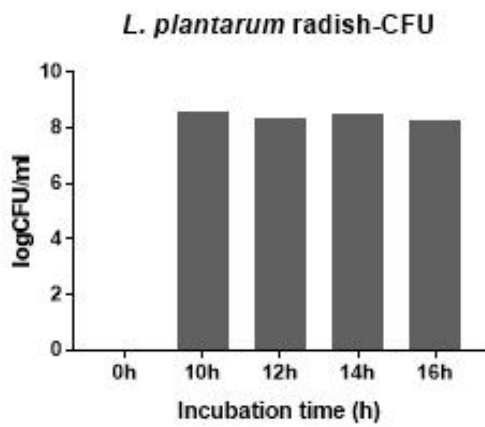
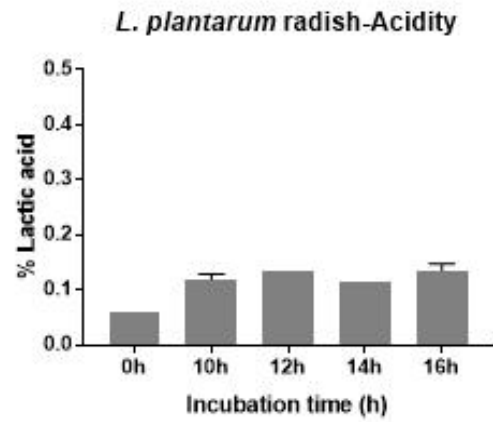
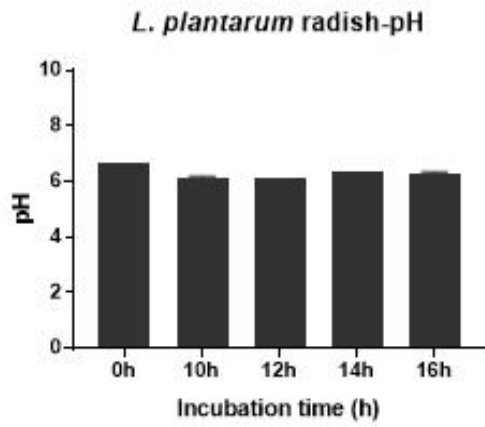
- 배추 파우더 발효물의 pH는 6.4 ~ 6.7 수준으로 발효기간 동안 변화가 없었으며, 산도는 발효가 진행되면서 0.09%에서 점차 감소하여 0.05% 수준을 유지하는 것으로 확인함. *S. hominis* subsp. *hominis* WiKim0113 생균수는 8.0 log CFU/mL로 우수한 균주 생육을 나타내었음. 질산염은 초기 790 ppm에서 발효 24시간 경과시 300 ppm 수준으로 감소하였고, 아질산염 농도는 초기 5.5 ppm에서 발효 10시간에 최대 높은 함량인 254 ppm으로 46.2배 증가하는 것으로 확인함. 발효 10시간 이후로는 아질산염 농도가 점차 줄어드는 경향을 나타내었음.



<그림 21> WiKim0113 종균제제 적용 배추 파우더 발효물의 이화학적 및 질산환원 특성

### 3) *Lactobacillus plantarum* WiKim0112 종균제제 적용 무 파우더 발효물의 특성조사

- 무 파우더 발효물의 pH는 6.1 ~ 6.6 수준으로 발효기간 동안 변화가 없었으며, 산도는 발효가 진행되면서 0.06%에서 0.14%로 일부 증가하는 것으로 확인함. *L. plantarum* WiKim0112 생균수는 8.0 log CFU/mL로 우수한 균주 생육을 나타내었음. 질산염은 초기 575 ppm에서 발효 16시간 경과시 515 ppm 수준으로 감소하였고, 아질산염 농도는 초기 11 ppm에서 발효 12시간에 최대 높은 함량인 30 ppm으로 3배 증가하는 것으로 확인하였으나, 아질산염 측정은 발효물과 측정 시약혼합시 혼탁도가 높아져 정확한 측정이 불가능한 문제가 발생함.

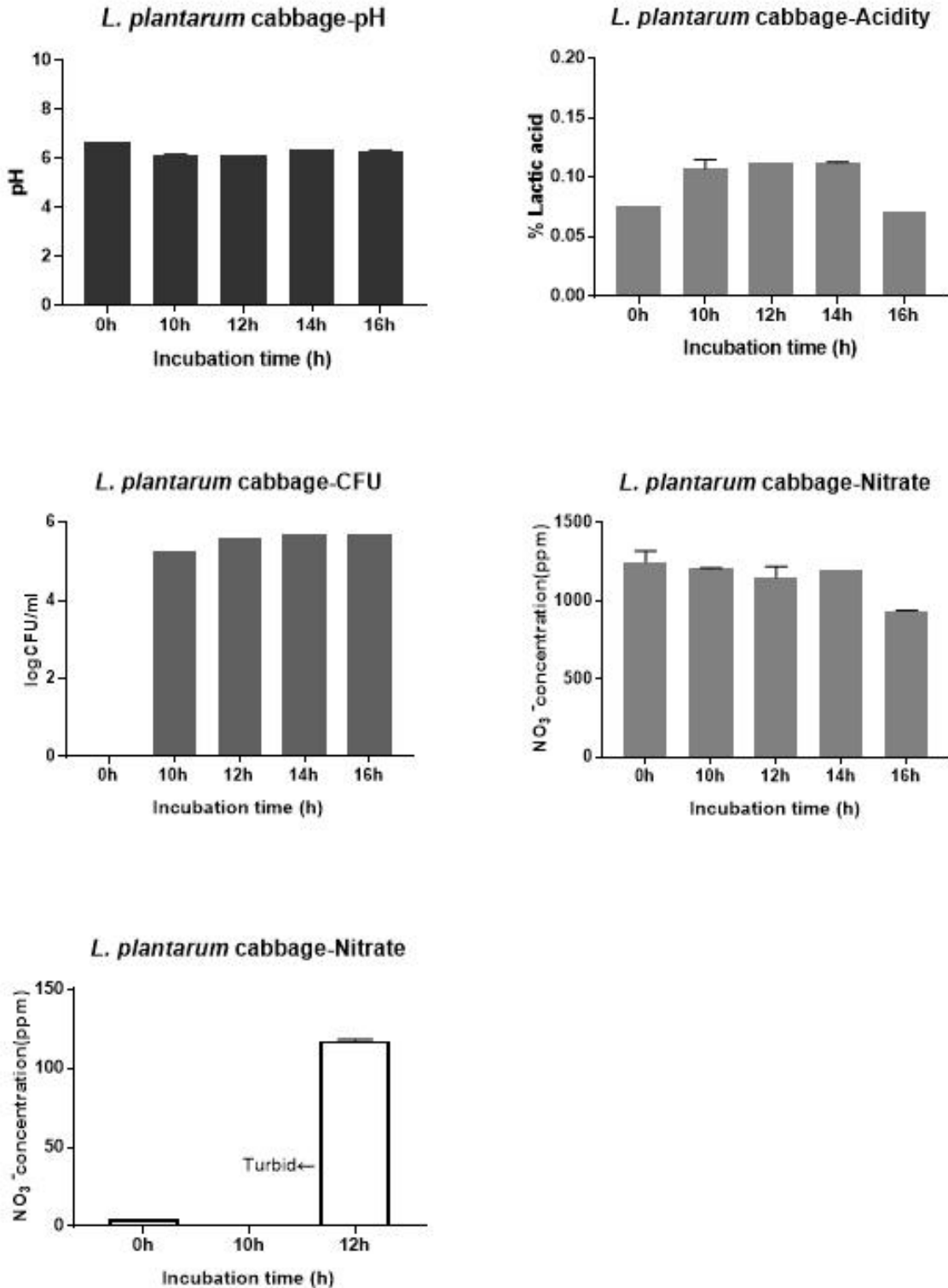


<그림 22> WiKim0112 종균제제 적용 무 파우더 발효물의 이화학적 및 질산환원 특성



4) *Lactobacillus plantarum* WiKim0112 종균제제 적용 배추파우더 발효물의 특성조사

- 배추 파우더 발효물의 pH는 6.1 ~ 6.6 수준으로 발효기간 동안 변화가 없었으며, 산도는 발효가 진행되면서 0.07%에서 0.11% 수준을 유지함. *L. plantarum* WiKim0112 생균수는 5.2 ~ 5.7 log CFU/mL로 비교적 낮은 균주 생육을 나타내었음. 질산염은 초기 1250 ppm에서 발효 16시간 경과시 935 ppm 수준으로 감소하였고, 아질산염 측정은 발효물과 측정시약 혼합시 혼탁도가 높아져 정확한 측정이 불가함.



<그림 23> WiKim0112 종균제제 적용 배추 파우더 발효물의 이화학적 및 질산환원 특성

## 2-2. 선발된 김치유래 발효미생물의 독성학·위생학적 안전성 확립

세부 연구개발 목표	세부 연구개발 내용 및 범위	연구비(천원)	연구개발기관
• 선발된 김치유래 발효 미생물의 안전성 시험	- 항생제 내성검사 - 용혈성 검사 - 효소활성 및 발암성 검사	20,000	건국대학교
• 선발된 김치유래 발효 미생물의 인간세포에서의 안전성 시험	- 세포독성 검사 - 세포 염증성 검사 - 세포부착성 및 침투성 검사 - 항산화능 확인	21,000	건국대학교
• 선발된 김치유래 발효 미생물의 위해유전자 검출 및 면역항원 시험	- 바이오제닉 아민 유전자 검출 - Enterotoxin 생성 유전자 검출 - Coagulase 효소활성과 hemolysin 검사	86,000	세계김치연구소

### [세부 연구개발 목표 1] 선발된 김치유래 발효미생물의 안전성 시험

#### 가. 연구수행 방법

##### 1) 항생제 내성검사

- 항생제 감수성은 NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards)의 disk diffusion법으로 실시함. 사용한 항생제 디스크(BBL Sensi-disc, Becton Dickinson Co., NJ, USA)는 Ampicillin (AMP), Chloramphenicol (C), Clindamycin (CD), Ciprofloxacin (CIP), Cefotetan (CTT), Doxycycline (DOX), Erythromycin (ERY), Gentamicin (GEN), Kanamycin (KAN), Penicillin G (P), Streptomycin (S), Trimethoprim-sulfamethoxazole (SXT), Tetracycline (TET), Vancomycin (VAN) 등 14 종을 사용함. 선발균주를 Mueller Hinton broth (Merck, Darmstadt, Germany)에 접종하고 30°C에서 5시간 동안 배양한 후 Macfarland (bioMerieux) No. 0.5로 탁도를 조정하여 Mueller-Hinton agar (Difco)에 도말하였으며, 30분간 건조 시킨 후 14 종의 항생제 디스크를 놓고 30°C에서 24시간 배양함. 배양이 종료된 후 각 항생제에 대한 억제환의 크기를 측정하고 CLSI 가이드라인에 의해 감수성과 내성을 판정함.

##### 2) 용혈성 검사

- 선발한 균주의 용혈성 여부를 검사하기 위해 백금으로 한 콜로니를 취하여 7%(v/v) sheep blood defibrinated(MB-S1876)가 포함되어 있는 Columbia blood agar에 접종하여 30°C에서 48시간동안 배양한 후, 집락 주변으로 투명한 환(clear zone)이 나타나는지 확인함. 5%(v/v) sheep blood defibrinated를 첨가한 Columbia blood broth에서도 침전 여부를 통해 용혈성 여부를 확인함.

##### 3) 효소활성 및 발암성 검사

- 선발한 균주의 효소활성을 조사하기 위해 API ZYM kit (bioMerieux Co., Marcy-l'Etoile, France)를 사용하여 alkaline phosphatase 외 18 가지 효소 활성을 검사함. 선발 균주를 MRS와 TSA 고체배지에서 배양하여 균체를 회수하고 멸균수에 3 회 세척한 후 멸균수에 현탁하여 시료를 준비함. 현탁액 500 ul를 5 ml suspension medium에 풀어준 후 5~6 Mcfarland (bioMerieux Co.)로 탁도를 조정함. 탁도를 조정 한 현탁액을 ZYM kit의 각 큐플에 접종하여 37°C에서 4시간 배양한 후 표현 활성 증가와 용해를 도와주는 ZYM A와 ZYM B 시약을 각각의 큐플에 한 방울씩 떨어뜨려 5분간

반응 후 색깔의 변화를 관찰하여 효소 활성을 확인함. 색의 변화 정도에 따라 0~5까지의 값으로 표시하였으며, 0은 음성반응, 5( $\geq 40$  nmoles)는 최대 강도의 반응이고 4~1은 각각 30, 20, 10, 5 nmoles의 중간 값을 나타내며 3 이상일 경우 양성으로 판정함.

## 나. 연구수행 내용 및 결과

### 1) 김치유래 발효미생물의 항생제 내성검사

- 최종선발 균주 *Staphylococcus hominis* subsp. *hominis* WiKim0113에 대한 항생제 감수성을 조사한 결과, ampicillin 처리에  $21.67 \pm 0.58$  mm, chloramphenicol 처리에  $31.00 \pm 1.15$  mm, clindamycin 처리에  $33.33 \pm 1.15$  mm, ciprofloxacin 처리에  $34.67 \pm 1.15$  mm의 억제영역(inhibition zone)을 보였음. Cefotetan 처리에  $15.00 \pm 1.00$  mm, doxycycline 처리에  $35.67 \pm 1.15$  mm, erythromycin 처리에  $32.67 \pm 0.58$  mm, gentamycin 처리에  $34.00 \pm 1.73$  mm, kanamycin 처리에  $33.00 \pm 1.00$  mm, penicillin G 처리에  $19.00 \pm 1.00$  mm, streptomycin 처리에  $25.00 \pm 0.00$  mm, trimethoprim-sulfamethoxazole 처리에  $35.00 \pm 0.00$  mm의 억제영역을 보이며 tetracycline 처리에  $35.33 \pm 0.58$  mm의 억제 영역을 보였고 vancomycin 처리에는  $22.00 \pm 0.05$  mm의 억제 영역을 보였음.
- 최종선발 균주 *Lactobacillus* 속은 본질적으로 광범위한 항생제에 대하여 높은 저항성을 보인다고 알려져 있음. 특히 vancomycin에 대한 저항성은 많은 유산균의 본질적 특성이며, erythromycin과 tetracycline에 대한 저항성은 균주에 따라 다양하고, 사람의 경우 약이나 식품에 항생제가 들어있어서 섭취한 프로바이오틱스 유산균은 항생제와 쉽게 접촉하게 되므로 항생제에 대한 내성이 강할수록 생존 가능성이 높아 장관 내 증식하여 유용한 기능을 발휘할 수 있다고 알려져 있음.
- *Lactobacillus plantarum* Wikim0112에 대한 항생제 감수성을 조사한 결과, ampicillin 처리에  $35.33 \pm 2.08$  mm, chloramphenicol 처리에  $37.33 \pm 2.08$  mm, clindamycin 처리에  $27.67 \pm 2.52$  mm, ciprofloxacin 처리에  $15 \pm 1.15$  mm의 억제영역(inhibition zone)을 보였음. Cefotetan 처리에는 억제영역을 보이지 않았음. Doxycycline 처리에  $30 \pm 5.20$  mm, erythromycin 처리에  $36.67 \pm 1.53$  mm, gentamycin 처리에  $15.00 \pm 0.00$  mm, kanamycin 처리에  $11.67 \pm 0.58$  mm, penicillin G 처리에  $38.00 \pm 2.65$  mm, streptomycin 처리에  $10.67 \pm 0.58$  mm, trimethoprim-sulfamethoxazole 처리에  $27.33 \pm 1.15$  mm의 억제영역을 보이며 tetracycline 처리에  $24.33 \pm 1.15$  mm의 억제영역을 보였고 vancomycin 처리에는 억제영역을 보이지 않았음.
- 따라서 *Staphylococcus hominis* subsp. *hominis* WiKim0113 균주와 *Lactobacillus plantarum* Wikim0112 균주를 사용한 종균제제 개발시 식품을 매개로 발생할 수 있는 항생제 내성 전이를 나타내지 않을 것으로 확인되었으며, 육제품 발효시 식품의 안전한 발효 종균으로 활용이 가능하다고 사료됨.

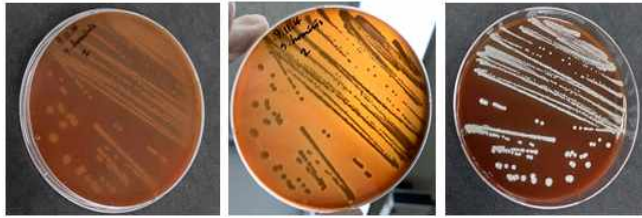
<표 2> 선발한 김치유래 발효미생물의 항생제 내성시험 평가 결과

Antibiotic	Zone diameter (mm)	
	<i>Staphylococcus hominis</i> subsp. <i>hominis</i> WiKim0113	<i>Lactobacillus plantarum</i> WiKim0112
Ampicillin (AMP)	21.67±0.58 <sup>f</sup>	35.33±2.08 <sup>a</sup>
Chloramphenicol (C)	31.00±1.00 <sup>d</sup>	37.33±2.08 <sup>a</sup>
Clindamycin (CD)	33.33±1.15 <sup>abcd</sup>	27.67±2.52 <sup>b</sup>
Ciprofloxacin (CIP)	34.67±1.15 <sup>abc</sup>	14.33±1.15 <sup>c</sup>
Cefotetan (CTT)	15.00±1.00 <sup>h</sup>	-
Doxycycline (DOX)	35.67±1.15 <sup>a</sup>	30.00±5.20 <sup>b</sup>
Erythromycin (ERY)	32.67±0.58 <sup>cd</sup>	36.67±1.53 <sup>a</sup>
Gentamicin (GEN)	34.00±1.73 <sup>abc</sup>	15.00±0.00 <sup>c</sup>
Kanamycin (KAN)	33.00±1.00 <sup>bcd</sup>	11.67±0.58 <sup>c</sup>
Penicillin G (P)	19.00±1.00 <sup>g</sup>	38.00±2.65 <sup>a</sup>
Streptomycin (S)	25.00±0.00 <sup>e</sup>	10.67±0.58 <sup>c</sup>
Trimethoprim-sulfamethoxazole (SXT)	35.00±0.00 <sup>abc</sup>	27.33±1.15 <sup>b</sup>
Tetracycline (TE)	35.33±0.58 <sup>ab</sup>	24.33±2.08 <sup>b</sup>
Vancomycin (VA)	22.00±0.00 <sup>f</sup>	-

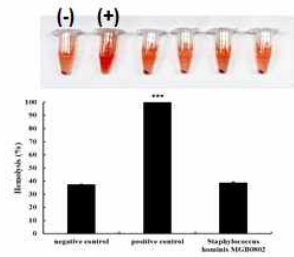
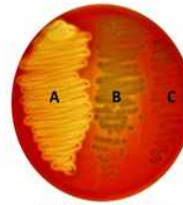
## 2) 김치유래 발효미생물의 용혈성 검사

- Hemolysis(용혈)은 적혈구가 파괴되어 헤모글로빈이 외부로 유출되는 것이며, 미생물에 의한 용혈 현상은 세균의 용혈능에 따라 크게  $\alpha$ -hemolysis,  $\beta$ -hemolysis,  $\gamma$ -hemolysis로 분류함.  $\alpha$ -hemolysis는 적혈구와 헤모글로빈의 부분적 용해(불완전 용해)로, 배양 후 colony 주변을 녹회색으로 변화시키며,  $\beta$ -hemolysis는 적혈구와 헤모글로빈의 완전한 용해로, 배양 후 colony 주변의 투명 환을 나타냄.  $\gamma$ -hemolysis는 용혈을 일으키지 않으며, colony 주변 한천에 아무런 변화가 없는 경우임.
- *Staphylococcus hominis* subsp. *hominis* WiKim0113 균주와 *Lactobacillus plantarum* WiKim0112 균주의 경우,  $\gamma$ -hemolysis의 용혈능을 가지고 있어 적혈구를 분해하지 못해 집락이 형성되지만 아무런 혈액한천 고체배지상에 미생물 콜로니 주변으로 투명대를 형성하지 않아 안전성이 있음을 확인함. 7%(v/v) sheep blood defibrinated가 포함되어 있는 Columbia blood broth 액체배지 상에서도 용혈성이 없어 선발한 김치유래 발효미생물 모두 안전성이 있음을 확인함.

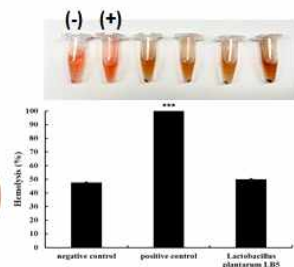
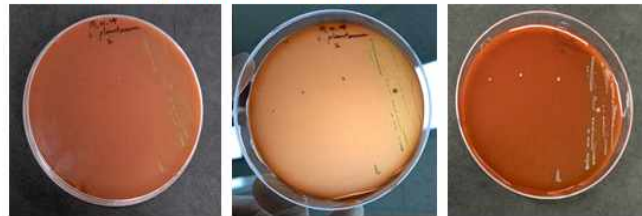
*Staphylococcus hominis* WiKim0113



*Staphylococcus hominis* WiKim0113



*Lactobacillus plantarum* WiKim0112



<그림 24> 김치유래 발효미생물의 용혈성 검사

3) 김치유래 발효미생물의 효소활성 및 발암성 검사

– 일반적으로 분리한 유용미생물이 식품원료로 사용하기 위해서는 이들이 생산하는 효소 또한 매우 중요함. *Lactobacillus plantarum* WiKim0112 균주는  $\beta$ -galactosidase (40 nmole 이상) 효소의 높은 활성을 나타내어 한국인의 80%가 겪는 우유 중 lactose에 의한 유당 불내증의 저하에 많은 도움이 될 것으로 확인함. 또한 발암 효소로 알려진  $\beta$ -glucuronidase의 경우 benzopyrene과 같은 독성물질이 체내 들어왔을 때, 간에서 gluculonic acid와 결합되어 그 독성이 증가하며, 결합된 물질이 소장에서 담즙과 함께 장내 배설되어 장내 세균의  $\beta$ -glucuronidase에 의해 탈포합 되면서 다시 독성이 생길 수 있기 때문에 식품원료로 사용되기 위해서는 활성이 낮은 균주가 바람직한 것으로 알려져 있음. *Staphylococcus hominis* subsp. *hominis* WiKim0113 균주와 *Lactobacillus plantarum* WiKim0112 균주 모두 활성이 없어 발효육제품 적용 식품원료로 인한 발암 유발의 위험이 없음을 확인함. 또한 두 균주 모두 장내 유해 효소로 알려진  $\beta$ -glucosidase 효소 활성이 없어 선발한 김치유래 발효미생물의 안전성을 확인함.

*Staphylococcus hominis* subsp. *hominis*



Enzyme	<i>Staphylococcus hominis</i> MGB0802
Control	0
Alkaline phosphatase	1
Esterase	3
Esterase lipase	0
Lipase	0
Leucine arylamidase	0
Valine arylamidase	0
Cystine arylamidase	0
Trypsin	2
$\alpha$ -Chymotrypsin	0
Acid phosphatase	3
Naphthol-AS-BI-phosphohydrolase	1
$\alpha$ -Galactosidase	0
$\beta$ -Galactosidase	1
$\beta$ -Glucuronidase	0
$\alpha$ -Glucosidase	1
$\beta$ -Glucosidase	0
N-Acetyl- $\beta$ -glucosaminidase	0
$\alpha$ -Mannosidase	0
$\alpha$ -Fucosidase	0

0, 0 nmol; 1, 5 nmol; 2, 10 nmol; 3, 20 nmol; 4, 30 nmol; 5,  $\geq 40$  nmol.

*Lactobacillus plantarum* LBS



Enzyme	<i>Lactobacillus plantarum</i> LBS
Control	0
Alkaline phosphatase	1
Esterase	2
Esterase lipase	2
Lipase	0
Leucine arylamidase	5
Valine arylamidase	1
Cystine arylamidase	1
Trypsin	1
$\alpha$ -Chymotrypsin	0
Acid phosphatase	2
Naphthol-AS-BI-phosphohydrolase	2
$\alpha$ -Galactosidase	5
$\beta$ -Galactosidase	5
$\beta$ -Glucuronidase	0
$\alpha$ -Glucosidase	3
$\beta$ -Glucosidase	0
N-Acetyl- $\beta$ -glucosaminidase	0
$\alpha$ -Mannosidase	0
$\alpha$ -Fucosidase	0

0, 0 nmol; 1, 5 nmol; 2, 10 nmol; 3, 20 nmol; 4, 30 nmol; 5,  $\geq 40$  nmol.

<그림 25> 김치유래 발효미생물의 유해 효소생성능 확인을 통한 발암성 유무 검사 결과



[세부 연구개발 목표 2] 선발된 김치유래 발효미생물의 인간세포에서의 안전성 시험

가. 연구수행 방법

1) 세포독성 검사

- 선발한 김치유래 발효미생물의 세포독성 검사는 lactating dehydrogenase (LDH) Cytotoxicity Assay Kit (Promega, Madison, WI, USA)를 사용하여 평가함. 96-well plate에 인간 장관 상피세포 Caco-2 배양 후, 각 균을  $10^6$ ,  $10^7$ ,  $10^8$ , 및  $10^9$  CFU/mL 농도로 하여 37°C에서 24시간 배양하였으며, 양성대조군으로서 배양 종료 45분 전 세포에 세포막 용해액(lysis buffer)을 처리한 표본을 사용함. 배양 종료 후, 상등액을 수집하기 위해 세포 배양액을 1.7 mL micro tube에 옮겨 원심분리 하였으며, 50 µL의 상등액을 50 µL의 CytoTox 96® 시약과 함께 혼합 후 어둠 속에서 30분 동안 배양함. 이후, spectrophotometer (BioTek Instruments, Winooski, VT, USA)를 이용하여 490 nm에서 흡광도를 측정하였고 LDH release (%) 백분율은 다음 식을 사용하여 계산함.

$$\text{LDH release (\%)} = [A_{\text{sample}} \text{ LDH release} / A_{\text{maximum}} \text{ LDH release}] \times 100$$

2) 세포염증성 검사

- 염증성 유전자(interleukin-1 beta, IL-1β; interleukin-6, IL-6; tumor necrosis factor-alpha, TNF-α) 발현량을 평가하기 위해 6-well plate에  $1 \times 10^6$  cells/mL 농도로 세포 배양 후 antibiotic-free DMEM 배양액에서  $10^6$  및  $10^7$  CFU/mL 농도로 *Staphylococcus hominis* subsp. *hominis* Wikim0113와 *Lactobacillus plantarum* Wikim0112(LB5)를 6시간 동안 배양함. 다음으로 세포 염증 반응과 염증성 사이토카인 자극을 위해 선발 균주를 포함하는 배지를 제거한 후, 1 µL/mL 농도의 lipopolysaccharide (LPS)를 포함하는 배양액을 2시간 동안 처리함. RNA 추출을 위해 세포를 PBS로 3회 세척 후 TRIzol reagent (Ambion, Austin, TX, USA)와 TOPscript RT DryMIX kit (Enzynomoic, Daejeon, Korea)를 사용하여 total RNA를 추출하고 cDNA를 합성함. 유전자 발현량을 평가하기 위해 quantitative real-time PCR mix (Solgent, Daejeon, Korea)와 Roche LightCycler® 96 System(Roche, Basel, Switzerland)을 사용하여 Initial denaturation 95°C에서 15분, 40 cycles 95°C에서 10초, 60°C에서 10초, 72°C에서 10초의 PCR 조건으로 측정함. 또한, Reference 유전자 glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase (GAPDH)를 사용하여 상대적인 유전자 발현량을 정량화함. 검사에 사용된 target 유전자에 대한 primer은 다음 표와 같음.

<표 3> 검사에 사용된 target 유전자 primer

Name of Genes	Primer Sequence (5'-3')
IL-1β	(F) TGT ACC TGT CCT GCG TGT TGA AAG
	(R) CTG GGC AGA CTC AAA TTC CAG CTT
IL-6	(F) ACA GCC ACT CAC CTC TTC AGA AC
	(R) TTT TCT GCC AGT GCC TCT TTG C
TNF-α	(F) AAG CCC TGG TAT GAG CCC ATC TAT
	(R) AGG GCA ATG ATC CCA AAG TAG ACC
GAPDH	(F) GAC CCC TTC ATT GAC CTC AAC TAC
	(R) ATG ACA AGC TTC CCG TTC TCA G

### 3) 세포부착성 및 침투성 검사

- 선발한 김치유래 발효미생물에 대한 Caco-2 세포 부착 및 침투성 검사는 다음과 같이 실시함. 선발 균주를 15시간 동안 배양 후 원심분리하여 PBS로 3회 세척 후  $1 \times 10^6$  CFU/mL 및  $1 \times 10^7$  CFU/mL 농도로 antibiotic-free DMEM 배양액에 resuspension 함. 다음으로 Caco-2 세포 monolayer에 선발 균주 현탁액을 처리하고 37°C에서 2시간 동안 배양함. 이후, 200  $\mu$ L의 trypsin/EDTA를 사용하여 세포를 떼어내고 800  $\mu$ L의 0.1% Triton X-100로 lysis를 실시함. 부착 균주가 포함된 cell lysate를 연속 희석하여 도말 후 37°C에서 24시간 동안 배양함.
- 세포 침투성 검사를 위해 부착성 검사와 동일 농도로 Caco-2 세포에 선발 균주를 2시간 동안 처리함. 세포 외부의 균을 사멸하기 위해 Caco-2 세포를 PBS로 세척 후 100  $\mu$ g/mL의 gentamicin을 포함하는 DMEM 배양액을 첨가하여 2시간 동안 배양함. 배양 후, 세포를 세척하고, 떼어내고, 용해한 다음 평판 계수법을 통해 viable colony 수를 측정함.

### 4) 항산화능 확인

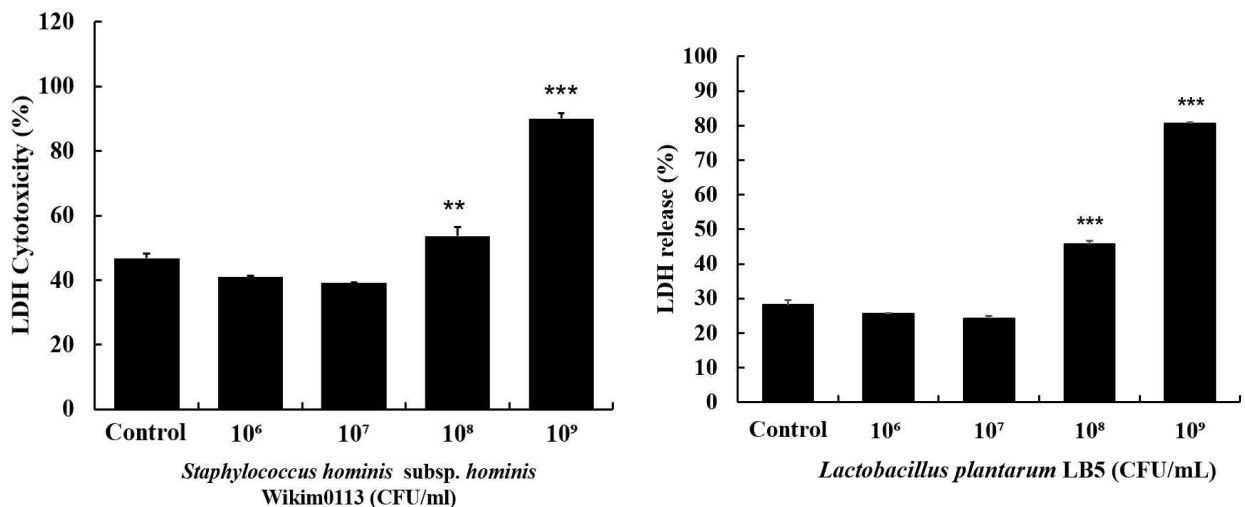
- 선발한 김치유래 발효미생물에 대한 2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl (DPPH) 라디칼 활성 소거능은 다음과 같이 평가됨. DPPH 시약 0.5 mL (0.1 mM)을 동일 부피 0.5 mL의 선발 균주 현탁액( $10^6$  및  $10^7$  CFU/mL)과 혼합한 다음 37°C 어둠 속에서 30분 동안 배양하고 원심분리(14,000 $\times$  g, 1분, 4°C)한 후, spectrophotometer를 이용하여 517 nm에서 흡광도를 측정함. 에탄올이 첨가된 DPPH 시약은 대조군으로 사용되었으며, 라디칼 소거능(%)은 다음 식을 사용하여 계산됨.

$$\text{Radical scavenging activity (\%)} = [1 - (A_{\text{sample}}/A_{\text{control}}) \times 100]$$

#### 나. 연구수행 내용 및 결과

##### 1) 선발한 김치유래 발효미생물의 인간장관 상피세포에 대한 독성시험

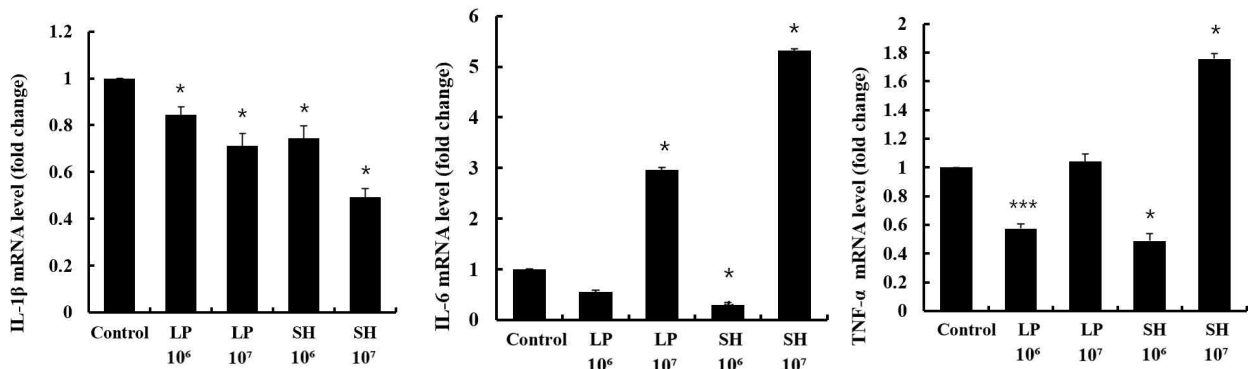
- 선발한 김치유래 발효미생물인 *Staphylococcus hominis* subsp. *hominis* Wikim0113을  $10^6$  부터  $10^9$  CFU/mL로 24시간 동안 장관 상피 세포 (Caco-2)에 처리시  $10^8$  CFU/mL부터 세포 독성을 나타내기 시작하였고( $p < 0.05$ ), *Lactobacillus plantarum* Wikim0112(LB5)를  $10^6$  부터  $10^9$  CFU/mL로 24 시간 동안 장관 상피 세포(Caco-2)에 처리 시  $10^8$  CFU/mL부터 세포 독성을 나타내기 시작함( $p < 0.05$ ).



<그림 26> 선발한 김치유래 발효미생물의 인간장관 상피세포에 대한 독성시험

## 2) 선발한 김치유래 발효미생물의 인간장관 상피세포에 대한 세포염증성 시험

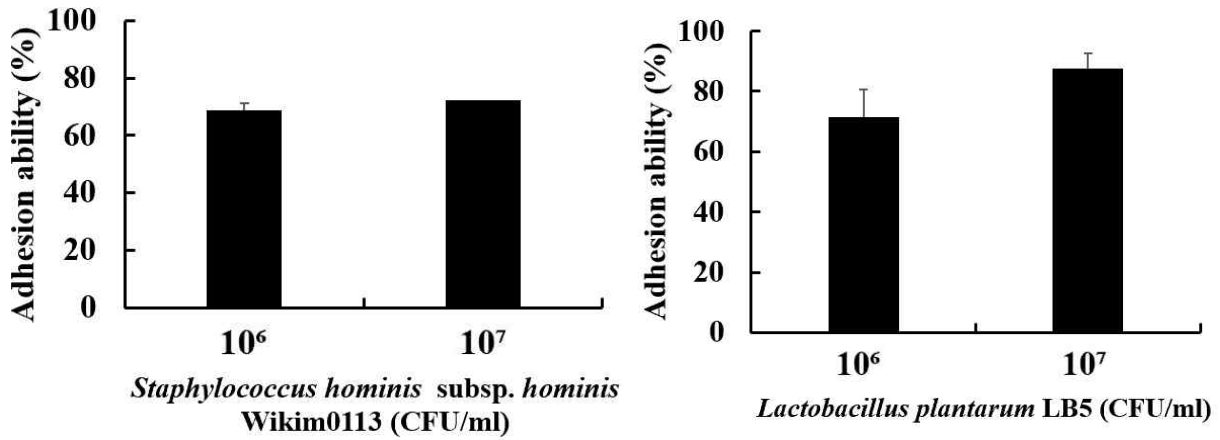
- 선발한 김치유래 발효미생물인 *Lactobacillus plantarum* Wikim0112(LP)와 *Staphylococcus hominis* subsp. *hominis* Wikim0113(SH)을  $10^6$  과  $10^7$  CFU/mL로 24시간 동안 장관 상피 세포에 처리한 결과, 대조군에 비해 IL-1 $\beta$ 의 mRNA 발현량이 유의적으로 감소함( $p < 0.05$ ). *Lactobacillus plantarum* Wikim0112(LP)와 *Staphylococcus hominis* subsp. *hominis* Wikim0113(SH)을  $10^6$  과  $10^7$  CFU/mL로 24 시간 동안 장관 상피 세포에 처리한 결과, 두 가지 미생물 모두  $10^7$  CFU/mL로 처리했을 경우 대조군에 비해 IL-6의 mRNA 발현량이 유의적으로 증가함( $p < 0.05$ ). *Lactobacillus plantarum* LB5(LP)와 *Staphylococcus hominis* subsp. *hominis* Wikim0113(SH)을  $10^6$ 과  $10^7$  CFU/mL로 24시간 동안 장관 상피 세포에 처리한 결과, 두 가지 미생물 모두  $10^6$  CFU/mL로 처리했을 경우 대조군에 비해 TNF- $\alpha$ 의 mRNA 발현량이 유의적으로 감소함( $p < 0.05$ ). 또한, *Staphylococcus hominis* subsp. *hominis* Wikim0113의 경우  $10^7$  CFU/mL로 처리 시 대조군에 비해 TNF- $\alpha$ 의 mRNA 발현량이 유의적으로 증가함( $p < 0.05$ ). 전체적으로 선발한 김치유래 발효미생물인 *Lactobacillus plantarum* Wikim0112(LP)와 *Staphylococcus hominis* subsp. *hominis* Wikim0113(SH)은  $10^6$  CFU/mL의 농도에서 장관상피세포의 염증성 사이토카인의 분비를 억제하는 효과가 있음을 확인함.



<그림 27> 선발한 김치유래 발효미생물의 인간장관 상피세포에 대한 세포염증성 시험

## 3) 선발한 김치유래 발효미생물의 인간장관 상피세포에 대한 부착성 시험

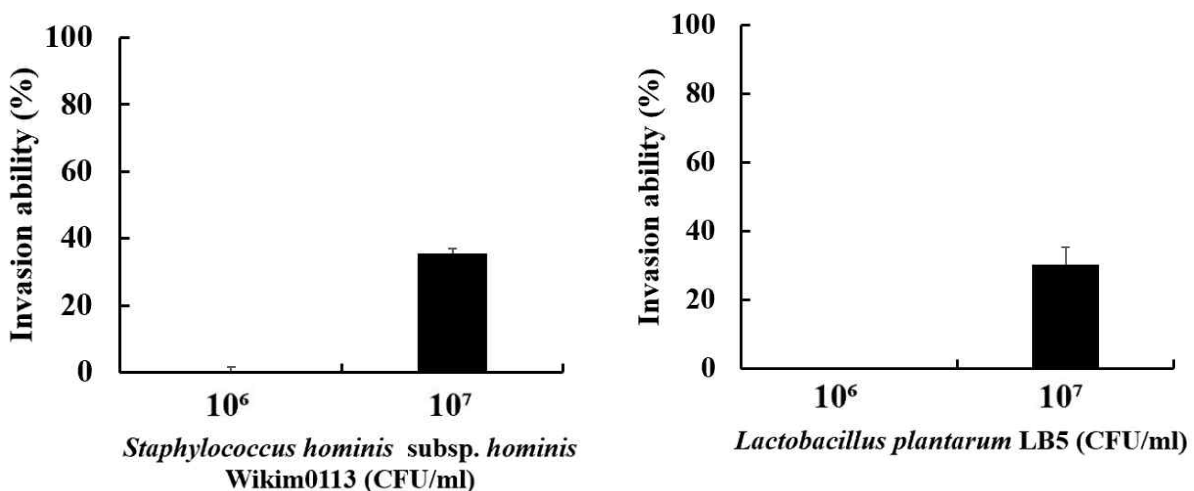
- 선발한 김치유래 발효미생물인 *Staphylococcus hominis* subsp. *hominis* Wikim0113를  $10^6$  과  $10^7$  CFU/mL로 2시간 동안 장관 상피 세포 (Caco-2)에 처리한 결과, 각각 약 68.93%, 72.32%의 부착능을 보임. *Lactobacillus plantarum* Wikim0112(LP5)를  $10^6$  과  $10^7$  CFU/mL로 2시간 동안 장관 상피 세포 (Caco-2)에 처리한 결과, 각각 약 71.60%과 87.67%의 부착능을 나타내었음. *Lactobacillus plantarum* Wikim0112(LP5)와 *Staphylococcus hominis* subsp. *hominis* Wikim0113은 기존 상업화된 유산균과 비교 고찰하였을 때 우수한 장관상피 세포 부착성을 나타내었음.



<그림 28> 선발한 김치유래 발효미생물의 인간장관 상피세포에 대한 부착성 시험

#### 4) 선발한 김치유래 발효미생물의 인간장관 상피세포에 대한 침투성 시험

- 선발한 김치유래 발효미생물인 *Staphylococcus hominis* subsp. *hominis* Wikim0113 를  $10^6$  과  $10^7$  CFU/mL 로 2시간 동안 장관 상피 세포 (Caco-2)에 처리한 결과,  $10^6$  CFU/mL에서는 침투능을 보이지 않았으며  $10^7$  CFU/mL에서는 약 35.45%의 침투능이 확인됨. *Lactobacillus plantarum* Wikim0112(LB5)를  $10^6$ 과 $10^7$  CFU/mL로 2시간 동안 장관 상피 세포 (Caco-2)에 처리한 결과,  $10^6$  CFU/mL 에서는 침투능을 보이지 않았으며  $10^7$  CFU/mL 에서는 약 32.28%의 침투능이 확인됨. 결론적으로 *Staphylococcus hominis* subsp. *hominis* Wikim0113과 *Lactobacillus plantarum* Wikim0112(LB5) 균 주는  $10^6$  CFU/mL에서 장관세포 침투성이 낮아 더욱 안전한 것으로 판단됨.  $10^7$  CFU/mL 에서는 기존 상용화된 유산균과 침투성이 유사한 것으로 고찰되어 역시 인체 안전성이 확보됨.

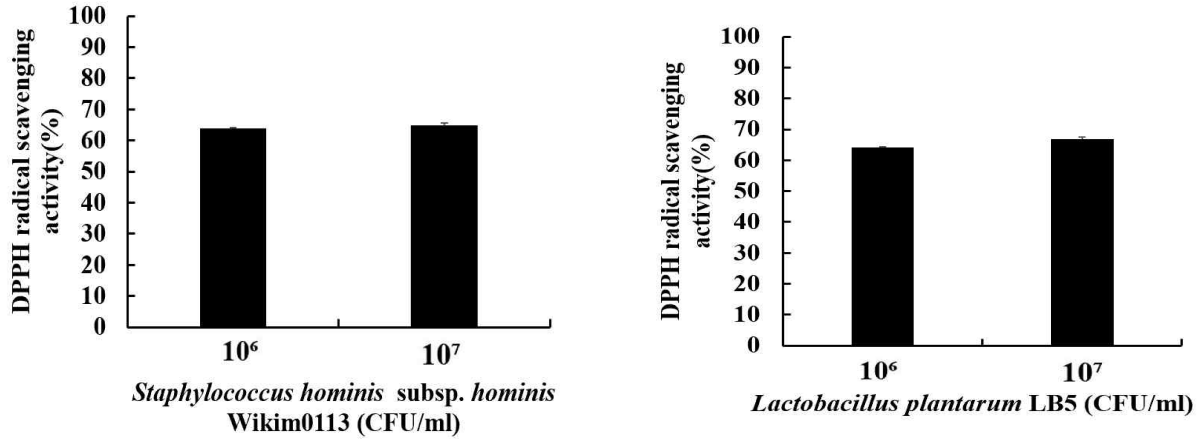


<그림 29> 선발한 김치유래 발효미생물의 인간장관 상피세포에 대한 침투성 시험

#### 5) 선발한 김치유래 발효미생물의 항산화능 확인

- 선발한 김치유래 발효미생물인 *Staphylococcus hominis* subsp. *hominis* Wikim0113 의 DPPH 라디칼 소거능을 확인한 결과,  $10^6$  과  $10^7$  CFU/mL 각각 약 63.98%, 64.93%의 DPPH 라디칼 우수한 소거능을 나타내어 항산화 활성이 우수하였으며,

*Lactobacillus plantarum* Wikim0112(LB5)의 DPPH 라디칼 소거능을 확인한 결과,  $10^6$ 과  $10^7$  CFU/mL 각각 약 64.17%, 66.89%의 우수한 DPPH 라디칼 소거능을 나타내어 항산화 활성이 우수함.



<그림 30> 선발한 김치유래 발효미생물의 DPPH 항산화 활성

[세부 연구개발 목표 3] 선발된 김치유래 발효미생물의 위해유전자 검출 및 면역항원 시험

가. 연구수행 방법

1) 바이오제닉 아민 유전자 검출

- Biogenic amines(histamine과 tyramine) 생성에 관여하는 *hdc* gene(histidine decarboxylase)과 *tdc* gene(tyrosine decarboxylase)을 검출하기 위해 specific primer를 사용하여 PCR 증폭을 수행함. 선발미생물의 균체를 취하고 멸균된 생리식염수에 균체를 2회 세척한 후, DNeasy tissue kit (Qiagen, Valecia, CA, USA)를 사용하여 DNA를 추출함. PCR 증폭에 사용한 primer는 다음 표와 같으며, PCR 반응은 95°C에서 5분 (initial denaturation), 95°C에서 45초(denaturation), *hdc* gene과 *tdc* gene 검출을 위한 annealing 온도는 각각 52°C와 48°C에서 45초, 72°C에서 2분 (extension)을 35 cycles 실시하였고, 72°C에서 5분간 최종 extension을 실시함. Positive control로는 탈탄산 효소 활성이 빠른 시간 내에 양성반응을 나타내는 균주(*Bacillus subtilis* MC138)를 선발하여 비교하였고, negative control로는 배양에 사용한 배지를 사용함. PCR product는 2% agarose gel 상에서 전기영동을 수행하여 DNA band를 확인함.

<표 4> histidine decarboxylase(*hdc*) tyrosine decarboxylase(*tdc*) 유전자 증폭을 위한 primer

Gene	Primer <sup>1)</sup>	Sequence(5' to 3')	Tm(°C)
<i>hdc</i>	HDC3-F	GAT GGT ATT GTT TCK TAT GA	48
	HDC4-R	CAA ACA CCA GCA TCT TC	
<i>tdc</i>	TD2-F	CAA ATG GAA GAA GAA GTA GG	48
	TD5-R	CAC TAG TCA ACC ATR TTG AA	

<sup>1)</sup>F (forward) and R (reverse) indicate the orientation of the primers in relation to the rRNA sequence. K=G or T; R=A or G; W=A or T; Y=C or T; S=C or G; M=A or C; D=A. G. or T; N=A,G,C or T.

2) Enterotoxin생성 유전자 검출

- Enterotoxin gene 검출하기 위해 specific primer를 사용하여 PCR 증폭을 수행함. 선발 미생물과 양성대조군(*Staphylococcus aureus* ATCC25923)의 균체를 취하고 멸균된 생리식염수에 균체를 2 회 세척한 후, DNeasy tissue kit (Qiagen, Valecia, CA, USA)를 사용하여 DNA를 추출함. PCR 증폭에 사용한 primer는 seb, sec, tsst-1로 밝혀진 염기서열을 참고로 하여 제작함. 독소에 대한 primers의 특이적 염기서열은 다음 표에 나타난 바와 같으며, 각각의 primer는 Bioneer사(Chengwon, Chungbuk, Korea)에서 합성함. PCR 반응은 94°C에서 5분(initial denaturation), 94°C에서 1분(denaturation), seb 56°C, sce 52°C, tsst-1 57°C에서 40초간 각각 annealing, 72°C에서 1분간 extension의 조건으로 30 cycles 실시하였고, 72°C에서 5분간 최종 extension을 실시함. PCR product는 2% agarose gel 상에서 전기영동을 수행하여 DNA band를 확인함.



<표 5> Enterotoxin 생성 유전자 증폭을 위한 primer

Genes	Primers	Oligonucleotides(5' to 3')	Location	Products(bp)
SEB	seb-1	TCG CAT CAA ACT GAC AAA CG	634-653	478
	seb-2	GCA GGT ACT CTA TAA GTG CC	1088-1100	
SEC	sec-1	ACC AGA CCC TAT GCC AGA TG	665-690	371
	sec-2	TCC CAT TAT CAA AGT GGT TTC C	913-935	
TSST-1	tsst 1	ATG GCA GCA TCA GCT TGA TA	51-69	350
	tsst 2	TTT CCA ATA ACC ACC CGT TT	481-495	

### 3) Rapid latex agglutination 시험

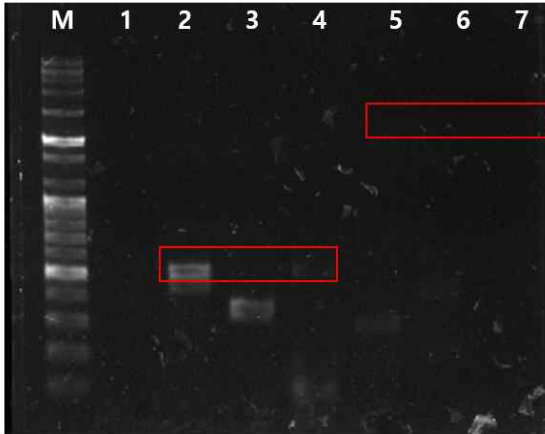
- Rapid latex agglutination 시험은 pastorex staph-plus kit를 이용하여 test latex 시약 한 방울을 떨어뜨리고, 혈액한천 배지에서 증식된 시험균주 3-5 집락을 백금으로 도말한 후, 30초 이내에 응집이 관찰되면 양성으로 판독함. Positive control로는 enterotoxin 독소를 생성하는 균주인 *Staphylococcus aureus* ATCC25923를 분양받아 비교실험함.

## 나. 연구수행 내용 및 결과

### 1) 선발한 김치유래 발효미생물의 바이오제닉 아민 유전자 확인

- 식품 중에 histamine을 다량 섭취할 경우, 오심, 호흡곤란, 발한, 두통, 설사, 경련, 홍반, 두드러기 등이 발생할 수 있으며, tyramine은 가장 강한 혈압증진이 유발되어 심각한 건강상의 위해를 초래할 수 있다고 보고되어 있음. 본 실험에서는 *L. plantarum* WiKim0112와 *S. hominis* subsp. *hominis* WiKim0113 균주의 DNA를 추출하고 주로 검출되는 바이오제닉 아민 중에서 histamine을 생성하는 histidine decarboxylase(*hdc*) gene과 tyramine을 생성하는 tyrosine decarboxylase(*tdc*) gene을 PCR 방법을 통해 확인함.
- *hdc* gene 검출을 위해 전기영동을 수행한 결과, positive control로 사용한 단백질 분해활성이 우수한 *B. subtilis* MC138 균주에서만 *hdc* gene으로 추정되는 435bp band가 확인되어 *B. subtilis* MC138 균주는 histamine을 생성하는 것으로 사료되었고 선발한 김치유래 발효미생물인 *L. plantarum* WiKim0112와 *S. hominis* subsp. *hominis* WiKim0113 균주는 *hdc* gene이 검출되지 않아 histamine을 생성하지 않을 것으로 사료됨. Tyrosine decarboxylase(*tdc*) gene의 경우는 *L. plantarum* WiKim0112와 *S. hominis* subsp. *hominis* WiKim0113 모든 균주에서 확인되지 않음.

Primer designation	Nucleotide sequence (5' to 3')	Target biogenic amine gene	Fragment size (base pairs)
HDC3	GATGGTATTGTTTCKTATGA	histidine-decarboxylase ( <i>hisdC</i> )	435 bp
HDC4	CAAACACCAGCATCTTC		
TD2	ACATAGTCAACCATRTTGAA	tyrosine-decarboxylase ( <i>tyrDC</i> )	1,100 bp
TD5	CAAATGGAAGAAGAAGTAGG		



M, 100kb ladder

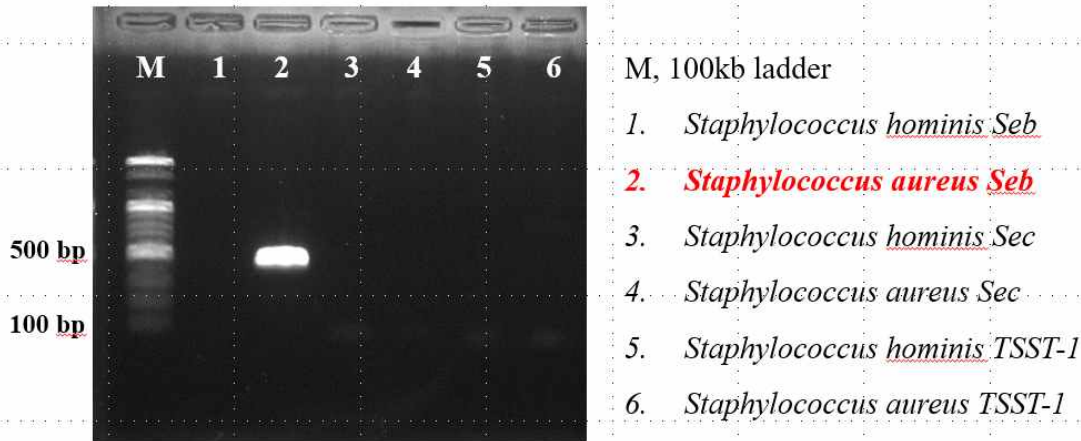
1. Negative control
2. *B. subtilis* MC138-*hdc* gene
3. *S. hominis* WiKim0113-*hdc* gene
4. *L. plantarum* WiKim0112-*hdc* gene
5. *B. subtilis* MC138-*tdc* gene
6. *S. hominis* WiKim0113-*tdc* gene
7. *L. plantarum* WiKim0112-*tdc* gene

<그림 31> 선발한 김치유래 발효미생물의 바이오제닉 아민 유전자 검출

## 2) 선발한 김치유래 발효미생물의 Enterotoxin 생성 유전자 확인

- *Staphylococcus* 균주 중에서 coagulase 양성 균주의 1/3은 섭취시 식중독을 야기할 수 있는 enterotoxin을 생성하고 원인 식품으로는 빵, 햄, 육제품, 아이스크림, 치즈, 샐러드 등으로 알려져 있음. Enterotoxin은 혈청학적으로 A, B, C1, C2, D, E 및 TSST(toxic shock syndrome toxin)의 7 type으로 분류되어 있고 enterotoxin B 생성균주는 비점막 감염 및 enterotoxin B와 C는 식중독 발생과 밀접한 관계가 있다고 보고되어 있음.
- 본 실험에서는 *L. plantarum* WiKim0112와 *S. hominis* subsp. *hominis* WiKim0113 균주의 DNA를 추출하고 주로 검출되는 엔테로톡신 중에서 SEB와 SEC, TSST-1 gene을 PCR 방법을 통해 확인함. *S. hominis* subsp. *hominis* WiKim0113 균주는 SEB, SEC, TSST-1 gene이 검출되지 않아 엔테로톡신을 생성하지 않는 것으로 사료됨. Positive control로 사용한 식중독 균주인 *Staphylococcus aureus* ATCC25923의 경우, SEB 유전자가 확인되어 enterotoxin B를 생성하는 것으로 판단됨.

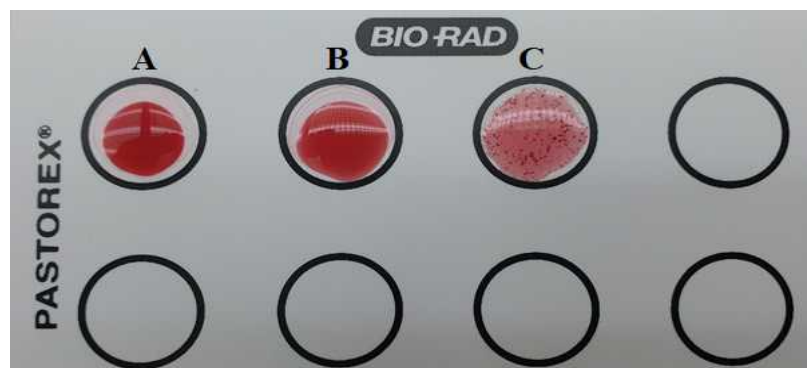
Primer designation	Nucleotide sequence (5' to 3')	Target enterotoxin gene	Fragment size (base pairs)
Seb F	TCG CAT CAA ACT GAC AAA CG	SEB	478
Seb R	GCA GGT ACT CTA TAA GTG CC		
Sec F	ACC AGA CCC TAT GCC AGA TG	SEC	371
Sec R	TCC CAT TAT CAA AGT GGT TTC C		
TSST1	ATG GCA GCA TCA GCT TGA TA	TSST-1	350
TSST2	TTT CCA ATA ACC ACC CGT TT		



<그림 32> 선발한 김치유래 발효미생물의 Enterotoxin 생성 유전자 검출

### 3) 선발한 김치유래 발효미생물의 Coagulase 효소활성과 hemolysin 검사

- Staphylococcal enterotoxin 생성의 지표로 암시되는 특성으로 가장 많이 이용되는 방법은 coagulase 반응이며, coagulase와 hemolysin 특성을 보유한 균이 주로 enterotoxin을 생성한다고 보고되어 있음. 선발한 김치유래 발효미생물의 coagulase 생성을 확인하기 위해 Pastorex staph-plus kit를 이용하여 rapid latex agglutination test를 수행한 결과, positive control로 사용한 식중독균인 *S. aureus* ATCC25923의 균체(C)를 도말한 부위에서의 응집이 확인되었으나 *L. plantarum* WiKim0112(A)와 *hominis* subsp. *hominis* WiKim0113(B)의 균체를 도말한 부위에서는 응집이 확인되지 않아 *L. plantarum* WiKim0112와 *hominis* subsp. *hominis* WiKim0113는 coagulase를 생성하지 않는 균주인 것을 확인함. 일반적으로 coagulase 음성 균주는 엔테로톡신을 생성하지 않는 것으로 알려져 있음.



<그림 33> 선발한 김치유래 발효미생물의 Coagulase 효소활성과 hemolysin 검사

### 2-3. 김치 발효미생물의 starter culture 대량생산 체계 구축 및 산업화

세부 연구개발 목표	세부 연구개발 내용 및 범위	연구비(천원)	연구개발기관
<ul style="list-style-type: none"> <li>선발된 김치 발효미생물의 배양조건 및 특성 조사</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>배양 배지내 패턴(pH, OD값 변화) 및 균주형태 조사</li> <li>최적 배양조건 검토(배양온도, 배양시간, 산소 요구량, 교반속도, 내압 등)</li> <li>적합 배지 및 원료자료 조사</li> <li>우진비앤지에서 보유하고 있는 김치유래 미생물 중 저온(10℃), 고염도 조건에서 생존하는 균주 선별</li> </ul>	63,000	우진비앤지(주)
<ul style="list-style-type: none"> <li>선발된 발효미생물의 산업용 배양조건 확인 및 Plant scale 국산 채소류 농축 및 분말화 최적조건 확립</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>선발균주가 선호하는 탄소원, 질소원, 무기염류 조사</li> <li>탄소원, 질소원, 무기염류 조합비에 따른 최적 조건 조사</li> <li>선정된 산업용 배양배지에 따른 최적 배양조건 조사</li> <li>미생물 원제 제형화 연구 및 동결건조 부형제 조사</li> <li>원제 시제품 제작</li> <li>선발된 채소 및 부산물 이용 Plant scale 농축 분말화 공정조건 확립</li> <li>채소 및 부산물 조합에 따른 Plant scale 표준화 공정조건 확립</li> <li>품질관리체계 확립 및 국산 채소분말 사업화</li> </ul>	108,700	우진비앤지(주) (주)티오에프
<ul style="list-style-type: none"> <li>선발된 발효미생물의 대량생산 체계 구축 및 산업화</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>15 L/30 L 배양조건을 통한 100 L, 2 ton scale up 적용시험</li> <li>대량 배양공정 체계에 따른 생산수율 검토</li> <li>완제품 제형화 및 사업화</li> </ul>	138,000	우진비앤지(주)
<ul style="list-style-type: none"> <li>국산 채소류의 합성아질 산업 대체 소재 대량생산 체계 구축 및 개발제품의 경제성 분석 및 홍보 방안 마련</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>시제품 제조 및 성상, 물성, 안정성 확인</li> <li>상품화를 위한 개발제품의 경제성 분석</li> <li>채소 별, 계절 별 단가 및 원료 수급 현황 조사</li> <li>홍보를 위한 유사 제품의 유통현황 분석 및 브로슈어 제작</li> <li>제품등록</li> </ul>	18,000	(주)티오에프

#### [세부 연구개발 목표 1] 선발된 김치 발효미생물의 배양조건 및 특성 조사

##### 가. 연구수행 방법

##### 1) 후보 미생물의 저온 생존 테스트

- 후보 미생물 선발을 위해 저온 생존률 테스트를 10 ~ 45 °C(5 °C간격) 에서 각 96시간 배양 하여 OD660 값을 측정함.

##### 2) 후보 미생물의 고염분 생존 테스트

- 후보 미생물 선발을 위한 추가 테스트로 고염분 생존률 테스트를 NaCl 1~7%(1% 간격) 에서 각 18시간 배양 하여 균수를 측정함.

##### 3) 최적 온도, pH, 산소요구성 테스트

- Lactobacilli MRS Broth (*L. plantarum* WG1-2, *E. faecium* DSB12), Tryptic Soy Broth (*S. vitulinus* YM3) 배지에 균주를 1 colony를 접종하고 30, 32, 35, 37, 40°C 조건에서 24시간 배양 후 생균수를 측정함.

- 후보 균주의 최적 pH 테스트는 1N HCl, 1N NaOH를 사용하여 pH 2~10 (2 단위)에 Lactobacilli MRS Broth (*L. plantarum* WG1-2, *E. faecium* DSB12), Tryptic Soy Broth (*S. vitulinus* YM3) 배지를 제조하고 이 배지에 균주를 1 colony를 접종하여 37°C, 24 시간 배양 후 OD660 값을 측정함.
- 후보 균주의 산소요구성 테스트는 균주를 Lactobacilli MRS Broth (*L. plantarum* WG1-2, *E. faecium* DSB12), Tryptic Soy Broth (*S. vitulinus* YM3) 에 1 colony를 접종하고 혐기 챔버와 CO<sub>2</sub> 배양기에서 37°C, 24시간 배양 후 OD660 값을 측정함.
- 후보 균주의 최적 교반속도 테스트는 균주를 Lactobacilli MRS Broth (*L. plantarum* WG1-2, *E. faecium* DSB12), Tryptic Soy Broth (*S. vitulinus* YM3) 에 1 colony를 접종하고 0~300 rpm (50 rpm 단위) 조건에서 37°C, 24시간 배양 후 OD660 값을 측정함.

#### 4) 선발된 김치 발효 미생물 (협동기관 : 세계김치연구소)의 배양조건 및 특성 조사

- 선발된 김치 발효 미생물 2 종의 최적 배양온도 테스트는 균주를 각각 Lactobacilli MRS Agar (*L. plantarum* WiKim0112(LB5), Tryptic Soy agar (*S. hominis* WiKim0113) 에 streaking 한 후 4~45°C (4, 10, 15, 20, 25, 30, 37, 45°C), 24시간 배양 후 육안으로 균의 성장을 확인함.
- 선발된 김치 발효 미생물 2 종의 최적 pH 테스트는 1N HCl, 1N NaOH를 사용하여 pH 2.0~10.0 (1.0 단위)에 Lactobacilli MRS Broth (*L. plantarum* WiKim0112(LB5), Tryptic Soy Broth (*S. hominis* WiKim0113) 배지를 제조하고 이 배지에 균주를 1 colony를 접종하여 37°C, 24시간 배양 후 OD660 값을 측정함.
- 선발된 김치 발효 미생물 2 종의 산소 요구성 테스트는 균주를 각각 Lactobacilli MRS Agar (*L. plantarum* WiKim0112(LB5), Tryptic Soy agar (*S. hominis* WiKim0113) 에 1 colony를 접종하고 혐기 챔버와 CO<sub>2</sub> 배양기에서 37°C, 24시간 배양 후 OD660 값을 측정함.
- 선발된 김치 발효 미생물 2 종의 최적 교반속도 테스트는 균주를 각각 Lactobacilli MRS Agar (*L. plantarum* WiKim0112(LB5), Tryptic Soy agar (*S. hominis* WiKim0113) 에 1 colony를 접종하고 0~300rpm (50 단위) 조건에서 37°C, 24시간 배양 후 OD660 값을 측정함.
- 선발된 김치 발효 미생물 *L. plantarum* WiKim0112(LB5) 및 *S. hominis* WiKim0113의 기본배지 (Lactobacilli MRS Agar (*L. plantarum* LB5), Tryptic Soy agar (*S. hominis* WiKim0113)에서의 시간에 따른 pH 와 OD660 값의 변화를 측정하기 위해 배양 4시간 간격으로 샘플링하여 값을 측정하였음.
- 선발된 김치 발효 미생물 2 종의 형태학적 특성은 Bergy's Manual of Determinative Bacteriology에 준하여 진행하였고, Agar plate colony 관찰은 육안으로 cell morphology 는 위상차 현미경 (Phase cotrast microscope)으로 촬영하여 균의 형태를 확인하였음.
- 미생물을 배양하기 위해서는 배양체가 필요로 하는 영양물질을 공급해주어야 하며, 그 중 탄소원 및 질소원은 미생물의 배양에 필수적으로 작용함. 탄소원은 대부분의 에너지원으로 사용되어 균체의 성장에 영향을 미치고 있으며 질소원은 미생물 증식에 요구되는 단백질 구성성분으로 사용되고 있어 미생물 배양에서 가장 중요한 역할을 담당하고 있음. 따라서, 최적 성장조건에 맞는 탄소원과 질소원 선정을 위해 먼저 flask 을 이용하여 실험을 실시하였음. 기본배지에서 나머지 영양분의 변화를 주지 않고, 탄소원만 변화를 주어 *L. plantarum* WiKim0112(LB5), 의 배양 과정에서 탄소원의 농도별 영향

을 조사하였음. 모든 탄소원 (glucose, corn starch, potato starch, lactose, maltose, sucrose, dextrin)은 기본 배지의 탄소량과 같은 0.5%를 첨가하였으며, 37℃ 정치배양의 조건으로 24 시간 배양하여 균수를 확인하였음.

- *L. plantarum* WiKim0112(LB5)의 기본배지에서 나머지 영양분의 변화를 주지 않고, 선정된 탄소원(Glucose)의 농도(1.0~5.0%) 변화를 주어 최적 균수 성장의 탄소원 농도를 측정하였음.
- *Staphylococcus hominis* WiKim0113의 배양 최적 탄소원 종류와 함량에 따른 생장률 실험, *Lactobacillus plantarum* WiKim0112(LB5)와 *Staphylococcus hominis* WiKim0113의 배양 최적 질소원 종류와 함량에 따른 생장률 실험을 진행함.

## 나. 연구수행 결과

<표 6> 우진비앤지(주) 보유 김치 유래 미생물 후보군

순번	유래	미생물 종류
1	배추김치	<i>Lactobacillus plantarum</i> WG1-2
2	배추김치	<i>Lactobacillus plantarum</i> WS15
3	총각김치	<i>Enterococcus faecium</i> DSB12
4	배추김치	<i>Enterococcus faecium</i> DSS22
5	깍두기	<i>Staphylococcus xylosus</i> GS11
6	배추김치	<i>Staphylococcus xylosus</i> GW15
7	총각김치	<i>Staphylococcus xylosus</i> Q4
8	깍두기	<i>Staphylococcus vitulinus</i> YM3
9	배추김치	<i>Staphylococcus vitulinus</i> K2
10	총각김치	<i>Staphylococcus vitulinus</i> HS11

### 1) 후보 미생물의 저온 생존 테스트

- *Lactobacillus plantarum* WG1-2, *Enterococcus faecium* DSB12, *Staphylococcus vitulinus* YM3 균주가 비교적 높은 생존률을 보임<표 7>.



<표 7> 후보 미생물 선발을 위한 저온 안정성 실험

균주명		OD 660							
		10	15	20	25	30	35	40	45
<i>L. plantarum</i> WG1-2	1회	0.16	1.05	1.56	1.15	3.01	3.24	1.01	0.51
	2회	0.24	1.2	1.43	1.67	2.94	3.25	1.02	0.15
	3회	0.37	1.14	1.21	1.92	2.84	3.67	1.23	0.15
	평균	<b>0.26</b>	<b>1.13</b>	<b>1.40</b>	<b>1.58</b>	<b>2.93</b>	<b>3.39</b>	<b>1.09</b>	<b>0.27</b>
<i>L. plantarum</i> WS15	1회	0.06	0.04	0.19	0.51	2.51	2.56	2.10	0.52
	2회	0.04	0.05	0.15	0.52	2.61	2.64	1.64	0.53
	3회	0.04	0.01	0.16	0.67	2.41	3.01	1.98	0.41
	평균	0.05	0.03	0.17	0.57	2.51	2.74	1.91	0.49
<i>E. faecium</i> DSB12	1회	0.37	0.84	1.63	2.00	2.51	3.04	2.21	0.61
	2회	0.31	0.94	1.52	1.84	2.64	2.94	2.51	1.10
	3회	0.29	0.83	1.72	1.67	2.64	2.97	2.09	0.84
	평균	<b>0.32</b>	<b>0.87</b>	<b>1.62</b>	<b>1.84</b>	<b>2.60</b>	<b>2.98</b>	<b>2.27</b>	<b>0.85</b>
<i>E. faecium</i> DSS22	1회	0.03	0.03	0.05	0.67	1.50	2.31	1.34	1.00
	2회	0.01	0.05	0.12	0.27	1.64	2.2	1.67	0.50
	3회	0.03	0.04	0.13	0.64	1.75	2.64	1.53	0.70
	평균	0.02	0.04	0.10	0.53	1.63	2.38	1.51	0.73
<i>S. xylosus</i> GS11	1회	0.05	0.05	0.14	1.15	2.64	2.64	1.01	0.51
	2회	0.06	0.03	0.05	1.67	2.94	2.94	1.02	0.15
	3회	0.01	0.04	0.04	1.92	2.84	2.67	1.23	0.15
	평균	0.04	0.04	0.08	1.58	2.81	2.75	1.09	0.27
<i>S. xylosus</i> GW15	1회	0.06	0.04	0.06	0.51	2.51	3.51	2.10	0.52
	2회	0.04	0.04	0.04	0.52	2.61	3.2	1.94	0.53
	3회	0.04	0.01	0.16	0.67	2.41	3.01	1.67	0.41
	평균	0.05	0.03	0.09	0.57	2.51	3.24	1.90	0.49
<i>S. xylosus</i> Q4	1회	0.01	0.03	0.04	2.00	2.67	3.04	1.52	0.61
	2회	0.02	0.03	0.05	1.84	2.72	3.10	1.42	1.10
	3회	0.01	0.05	0.05	1.67	2.64	2.97	1.67	0.84
	평균	0.01	0.04	0.05	1.84	2.68	3.04	1.54	0.85
<i>S. vitulinus</i> YM3	1회	0.51	0.53	1.05	1.21	2.64	3.24	2.10	0.51
	2회	0.64	0.61	1.06	1.67	2.94	3.51	2.00	0.61
	3회	0.25	0.67	1.54	1.92	2.84	3.61	1.67	0.15
	평균	<b>0.47</b>	<b>0.60</b>	<b>1.22</b>	<b>1.60</b>	<b>2.81</b>	<b>3.45</b>	<b>1.92</b>	<b>0.42</b>
<i>S. vitulinus</i> K2	1회	0.06	0.04	0.06	1.51	2.51	3.24	1.50	0.52
	2회	0.04	0.04	0.04	1.64	2.20	3.20	1.60	0.53
	3회	0.04	0.01	0.16	1.20	2.14	3.01	1.67	0.41
	평균	0.05	0.03	0.09	1.45	2.28	3.15	1.59	0.49
<i>S. vitulinus</i> HW11	1회	0.01	0.03	0.04	1.10	2.51	3.04	1.52	0.61
	2회	0.02	0.03	0.05	1.24	2.61	3.10	1.42	1.10
	3회	0.01	0.05	0.05	1.30	2.64	2.97	1.67	0.84
	평균	0.01	0.04	0.05	1.21	2.59	3.04	1.54	0.85

2) 후보 미생물의 고염분 생존 테스트

- *Lactobacillus plantarum* WG1-2, *Enterococcus faecium* DSB12, *Staphylococcus vitulinus* YM3 균주가 90% 이상의 생존률을 보임<표 8>.

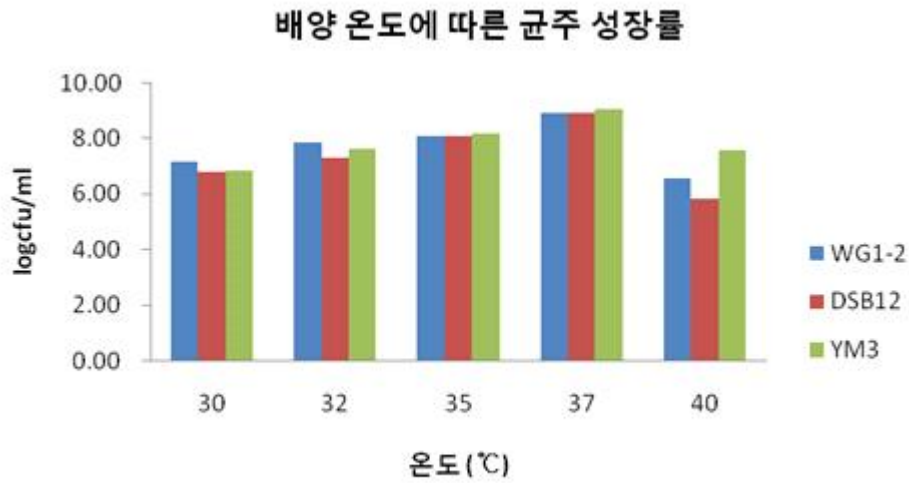
<표 8> 후보 미생물 선발을 위한 고염분 안정성 실험

균주명		균수 (Log cfu/ml)					생존율(%)				
		0%	1%	3%	5%	7%	0%	1%	3%	5%	7%
<i>L. plantarum</i> WG 1-2	1회	9.13	8.88	8.78	8.69	8.62	100	97	96	95	94
	2회	9.05	8.78	8.70	8.72	8.58	100	97	96	96	95
	3회	8.94	8.90	8.80	8.68	8.61	100	100	98	97	96
	평균	<b>9.04</b>	<b>8.85</b>	<b>8.76</b>	<b>8.70</b>	<b>8.60</b>	<b>100</b>	<b>98</b>	<b>97</b>	<b>96</b>	<b>95</b>
<i>L. plantarum</i> WS15	1회	8.88	8.78	7.62	7.23	7.02	100	99	86	81	79
	2회	8.68	8.70	7.42	7.50	7.10	100	100	85	86	82
	3회	8.90	8.80	7.58	7.38	7.12	100	99	85	83	80
	평균	8.82	8.76	7.54	7.37	7.08	100	99	85	84	80
<i>E. faecium</i> DSB12	1회	8.98	8.82	8.80	8.66	8.43	100	98	98	96	94
	2회	9.01	8.90	8.79	8.72	8.58	100	99	98	97	95
	3회	8.95	8.88	8.85	8.65	8.48	100	99	99	97	95
	평균	<b>8.98</b>	<b>8.87</b>	<b>8.81</b>	<b>8.68</b>	<b>8.50</b>	<b>100</b>	<b>99</b>	<b>98</b>	<b>97</b>	<b>95</b>
<i>E. faecium</i> DSS22	1회	8.13	7.34	7.02	6.22	5.89	100	90	86	77	72
	2회	8.09	7.42	6.98	6.48	5.72	100	92	86	80	71
	3회	7.92	7.39	6.89	6.39	5.80	100	93	87	81	73
	평균	8.05	7.38	6.96	6.36	5.80	100	92	87	79	72
<i>S. xylosus</i> GS11	1회	8.55	8.10	7.60	7.24	6.32	100	95	89	85	74
	2회	8.48	7.92	7.65	7.30	6.22	100	93	90	86	73
	3회	8.60	8.12	7.54	7.25	6.27	100	94	88	84	73
	평균	8.54	8.05	7.60	7.26	6.27	100	94	89	85	73
<i>S. xylosus</i> GW15	1회	8.32	8.02	7.82	7.35	5.98	100	96	94	88	72
	2회	8.40	7.89	7.79	7.42	5.88	100	94	93	88	70
	3회	8.52	7.94	7.72	7.22	6.01	100	93	91	85	71
	평균	8.41	7.95	7.78	7.33	5.96	100	95	92	87	71
<i>S. xylosus</i> Q4	1회	8.88	8.62	7.87	7.12	6.50	100	97	89	80	73
	2회	8.92	8.54	7.82	7.21	6.62	100	96	88	81	74
	3회	8.78	8.59	7.79	7.18	6.42	100	98	89	82	73
	평균	8.86	8.58	7.83	7.17	6.51	100	97	88	81	74
<i>S. vitulinus</i> YM3	1회	8.88	8.54	8.59	8.48	8.20	100	96	97	95	92
	2회	8.87	8.62	8.50	8.42	8.24	100	97	96	95	93
	3회	8.90	8.72	8.55	8.45	8.28	100	98	96	95	93
	평균	<b>8.88</b>	<b>8.63</b>	<b>8.55</b>	<b>8.45</b>	<b>8.24</b>	<b>100</b>	<b>97</b>	<b>96</b>	<b>95</b>	<b>93</b>
<i>S. vitulinus</i> K2	1회	8.21	7.85	7.52	6.82	6.12	100	96	92	83	75
	2회	8.32	7.89	7.48	6.79	5.92	100	95	90	82	71
	3회	8.29	7.79	7.58	6.54	5.88	100	94	91	79	71
	평균	8.27	7.84	7.53	6.72	5.97	100	95	91	81	72
<i>S. vitulinus</i> HW11	1회	8.01	7.94	7.21	6.24	5.54	100	99	90	78	69
	2회	8.15	7.84	7.39	6.40	5.27	100	96	91	79	65
	3회	8.09	7.82	7.19	6.12	5.30	100	97	89	76	66
	평균	8.08	7.87	7.26	6.25	5.37	100	97	90	77	66

- 위 실험결과를 바탕으로 *Lactobacillus plantarum* WG1-2, *Enterococcus faecium* DSB12, *Staphylococcus vitulinus* YM3 균주를 후보균으로 선정함.

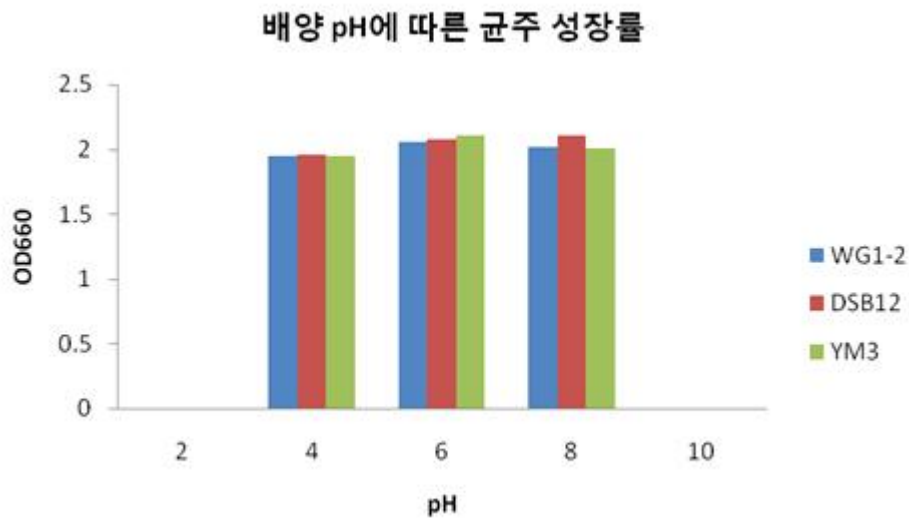
3) 최적 온도, pH, 산소요구성 테스트

- 세 균주 모두 37°C 에서 최적 성장률을 보임<그림 34>.



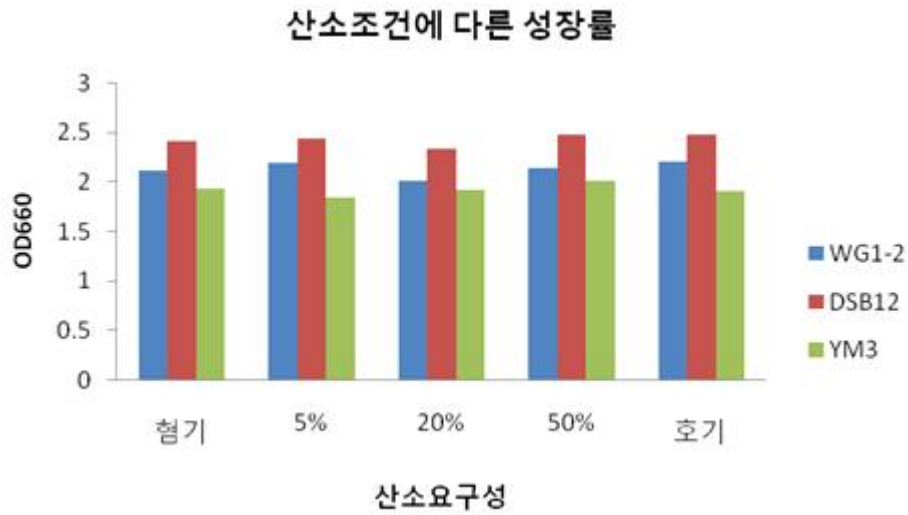
<그림 34> 배양 온도에 따른 균 성장률

- 세 균주 모두 pH 범위 6~8에서 최적 성장을 보임<그림 35>.



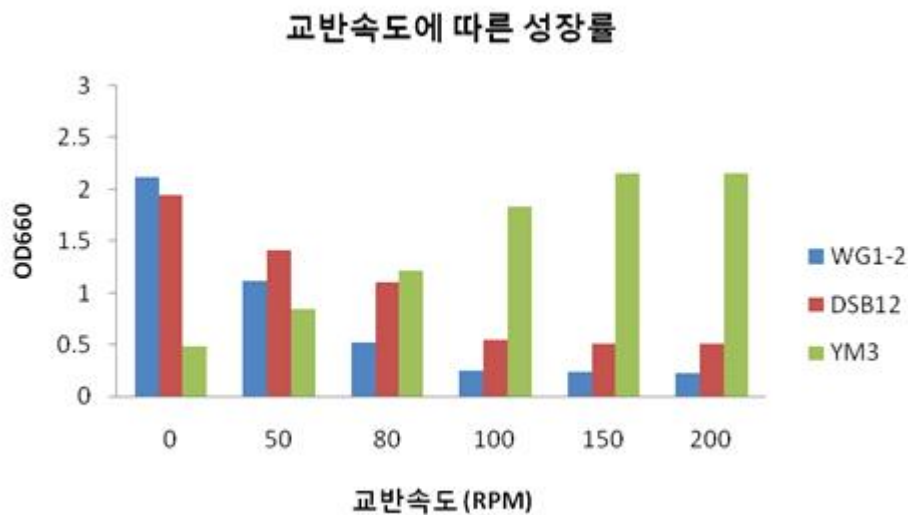
<그림 35> 배지 pH 에 따른 균 성장률

- 세 균주 모두 호기, 혐기조건에서 성장하는 것을 확인함(통성혐기균)<그림 36>.



<그림 36> 산소조건에 따른 균 성장률

- *L. plantarum* WG1-2, *E. faecium* DSB12 은 정치배양조건에서 최적 성장률을 보였고, *S. vitulinus* YM3 는 200rpm 이상에서 최적 성장률을 보임<그림 37>.



<그림 37> 배양 교반속도에 따른 균 성장률

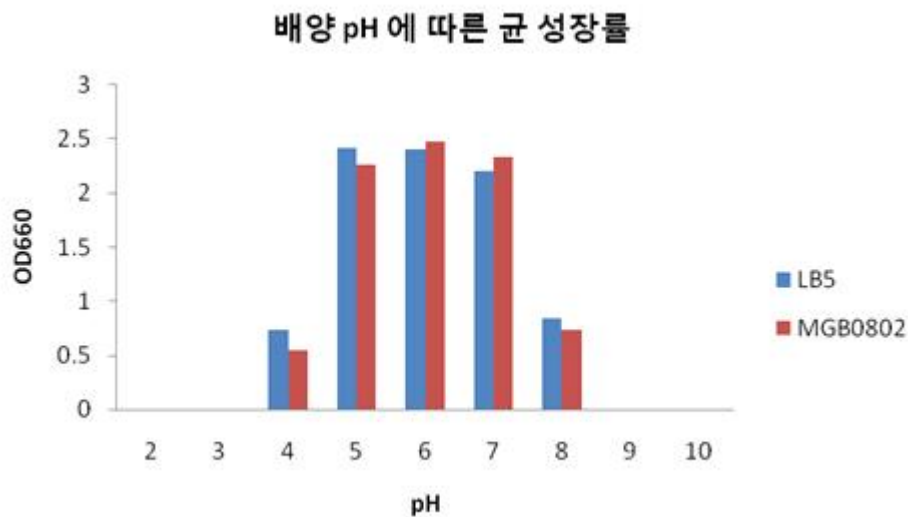
4) 선발된 김치 발효 미생물 (협동기관 : 세계김치연구소)의 배양조건 및 특성 조사

- 두 균주 모두 4~37℃의 온도 범위에서 성장하고 최적 온도는 37℃이며, 45℃에서는 성장하지 않음<표 9>.

<표 9> 배양 온도에 따른 균 성장률

온도 (°C)	4	10	15	20	25	30	37	45
WiKim0112	+	+	++	++	++	+++	+++++	-
WiKim0113	+	+	++	++	++	+++	+++++	-

- 두 균주 모두 pH 범위 6.0 에서 최적 성장을 보임<그림 38>.



<그림 38> 배양 pH 에 따른 균 성장률

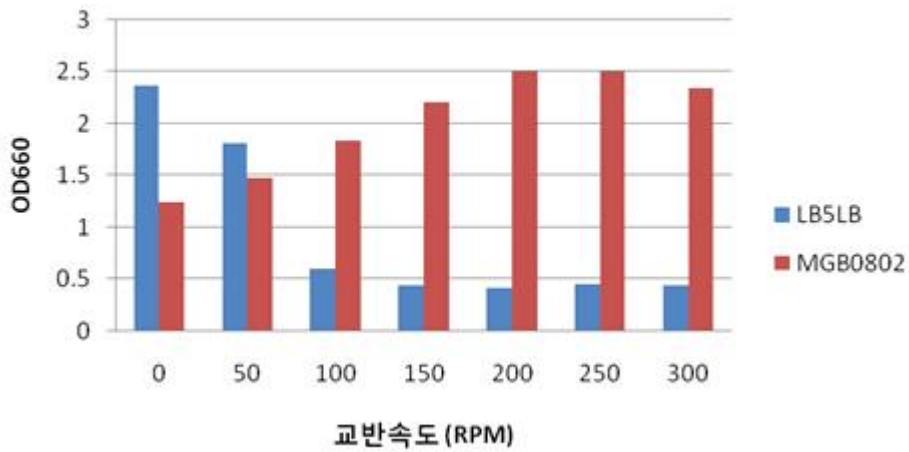
- 세 균주 모두 호기, 혐기조건에서 성장함(통성혐기균)<표 10>.

<표 10> 산소조건에 따른 균 성장률

온도 (°C)	호기	20%	혐기
WiKim0112	+++++	+++++	+++++
WiKim0113	+++++	+++++	+++++

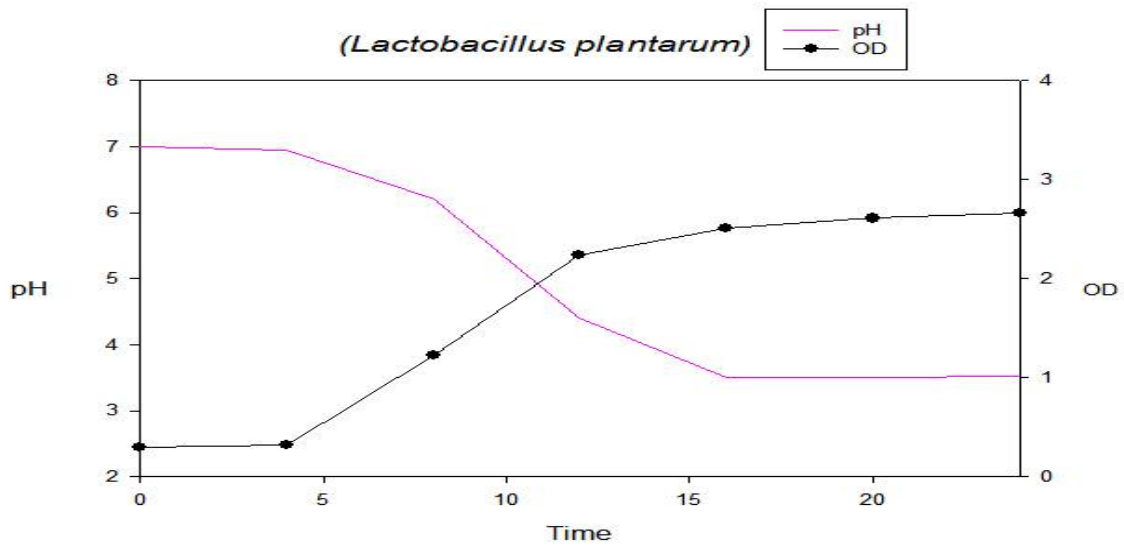
- *L. plantarum* WiKim0112은 정치조건에서, *S. hominis* WiKim0113 은 200RPM 에서 최적 성장을 보임<그림 39>.

교반속도에 따른 균의 성장률

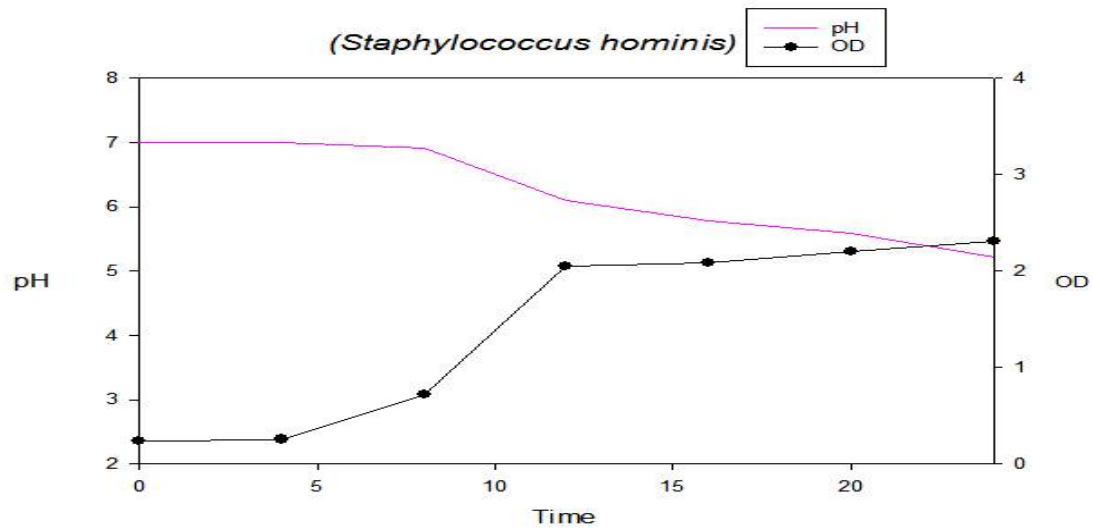


<그림 39> 배양 교반속도에 따른 균 성장률

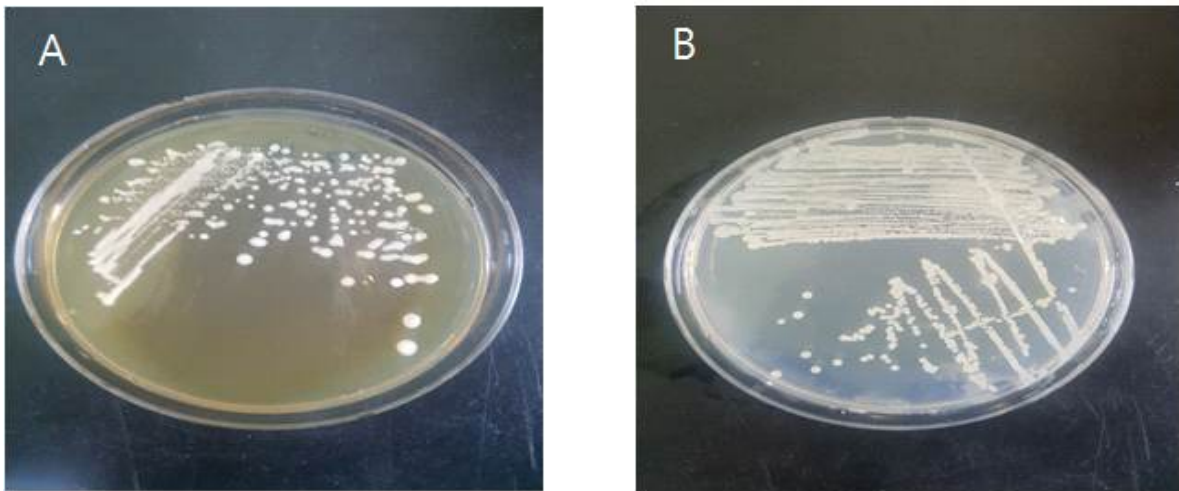
- *L. plantarum* WiKim0112 pH 는 7.0 에서 3.5까지 하락하였고 대수기는 약 16시간 까지 이며 이후 OD660 값 상승이 정체됨<그림 40>. 그리고 *S. hominis* WiKim0113의 pH는 7.0에서 5.2까지 하락하였고 대수기는 약 12시간까지이며 이후 OD660 값이 정체됨<그림 41>.



<그림 40> 배양 온도에 따른 균 성장률(*Lactobacillus plantarum* LB5)



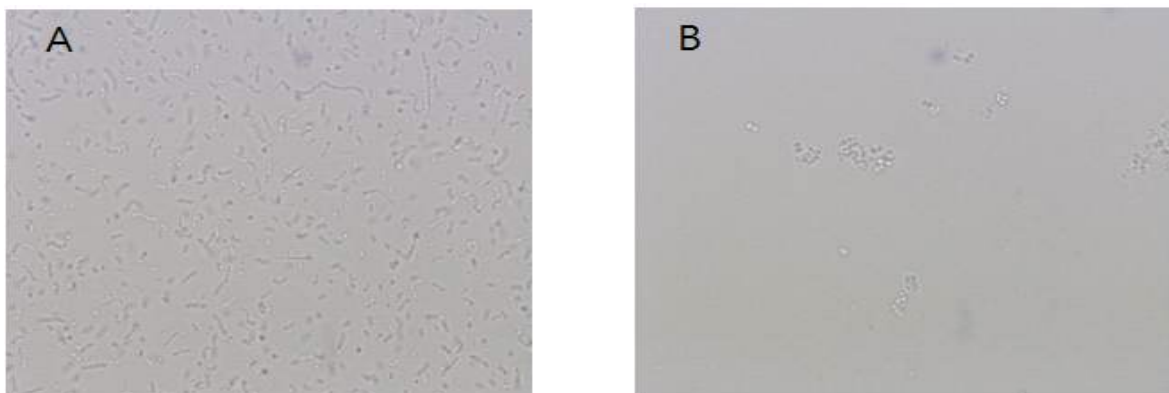
<그림 41> 배양 온도에 따른 균 성장률 (*Staphylococcus hominis*)



<그림 42> 선발된 균주의 Colony 형태

A: *Lactobacillus plantarum* LB5, B: *Staphylococcus hominis*

A, B : circular, convex, entire



<그림 43> 선발된 균주의 위상차현미경상의 형태

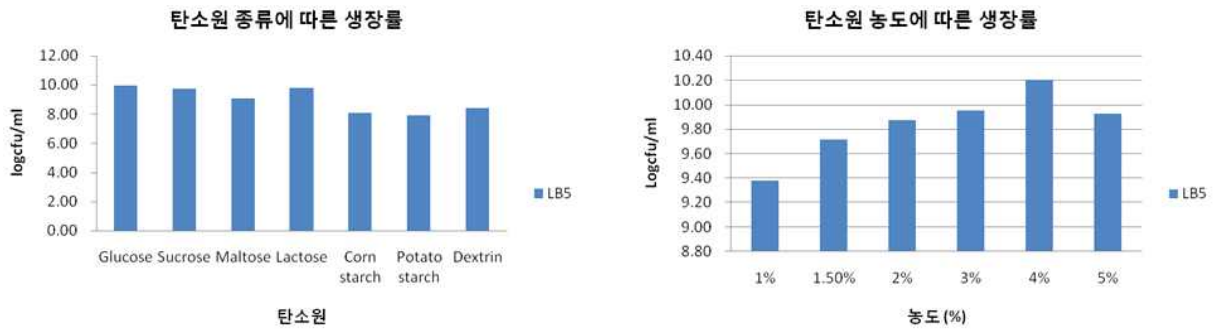
A: *Lactobacillus plantarum*,

B: *Staphylococcus hominis*) Cells were grown on MRS Broth, Tryptic soy broth at 37°C for 18hr

A: short rod, single or pair, B: spherical (cocci), and form in grape-like clusters



- *L. plantarum* WiKim0112는 glucose를 첨가 시 균수가 높게 나타나 최적의 탄소원으로 glucose로 선정하였음<그림 44>.
- *L. plantarum* WiKim0112의 경우 glucose 4%농도에서 가장 높은 성장률을 보임<그림 44>.



<그림 44> 탄소원(Carbon source) 종류와 농도에 따른 성장을

- *Staphylococcus hominis* WiKim0113의 배양 최적 탄소원 종류와 함량에 따른 성장률 실험, *Lactobacillus plantarum* WiKim0112와 *Staphylococcus hominis* WiKim0113의 배양 최적 질소원 종류와 함량에 따른 성장률 실험을 완료함.

[세부 연구개발 목표 2] 선발된 발효미생물의 산업용 배양조건 확인 및 Plant scale 국산 채소류 농축 및 분말화 최적조건 확립

가. 연구수행 방법

1) 우진비앤지 Fermentor를 이용한 *L. plantarum* WiKim0112 균주의 최적 탄소원, 질소원 배지 연구

- 1년차 연구결과(Flask)를 활용한 scale fermentor에서의 탄소원, 질소원 배지성능을 확인함. Flask 연구와 실제 산업생산의 결과가 다르게 도출될 수 있기 때문에 확인이 필요함.
- 기본배지에서 나머지 영양분의 변화를 주지 않고, 탄소원만 변화를 주어 *L. plantarum* WiKim0112(LB5)의 배양 과정에서 탄소원의 농도별 영향을 조사하였음. 모든 탄소원 (glucose, corn starch, potato starch, lactose, maltose, sucrose, dextrin)은 기본 배지의 탄소량과 같은 0.5%를 첨가하였으며, 37°C 조건으로 24시간 배양하여 균수를 확인하였음.
- glucose 함량에 따른 *L. plantarum* WiKim0112도 검증 해보았음. 배양조건은 기본배지에 탄소원(glucose)의 농도만 달리하여 <표 12>의 배양조건으로 동일하게 배양하였고, 배양종료시간은 OD값이 상승하지 않는 시점으로 농도별로 상이하나 일정하게 배양하였음.
- 질소원 변경실험에서는 앞서 수행된 탄소원 실험(Glucose 4%)을 토대로 glucose함량을 4%로 보정하여 기본배지에 각 질소원 yeast extract, soy bean power, soy peptone, casein peptone, Sodium casein을 0.5% 첨가하여 30 L jar fermenter를 활용하여 성장율을 확인함. 배양조건은 <표 11>과 동일함.
- 같은 함량일 때 수율의 차이가 없으므로 C/N율을 계산하여 yeast extract 2%와

SBP(soy bean powder), soy peptone 각 1%의 생장율을 비교함. 배양 조건은 <표 11>과 동일함.

## 2) WiKim0113(*Staphylococcus hominis*) 대한 30 L fermentor를 이용한 탄소원, 질소원 종류별 실험 및 함량에 따른 성장실험

- 김치유래 WiKim0113(*Staphylococcus hominis*)균주의 경우 기본 배지를 Tryptic soy Broth(TSB) Difco를 기준으로 하였으며, 이에 포함되는 모든 탄소원 (glucose, corn starch, potato starch, lactose, maltose, sucrose, dextrin)을 달리하여 생산율을 비교하였음. 실험은 우진비앤지 주식회사 중앙연구소내 비치되어있는 30 L jar fermentor를 활용하여 진행함.
- 선정된 탄소원(glucose)를 제외한 나머지는 기본배지 조성으로 하여 농도별(0.5, 1, 1.5, 2, 3, 4, 5%) 생장율 실험을 진행함. 배양조건은 <표 13>과 같으며 배양종료 시점은 OD값이 하락하는 시점에 맞추어 각 농도별 실험 오차는  $\pm 2$ 시간으로 나타남.
- 질소원 변경실험에서는 앞서 수행된 탄소원 실험(Glucose 4%)을 토대로 glucose함량을 4%로 보정하여 기본배지에 각 질소원 Yeast extract, Soy bean power, Soy peptone, Casein peptone을 0.5% 첨가하여 Scale fermenter를 활용하여 생장율을 확인함.
- 이중 가장 수율이 높은 Yeast extract와 Soy peptone, Caseine peptone을 조합한 질소원 농도별 배지를 실험함.

## 3) 우진비앤지 Fermentor를 이용한 *L. plantarum* WiKim0112(LB5) 생산공정 확인(C/N율, pH buffer의 선택, Aeration, 배양시간 등)

- 상기 실험내용을 종합하여 결과를 도출함.

## 4) 우진비앤지 Fermentor를 이용한 WiKim0113(*Staphylococcus hominis*) 생산공정 확인(C/N율, pH buffer의 선택, Aeration, 배양시간 등)

- 상기 실험내용을 종합하여 결과를 도출함.

## 5) *L. plantarum* WiKim0112(LB5) 균주의 동결보존제별 안정성 확인

- 동결건조 부형제의 선택은 배양완료액을 원심분리기를 이용하여 8,000 rpm, 5 min의 조건으로 10 배 농축하여 100 mL로 만든 뒤 각각의 부형제를 혼합하여 약 6일 동안 동결건조기에서 건조하여 분쇄하였음.

## 6) WiKim0113(*Staphylococcus hominis*) 균주의 동결보존제별 안정성 확인(실험 진행중)

- 동결건조 부형제의 선택은 배양완료액을 원심분리기를 이용하여 8,000 RPM, 5 min의 조건으로 10배 농축하여 100 mL로 만든 뒤 각각의 부형제를 mix하여 약 6 일동안 동결건조기에서 건조하여 분쇄하였음. 현재 각 조성을 실온, 냉장, 냉동 보관하여 1개월 단위로 안정성 실험을 진행하고 있음.

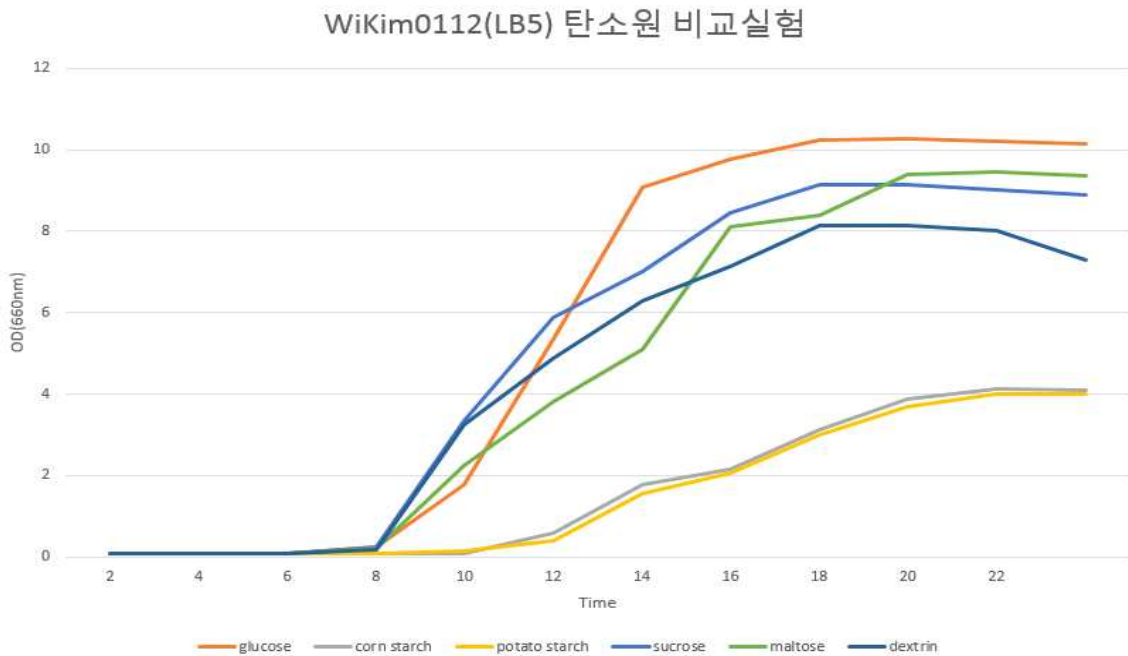
### 나. 연구내용 및 결과

#### 1) 우진비앤지 Fermentor를 이용한 *L. plantarum* WiKim0112 균주의 최적 탄소원, 질소원 배지 연구

- *L. plantarum* WiKim0112(LB5)는 glucose를 첨가 시 균수가 높게 나타나 최적의 탄소원으로 glucose로 선정하였음.

<표 11> *L. plantarum* WiKim0112(LB5) 배양조건

조건	<i>L. plantarum</i> WiKim0112(LB5)
온도(°C)	37
초기 pH 및 control	7.0
RPM	90
내압(bar)	최소양압
통기량	0.01 VVM
종균 접종량(%)	1.0

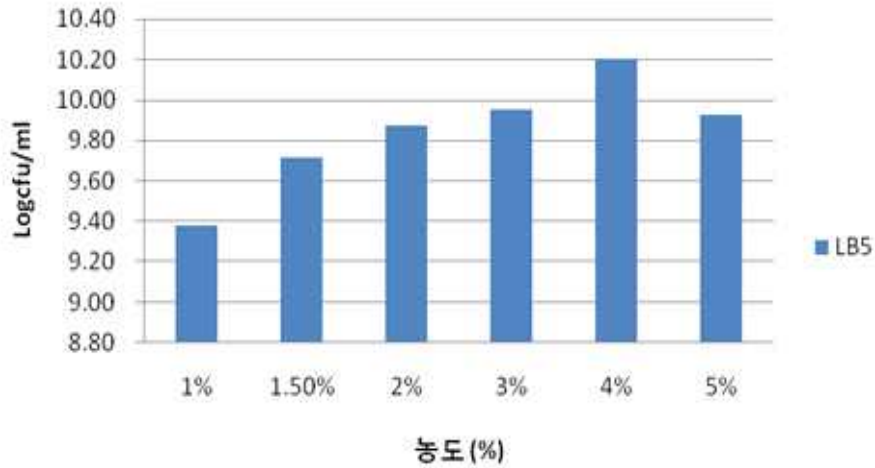


<그림 45> 탄소원(Carbon source) 종류에 따른 생장율

<표 12> *L. plantarum* WiKim0112(LB5) 탄소원 종류에 따른 생장율

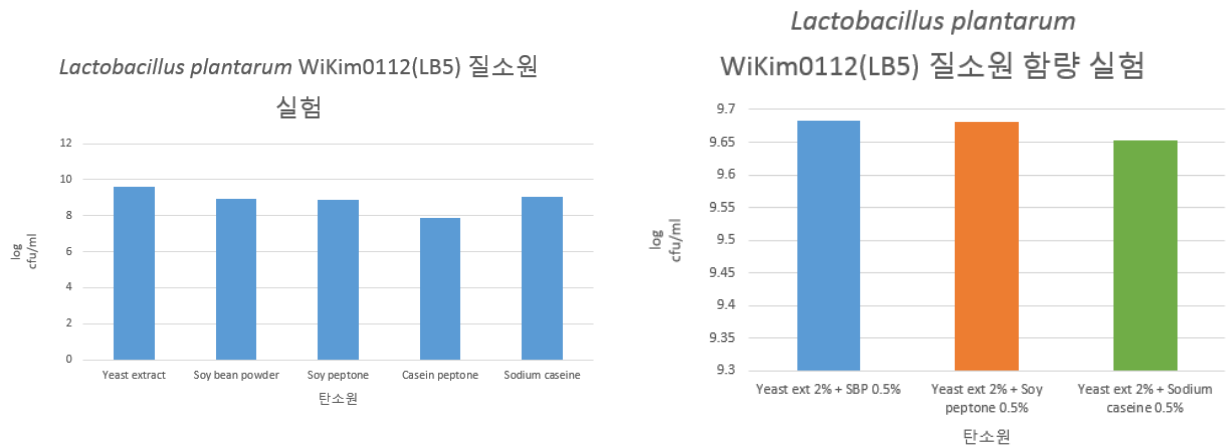
Time (h)	OD(660nm)						
	Lactose	Glucose	Corn starch	Potato starch	Sucrose	Maltose	Dextrin
0	0.20	0.10	0.20	0.10	0.20	0.20	0.10
2	0.20	0.10	0.20	0.10	0.20	0.20	0.10
4	0.20	0.10	0.20	0.10	0.20	0.20	0.10
6	0.18	0.25	0.10	0.10	0.18	0.18	0.25
8	0.21	0.55	0.10	0.15	0.21	0.21	0.55
10	0.55	1.88	0.58	0.39	0.35	0.35	0.68
12	1.75	3.52	1.77	1.57	1.44	1.44	1.20
14	2.66	4.59	2.15	2.05	2.50	2.50	2.40
16	3.13	5.11	2.50	2.00	2.75	3.0	3.57
18	3.44	5.32	2.50	2.10	2.91	3.5	4.44
20	3.77	5.39	2.52	2.10	2.94	3.57	4.95
22	4.05	5.44	2.60	2.10	2.99	3.68	5.11

### 탄소원 농도에 따른 생장률



<그림 46> 탄소원(Carbon source) 농도에 따른 생장율

- 1년차 연구결과(Flask 실험)에서와 동일하게 glucose를 탄소원으로 사용하였을 시 가장 높은 생장율을 보였으며 최종 생산배지의 탄소원(Carbon source)로 선정됨.
- 실험결과 4%일 때 가장 높은 수율을 나타내어 최종 결정하였음.

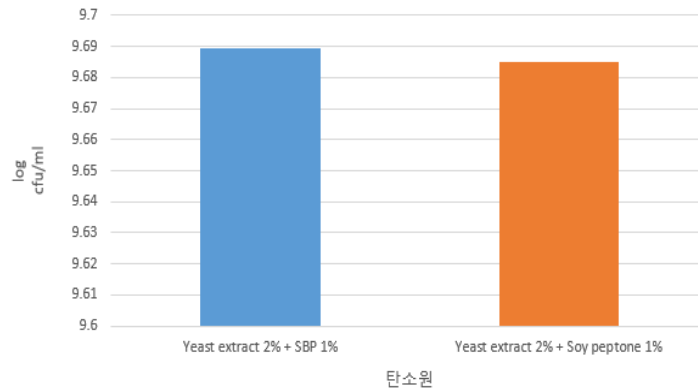


<그림 47> 질소원 종류와 농도에 따른 생장을 비교실험

- 질소원 비교결과 Yeast extract가 가장 높은 수율을 보였으며, Casein peptone을 제외한 나머지 질소원들은 고른 결과를 나타냄. 사전 연구결과 *L. plantarum* Wikim0112 대두분류(Soy)질소원을 영양배지로서 활용하는 것을 확인하였고, 가장 수율이 높은 Yeast extract와 Soy bean powder, Soy peptone을 조합한 질소원 배지를 각각 실험함. 동등한 수율을 보인 Sodium caseine도 실험함.
- 질소원 비교 및 함량실험 결과 Yeast extract와 Soy bean powder 및 Soy peptone을 조합한 질소원 배지가 높은 수율을 보임.

*Lactobacillus plantarum* WiKim0112(LB5)

질소원 농도별실험



<그림 48> 질소원 농도에 따른 성장을

- 질소원 농도에 따른 실험에서 yeast extract 2% + soy bean powder 1%의 수율이 높았으며, soy peptone 1%와는 큰 차이를 보이지 않았음. 실제 생산이나 실험배양 시 soy bean powder의 성상이 soy peptone보다 좋지 않음. 배양완료 후 배지 부산물이 많이 남고 멸균 시 foam이 생기는 문제가 있음. 그러나 멸균 시 foam의 발생은 소포제로 control 가능하였음. Soy peptone의 경우 SBP와 비교 시 원료 단가가 매우 높고, Soy peptone 원료수급이 원활하지 않아(COVID-19 감염증 확산으로 원료수급 어려움), 최종 질소원은 yeast extract 2%, soy bean powder 1%로 결정하였음.

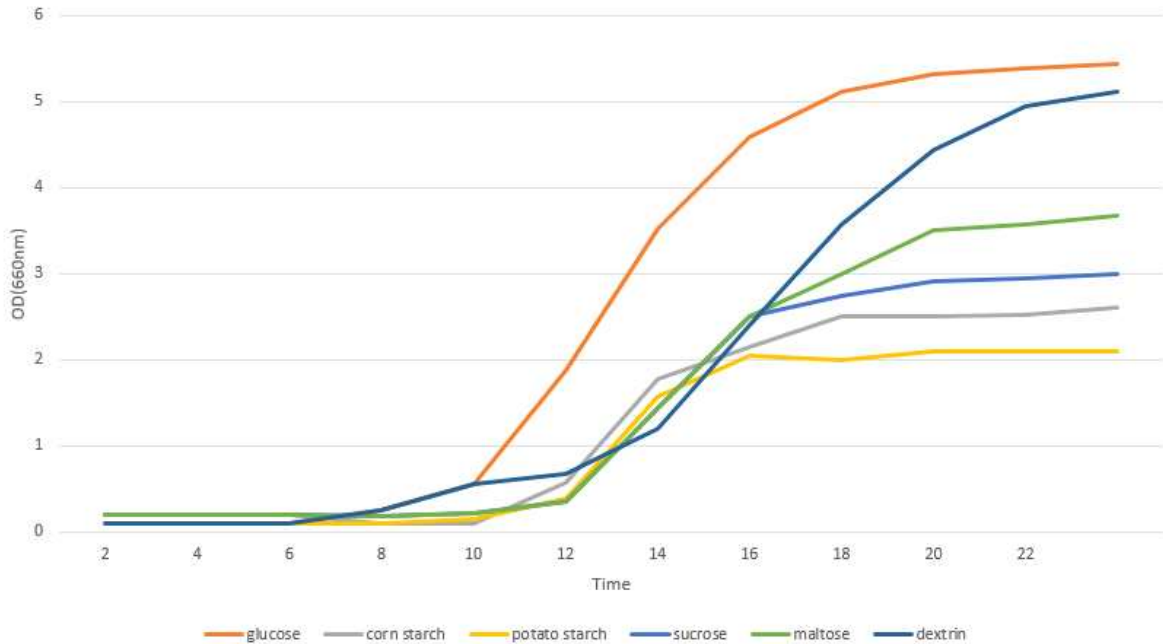
2) WiKim0113(*Staphylococcus hominis*)대한 30 L fermentor를 이용한 탄소원, 질소원 종류별 실험 및 함량에 따른 성장 실험

<표 13> *Staphylococcus hominis* WiKim0113 배양조건

조건	<i>Staphylococcus hominis</i> WiKim0113
온도(°C)	37
초기 pH 및 control	6.5
RPM	120
내압(bar)	0.5
통기량	0.5 VVM
종균 접종량(%)	1.0

WiKim0113(MGB0802)

탄소원 비교실험

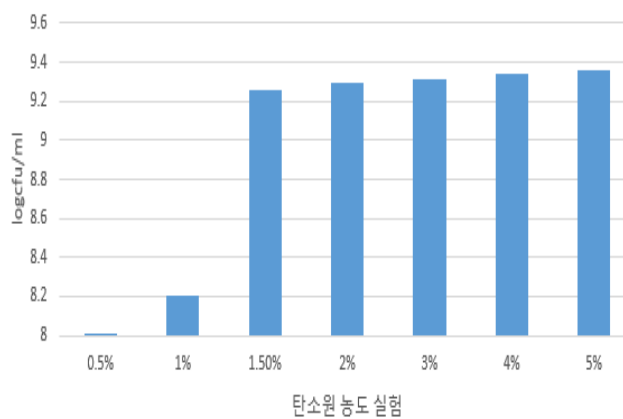


<그림 49> 탄소원(Carbon source) 종류에 따른 생장을

- 1년차 실험(flask test)와 비슷한 결과로 탄소원 중 glucose가 가장 높은 생장을 보임.

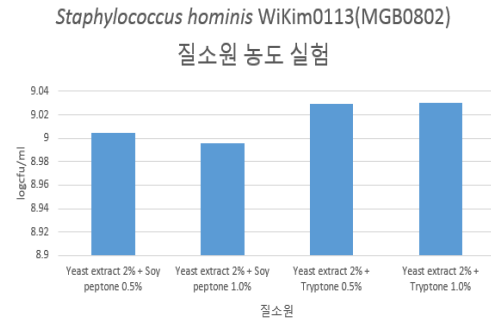
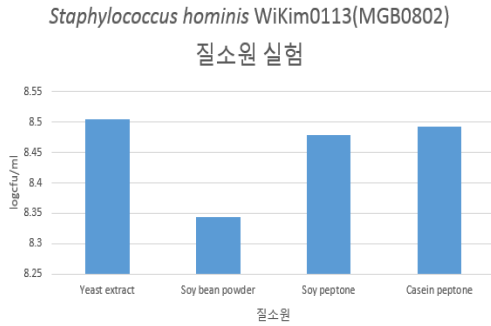
*Staphylococcus hominis* WiKim0113(MGB0802)

탄소원 농도 실험



<그림 50> 탄소원(Carbon source) 농도에 따른 생장을

- 실험결과 4%와 5%의 농도에서 생장율이 가장 높았음. 3반복 실험결과 탄소원 (glucose)함량에 따른 차이가 미미한 것으로 나타나 최종 탄소원은 4% glucose를 선택함.



<그림 51> 질소원 종류와 농도에 따른 생장을 비교실험

- 질소원 비교결과 yeast extract가 가장 높은 수율을 보였으며, soy bean powder를 제외한 나머지 질소원들은 고른 결과를 나타냄.
- 농도별 실험결과 Yeast extract 2%와 Tryptone 1%를 조합한 배지의 생장율이 가장 높은 것으로 판단되었음. Tryptone 0.5%, 1% 함량 배지의 반복실험 결과 생장율은 오차 범위  $\pm 5\%$  미만으로 측정되는 바 원료단가에서 경제적 효과를 나타낼 수 있는 0.5% Tryptone 배지를 최종 질소원으로 선택함.

3) 우진비앤지 fermentor를 이용한 *L. plantarum* WiKim0112(LB5) 생산공정 확인(C/N율, pH buffer의 선택, Aeration, 배양시간 등)

- 위 연구결과 <그림 46, 47, 48, 49>를 바탕으로 최종 배지선정 및 배양공정을 확립함.

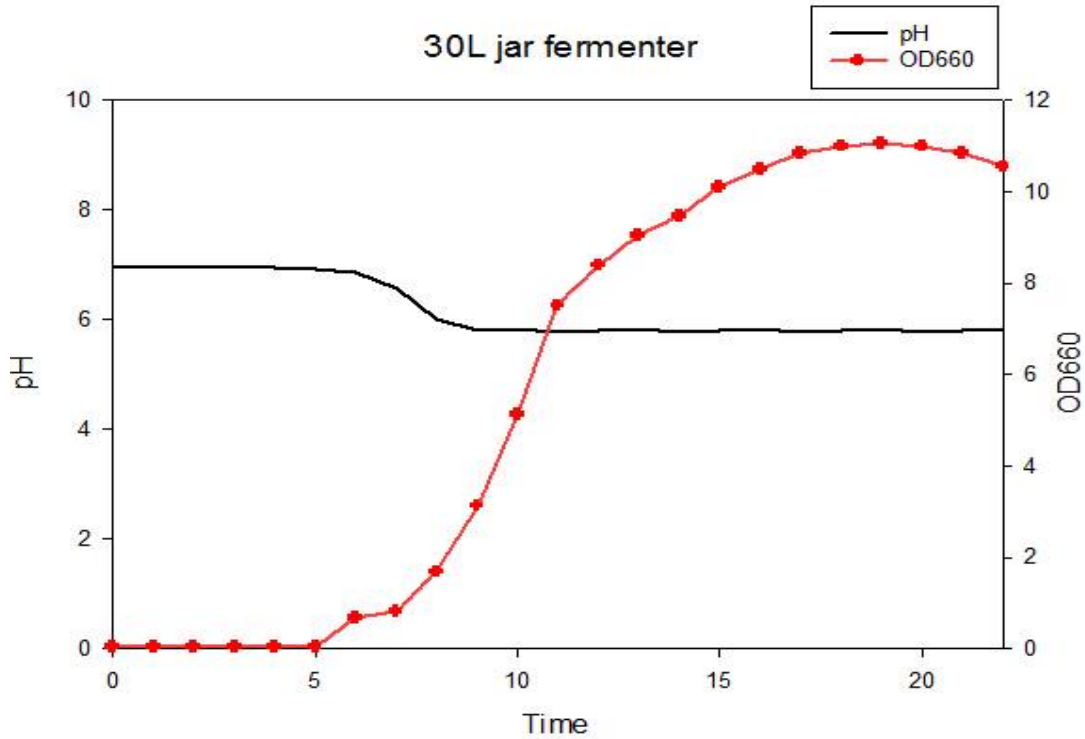
<표 14> *L. plantarum* WiKim0112(LB5) 최종 생산조건

조건	<i>L. plantarum</i> WiKim0112(LB5)
온도(°C)	37
초기 pH 및 control	초기 : 7.0, Control : 5.8
RPM	80
내압(bar)	최소양압
통기량	양압유지, 중반부 이후는 X
종균 접종량(%)	1.0

<표 15> *L. plantarum* WiKim0112(LB5) 최종 생산 배지

원료명	조성(%)
무수결정포도당(별살)	4.000
S.B.M (Powder)	0.500
Yeast ext	2.000
Magnesium sulfate 7H2O	0.100
Manganese sulfate 5H2O	0.040
L-cystein HCl	0.010
Sodium chloride	0.100
Sodium hydrogen phosphate, Di	0.600
Calcium carbonate	0.100
Konion	0.050





<그림 52> *L. plantarum* WiKim0112(LB5)의 배양 차트

- 위와 같은 생산공정의 확립으로 배양액 기준  $4 \times 10^9$  CFU/mL의 수율을 확보함.

4) 우진비앤지 Fermentor를 이용한 WiKim0113(*Staphylococcus hominis*) 생산공정 확인(C/N율, pH buffer의 선택, Aeration, 배양시간 등)

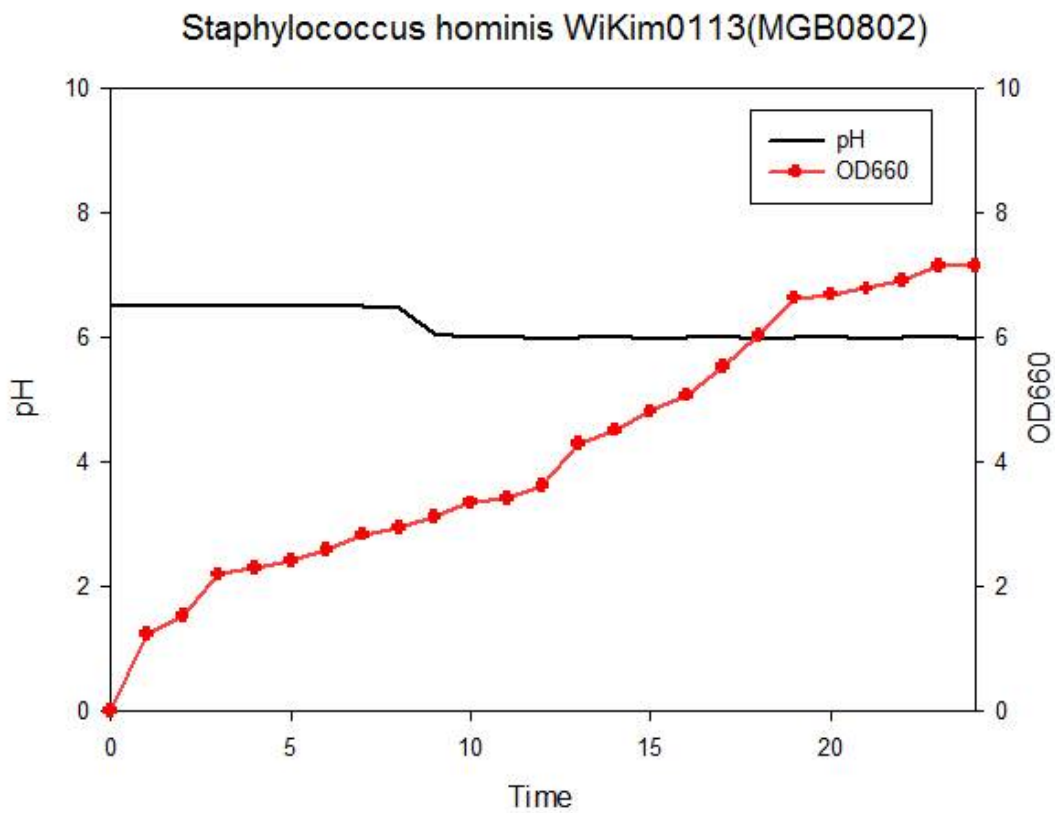
- 위 연구결과를 바탕으로 최종 배지선정 및 배양공정을 확립함.

<표 16> *Staphylococcus hominis* WiKim0113 최종 생산조건

조건	<i>Staphylococcus hominis</i> WiKim0113
온도(°C)	37
초기 pH 및 control	초기 : 6.5, Control : 6.0
RPM	120
내압(bar)	0.5
통기량	0.5 VVM -> 1 VVM
종균 접종량(%)	1.0

<표 17> *Staphylococcus hominis* WiKim0113 최종 배지조성

원료명	조성(%)
Glucose	4.000
Yeast extract	2.000
Tryptone	0.700
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0.100
MnSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O	0.050
NaCl	0.500
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0.300
Konion	0.010



<그림 53> WiKim0113(*Staphylococcus hominis*)의 배양 차트

5) *L. plantarum* WiKim0112(LB5) 균주의 동결보존제별 안정성 확인

<표 18> 동결건조 보존제 조성

조성1	함량(%)	조성2	함량(%)	조성3	함량(%)	조성4	함량(%)
탈지분유	8.0	탈지분유	10.0	탈지분유	10.0	탈지분유	10.0
덱스트린	8.0	덱스트린	2.5	트레할로스	10.0	덱스트린	5.0
Glycerol	8.0	트레할로스	2.5			트레할로스	5.0
합계	24.0	합계	15.0	합계	20.0	합계	20.0

조성5	함량(%)	조성6	함량(%)	조성7	함량(%)	조성8	함량(%)
탈지분유	11.0	탈지분유	10.0	탈지분유	10.0	탈지분유	8.0
Lactose	7.0	덱스트린	2.5	MSG	8.0	덱스트린	5.0
Nacl	1.0	트레할로스	2.5	Sucrose	2.5	트레할로스	5.0
Glycerol	0.5	sodium thiosulfate	0.7	PEG 8000	0.5	Potato starch	2.0
합계	19.5	합계	15.7	합계	22.5	합계	20.0

- 동결건조 후 성상이 좋지 못한 조성 5, 6, 7의 경우 실험 중 중단 및 폐기하였음. 현재 조성1, 2, 3, 4를 각각 실온, 냉동, 냉장 보관하여 1개월 단위로 안정성 실험을 진행하고 있음. 2개월차 안정성이 낮은 조성8은 실험 중단 및 폐기하였음. 가장 안정성이 높았던 조성2를 위 최종 배양과정으로 배양하여 동결건조 분말을 150 g 제조하여, 제1협동연구기관 경성대에 발송하여 염지육 발효실험을 진행하였음.

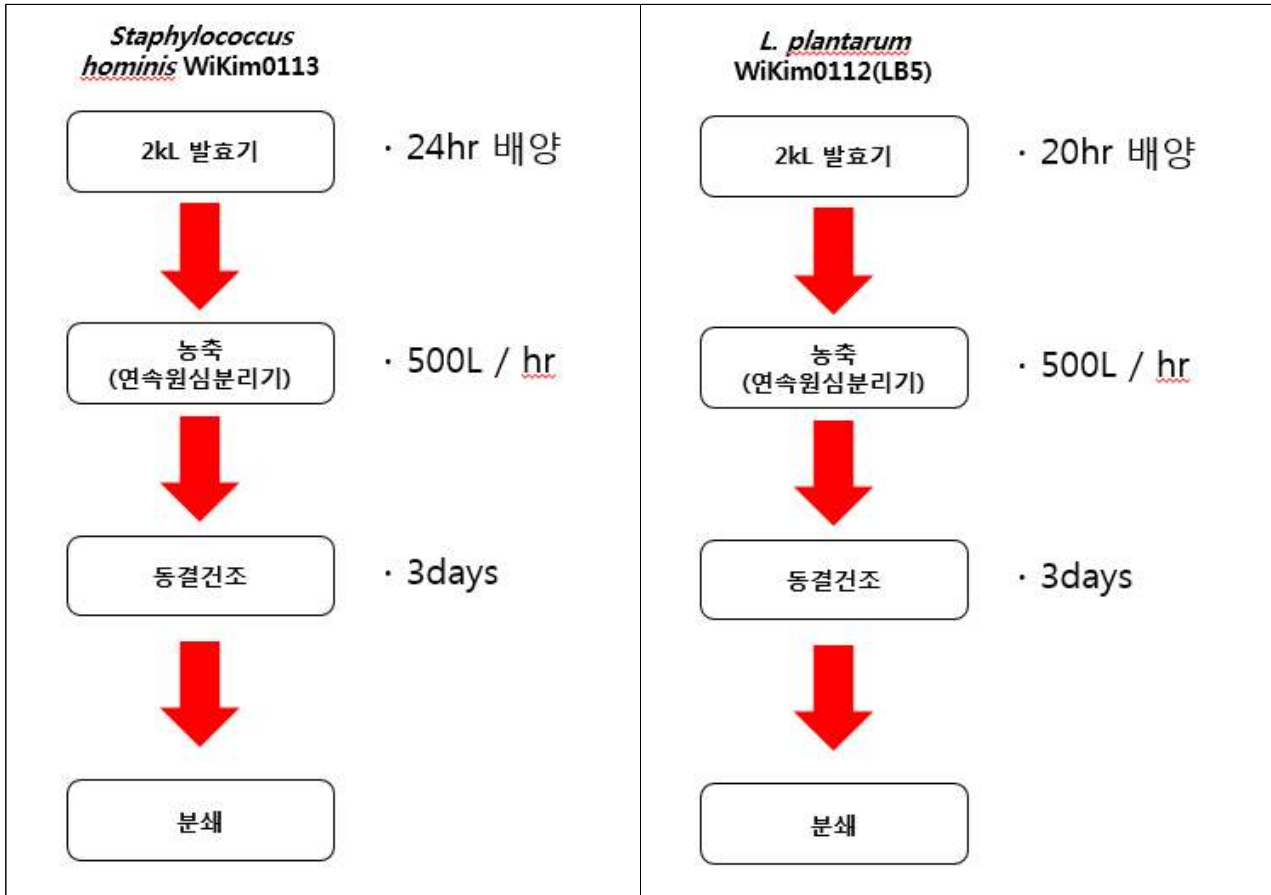
6) WiKim0113(*Staphylococcus hominis*) 균주의 동결보존제별 안정성 확인(실험 진행중)

<표 19> 동결건조 보존제 조성

조성1	함량(%)	조성2	함량(%)	조성3	함량(%)	조성4	함량(%)
산화전분	10.0	산화전분	10.0	탈지분유	10.0	산화전분	10.0
Corn Starch	2.5	덱스트린	2.5	Potato Starch	2.5	Potato Starch	2.5
		Corn Starch	2.5				
합계	12.5	합계	15.0	합계	12.5	합계	12.5

- 현재 가장 안정성이 높은 조성1의 동결건조 분말을 제1협동연구기관 경성대에 발송하여 염지육 발효실험을 진행하였음.

7) WiKim0113(*Staphylococcus hominis*)와 *L. plantarum* (WiKim0112)최종 공정요약도



<그림 54> WiKim0113(*Staphylococcus hominis*)와 *L. plantarum* WiKim0112(LB5)

[세부연구개발 목표] Plant scale 국산 채소류 및 부산물 활용 합성 아질산염 대체 천연소재  
1종 최적 공정 기술 확보 [제1 위탁: ㈜티오에프]

가. 연구수행 방법

1) 국산채소류 농축 및 분말화 최적 조건 확립

- 제품명 : 무 건조분말, 배추 건조분말
- 규격 : 수분 5% 이하, 채소분말 크기 60 mesh 이하

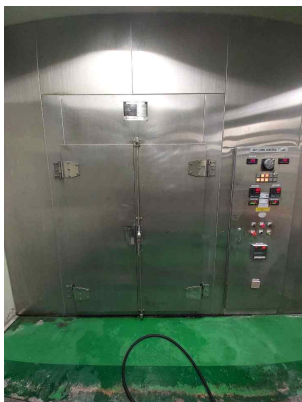
<표 20> 실험방법

순번	제조공정	특이사항
1	채소 구입 (선별 검사)	-
2	무, 배추 세척	-
3	절단 및 분쇄	-
4	건조(열풍건조)	60~65 60시간
5	파쇄	-
6	여과	60 mesh 여과 실시
7	수분함량 검사	-
8	포장	-

- 세부 공정



<그림 55> 배추와 무의 세척 및 선별



<열풍건조기>



<온도세팅 (60~65℃)>



<배추>



<무>

<그림 56> 건조공정(열풍건조)

- 열풍건조기 온도 60~65℃ 세팅 후 60시간 후 무와 배추 회수



- 파쇄기로 곱게 파쇄 후 60 mesh 여과 후 수분 함량 검사 시 9% 확인 및 포장 진행



<파쇄>



<여과(60 mesh)>

<그림 57> 파쇄 및 여과



<무>



<배추>

<그림 58> 수분함량 검사



<무>



<배추>

<그림 59> 포장

## 나. 연구내용 및 결과

### 1) 국산채소류 농축 및 분말화 최적 조건 확립

- 시제품 제조공정상 품질 규격이 수분함량 5% 이하로 요청되었으나, 예상 건조시간 판단 착오와 장비 사용 일정이 조율되지 않아, 실제 건조시간이 예상시간 보다 짧아져 수분 함량 9%로 규격을 이탈함.
- 현재 질산염 검사에 필요한 일부 시제품을 제외한 건조물을 재건조 하여 경성대학교에서 수율을 확인 함.
- 첫 번째 시제품 생산 후 성분검사와 공정개선에 대한 의견을 검토해서 추가적인 시제품 생산 하여 경성대학교에 실험용 샘플 전달함.

## [세부 연구개발 목표 3] 선발된 발효미생물의 대량생산 체계 구축 및 산업화

### 가. 연구수행 방법

#### 1) 1, 2년차 배양조건 확립을 통한 100 L, 2 ton scale up 적용시험

- 우진비앤지 주식회사에서 보유하고 있는 100 L, 2 ton fermentor를 활용한 WiKim0113의 Scale up test 진행. WiKim0112 균주의 CO<sub>2</sub> 조건 배양실험.
- 100 L 배양기에 60 L volume으로 1, 2년차 배양조건과 동일하게 진행 함. 배지조성은 동일하며, 배양기 임펠러의 생김새 차이로 인하여 Aeration 부분은 변경하여 진행 함.
- 3 반복 확인 실험 이후, 2 ton scale up 하여 재현성확인 및 시제품 생산 진행 함.
- 100 L 배양기 활용 *Lactobacillus plantarum* WiKim0112 배양실험 진행. 세계김치연구소 1년차 실험에서 O<sub>2</sub> 보다는 CO<sub>2</sub> 조건(혐기조건)에서 배양시 질산염 생성이 높다는 결과를 토대로 CO<sub>2</sub> 조건으로 배양 진행.

#### 2) *S. hominis* WiKim0113 균주의 안정성 실험

- 우진비앤지 pilot scale로 생산된 *S. hominis* WiKim0113균주 분말의 안정성 실험. 각 분말은 상온, 냉장, 냉동조건에 5일, 25일, 30일 간격으로 균수실험을 진행하고, 30일 이후부터 30일(1개월) 간격으로 안정성 실험을 실시함.

#### 3) 시제품의 바이오제닉 아민, 유해미생물, 곰팡이독소, 중금속 검사

- ㈜티오에프에서 시제품으로 생산한 고농도 질산염을 함유하는 배추분말과 무분말의 바이오제닉 아민, 유해미생물, 곰팡이독소, 중금속 검사(재)농축산용미생물산업육성지원센터에 의뢰하여 확인하였음.

#### 4) 시생산된 채소분말이용 WiKim0113 배양실험

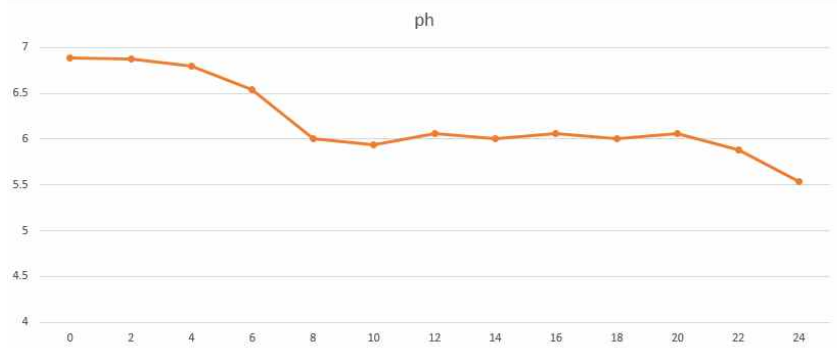
- ㈜티오에프에서 시제품으로 생산한 고농도 질산염을 함유하는 배추분말과 무분말을 배지로 활용하여 각각의 배지를 1%, 2%, 3%, 4% 함량으로 WiKim0113, 0112균주를 30 L fermentor에서 배양실험을 진행함.



## 나. 연구수행 내용 및 결과

### *Staphylococcus hominis*

배양일	2021. 03. 08		멸균전	-	Feed 여부	X	배양조건	온도	37	
종균명	<i>Staphylococcus hominis</i>		멸균후	6.01	pH control	20%NaOH		RPM	150	
배양조	FR-203		식균후	6.89	소포제	2ml		Air	0.5VVM	
Seed	pH	OD	배양시간	종균량	별살여부	-		초기 pH	초:7 CON : 6	
특성치	-	-	14hr	0.5%	중불름	60L	첨버 불름	-	내압	0.5



원료명	%
Glucose	4.000
Yeast extract	2.000
Tryptone	0.700
Na2Hpo4	0.100
MnSO4 7H2o	0.050
NaCl	0.500
K2hPO4	0.300
Konion	0.010

균수측정	
배양완료	3.7 x 10 <sup>9</sup> cfu/ml
농축완료	4.1 x 10 <sup>10</sup> cfu/ml
동결건조	1.3 x 10 <sup>11</sup> cfu/g

<그림 60> WiKim0113(*Staphylococcus hominis*)의 100L 배양 요약도

### 1) 1, 2년차 배양조건 확립을 통한 100 L, 2 ton scale up 적용시험

- 100 L 배양기를 활용한 3번의 배양 및 농축 공정 결과 동결건조 분말에서 1.3 x 10<sup>11</sup> CFU/g을 확인 함. 시중에 판매되고 있는 육가공 제품용 starter culture의 수율과 비슷한 수준임.
- 미생물 농축액 및 건조물은 경성대학교로 즉시 발송하여, 육가공 starter culture test sample로서 활용하였음.

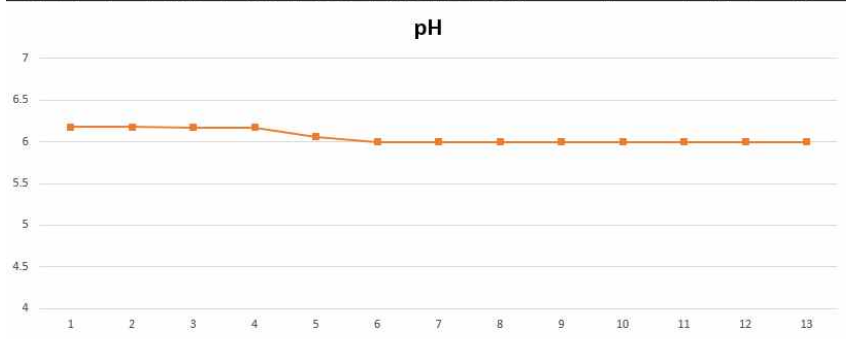


<그림 61> 우진비앤지 2ton fermentor

- 위 3번의 3반복 배양결과를 토대로 2 ton 배양기에 1,000 L Volume으로 시제품 생산 및 장기안정성 test를 위한 배양을 실시하였음. glucose는 기타 원료와 배합하여 멸균 시 성상문제(갈변)의 원인으로, 100 L 배양기서 따로 멸균 후 첨가하였음.

### Staphylococcus hominis

배양일	2021. 08. 11			멸균전	-	Feed 여부	X	배양조건	온도	37
종균명	Staphylococcus hominis			멸균후	6.18	pH control	25%NaOH		RPM	130
배양조	FR-207			식균후	6.98	소포제	200ml		Air	0.8 VVM
Seed	pH	OD	배양시간	중균량	멸살여부	glucose			초기 pH	조:7 CON:6
특성치			22hr	1.0%	중볼륨	1000L	챔버 볼륨	내압	0.5	



원료명	%
Glucose	4.000
Yeast extract	2.000
Tryptone	0.700
Na2Hpo4	0.100
MnSO4 7H2o	0.050
NaCl	0.500
K2hPO4	0.300
Konion	0.010

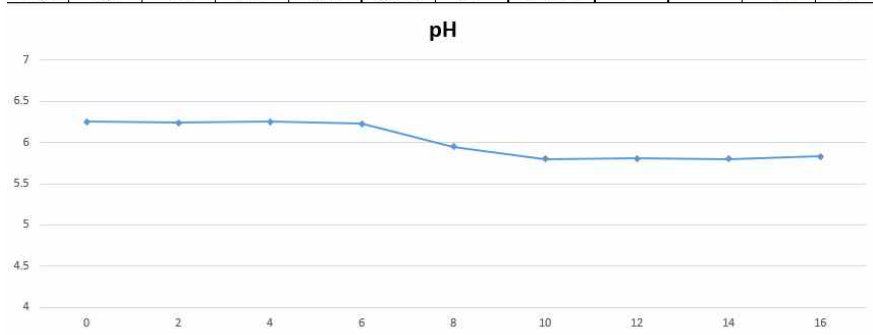
균수측정	
배양완료	3.2 x 10 <sup>9</sup> cfu/ml
농축완료	5.0 x 10 <sup>10</sup> cfu/ml
동결건조	8.9 x 10 <sup>10</sup> cfu/g

<그림 62> WiKim0113(*Staphylococcus hominis*)의 2 ton 배양 요약도

- 2 ton 배양결과 이전 pilot scale과 큰 차이를 보이지 않았으나 목표로 한 최종 *S. hominis* WiKim0113 분말의 균수는 8.9 x 10<sup>10</sup> CFU/g으로 당초 목표로 했던 1.0 x 10<sup>11</sup> CFU/g에 비하여 미달되는 결과를 보임. 3반복 실험 평균은 1 x 10<sup>11</sup> CFU/g으로 기준치 적합함.

### Lactobacillus plantarum (LB5 LP)

배양일	2021. 04. 24			멸균전	-	Feed 여부	x	배양조건	온도	37
종균명	Lactobacillus plantarum			멸균후	6.45	pH control	x		RPM	80
배양조	FR-205			식균후	6.37	소포제	25ml		Air	Co2
Seed	pH	OD	배양시간	중균량	멸살여부	glucose	-		초기 pH	7
특성치	3.98	4.15	14hr	1.0%	중볼륨	25L	챔버 볼륨	-	내압	0.2



원료명	%
Glucose	4.000
S.B.M (Powder)	0.500
Yeast ext	2.000
Magnesium sulfate 7H2O	0.100
Manganese sulfate 5H2O	0.040
L-cystein HCl	0.010
Sodium chloride	0.100
Sodium hydrogen phosphate, Di	0.600
Calcium carbonate	0.100
Konion	0.050

균수측정	
배양완료	7.8 x 10 <sup>9</sup> cfu/ml
동결건조	1.3 x 10 <sup>11</sup> cfu/g

<그림 63> WiKim0112(*Lactobacillus plantarum* LB5)의 2 ton 배양 요약도

- 배양결과 *S. hominis* WiKim0113 균주보다 높은 수율과 안정성을 보이는 반면, 경성대 학교 연구팀의 결과에 따르면 배양 중 생성된 아질산염의 전환능이 *S. hominis* WiKim0113보다 낮은 것으로 나타남. 육가공 starter culture로서의 역할은 *S. hominis* WiKim0113 균주가 적합한 것으로 판단됨. *Lactobacillus plantarum* WiKim0112 균주의 경우 추후 김치로부터 분리된 천연아질산염 전환능을 가진 균주로서 식품으로 활용 가치가 높을 것으로 판단됨.

### 2) S. hominis WiKim0113 균주의 안정성 실험

- *S. hominis* WiKim0113) 균주의 안정성 실험결과 180일까지 안정하나 이후 상온 - 냉장 - 냉동순으로 안정성이 확보되지 않음. 부형제 조성변경으로 현재 6개월차 안정성 실험 진행중임.

<표 21> WiKim0113(*Staphylococcus hominis*) 안정성 실험 데이터

날짜	경과일	Skim milk 10%		
		실온	냉장	냉동
7월 5일	0일		6.0X10 <sup>10</sup>	
7월 10일	5일	5.2X10 <sup>10</sup>	5.9X10 <sup>10</sup>	5.8X10 <sup>10</sup>
7월 30일	25일	3.7X10 <sup>10</sup>	5.8X10 <sup>10</sup>	5.5X10 <sup>10</sup>
8월 5일	30일	3.3X10 <sup>10</sup>	5.7X10 <sup>10</sup>	5.8X10 <sup>10</sup>
9월 5일	60일	2.7X10 <sup>10</sup>	5.9X10 <sup>10</sup>	5.5X10 <sup>10</sup>
10월 5일	90일	1.4X10 <sup>10</sup>	5.8X10 <sup>10</sup>	5.8X10 <sup>10</sup>
11월 5일	120일	1.1X10 <sup>10</sup>	5.7X10 <sup>10</sup>	5.5X10 <sup>10</sup>
12월 5일	150일	5.4X10 <sup>9</sup>	5.1X10 <sup>10</sup>	5.8X10 <sup>10</sup>
1월 5일	180일	5.4X10 <sup>9</sup>	1.9X10 <sup>10</sup>	5.5X10 <sup>10</sup>
2월 5일	210일	5.4X10 <sup>9</sup>	6.8X10 <sup>9</sup>	2.8X10 <sup>10</sup>
3월 5일	240일	5.4X10 <sup>9</sup>	6.8X10 <sup>9</sup>	1.1X10 <sup>10</sup>
4월 5일	270일	5.4X10 <sup>9</sup>	6.8X10 <sup>9</sup>	2.9X10 <sup>9</sup>
5월 5일	300일	5.4X10 <sup>9</sup>	6.8X10 <sup>9</sup>	2.7X10 <sup>9</sup>

3) 시제품의 바이오제닉 아민, 유해미생물, 곰팡이독소, 중금속 검사

<표 22> 배추, 무 분말의 바이오제닉아민 분석

No.	샘플도착일	샘플 명	측정방법	결과 (ppm)	
1	2021.07.06	배추 분말	HPLC(PDA) 정량분석	히스타민	불검출
				푸트레신	불검출
				스피미딘	43.94
				스퍼민	불검출
				카다베린	불검출
2	2021.07.06.	무 분말	HPLC(PDA) 정량분석	히스타민	불검출
				푸트레신	불검출
				스피미딘	8.56
				스퍼민	불검출
				카다베린	불검출

<표 23> 배추, 무 분말의 유해미생물 분석

No.	샘플도착일	샘플 명	측정방법	결과 (ppm)	
1	2021.07.06	배추 분말	HPLC(PDA) 정량분석	아플라톡신	불검출
				오크라톡신 A	불검출
				제랄레논	불검출
				푸모니신	불검출
				테옥시니발레놀	불검출
2	2021.07.06.	무 분말	HPLC(PDA) 정량분석	히스타민	불검출
				푸트레신	불검출
				스피미딘	불검출
				스퍼민	불검출
				카다베린	불검출

<표 24> 배추, 무 분말의 중금속 분석

No.	샘플도착일	샘플 명	측정방법	결과 (ppm)	
1	2021.07.06	배추 분말	HPLC(PDA)	납 (Pb)	불검출
			정량분석	카드뮴 (Cd)	0.093
			수은분석기	크롬 (Cr)	0.092
2	2021.07.06.	무 분말	HPLC(PDA)	납 (Pb)	불검출
			정량분석	카드뮴 (Cd)	0.072
			수은분석기	크롬 (Cr)	0.102
			정량분석	납 (Pb)	불검출

<표 25> 배추, 무 분말 유해 미생물 분석

No.	샘플도착일	샘플 명	측정방법	결과 (ppm)	
1	2021.07.06	배추 분말	정량분석	대장균	불검출
2	2021.07.06.	무 분말	정량분석	살모넬라	불검출
				대장균	불검출
				살모넬라	불검출

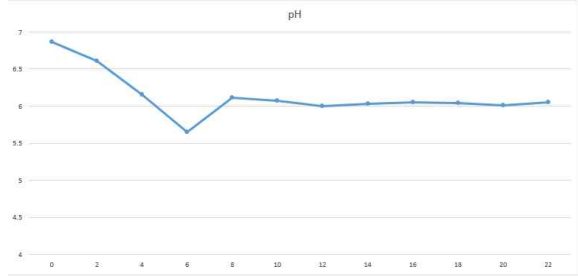
#### 4) 시생산된 채소분말이용 WiKim0113 배양실험

- 야채분말의 특성상 미세 분쇄를 진행하여도 물에 녹지않는 고형형태로 4% 이상을 함유하는 배지는 산업화에 적합하지 않음. 본 연구에서는 3% 배지가 가장 적합한 것으로 나타남.



<그림 64> 배추, 무분말 농도별 배지

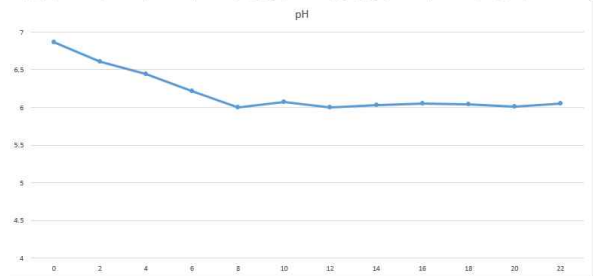
Staphylococcus hominis											
배양일	2021. 08. 24				영양액	Feed 여부	X	온도	37		
종균명	Staphylococcus hominis				말균포	5.32	pH control	20%NaOH	RPM	100	
배양조	FT-30-1.2				식균포	6.85	소포제	2ml	배양조건	Air	0.5VVM
Seed	pH	OD	배양시간	중균량	발실여부			조기 pH	조:6.5 CON:6		
특성치			14hr	1.0%	총물류	15L	첨비 비율	내압	0.5		



\* 0, 8, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24hr 샘플 세계김치연구소 발송

균수측정		
배추분말	우분말	
8	3.0 x 10 <sup>8</sup>	1.1 x 10 <sup>7</sup>
14	5.1 x 10 <sup>8</sup>	1.9 x 10 <sup>8</sup>
22	1.3 x 10 <sup>9</sup>	4.0 x 10 <sup>8</sup>

Staphylococcus hominis											
배양일	2021. 08. 24				영양액	Feed 여부	X	온도	37		
종균명	Staphylococcus hominis				말균포	5.32	pH control	20%NaOH	RPM	100	
배양조	FT-30-1.2				식균포	6.85	소포제	2ml	배양조건	Air	0.5VVM
Seed	pH	OD	배양시간	중균량	발실여부			조기 pH	조:6.5 CON:6		
특성치			14hr	1.0%	총물류	15L	첨비 비율	내압	0.5		



\* 0, 8, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24hr 샘플 세계김치연구소 발송

균수측정		
배추분말	우분말	
8	3.0 x 10 <sup>8</sup>	1.1 x 10 <sup>7</sup>
14	5.1 x 10 <sup>8</sup>	1.9 x 10 <sup>8</sup>
22	1.3 x 10 <sup>9</sup>	4.0 x 10 <sup>8</sup>

<그림 65> S. hominis WiKim0113 배추, 무 배지 3% 배양결과

Lactobacillus plantarum(LB5 LP)											
배양일	2021. 08. 24				영양액	Feed 여부	X	온도	37		
종균명	Lactobacillus plantarum				말균포	4.95	pH control	20%NaOH	RPM	100	
배양조	FT-15-1.2				식균포	6.12	소포제	2ml	배양조건	Air	CO2
Seed	pH	OD	배양시간	중균량	발실여부			조기 pH	조:6 CON:5.8		
특성치			14hr	1.0%	총물류	8L	첨비 비율	내압	0.1		



\* 0, 6, 12, 14, 16hr 샘플 세계김치연구소 발송

균수측정		
배추분말	우분말	
8	2.0 x 10 <sup>8</sup>	8.4 x 10 <sup>7</sup>
14	8.6 x 10 <sup>8</sup>	6.1 x 10 <sup>8</sup>
16	8.4 x 10 <sup>8</sup>	6.9 x 10 <sup>8</sup>

Lactobacillus plantarum(LB5 LP)											
배양일	2021. 08. 24				영양액	Feed 여부	X	온도	37		
종균명	Lactobacillus plantarum				말균포	4.95	pH control	20%NaOH	RPM	100	
배양조	FT-15-1.2				식균포	6.12	소포제	2ml	배양조건	Air	CO2
Seed	pH	OD	배양시간	중균량	발실여부			조기 pH	조:6 CON:5.8		
특성치			14hr	1.0%	총물류	8L	첨비 비율	내압	0.1		



\* 0, 8, 12, 14, 16hr 샘플 세계김치연구소 발송

균수측정		
배추분말	우분말	
8	2.0 x 10 <sup>8</sup>	8.4 x 10 <sup>7</sup>
14	8.6 x 10 <sup>8</sup>	6.1 x 10 <sup>8</sup>
16	8.4 x 10 <sup>8</sup>	6.9 x 10 <sup>8</sup>

<그림 66> Lactobacillus plantarum WiKim0112 배추, 무 배지 3% 배양결과

- WiKim0113 균주를 배양한 3% 무, 배추분말 배양액을 배양시간별(0, 8, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24hr)로 샘플링하여 세계김치연구소로 전달하였음.
- WiKim0112 균주를 배양한 3% 무, 배추분말 배양액을 배양시간별(0, 8, 12, 14, 16hr)로 샘플링하여 세계김치연구소로 전달하였음.
- 위 실험을 토대로 WiKim0113 Staphylococcus hominis 균주를 배추분말 3%에 22hr 배양하여 천연 아질산염 starter culture 생산 공정을 제시하였지만, 천연 아질산염 농도는 254 ppm으로 산업화 공정에는 적합하지 않은 것으로 사료됨.

## 2-4. 국산 채소류 및 부산물을 이용한 합성 아질산염 대체 소재 개발

세부 연구개발 목표	세부 연구개발 내용 및 범위	연구비(천원)	연구개발기관
<ul style="list-style-type: none"> <li>국산 채소류 및 부산물을 이용한 합성 아질산염 대체 식품소재 개발</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>국산 채소류 및 부산물의 종류별, 산지별, 수확시기에 따른 질산염 및 아질산염 함량조사를 통한 원료 안정성 확보</li> <li>합성 아질산염 대체 소재로서 Pilot scale 국산 채소류 농축 및 분말화 최적조건 확립</li> </ul>	50,000	경성대학교

### [세부 연구개발 목표] 국산 채소류 및 부산물을 이용한 합성 아질산염 대체 식품소재 개발 가. 연구수행 방법

#### 1) pH

- pH 측정은 pH meter(Accumt<sup>®</sup> AB150, Thermo Fisher Scientific Inc., Singapore)를 이용하여 측정하였음.

#### 2) 건조 수율

- 건조 수율은 건조 전 중량과 건조 후 중량을 측정한 후, 다음 식을 이용하여 산출하였음.

$$\text{건조 수율(\%)} = \frac{\text{건조 후 시료 중량(g)}}{\text{건조 전 시료 중량(g)}} \times 100$$

#### 3) 수분함량

- 수분함량은 AOAC법(2016)에 따라 105°C 상압가열건조법으로 측정하였음.

#### 4) 산도

- 산도는 채소를 원심분리하여 얻은 상등액 10mL의 pH가 8.3이 될 때까지 0.1N NaOH를 첨가하였음. 이때 소비된 0.1N NaOH의 양을 측정한 후, 다음 식을 이용하여 산도를 나타내었음.

$$\text{산도(\%)} = \frac{\text{소비된 0.1N NaOH(mL)} \times \text{NaOH의 역가} \times 0.009}{\text{적정에 사용된 시료액의 양(mL)}} \times 100$$

#### 5) 염도

- 염도 측정은 식품공전의 일반시험법을 사용하였으며, 0.02N AgNO<sub>3</sub>로 적정한 후 다음 식을 이용하여 염도를 산출하였음.

$$\text{염도(\%)} = \frac{0.02\text{N AgNO}_3 \text{ 소비량(mL)} \times \text{AgNO}_3 \text{ 역가} \times 5.85}{\text{시료 중량(g)}} \times 100$$

#### 6) 고형분 함량(°Brix)

- 고형분 함량은 굴절 당도계(hand refractometer, Atago Co. Ltd., Tokyo, Japan)를 이용하여 측정하였음.



## 7) 질산 및 아질산 이온 함량

- 질산 및 아질산 이온 함량은 Merino(2009)의 zinc reduction 방법을 이용하여 측정하였음. 측정된 질산 및 아질산 이온 함량은 ppm 단위로 환산하여 나타내었음.

## 8) 참고 문헌

- AOAC. 2016. Official methods of analysis of AOAC International. 20th ed. AOAC International, Rockville, MD, USA.
- Merino L. 2009. Development and validation of a method for determination of residual nitrite/nitrate in foodstuffs and water after zinc reduction. Food Anal Methods 2:212-220.

### 나. 연구수행 내용 및 결과

#### 1) 국산 채소류 및 부산물의 종류별, 산지별, 수확시기에 따른 질산염 및 아질산염 함량조사를 통한 원료 안정성 확보

##### 가) 국산 채소류의 종류, 산지, 수확시기에 따른 품질 특성 조사

##### (1) 산지 및 수확시기에 따른 배추의 이화학적 특성 비교

- 본 연구는 산지(경기, 경상, 전라, 충청 및 강원) 및 수확시기(여름 및 겨울)에 따른 국산 배추의 이화학적 특성을 조사하기 위하여 수행하였음<표 26>.
- 산지별 아질산나트륨 함량은 모든 배추에서 1ppm 미만이었으나, 충청도 배추에서 0.81ppm으로 가장 높은 아질산나트륨 함량을 보였음(p<0.05). 또한, 충청도 배추는 전라도 배추를 제외한 다른 산지(경기, 경상 및 강원)의 배추보다 높은 질산나트륨 함량을 보였음(p<0.05).
- 수확시기별 국산 배추의 pH는 여름 배추가 겨울 배추보다 높았으나(p<0.05), 산도, 염도, 고형분 함량, 아질산나트륨 및 질산나트륨 함량의 결과는 겨울 배추가 여름 배추보다 높았음(p<0.05).

<표 26> 산지 및 수확시기에 따른 국산 배추의 pH, 산도, 염도, 고형분, 아질산나트륨 및 질산나트륨 함량 비교

주요 효과	pH	산도 (%)	염도 (%)	고형분 (%)	아질산나트륨 (ppm)	질산나트륨 (ppm)
산지						
경기	6.20 <sup>A</sup>	0.137 <sup>C</sup>	0.037 <sup>D</sup>	3.83 <sup>C</sup>	0.07 <sup>D</sup>	2,296 <sup>B</sup>
경상	6.02 <sup>B</sup>	0.158 <sup>AB</sup>	0.059 <sup>A</sup>	3.85 <sup>C</sup>	0.14 <sup>C</sup>	2,415 <sup>B</sup>
전라	6.16 <sup>A</sup>	0.159 <sup>AB</sup>	0.055 <sup>AB</sup>	4.15 <sup>B</sup>	0.51 <sup>B</sup>	2,519 <sup>AB</sup>
충청	6.17 <sup>A</sup>	0.161 <sup>A</sup>	0.049 <sup>C</sup>	4.53 <sup>A</sup>	0.81 <sup>A</sup>	2,806 <sup>A</sup>
강원	6.20 <sup>A</sup>	0.151 <sup>B</sup>	0.052 <sup>BC</sup>	3.97 <sup>C</sup>	0.17 <sup>C</sup>	2,236 <sup>B</sup>
SEM	0.02	0.005	0.001	0.07	0.02	101
수확시기						
여름	6.19 <sup>A</sup>	0.130 <sup>B</sup>	0.043 <sup>B</sup>	3.85 <sup>B</sup>	0.19 <sup>B</sup>	2,209 <sup>B</sup>
겨울	6.11 <sup>B</sup>	0.176 <sup>A</sup>	0.058 <sup>A</sup>	4.29 <sup>A</sup>	0.49 <sup>A</sup>	2,699 <sup>A</sup>
SEM	0.01	0.004	0.001	0.07	0.02	73

A-D는 같은 열에서 서로 다른 문자는 유의적 차이를 나타냄(p<0.05).

SEM: 평균의 표준오차.



### (2) 산지 및 수확시기에 따른 무의 이화학적 특성 비교

- 본 연구는 산지(경기, 경상, 전라, 충청 및 강원) 및 수확시기(여름 및 겨울)에 따른 국산 무의 이화학적 특성을 조사하기 위하여 수행하였음<표 27>.
- 산지별 무의 아질산나트륨 함량은 강원도에서 가장 높게 나타났음( $p<0.05$ ). 산지별 무의 평균 질산나트륨 함량 범위는 2,891~3,576 ppm으로 특히, 경상도 무가 가장 높은 질산나트륨 함량을 보였음( $p<0.05$ ).
- 한편, 수확시기별 pH, 산도, 염도는 겨울 무가 여름 무보다 높았으며( $p<0.05$ ), 고형분 함량에서는 수확시기 간 차이를 보이지 않았음( $p>0.05$ ). 수확시기에 따른 국산 무의 아질산나트륨 및 질산나트륨 함량은 여름 무에서 겨울 무보다 높았음( $p<0.05$ ).

<표 27> 산지 및 수확시기에 따른 국산 무의 pH, 산도, 염도, 고형분, 아질산나트륨 및 질산나트륨 함량 비교

주요 효과	pH	산도 (%)	염도 (%)	고형분 (%)	아질산나트륨 (ppm)	질산나트륨 (ppm)
산지						
경기	5.96 <sup>B</sup>	0.128 <sup>B</sup>	0.049 <sup>B</sup>	4.20 <sup>A</sup>	0.07 <sup>D</sup>	3,115 <sup>BC</sup>
경상	5.93 <sup>B</sup>	0.118 <sup>B</sup>	0.042 <sup>B</sup>	3.35 <sup>B</sup>	0.20 <sup>C</sup>	3,576 <sup>A</sup>
전라	5.99 <sup>AB</sup>	0.150 <sup>A</sup>	0.043 <sup>B</sup>	3.75 <sup>B</sup>	0.51 <sup>B</sup>	3,063 <sup>BC</sup>
충청	5.73 <sup>C</sup>	0.122 <sup>B</sup>	0.061 <sup>A</sup>	3.75 <sup>B</sup>	0.10 <sup>D</sup>	3,284 <sup>B</sup>
강원	6.07 <sup>A</sup>	0.118 <sup>B</sup>	0.061 <sup>A</sup>	3.53 <sup>B</sup>	1.05 <sup>A</sup>	2,891 <sup>C</sup>
SEM	0.04	0.004	0.004	0.13	0.03	88
수확시기						
여름	5.90 <sup>B</sup>	0.119 <sup>B</sup>	0.043 <sup>B</sup>	3.81 <sup>A</sup>	0.63 <sup>A</sup>	3,340 <sup>A</sup>
겨울	5.97 <sup>A</sup>	0.134 <sup>A</sup>	0.060 <sup>A</sup>	3.63 <sup>A</sup>	0.14 <sup>B</sup>	3,031 <sup>B</sup>
SEM	0.03	0.003	0.003	0.08	0.02	56

<sup>A-D</sup>는 같은 열에서 서로 다른 문자는 유의적 차이를 나타냄( $p<0.05$ ).

SEM: 평균의 표준오차.

### (3) 산지 및 수확시기에 따른 상추의 이화학적 특성 비교

- 본 연구는 산지(경기, 경상, 전라, 충청 및 강원) 및 수확시기(여름 및 겨울)에 따른 국산 상추의 이화학적 특성을 조사하기 위하여 수행하였음<표 28>.
- 전라도 상추는 아질산나트륨이 1.42ppm으로 가장 높았으며( $p<0.05$ ), 그뿐만 아니라 전라도 상추는 경기도 및 충청도 상추와 함께 가장 높은 질산나트륨 함량을 나타냄( $p<0.05$ ).
- 수확시기별 상추의 아질산나트륨 함량은 겨울에 수확한 상추가 여름에 수확한 상추보다 높았으나( $p<0.05$ ), 질산나트륨 함량은 여름에 수확한 상추에서 더 높았음( $p<0.05$ ).

<표 28> 산지 및 수확시기에 따른 국산 상추의 pH, 산도, 염도, 고형분, 아질산나트륨 및 질산나트륨 함량 비교

주요 효과	pH	산도 (%)	염도 (%)	고형분 (%)	아질산나트륨 (ppm)	질산나트륨 (ppm)
산지						
경기	5.86 <sup>B</sup>	0.108 <sup>C</sup>	0.160 <sup>B</sup>	2.19 <sup>B</sup>	0.34 <sup>D</sup>	3,079 <sup>A</sup>
경상	5.93 <sup>A</sup>	0.124 <sup>B</sup>	0.185 <sup>A</sup>	2.21 <sup>B</sup>	0.57 <sup>C</sup>	1,879 <sup>B</sup>
전라	5.80 <sup>C</sup>	0.148 <sup>A</sup>	0.104 <sup>C</sup>	2.28 <sup>B</sup>	1.42 <sup>A</sup>	2,961 <sup>A</sup>
충청	5.95 <sup>A</sup>	0.110 <sup>C</sup>	0.165 <sup>B</sup>	2.58 <sup>A</sup>	0.95 <sup>B</sup>	2,854 <sup>A</sup>
강원	5.85 <sup>B</sup>	0.102 <sup>D</sup>	0.152 <sup>B</sup>	2.00 <sup>C</sup>	1.08 <sup>B</sup>	1,278 <sup>C</sup>
SEM	0.02	0.003	0.007	0.04	0.07	169
수확시기						
여름	5.84 <sup>B</sup>	0.122 <sup>A</sup>	0.100 <sup>B</sup>	2.07 <sup>B</sup>	0.62 <sup>B</sup>	2,961 <sup>A</sup>
겨울	5.91 <sup>A</sup>	0.115 <sup>B</sup>	0.210 <sup>A</sup>	2.44 <sup>A</sup>	1.12 <sup>A</sup>	1,859 <sup>B</sup>
SEM	0.01	0.002	0.006	0.02	0.04	115

<sup>A-D</sup>는 같은 열에서 서로 다른 문자는 유의적 차이를 나타냄(p<0.05).

SEM: 평균의 표준오차.

#### (4) 산지 및 수확시기에 따른 시금치의 이화학적 특성 비교

- 본 연구는 산지(경기, 경상, 전라 및 충청) 및 수확시기(여름 및 겨울)에 따른 국산 시금치의 이화학적 특성을 조사하기 위하여 수행하였음<표 29>.
- 산지별 시금치의 아질산나트륨 및 질산나트륨 함량은 전라도 시금치에서 가장 높았음 (p<0.05).
- 여름에 수확한 시금치는 pH, 산도, 염도, 고형분이 겨울에 수확한 시금치보다 낮았음 (p<0.05).
- 반면, 아질산나트륨 및 질산나트륨 함량에서는 여름 시금치가 겨울 시금치보다 높게 나타났음(p<0.05).

<표 29> 산지 및 수확시기에 따른 국산 시금치의 pH, 산도, 염도, 고형분, 아질산나트륨 및 질산나트륨 함량 비교

주요 효과	pH	산도 (%)	염도 (%)	고형분 (%)	아질산나트륨 (ppm)	질산나트륨 (ppm)
산지						
경기	6.08 <sup>B</sup>	0.203 <sup>A</sup>	0.208 <sup>A</sup>	4.33 <sup>C</sup>	2.53 <sup>C</sup>	2,336 <sup>D</sup>
경상	6.34 <sup>A</sup>	0.180 <sup>A</sup>	0.083 <sup>D</sup>	6.00 <sup>A</sup>	0.71 <sup>D</sup>	3,493 <sup>C</sup>
전라	5.97 <sup>C</sup>	0.182 <sup>A</sup>	0.116 <sup>C</sup>	4.27 <sup>C</sup>	4.83 <sup>A</sup>	4,548 <sup>A</sup>
충청	6.10 <sup>B</sup>	0.205 <sup>A</sup>	0.146 <sup>B</sup>	4.87 <sup>B</sup>	3.24 <sup>B</sup>	3,935 <sup>B</sup>
SEM	0.02	0.014	0.007	0.13	0.13	76
수확시기						
여름	6.02 <sup>B</sup>	0.152 <sup>B</sup>	0.075 <sup>B</sup>	3.34 <sup>B</sup>	5.00 <sup>A</sup>	6,637 <sup>A</sup>
겨울	6.23 <sup>A</sup>	0.233 <sup>A</sup>	0.201 <sup>A</sup>	6.39 <sup>A</sup>	0.66 <sup>B</sup>	520 <sup>B</sup>
SEM	0.02	0.013	0.005	0.09	0.09	53

<sup>A-D</sup>는 같은 열에서 서로 다른 문자는 유의적 차이를 나타냄(p<0.05).

SEM: 평균의 표준오차.

**(5) 재배 농가 및 수확시기에 따른 순무의 이화학적 특성 비교**

- 본 연구는 재배 농가 및 수확시기(여름 및 겨울)에 따른 국산 순무의 이화학적 특성을 조사하기 위하여 수행하였음<표 30>.
- 순무는 주로 강화도에서 재배되기 때문에 산지를 5대 권역으로 조사할 수 없었으며, 따라서 같은 산지(강화도) 내 2곳의 농가(강화도 A 및 강화도 B)에서 재배한 순무를 수확 시기별로 구매하여 비교하였음.
- 재배 농가별 순무의 아질산나트륨 함량은 차이를 보이지 않았지만( $p>0.05$ ), 질산나트륨에서는 강화도 B 순무에서 2,562ppm으로 높게 나타났음( $p<0.05$ ).
- 수확시기에 따른 순무의 질산나트륨은 여름 순무에서 더 높게 나타난( $p<0.05$ ) 반면, 아질산나트륨은 수확시기에 따른 차이를 보이지 않았음( $p>0.05$ ).

<표 30> 재배 농가 및 수확시기에 따른 국산 순무의 pH, 산도, 염도, 고형분, 아질산나트륨 및 질산나트륨 함량 비교

주요 효과	pH	산도 (%)	염도 (%)	고형분 (%)	아질산나트륨 (ppm)	질산나트륨 (ppm)
재배 농가						
강화도 A	6.06 <sup>B</sup>	0.124 <sup>B</sup>	0.109 <sup>A</sup>	6.02 <sup>B</sup>	0.14 <sup>A</sup>	135 <sup>B</sup>
강화도 B	6.26 <sup>A</sup>	0.147 <sup>A</sup>	0.059 <sup>B</sup>	6.57 <sup>A</sup>	0.18 <sup>A</sup>	2,562 <sup>A</sup>
SEM	0.03	0.004	0.001	0.03	0.02	27
수확시기						
여름	6.02 <sup>B</sup>	0.138 <sup>A</sup>	0.077 <sup>B</sup>	5.78 <sup>B</sup>	0.14 <sup>A</sup>	2,075 <sup>A</sup>
겨울	6.29 <sup>A</sup>	0.133 <sup>A</sup>	0.091 <sup>A</sup>	6.80 <sup>A</sup>	0.18 <sup>A</sup>	622 <sup>B</sup>
SEM	0.03	0.004	0.001	0.03	0.02	27

<sup>A, B</sup>는 같은 열에서 서로 다른 문자는 유의적 차이를 나타냄( $p<0.05$ ).

SEM: 평균의 표준오차.

**(6) 국산 채소 종류별 이화학적 특성 비교**

- 본 연구는 국산 채소 종류별 이화학적 특성을 비교하고 합성 아질산염 대체 소재로써 적합성을 판단하기 위하여 수행하였음.
- 국산 채소 종류별 pH, 산도 및 염도 결과는 <표 31>과 같음.
- 국산 채소의 pH는 배추, 시금치 및 순무에서 가장 높았으며( $p<0.05$ ), 무와 상추의 pH는 6 이하를 나타냄.
- 국산 채소의 산도는 시금치에서 0.19%로 가장 높았으나( $p<0.05$ ), 국산 채소별 평균 산도는 0.12~0.19%의 범위였음.
- 국산 채소의 평균 염도는 0.05~0.15%이었으며, 상추 및 시금치의 염도가 다른 채소보다 유의적으로 높게 나타났음( $p<0.05$ ).

<표 31> 국산 채소 종류별 pH, 산도 및 염도 비교

채소 종류	pH		산도(%)		염도(%)	
	평균± 표준오차	범 위	평균± 표준오차	범 위	평균± 표준오차	범 위
배추	6.15±0.01 <sup>A</sup>	5.95-6.30	0.15±0.004 <sup>B</sup>	0.11-0.20	0.05±0.002 <sup>C</sup>	0.03-0.07
무	5.94±0.03 <sup>B</sup>	5.44-6.20	0.13±0.004 <sup>CD</sup>	0.06-0.17	0.05±0.003 <sup>C</sup>	0.02-0.08
상추	5.88±0.01 <sup>B</sup>	5.69-6.04	0.12±0.004 <sup>D</sup>	0.09-0.16	0.15±0.011 <sup>A</sup>	0.07-0.29
시금치	6.12±0.03 <sup>A</sup>	5.85-6.55	0.19±0.008 <sup>A</sup>	0.14-0.29	0.14±0.015 <sup>A</sup>	0.02-0.26
순무	6.16±0.07 <sup>A</sup>	5.73-6.39	0.14±0.005 <sup>C</sup>	0.10-0.17	0.08±0.008 <sup>B</sup>	0.05-0.14

<sup>A-D</sup>는 같은 열에서 서로 다른 문자 간 유의적 차이를 나타냄( $p<0.05$ ).

- 국산 채소 종류별 고형분, 아질산나트륨 및 질산나트륨 함량은 <표 32>와 같음.
- 채소별 고형분 함량은 순무(6.29%)가 가장 높았으며(p<0.05), 반면 상추의 고형분 함량은 2.25%로 국산 채소 종류 중 가장 낮았음(p<0.05).
- 시금치의 아질산나트륨 함량은 2.83ppm으로 채소 중에서 가장 높은 아질산나트륨을 함유하고 있었음(p<0.05). 이외의 채소류(배추, 무, 상추 및 순무)의 아질산나트륨 함량은 모두 1ppm 미만으로 검출되었으며, 유의적인 차이는 없었음(p>0.05).
- 또한, 국산 채소의 질산나트륨 함량에서도 시금치가 3,578ppm으로 가장 높았으나(p<0.05), 무(3,186ppm)와 유의적인 차이를 보이지 않았음(p>0.05). 반면, 순무의 질산나트륨 함량은 조사한 국산 채소류 중 가장 낮았음(p<0.05). 한편, 배추와 상추는 약 2,400ppm의 유사한 질산나트륨을 함유하였음(p>0.05).

<표 32> 국산 채소 종류별 고형분, 아질산나트륨 및 질산나트륨 함량 비교

채소 종류	고형분(%)		아질산나트륨(ppm)		질산나트륨(ppm)	
	평균±표준오차	범 위	평균±표준오차	범 위	평균±표준오차	범 위
배추	4.04±0.05 <sup>C</sup>	3.20-4.80	0.34±0.05 <sup>B</sup>	ND-0.95	2,454±69 <sup>B</sup>	1,551-3,036
무	3.70±0.05 <sup>D</sup>	2.60-4.60	0.38±0.09 <sup>B</sup>	ND-2.03	3,186±79 <sup>AB</sup>	2,425-4,269
상추	2.25±0.04 <sup>E</sup>	1.60-2.90	0.87±0.10 <sup>B</sup>	0.14-2.43	2,410±157 <sup>B</sup>	471-4,057
시금치	4.88±0.23 <sup>B</sup>	2.60-8.60	2.83±0.58 <sup>A</sup>	ND-9.99	3,578±581 <sup>A</sup>	345-8,501
순무	6.29±0.10 <sup>A</sup>	5.40-7.00	0.16±0.01 <sup>B</sup>	0.14-0.27	1,108±284 <sup>C</sup>	93-4,052

<sup>A-E</sup>는 같은 열에서 서로 다른 문자 간 유의적 차이를 나타냄(p<0.05).

ND: 불검출(not detected).

- 본 연구는 국산 채소 종류별 이화학적 특성을 비교하고 합성 아질산염 대체 소재로써 적합성을 판단하기 위하여 수행하였음. 국산 채소류의 평균 질산나트륨 함량은 1,108~3,578 ppm으로 국산 채소의 합성 아질산염 대체 소재화를 위해서는 채소류 내 질산나트륨을 추출, 농축 및 건조 등의 방법을 통해 증가시키는 것이 필요함.

#### 나) 과일의 아질산나트륨 및 질산나트륨 함량 조사

- 굴 과육과 굴 껍질에 함유된 아질산나트륨 및 질산나트륨 함량은 <표 33>과 같음.
- 굴 껍질의 아질산나트륨은 0.25 ppm으로 극미량을 함유하였으나, 굴 과육에서는 아질산나트륨이 검출되지 않았음.
- 반면, 질산나트륨 함량은 굴 과육에서 3.80 ppm으로 굴 껍질(3.55 ppm)의 질산나트륨 함량보다 높았음(p<0.05).

<표 33> 굴에 함유된 아질산나트륨 및 질산나트륨 함량

분 류	아질산나트륨(ppm)		질산나트륨(ppm)	
	평균±표준오차	범 위	평균±표준오차	범 위
굴 과육	ND	ND	3.80±0.07 <sup>A</sup>	3.51-4.10
굴 껍질	0.25±0.02	0.20-0.34	3.55±0.09 <sup>B</sup>	3.26-4.14
굴 평균	0.12±0.03	ND-0.34	3.68±0.06	3.26-4.14

<sup>A, B</sup>는 같은 열에서 서로 다른 문자 간 유의적 차이를 나타냄(p<0.05).

ND: 불검출(not detected).

- 참외 과육 및 껍질에 함유된 아질산나트륨 및 질산나트륨 함량은 <표 34>와 같음.
- 참외의 아질산나트륨 함량은 평균 0.06ppm을 함유하였음.
- 참외 과육에서는 879 ppm의 질산나트륨이 검출되었으며, 참외 껍질(736 ppm)보다 높은 질산나트륨 함량을 함유하고 있었음(p<0.05).

<표 34> 참외에 함유된 아질산나트륨 및 질산나트륨 함량

분 류	아질산나트륨(ppm)		질산나트륨(ppm)	
	평균±표준오차	범 위	평균±표준오차	범 위
참외 과육	0.05±0.01 <sup>A</sup>	ND-0.07	879±14 <sup>A</sup>	828-927
참외 껍질	0.07±0.02 <sup>A</sup>	ND-0.14	736±15 <sup>B</sup>	682-799
참외 평균	0.06±0.01	ND-0.14	807±18	682-927

<sup>A, B</sup>는 같은 열에서 서로 다른 문자 간 유의적 차이를 나타냄(p<0.05).

ND: not detected.

- 과일 2종에 대하여 과육 및 과일 부산물에 함유된 질산나트륨과 아질산나트륨 함량을 조사한 결과 과일의 아질산나트륨 함량은 매우 낮았음.
- 과일 중 참외는 질산나트륨 함량이 귤보다 비교적 높았으나, 질산나트륨 함량이 682~927 ppm으로 1,000 ppm 미만이었음.
- 따라서 과일은 질산나트륨 함량이 낮아 합성 아질산염 대체 소재로 사용하기에는 적합하지 않은 것으로 판단됨.

#### 다) 채소 부산물의 아질산나트륨 및 질산나트륨 함량 조사

- 배추 부산물의 아질산나트륨 및 질산나트륨 함량은 <표 35>와 같음.
- 배추 겉잎과 심지의 아질산나트륨(배추 겉잎 0.71 ppm, 배추 심지 1.15 ppm)은 소량 검출되었으나, 배추 밑동은 65.77 ppm으로 다른 배추 부산물(겉잎, 심지)에 비해 높은 아질산나트륨 함량을 함유하였음(p<0.05).
- 배추 부산물의 평균 질산나트륨 함량은 5,670 ppm(3,478~7,220 ppm)이었으며, 특히 배추 밑동(6,875 ppm)과 심지(6,543 ppm)에서 높은 질산나트륨 함량을 보였음(p<0.05).

<표 35> 배추 부산물에 함유된 아질산나트륨 및 질산나트륨 함량

분 류	아질산나트륨(ppm)		질산나트륨(ppm)	
	평균±표준오차	범 위	평균±표준오차	범 위
배추 겉잎	0.71±0.05 <sup>C</sup>	0.41-1.08	4,631±217 <sup>B</sup>	3,478-5,853
배추 밑동	65.77±0.21 <sup>A</sup>	64.96-66.58	6,875±98 <sup>A</sup>	6,545-7,220
배추 심지	1.15±0.04 <sup>B</sup>	0.95-1.35	6,543±32 <sup>A</sup>	6,426-6,661
배추 부산물 평균	17.08±28.26	0.41-66.58	5,670±132	3,478-7,220

<sup>A-C</sup>는 같은 열에서 서로 다른 문자 간 유의적 차이를 나타냄(p<0.05).

- 무 부산물의 아질산나트륨 및 질산나트륨 함량은 <표 36>과 같음.
- 무 윗동·밑동의 아질산나트륨 함량은 2.57 ppm으로, 무 껍질(5.06 ppm)보다 낮은 아질산나트륨을 함유하고 있었으며(p<0.05), 무 부산물의 평균 아질산나트륨 함량은 3.82 ppm(2.30~5.27 ppm)이었음.
- 무 부산물의 평균 질산나트륨 함량은 5,501 ppm(4,163~7,285 ppm)이며, 특히 무 윗동·밑동(6,824 ppm)이 무 껍질(4,177 ppm)보다 높은 질산나트륨을 함유하고 있었음(p<0.05).

<표 36> 무 부산물에 함유된 아질산나트륨 및 질산나트륨 함량

분 류	아질산나트륨(ppm)		질산나트륨(ppm)	
	평균±표준오차	범 위	평균±표준오차	범 위
무 껍질	5.06±0.04 <sup>A</sup>	4.86-5.27	4,177±4 <sup>B</sup>	4,163-4,192
무 윗동·밑동	2.57±0.05 <sup>B</sup>	2.30-2.84	6,824±139 <sup>A</sup>	6,360-7,285
무 부산물 평균	3.82±0.26	2.30-5.27	5,501±284	4,163-7,285

A, B는 같은 열에서 서로 다른 문자 간 유의적 차이를 나타냄(p<0.05).

- 순무 부산물의 아질산나트륨 및 질산나트륨 함량은 <표 37>과 같음.
- 순무 부산물의 평균 아질산나트륨 함량은 0.31 ppm(0.14~0.41 ppm)으로 1 ppm 미만의 낮은 아질산나트륨 함량이 검출되었음.
- 순무 부산물의 평균 질산나트륨 함량 평균은 614 ppm(360~1,027 ppm)으로 순무 청(904 ppm)에서 가장 높았음(p<0.05).

<표 37> 배추 부산물에 함유된 아질산나트륨 및 질산나트륨 함량

분 류	아질산나트륨(ppm)		질산나트륨(ppm)	
	평균±표준오차	범 위	평균±표준오차	범 위
순무 껍질	0.34±0.02 <sup>A</sup>	0.27-0.41	383±7 <sup>C</sup>	360-406
순무 윗동·밑동	0.32±0.02 <sup>AB</sup>	0.27-0.41	558±2 <sup>B</sup>	547-570
순무 청	0.27±0.02 <sup>B</sup>	0.14-0.41	904±36 <sup>A</sup>	781-1,027
순무 부산물 평균	0.31±0.01	0.14-0.41	614±38	360-1,027

A-C는 같은 열에서 서로 다른 문자 간 유의적 차이를 나타냄(p<0.05).

- 순무를 제외한 채소 부산물은 높은 질산나트륨을 함유하고 있었음.
- 따라서 채소 가공 시 발생하는 부산물을 합성 아질산염 대체 소재로 활용하면 높은 질산나트륨을 함유하면서도 폐기물 감소, 단가 절감, 친환경 등의 이점을 통해 새로운 부가가치를 창출할 수 있을 것으로 판단됨.

## 2) 합성 아질산염 대체 소재로서 pilot scale 국산 채소류 농축 및 분말화 최적 조건 확립

### 가) 합성 아질산염 대체 소재화를 위한 국산 채소류의 아질산나트륨 및 질산나트륨 추출 조건

- 국산 채소류의 합성 아질산염 대체 소재화를 위해 추출 용매, 시간 및 온도에 따라 채소 추출물을 제조하고 아질산나트륨 및 질산나트륨 함량을 조사하였음. 국산 채소류로는 무를 사용하였으며, 처리구는 다음과 같이 준비하였음: 처리구 1(물/80℃/15분), 처리구 2(물/80℃/4시간) 및 처리구 3(75% 에탄올/80℃/4시간).
- 추출 조건에 따른 국산 무의 아질산나트륨 및 질산나트륨 함량은 <표 38>과 같음. 아질산나트륨 함량은 모든 처리구에서 평균 0.14 ppm으로 차이가 없었음(p>0.05). 열수 추출 처리구들(처리구 1 및 2)에서 시간에 따른 질산나트륨 함량은 차이가 없었음(p>0.05). 한편, 75% 에탄올로 추출한 처리구 3은 물로 추출한 처리구들(처리구 1 및 2)보다 질산나트륨 함량이 유의적으로 낮았음(p<0.05).

<표 38> 추출 조건에 따른 국산 무의 아질산나트륨 및 질산나트륨 함량 비교

처리구	실험 항목	
	아질산나트륨(ppm)	질산나트륨(ppm)
처리구 1	0.14±0.00 <sup>A</sup>	3,502±59.25 <sup>A</sup>
처리구 2	0.14±0.00 <sup>A</sup>	3,280±90.76 <sup>A</sup>
처리구 3	0.14±0.00 <sup>A</sup>	2,748±157.40 <sup>B</sup>

처리구: 처리구 1(물/80℃/15분), 처리구 2(물/80℃/4시간) 및 처리구 3(75%에탄올/80℃/4시간).

모든 수치는 평균±표준오차.

<sup>A, B</sup>는 같은 열에서 서로 다른 문자 간 유의적 차이를 나타냄(p<0.05).

- 결론적으로 채소류의 합성 아질산염 대체 소재화를 위한 질산나트륨 추출 시 용매로는 물이 효과적이었으며, 80℃ 기준에서 추출 시간은 질산나트륨 추출량에 영향을 미치지 않았음.

#### 나) 국산 채소의 종류, 산지 및 수확시기에 따른 채소 분말의 품질 특성 조사

##### (1) 산지, 수확시기 및 건조 방법에 따른 배추 분말의 이화학적 특성 비교

- 본 연구는 산지(경기, 경상, 전라, 충청 및 강원), 수확시기(여름 및 겨울) 및 건조 방법(열풍건조 및 동결건조)에 따른 국산 배추 분말의 이화학적 특성을 확인하고 합성 아질산염 대체 소재로써 적합성을 판단하기 위하여 수행하였음.
- 배추는 산지 및 수확시기별로 구매한 후 분쇄하였으며, 분쇄된 배추는 60℃에서 12시간 동안 열풍건조하거나 -40℃에서 48시간 동안 동결건조 하였음. 건조된 배추는 다시 분쇄하고 30 mesh의 체를 통과시켜 배추 분말을 얻음.
- 산지, 수확시기 및 건조 방법에 따른 배추 분말의 이화학적 특성은 <표 39>와 같음.
- 산지별 배추 분말의 아질산나트륨 함량은 전라도 배추 분말에서 54.43 ppm으로 가장 높았으며(p<0.05), 다른 산지의 배추 분말은 1 ppm 미만의 아질산나트륨을 함유하였음. 배추 분말의 산지별 질산나트륨 함량은 경상도 배추 분말이 가장 높았음(p<0.05).
- 수확시기에 따른 배추 분말의 아질산나트륨 및 질산나트륨 함량은 겨울 배추 분말보다 여름 배추에서 높게 나타났음(p<0.05).
- 열풍건조한 배추 분말은 동결 건조한 배추 분말보다 아질산나트륨 및 질산나트륨 함량이 높았음(p<0.05).



<표 39> 산지, 수확시기 및 건조 방법에 따른 배추 분말의 건조 수율, 수분함량, pH, 아질산나트륨 및 질산나트륨 비교

주요 효과	건조 수율(%)	수분함량(%)	pH	아질산나트륨 (ppm)	질산나트륨 (ppm)
산지					
경기	4.77 <sup>E</sup>	4.98 <sup>B</sup>	5.83 <sup>C</sup>	0.60 <sup>B</sup>	42,312 <sup>B</sup>
경상	4.94 <sup>D</sup>	4.72 <sup>B</sup>	5.75 <sup>D</sup>	0.78 <sup>B</sup>	44,596 <sup>A</sup>
전라	5.45 <sup>B</sup>	5.58 <sup>A</sup>	6.03 <sup>A</sup>	54.43 <sup>A</sup>	43,210 <sup>B</sup>
충청	5.68 <sup>A</sup>	5.43 <sup>A</sup>	5.86 <sup>BC</sup>	0.74 <sup>B</sup>	38,280 <sup>C</sup>
강원	5.13 <sup>C</sup>	4.14 <sup>C</sup>	5.90 <sup>B</sup>	0.78 <sup>B</sup>	38,846 <sup>C</sup>
SEM	0.06	0.14	0.02	8.24	430
수확시기					
여름	4.71 <sup>B</sup>	5.07 <sup>A</sup>	5.88 <sup>A</sup>	22.14 <sup>A</sup>	43,216 <sup>A</sup>
겨울	5.67 <sup>A</sup>	4.87 <sup>A</sup>	5.87 <sup>A</sup>	0.80 <sup>B</sup>	39,681 <sup>B</sup>
SEM	0.05	0.09	0.01	5.23	271
건조 방법					
열풍건조	5.00 <sup>B</sup>	5.28 <sup>A</sup>	5.55 <sup>B</sup>	22.19 <sup>A</sup>	43,191 <sup>A</sup>
동결건조	5.38 <sup>A</sup>	4.66 <sup>B</sup>	6.20 <sup>A</sup>	0.74 <sup>B</sup>	39,706 <sup>B</sup>
SEM	0.05	0.09	0.01	5.20	270

<sup>A-E</sup>는 같은 열에서 서로 다른 문자는 유의적 차이를 나타냄(p<0.05).

SEM: 평균의 표준오차.

- 열풍건조된 전라도 여름 배추 분말은 높은 아질산나트륨을 함유하고 있었음. 산지, 수확시기 및 건조 방법과 관계없이 국산 배추 분말은 약 38,000 ppm 이상의 높은 질산나트륨 함량을 보였으며, 합성 아질산염 대체 소재로 적합할 것으로 판단됨.

## (2) 산지, 수확시기 및 건조 방법에 따른 무 분말의 이화학적 특성 비교

- 본 연구는 산지(경기, 경상, 전라, 충청 및 강원), 수확시기(여름 및 겨울) 및 건조 방법(열풍건조 및 동결건조)에 따른 국산 무 분말의 이화학적 특성을 확인하고 합성 아질산염 대체 소재로써 적합성을 판단하기 위하여 수행하였음.
- 무는 산지 및 수확시기별로 구매 후 분쇄하였으며, 분쇄된 무는 60℃에서 12시간 동안 열풍건조하거나 -40℃에서 48시간 동안 동결건조 하였음. 건조된 무는 다시 분쇄하고 30 mesh의 체를 통과시켜 무 분말을 얻음.
- 산지, 수확시기 및 건조 방법에 따른 무 분말의 이화학적 특성은 <표 40>과 같음.
- 무 분말의 아질산나트륨 함량은 산지별로 차이가 있었으나, 모두 1 ppm 미만이었음. 산지별 무 분말의 질산나트륨 함량은 경상도가 다른 산지보다 가장 높았음 (p<0.05).
- 수확시기에 따른 무 분말의 건조 수율, 수분함량, pH 및 아질산나트륨 함량은 겨울 무 분말에서 높았으나(p<0.05), 질산나트륨 함량에서는 여름 무 분말이 겨울 분말보다 높게 나타났음(p<0.05).
- 건조 방법별 무 분말의 건조 수율, pH 및 아질산나트륨 함량은 동결건조한 무 분말에서 높았으나(p<0.05), 수분함량과 질산나트륨 함량에서는 건조 방법에 따른 질산나트륨 함량에 차이를 보이지 않았음(p>0.05).

<표 40> 산지, 수확시기 및 건조 방법에 따른 무 분말의 건조 수율, 수분함량, pH, 아질산나트륨 및 질산나트륨 함량 비교

주요 효과	건조 수율(%)	수분함량(%)	pH	아질산나트륨 (ppm)	질산나트륨 (ppm)
산지					
경기	5.90 <sup>A</sup>	4.68 <sup>B</sup>	5.54 <sup>B</sup>	0.35 <sup>B</sup>	57,510 <sup>B</sup>
경상	4.86 <sup>D</sup>	4.81 <sup>AB</sup>	5.44 <sup>C</sup>	0.30 <sup>BC</sup>	68,737 <sup>A</sup>
전라	5.14 <sup>B</sup>	5.34 <sup>A</sup>	5.63 <sup>A</sup>	0.25 <sup>C</sup>	60,398 <sup>B</sup>
충청	5.02 <sup>C</sup>	5.10 <sup>AB</sup>	5.39 <sup>D</sup>	0.34 <sup>B</sup>	60,310 <sup>B</sup>
강원	4.89 <sup>D</sup>	4.91 <sup>AB</sup>	5.64 <sup>A</sup>	0.46 <sup>A</sup>	60,129 <sup>B</sup>
SEM	0.02	0.23	0.01	0.04	2,433
수확시기					
여름	5.11 <sup>B</sup>	4.31 <sup>B</sup>	5.43 <sup>B</sup>	0.26 <sup>B</sup>	68,493 <sup>A</sup>
겨울	5.21 <sup>A</sup>	5.63 <sup>A</sup>	5.62 <sup>A</sup>	0.42 <sup>A</sup>	54,340 <sup>B</sup>
SEM	0.01	0.16	0.01	0.03	2,025
건조 방법					
열풍건조	5.03 <sup>B</sup>	4.90 <sup>A</sup>	5.14 <sup>B</sup>	0.30 <sup>B</sup>	62,823 <sup>A</sup>
동결건조	5.29 <sup>A</sup>	5.04 <sup>A</sup>	5.91 <sup>A</sup>	0.38 <sup>A</sup>	60,011 <sup>A</sup>
SEM	0.01	0.16	0.01	0.03	2,044

<sup>A-D</sup>는 같은 열에서 서로 다른 문자는 유의적 차이를 나타냄(p<0.05).

SEM: 평균의 표준오차.

- 산지, 수확시기 및 건조 방법과 관계없이 국산 무 분말은 높은 질산나트륨 함량을 보였으며, 합성 아질산염 대체 소재로서 적합할 것으로 판단됨.

### (3) 산지 및 수확시기에 따른 상추 분말의 이화학적 특성 비교

- 본 연구는 산지(경기, 경상, 전라, 충청 및 강원) 및 수확시기(여름 및 겨울)에 따른 국산 상추 분말의 이화학적 특성을 확인하고 합성 아질산염 대체 소재로서 적합성을 판단하기 위하여 수행하였음.
- 상추는 산지 및 수확시기별로 구매 후 분쇄하였으며, 분쇄된 상추는 60°C에서 12 시간 동안 열풍건조 하였음. 건조된 상추는 다시 분쇄하고 30 mesh의 체를 통과시켜 상추 분말을 얻음.
- 산지 및 수확시기에 따른 상추 분말의 이화학적 특성은 <표 41>과 같음.
- 충청도 상추 분말은 pH와 아질산나트륨 함량이 가장 높았으며(p<0.05), 특히 아질산나트륨 함량은 111.76 ppm으로 매우 높은 수준이었음. 산지별 상추 분말의 질산나트륨 함량은 전라도 상추에서 가장 높았으며(p<0.05), 강원도 상추의 경우 질산나트륨 함량이 19,418 ppm으로 가장 낮았음(p<0.05).
- 한편, 수확시기에 따른 상추 분말의 아질산나트륨 함량은 여름 상추 분말에서 173.81 ppm으로 겨울 배추 분말(0.75 ppm)보다 높았던(p<0.05) 반면, 질산나트륨은 수확시기에 따른 차이가 없었음(p>0.05).

<표 41> 산지 및 수확시기에 따른 상추 분말의 건조 수율, 수분함량, pH, 아질산나트륨 및 질산나트륨 함량 비교

주요 효과	건조 수율(%)	수분함량(%)	pH	아질산나트륨 (ppm)	질산나트륨 (ppm)
<b>산지</b>					
경기	3.98 <sup>E</sup>	3.54 <sup>BC</sup>	5.58 <sup>B</sup>	31.49 <sup>B</sup>	47,216 <sup>B</sup>
경상	4.87 <sup>A</sup>	3.95 <sup>A</sup>	5.58 <sup>B</sup>	37.99 <sup>B</sup>	29,624 <sup>D</sup>
전라	4.38 <sup>C</sup>	3.63 <sup>B</sup>	5.41 <sup>C</sup>	9.03 <sup>B</sup>	52,666 <sup>A</sup>
충청	4.53 <sup>B</sup>	3.29 <sup>C</sup>	5.69 <sup>A</sup>	111.76 <sup>A</sup>	33,028 <sup>C</sup>
강원	4.10 <sup>D</sup>	3.52 <sup>BC</sup>	5.41 <sup>C</sup>	11.12 <sup>B</sup>	19,418 <sup>E</sup>
SEM	0.03	0.10	0.03	21.68	709
<b>수확시기</b>					
여름	3.70 <sup>B</sup>	3.98 <sup>A</sup>	5.76 <sup>A</sup>	73.37 <sup>A</sup>	36,193 <sup>A</sup>
겨울	5.04 <sup>A</sup>	3.20 <sup>B</sup>	5.31 <sup>B</sup>	0.75 <sup>B</sup>	36,587 <sup>A</sup>
SEM	0.02	0.06	0.02	13.92	448

<sup>A-E</sup>는 같은 열에서 서로 다른 문자는 유의적 차이를 나타냄(p<0.05).

SEM: 평균의 표준오차.

- 상추 분말은 산지에 따라 질산나트륨 함량의 차이가 크며, 특히 강원도 상추 분말의 경우 약 19,000 ppm의 매우 낮은 질산나트륨 함량을 보였기에 상추 분말은 합성 아질산염 대체 소재로써 사용하기 어려울 것으로 예상됨.

#### (4) 산지 및 수확시기에 따른 시금치 분말의 이화학적 특성 비교

- 본 연구는 산지(경기, 경상, 전라 및 충청) 및 수확시기(여름 및 겨울)에 따른 국산 시금치 분말의 이화학적 특성을 확인하고 합성 아질산염 대체 소재로써 적합성을 판단하기 위하여 수행하였음.
- 시금치는 산지 및 수확시기별로 구매한 후 분쇄하였으며, 분쇄된 시금치는 60°C에서 12시간 동안 열풍건조 하였음. 건조된 시금치는 다시 분쇄하고 30 mesh의 체를 통과시켜 시금치 분말을 얻음.
- 산지 및 수확시기에 따른 시금치 분말의 이화학적 특성은 <표 42>와 같음.
- 산지별 시금치 분말의 아질산나트륨 함량은 충청도 시금치 분말에서 108.83 ppm으로 경기도 및 경상도 시금치 분말보다 높았음(p<0.05). 산지별 시금치 분말의 질산나트륨 함량은 경기도 시금치 분말에서 38,484 ppm으로 가장 낮았으며(p<0.05) 반면, 전라도 시금치의 경우 질산나트륨 함량이 77,329 ppm으로 모든 산지 중 가장 높았음(p<0.05).
- 수확시기에 따른 시금치 분말은 겨울 시금치 분말보다는 여름 시금치 분말에서 아질산나트륨 및 질산나트륨 함량이 높게 나타남(p<0.05).

<표 42> 산지 및 수확시기에 따른 시금치 분말의 건조 수율, 수분함량, pH, 아질산나트륨 및 질산나트륨 함량 비교

주요 효과	건조 수율(%)	수분함량(%)	pH	아질산나트륨 (ppm)	질산나트륨 (ppm)
산지					
경기	8.18 <sup>B</sup>	3.31 <sup>B</sup>	6.14 <sup>A</sup>	68.09 <sup>B</sup>	38,484 <sup>C</sup>
경상	9.27 <sup>A</sup>	3.83 <sup>A</sup>	6.05 <sup>B</sup>	64.63 <sup>B</sup>	50,100 <sup>B</sup>
전라	7.30 <sup>C</sup>	2.95 <sup>C</sup>	6.01 <sup>C</sup>	88.51 <sup>AB</sup>	77,329 <sup>A</sup>
충청	8.31 <sup>B</sup>	3.41 <sup>B</sup>	6.04 <sup>BC</sup>	108.83 <sup>A</sup>	52,455 <sup>B</sup>
SEM	0.06	0.10	0.01	10.79	1,927
수확시기					
여름	6.03 <sup>B</sup>	3.13 <sup>B</sup>	6.08 <sup>A</sup>	108.96 <sup>A</sup>	79,049 <sup>A</sup>
겨울	10.50 <sup>A</sup>	3.62 <sup>A</sup>	6.03 <sup>B</sup>	56.07 <sup>B</sup>	30,135 <sup>B</sup>
SEM	0.04	0.07	0.01	8.29	1,364

<sup>A-C</sup>는 같은 열에서 서로 다른 문자는 유의적 차이를 나타냄( $p < 0.05$ ).

SEM: 평균의 표준오차.

- 수확시기에 따른 시금치 분말의 아질산나트륨 및 질산나트륨 함량을 조사한 결과, 시금치 분말은 모든 산지 및 수확시기에서 높은 질산나트륨을 함유하여 합성 아질산염 대체 소재로서 적합하다고 판단됨.

#### (5) 재배 농가 및 수확시기에 따른 순무 분말의 이화학적 특성 비교

- 본 연구는 재배 농가 및 수확시기(여름 및 겨울)에 따른 국산 순무 분말의 이화학적 특성을 확인하고 합성 아질산염 대체 소재로서 적합성을 판단하기 위하여 수행하였음.
- 순무는 주로 강화도에서 재배되기 때문에 산지를 5대 권역으로 조사할 수 없었으며, 따라서 같은 산지(강화도) 내 2곳의 농가(강화도 A 및 B)에서 재배한 순무를 수확시기별로 구매한 후, 분쇄하였음. 분쇄된 순무는 60℃에서 12시간 동안 열풍건조 하였음. 건조된 순무는 다시 분쇄하고 30 mesh의 체를 통과시켜 순무 분말을 얻음.
- 재배 농가 및 수확시기에 따른 순무 분말의 이화학적 특성은 <표 43>과 같음.
- 재배 농가별 순무 분말은 건조 수율 및 수분함량에서 차이가 없었으나( $p > 0.05$ ), pH, 아질산나트륨 및 질산나트륨 함량에서 재배 농가별 순무 분말의 차이를 보임( $p < 0.05$ ). 순무 분말은 같은 산지 내에서 재배되었음에도 농가별로 재배된 순무 분말의 질산나트륨 함량 차이는 약 2.5배 이상으로 나타났음.
- 한편, 수확시기에 따른 순무 분말의 아질산나트륨 및 질산나트륨 함량은 여름 순무 분말에서 겨울 순무 분말보다 높았음( $p < 0.05$ ).

<표 43> 재배 농가 및 수확시기에 따른 순무 분말의 건조 수율, 수분함량, pH, 아질산나트륨 및 질산나트륨 함량 비교

주요 효과	건조 수율(%)	수분함량(%)	pH	아질산나트륨 (ppm)	질산나트륨 (ppm)
<b>재배 농가</b>					
강화도 A	8.29 <sup>A</sup>	4.37 <sup>A</sup>	5.14 <sup>B</sup>	0.18 <sup>B</sup>	7,411 <sup>B</sup>
강화도 B	8.32 <sup>A</sup>	4.51 <sup>A</sup>	5.44 <sup>A</sup>	0.48 <sup>A</sup>	19,465 <sup>A</sup>
SEM	0.02	0.30	0.01	0.07	375
<b>수확시기</b>					
여름	7.69 <sup>B</sup>	4.56 <sup>A</sup>	5.17 <sup>B</sup>	0.46 <sup>A</sup>	19,753 <sup>A</sup>
겨울	8.92 <sup>A</sup>	4.32 <sup>A</sup>	5.41 <sup>A</sup>	0.20 <sup>B</sup>	7,123 <sup>B</sup>
SEM	0.02	0.30	0.01	0.07	375

<sup>A, B</sup>는 같은 열에서 서로 다른 문자는 유의적 차이를 나타냄(p<0.05).

SEM: 평균의 표준오차.

- 산지 및 수확시기와 관계없이 국산 순무 분말은 20,000 ppm 이하의 낮은 질산나트륨 함량을 보였으며, 따라서 합성 아질산염 대체 소재로써 부적합한 것으로 판단됨.

#### 다) 국산 무 분말과 시판되는 수입산 식물성 대체 분말의 이화학적 특성 비교

- 본 연구는 합성 아질산염 대체 소재로써 선별된 국산 무 분말과 수입산 식물성 대체 분말의 품질 특성을 비교하기 위하여 수행하였음.
- 시판되는 수입산 식물성 대체 분말은 VegStable 502(셀러리 분말, Florida Food Products, 미국)와 Celery juice powder(Dianafood, 스페인)를 구매한 후, 선별된 국산 무 분말과 함께 이화학적 특성을 분석하였음<표 44>.
- VegStable 502는 pH, 염도, 당도에서 동일한 셀러리 분말인 Celery juice powder와 국산 무 분말보다 높게 나타났음(p<0.05).
- 반면, 산도에서는 국산 무 분말이 가장 높았으며(p<0.05), 셀러리를 주원료로 하는 수입산 식물성 대체 분말 간의 차이는 없었음(p>0.05).
- 아질산나트륨 함량은 국산 무 분말에서 0.27 ppm, Celery juice powder는 0.61 ppm으로 차이가 없었으며(p>0.05), VegStable 502는 13.71 ppm으로 다른 식물성 분말보다 높은 아질산나트륨 함량을 보였음(p<0.05).
- 식물성 분말의 질산나트륨 함량은 국산 무 분말에서 60,224 ppm으로 가장 높았으며(p<0.05), 셀러리 분말을 사용한 수입산에서는 VegStable 502의 질산나트륨이 31,793 ppm으로 Celery juice powder(27,514 ppm)보다 높았음(p<0.05).

<표 44> 한국형 합성 아질산염 대체 분말과 기존 시판 중인 식물성 대체 분말의 pH, 산도, 염도, 당도, 아질산나트륨 및 질산나트륨 비교

처리구	pH	산도(%)	염도(%)	당도(%)	아질산나트륨 (ppm)	질산나트륨 (ppm)
국산 무 분말	5.09±0.01 <sup>C</sup>	0.12±0.00 <sup>A</sup>	2.55±0.03 <sup>C</sup>	3.30±0.04 <sup>C</sup>	0.27±0.00 <sup>B</sup>	60,224±930 <sup>A</sup>
VegStable 502	6.15±0.00 <sup>A</sup>	0.05±0.00 <sup>B</sup>	4.18±0.03 <sup>A</sup>	5.15±0.03 <sup>A</sup>	13.71±1.20 <sup>A</sup>	31,793±715 <sup>B</sup>
Celery juice powder	5.17±0.00 <sup>B</sup>	0.05±0.00 <sup>B</sup>	3.85±0.06 <sup>B</sup>	4.90±0.04 <sup>B</sup>	0.61±0.04 <sup>B</sup>	27,514±1029 <sup>C</sup>

모든 수치는 평균±표준오차.

<sup>A-C</sup>는 같은 열에서 서로 다른 문자 간 유의적 차이를 나타냄(p<0.05).

- 국산 무 분말은 수입산 식물성 대체 분말보다는 질산나트륨 함량이 높아 천연 질산염 공급원으로서 적합할 것으로 판단됨.

#### 라) 선별된 국산 채소 분말과 시판 중인 수입산 식물성 대체 분말의 아질산염 및 질산염 함량 검증

- 본 연구를 통해 선별된 국산 무 분말과 수입산 식물성 대체 분말의 천연 질산염 공급원으로써 적합성을 검증하기 위하여 국가공인시험기관에 아질산염 및 질산염 함량 분석을 의뢰하였음.
- 수입산 식물성 대체 분말로는 VegStable 502(셀러리 분말, Florida Food Products, 미국)와 Celery juice powder(Dianafood, 스페인)를 준비하였음.
- 국가공인시험기관에서 분석한 식물성 대체 분말의 아질산염 및 질산염 함량은 <표 45>와 같으며, 시험 성적서는 <그림 67>과 같음.
- 국가공인시험기관의 아질산염 분석 결과는 VegStable 502에서 15.80 ppm으로 가장 높았으며, 국산 무 분말과 Celery juice powder는 1 ppm 미만이었음.
- 질산염 분석 결과에서는 국산 무 분말에서 66,112 ppm으로 가장 높았으며, VegStable 502(33,068 ppm)와 Celery juice powder(31,248 ppm)는 유사한 질산염을 함유하고 있었음.

<표 45> 무 분말, VegStable 502 및 Celery juice powder의 아질산염 및 질산염 함량에 대한 국가공인시험기관의 분석 결과

채소 분말 종류	실험 항목	
	아질산나트륨(ppm)	질산칼륨(ppm)
선별된 무 분말	0.16	66,112
VegStable 502	15.80	33,068
Celery juice powder	0.54	31,248

**KOTITI 시험연구원** 글로벌 안전성 연구하고 미래기술 선도하는 글로벌 파트너  
 Global Business Partner for Human Safety and Future Technology

### 시험 · 검사성적서

발행번호	20191127-007	접수번호	82193104100113-001
검사번호	2019-11-27	접수연월일	2019-11-27
제품명	감사대 무분말		
등록/제조번호	등록제조신고번호		
제조/제품명	유황/생물유지기능		
원산지	영양	신장용	영양제이고 신약합제이다
제조용	소재지	무산물에서 남구 수량으로 300 평상대하고 내 7호분 8호 400호 (10만통)	제조국
제조용	소재지		
시험 · 검사목적	만능유역QC		

**시험 · 검사 항목 및 결과**

시험 · 검사항목	시험 · 검사결과	단위	비고
Sodium nitrate	0.16	mg/kg	
Potassium nitrate	66112	mg/kg	

시험장사명: 한국지  
 시험장사책임자: 권민하

※ 이 문장은 제품명 시험 검사 항목만을 대상으로 한 것입니다.  
 ※ 지정된 무분말 감사대 무분말 시험 검사 항목 및 결과만을 참조 가능합니다.  
 ※ 본 결과는 검고, 출고, 발송시 모두 본 문서에 따라서는 사용 불가능합니다.

2019년 11월 27일

(사)KOTITI 시험연구원

경기도 성남시 중원구 둔촌대로 541번길 29 2층 (생태농장) T02-3451-7457 F02-3451-7464

KOTITI Testing & Research Institute Page 1 of 1

**KOTITI 시험연구원** 글로벌 안전성 연구하고 미래기술 선도하는 글로벌 파트너  
 Global Business Partner for Human Safety and Future Technology

### 시험 · 검사성적서

발행번호	20191127-008	접수번호	82193104100113-002
검사번호	2019-11-27	접수연월일	2019-11-27
제품명	VegStable 502		
등록/제조번호	등록제조신고번호		
제조/제품명	유황/생물유지기능		
원산지	영양	신장용	영양제이고 신약합제이다
제조용	소재지	무산물에서 남구 수량으로 300 평상대하고 내 7호분 8호 400호 (10만통)	제조국
제조용	소재지		
시험 · 검사목적	만능유역QC		

**시험 · 검사 항목 및 결과**

시험 · 검사항목	시험 · 검사결과	단위	비고
Sodium nitrate	15.80	mg/kg	
Potassium nitrate	33848	mg/kg	

시험장사명: 한국지  
 시험장사책임자: 권민하

※ 이 문장은 제품명 시험 검사 항목만을 대상으로 한 것입니다.  
 ※ 지정된 무분말 감사대 무분말 시험 검사 항목 및 결과만을 참조 가능합니다.  
 ※ 본 결과는 검고, 출고, 발송시 모두 본 문서에 따라서는 사용 불가능합니다.

2019년 11월 27일

(사)KOTITI 시험연구원

경기도 성남시 중원구 둔촌대로 541번길 29 2층 (생태농장) T02-3451-7457 F02-3451-7464

KOTITI Testing & Research Institute Page 1 of 1

**KOTITI 시험연구원** 글로벌 안전성 연구하고 미래기술 선도하는 글로벌 파트너  
 Global Business Partner for Human Safety and Future Technology

### 시험 · 검사성적서

발행번호	20191127-009	접수번호	82193104100113-003
검사번호	2019-11-27	접수연월일	2019-11-27
제품명	Celery juice powder		
등록/제조번호	등록제조신고번호		
제조/제품명	유황/생물유지기능		
원산지	영양	신장용	영양제이고 신약합제이다
제조용	소재지	무산물에서 남구 수량으로 300 평상대하고 내 7호분 8호 400호 (10만통)	제조국
제조용	소재지		
시험 · 검사목적	만능유역QC		

**시험 · 검사 항목 및 결과**

시험 · 검사항목	시험 · 검사결과	단위	비고
Sodium nitrate	0.14	mg/kg	
Potassium nitrate	31240	mg/kg	

시험장사명: 한국지  
 시험장사책임자: 권민하

※ 이 문장은 제품명 시험 검사 항목만을 대상으로 한 것입니다.  
 ※ 지정된 무분말 감사대 무분말 시험 검사 항목 및 결과만을 참조 가능합니다.  
 ※ 본 결과는 검고, 출고, 발송시 모두 본 문서에 따라서는 사용 불가능합니다.

2019년 11월 27일

(사)KOTITI 시험연구원

경기도 성남시 중원구 둔촌대로 541번길 29 2층 (생태농장) T02-3451-7457 F02-3451-7464

KOTITI Testing & Research Institute Page 1 of 1

<그림 67> 무 분말, VegStable 502 및 Celery juice powder의 아질산염 및 질산염 함량에 대한 국가공인시험기관 시험 성적서

- 본 연구에서 선별한 국내산 무 분말은 수입산 식물성 대체 분말보다 약 2 배 이상의 높은 질산염 함량을 보여 천연 질산염 소재로서 적합하다고 판단되며, 연구 계획 시 설정한 연구개발 목표값인 25,000 ppm 수준을 초과 달성하였음.



## 2-5. 국산 채소 소재 및 김치 발효미생물의 합성 아질산염 대체 육제품 적용 검토

세부 연구개발 목표	세부 연구개발 내용 및 범위	연구비(천원)	연구개발기관
<ul style="list-style-type: none"> <li>김치유래 발효미생물을 활용한 합성 아질산염 대체 육제품 적용 검토</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>농축 및 분말화 국산 채소류 및 과일류 질산이온 및 아질산이온 농도 표준화 기술 확보</li> <li>선발된 김치유래 발효미생물을 이용한 육제품 개발</li> </ul>	80,000	경성대학교
<ul style="list-style-type: none"> <li>국산 채소기반 합성아질산염 대체 식품소재 및 김치 발효미생물의 starter culture를 활용한 합성 아질산염 대체 육제품 개발</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>대량 생산된 국산 합성아질산염 대체소재 및 김치 발효미생물 starter culture의 배양조건별 질산 및 아질산 이온 함량 조사</li> <li>최적 배양조건 및 상업적 생산조건에 따른 한국형 합성 아질산염 대체 육제품 개발기술 확립</li> </ul>	80,000	경성대학교

### [세부 연구개발 목표 1] 김치유래 발효미생물을 활용한 합성 아질산염 대체 육제품 적용 검토

#### 가. 연구수행 방법

##### 1) pH

- pH 측정은 pH meter(Accumt<sup>®</sup> AB150, Thermo Fisher Scientific Inc., Singapore)를 이용하여 측정하였음.

##### 2) 질산 및 아질산 이온 함량

- 질산 및 아질산 이온 함량은 Merino(2009)의 zinc reduction 방법을 이용하여 측정하였음. 측정된 질산 및 아질산 이온 함량은 ppm 단위로 환산하여 나타내었음.

##### 3) 가열 수율 및 가열 감량

- 가열 수율 및 가열 감량은 가열 전·후 시료의 중량을 측정한 후, 다음 식을 이용하여 산출하였음.

$$\text{가열 수율(\%)} = \frac{\text{가열 후 시료 중량(g)}}{\text{가열 전 시료 중량(g)}} \times 100$$

$$\text{가열 감량(\%)} = \frac{\text{가열 전 시료 중량} - \text{가열 후 시료 중량(g)}}{\text{가열 전 시료 중량(g)}} \times 100$$

##### 4) 직경 감소율 및 두께 감소율

- 패티의 직경 감소율과 두께 감소율을 측정하기 위하여 버니어 캘리퍼스(Vernier calipers)를 이용하여 가열 전·후 패티의 직경과 두께를 측정하였으며, 다음 식을 이용하여 패티의 직경 감소율과 두께 감소율을 산출하였음.

$$\text{직경 감소율(\%)} = \frac{\text{가열 전 시료 직경} - \text{가열 후 시료 직경(mm)}}{\text{가열 전 시료 직경(mm)}} \times 100$$

$$\text{두께 감소율(\%)} = \frac{\text{가열 전 시료 두께} - \text{가열 후 시료 두께(mm)}}{\text{가열 전 시료 두께(mm)}} \times 100$$

## 5) 색도

- 시료의 절단면을 색차계(chroma meter; CR-400, Konica Minolta Sensing Inc., Osaka, Japan)를 이용하여 명도를 나타내는 L\*, 적색도를 나타내는 a\*, 황색도를 나타내는 b\*을 측정하였음. 이때 사용한 광원은 C광원이며, L\* +94.87, a\* -0.39, b\* +3.88인 표준 백색판으로 보정 후 사용하였음.

## 6) 잔류 아질산염 함량

- 잔류 아질산염 함량은 AOAC(2016)를 이용하여 측정하였음. 표준물질인 아질산나트륨(S2252, Sigma-Aldrich, St. Louis, USA)으로 검량선을 작성하고 이를 이용하여 잔류 아질산염 함량을 산출하였음.

## 7) 엽지 육색소, 총 육색소 및 엽지 효율

- 엽지 육색소 및 총 육색소는 Hornsey(1956)의 방법에 따라 각각 80% 아세톤 또는 산성 아세톤 용액을 이용하여 추출하였음. 엽지 육색소 및 총 육색소는 spectrophotometer(UV-1800, Shimadzu Corp., Kyoto, Japan)로 각각 540nm(A540) 및 640nm(A640) 파장에서 흡광도를 측정하였으며, 다음 식을 이용하여 산출하였음. 엽지 효율은 엽지 육색소 및 총 육색소의 비율로 다음 식을 이용하여 나타내었음.

$$\text{엽지 육색소(ppm)} = A540 \times 290$$

$$\text{총 육색소(ppm)} = A640 \times 680$$

$$\text{엽지 효율(\%)} = \frac{\text{엽지 육색소(ppm)}}{\text{총 육색소(ppm)}} \times 100$$

## 8) 지방 산패도(TBARS)

- 지방 산패도는 Tarladgis 등(1960)의 방법에 따라 분석하였음. 시료 중 지방산화에 의해 유리되는 malonaldehyde와 0.02M 2-thiobarbituric acid(TBA)용액을 반응시킨 후, spectrophotometer(UV-1800, Shimadzu Corp., Kyoto, Japan)를 이용하여 538nm(A538)의 파장에서 흡광도를 측정하고 아래 식을 이용하여 시료 kg당 malonaldehyde의 mg 수로 지방 산패도를 나타냈었음.

$$\text{지방 산패도(mg malonaldehyde/kg sample)} = A538 \times 7.8$$

## 9) 전단력 및 조직감

- 전단력 측정 및 조직감 측정은 Texture analyser(TA-XT2i, Stable Micro System Ltd., Surrey, UK)를 이용하여 경도를 측정하였음. 전단력은 Warner Bratzler blade probe를 장착하여 측정하였음. 조직감은 각 시료를 2.5cm 높이로 절단한 후 50mm diameter cylinder aluminium probe를 이용하여 경도, 응집성, 탄력성, 껌성 및 씹힘성을 측정하였음. 모든 측정 시 cross head speed는 5 mm/s이었음.

## 10) 마이오글로빈 함량 및 마이오글로빈 변성도

- 마이오글로빈 함량은 Warris(1979)와 Trout(1989)의 방법으로 측정하였음. 이후, Krzywicki(1979) 및 Trout(1989)의 방법을 이용, 마이오글로빈 함량 및 마이오글로빈 변성도를 다음 식으로 산출하였음.

$$\text{Myoglobin(mg/g)} = (A_{525} - A_{700}) \times 2.303 \times \text{희석배수}$$

A525: 525nm 파장에서의 흡광도

A700: 700nm 파장에서의 흡광도

$$\text{PMD(\%)} = 1 - \frac{\text{가열 후 마이오글로빈 함량(mg/g)}}{\text{가열 전 마이오글로빈 함량(mg/g)}} \times 100$$

## 11) 미생물 분석

- 미생물 분석은 건조 필름법을 이용하여 일반 세균, 대장균군 및 대장균 수를 측정하였음.

## 12) 참고 문헌

- Merino L. 2009. Development and validation of a method for determination of residual nitrite/nitrate in foodstuffs and water after zinc reduction. Food Anal Methods 2:212-220.
- AOAC. 2016. Official methods of analysis of AOAC International. 20th ed. AOAC International, Rockville, MD, USA.
- Hornsey HC. 1956. The colour of cooked cured pork. I.—Estimation of the nitric oxide-haem pigments. J Sci Food Agric 7:534-540.
- Tarladgis BG, Watts BM, Younathan MT, Dugan L Jr. 1960. A distillation method for the quantitative determination of malonaldehyde in rancid foods. J Am Oil Chem Soc 37:44-48.
- Warriss PD. 1979. The extraction of haem pigments from fresh meat. J Food Technol 14:75-80.
- Trout GR. 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. J Food Sci 54:536-540, 544.
- Krzywicki K. 1979. Assessment of relative content of myoglobin, oxymyoglobin and metmyoglobin at the surface of beef. Meat Sci 3:1-10.

나. 연구수행 내용 및 결과

1) 농축 및 분말화 국산 채소류 질산이온 및 아질산이온 농도 표준화 기술 확보

가) 국산 채소분말의 질산염 농도 표준화 기술

(1) 권역별 국산 채소분말의 혼합

- 채소류의 질산염 함량은 산지, 계절, 수확시기, 품종, 온도 등에 의해 영향을 받으며, 전국 각지에서 생산되는 채소는 동일한 조건에서 재배되지 않기 때문에 채소분말을 국산화하기 위해서는 일정한 농도의 질산염을 함유하도록 혼합 및 표준화 기술이 필요함.
- 또한, 채소류의 원료가격은 다양한 요인에 의해 변동될 수 있으며, 이는 채소분말의 최종가격에 영향을 미치기 때문에 표준화 시 제조단가도 함께 고려하여야 함.
- 각 권역의 채소분말들로 혼합된 채소분말의 질산염 농도와 제조단가는 <계산식 1>을 이용하여 예측할 수 있음.

<계산식 1> n개의 채소분말을 혼합하는 multi-formulation

<계산식 1-A> 혼합된 국산 채소분말의 질산염 농도

$$C_x = \frac{(C_1 \times W_1) + (C_2 \times W_2) + \dots + (C_n \times W_n)}{(W_1 + W_2 + \dots + W_n)}$$

<계산식 1-B> 혼합된 국산 채소분말의 제조단가

$$P_x = \frac{(C_1 \times W_1 \times P_1) + (C_2 \times W_2 \times P_2) + \dots + (C_n \times W_n \times P_n)}{(C_1 \times W_1) + (C_2 \times W_2) + \dots + (C_n \times W_n)}$$

- C<sub>x</sub> : 혼합된 채소분말의 최종 질산염 농도(ppm)
- C<sub>n</sub> : 각 채소분말의 질산염 농도(ppm)
- W<sub>n</sub> : 각 채소분말의 첨가량(kg)
- P<sub>x</sub> : 혼합된 채소분말의 최종 제조단가(원/kg)
- P<sub>n</sub> : 각 채소분말의 kg당 원가(원/kg)

(2) Maltodextrin을 이용한 국산 채소분말의 질산염 표준화

- 상업적으로 판매되는 외국산 채소분말은 약 30,000 ppm의 질산염을 함유하고 있다고 보고되어있으며, 1 차년도 연구결과에서 시판되는 외국산 셀러리 분말의 경우 약 32,000 ppm의 질산염을 함유하고 있었음.
- 반면, 제1협동기관인 경성대학교에서 제조한 국산 무 분말의 경우 약 66,000 ppm의 질산염을 함유하고 있음을 확인하였음.
- 당해연도의 표준화된 국산 채소분말 질산염 함량 목표는 25,000 ppm 대비 90% 수준인 22,500 ppm임.
- 그러나, 국내 유통 중인 외국산 채소분말의 질산염 농도는 약 32,000 ppm 수준이므로, 본 연구에서 제조 및 개발한 국산 채소분말의 질산염 함량 목표를 시판제품과 동등한 수준으로 상향하여 표준화하였음.
- 약 32,000 ppm의 질산염을 함유하는 국산 채소분말을 제조하기 위해서 분산제로 maltodextrin을 이용하였으며, 최종제품으로서 32,000 ppm의 질산염을 함유하도록 표준화함.
- 표준화 시 첨가되는 채소분말 및 maltodextrin의 첨가량은 <계산식 2>를 통하여 산출 가능함.

<계산식 2> Maltodextrin을 이용한 국산 채소분말의 질산염 표준화

<계산식 2-A> 국산 채소분말 표준화를 위한 maltodextrin 첨가량

$$W_m = \frac{C_x}{C_{veg}} \times W_x$$

<계산식 2-B> 국산 채소분말 표준화를 위한 채소분말 첨가량

$$W_{veg} = \frac{|C_{veg} - C_x|}{C_{veg}} \times W_x$$

- C<sub>x</sub> : 최종제품의 목표 질산염 농도(ppm)
- C<sub>veg</sub> : 채소분말의 질산염 농도(ppm)
- W<sub>x</sub> : 최종제품의 목표 생산량(kg)
- W<sub>veg</sub> : 국산 채소분말 표준화를 위한 채소분말 첨가량(kg)
- W<sub>m</sub> : 국산 채소분말 표준화를 위한 maltodextrin 첨가량(kg)

나) 국내 5대 권역에서 생산된 배추 및 무를 이용한 고농도의 질산염을 함유한 채소분말 적합도 판정 및 표준화

(1) 국내 5대 권역에서 생산된 배추 및 무 분말의 질산염 함량 적합도 판정

- 권역별 국산 채소분말의 질산염 농도의 적합도 판정을 위해 각 권역별 배추 및 무 분말을 혼합하고 상기 <계산식 1>을 이용하여 최종 질산나트륨 농도를 예측하였음 <표 46>.
- 임의로 설정한 질산나트륨 함량 예측치를 기준으로 각 권역별 배추 또는 무 분말의 첨가량을 달리하여 혼합한 후 질산나트륨 함량을 측정한 결과, 배추 분말의 질산나트륨 함량은 예측치(37,500 ppm) 대비 4.01% 증가한 39,005 ppm이 검출되어 편차가 매우 낮았음.
- 무 분말의 경우에는 질산나트륨 예측치(63,000 ppm) 대비 0.81% 감소한 62,492 ppm이 검출되어 본 연구에서 제시한 표준화 기술이 채소분말의 질산나트륨 농도 표준화에 매우 적합한 것으로 판단됨.

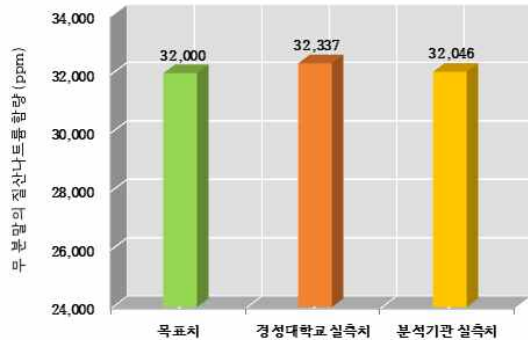
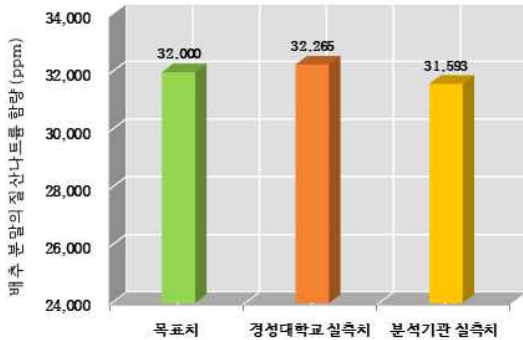
<표 46> 권역별 국산 채소분말의 질산나트륨 농도에 대한 예측치와 실측치

채소분말	권역별	질산나트륨 함량 (ppm)	첨가량 (g)	질산나트륨 함량(ppm)		예측치 대비 실측치 증감률(%)
				예측치	실측치 <sup>1)</sup>	
배추	경기	34,815	7.07	37,500	39,005 ±1,014	+4.01
	경상	40,783	5.52			
	전라	36,734	16.22			
	충청	39,964	24.21			
	강원	34,522	15.68			
무	경기	53,598	20.64	63,000	62,492 ±1,731	-0.81
	경상	72,088	23.01			
	전라	63,721	22.36			
	충청	66,324	24.02			
	강원	57,284	18.04			

1) 수치는 평균±표준편차

(2) 표준화된 국산 채소분말의 질산나트륨 함량 적합도 판정

- 각 권역으로부터 혼합된 채소분말은 최종적으로 maltodextrin을 이용하여 약 32,000 ppm의 질산나트륨을 함유하도록 표준화함.
- 채소분말의 표준화는 <계산식 2>를 이용하여 실시하였으며, 표준화된 채소분말의 실제 질산나트륨 함량을 통하여 적합도를 판정하였음.
- 적합도 판정을 위한 표준화된 채소분말의 질산나트륨 함량 측정은 제1협동기관인 경성대학교에서 자체적으로 분석하였으며<그림 68-1 및 68-2>, 국가공인분석기관(한국분석센터)에 의뢰하여 질산나트륨 함량을 재확인함<그림 69>.
- Maltodextrin을 이용하여 32,000 ppm의 질산나트륨을 함유하도록 표준화된 배추 분말의 질산나트륨 실측치는 32,265 ppm(국가공인분석기관: 31,593 ppm)이었음.
- 또한, 표준화된 무 분말의 질산나트륨 실측치는 32,337 ppm(국가공인분석기관: 32,046 ppm)으로 최종적으로 표준화된 채소분말들은 당해연도의 질산염 함량 목표인 22,500 ppm을 충족하였으며, 상향된 질산염 함량 목표인 32,000 ppm과 유사하여 매우 적합한 질산나트륨 함량을 함유한 것으로 판단됨.



<그림 68-1> 표준화된 국산 배추 분말의 질산나트륨 목표치와 실측치

<그림 68-2> 표준화된 국산 무 분말의 질산나트륨 목표치와 실측치

시험·검사 성적서

발행번호	2020011-0110	접수번호	201100149-2020
검사완료일	2020-10-16	접수완료일	2020-10-16
제품명	배추분말	용량	500g
주요 성분	배추분말	원산지	대한민국
검출항목	질산나트륨	검출방법	간접법
검출기준	식품위생법 제24조 제2항	검출기관	주식회사 한국분석센터
시료-검사목적	[1] 국가표준 적합성 시험 [2] 국가표준 적합성 시험 [3] 수출용 [4] 내용용 [5] 기타		
시료-검사 항목	시료-검사 기종	시료-검사 결과	단위
Nitrate ion (mg/kg)	0.18	-	S.D. : 0.18
Sodium nitrate (mg/kg)	3.24	-	S.D. : 0.27
Nitrate ion (mg/kg)	2809.1	-	S.D. : 963.22
Sodium nitrate (mg/kg)	31383.2	-	S.D. : 9686.22
중량불량 : - 시료-검사법 : 한국표준 이 성적서는 당해 국가 제정된 시험 및 시험방법으로 시험한 결과로써 합격여부 사용 할 수 없으며, 중량, 산소, 불소 및 수분 함량 등 별도 지정된 사항을 규정합니다.			
2020년 10월 16일			
주식회사 한국분석센터			

시험·검사 성적서

발행번호	2020011-0211	접수번호	201100149-2020
검사완료일	2020-10-16	접수완료일	2020-09-16
제품명	무분말	용량	500g
주요 성분	무분말	원산지	대한민국
검출항목	질산나트륨	검출방법	간접법
검출기준	식품위생법 제24조 제2항	검출기관	주식회사 한국분석센터
시료-검사목적	[1] 국가표준 적합성 시험 [2] 국가표준 적합성 시험 [3] 수출용 [4] 내용용 [5] 기타		
시료-검사 항목	시료-검사 기종	시료-검사 결과	단위
Nitrate ion (mg/kg)	0.18	-	S.D. : 0.00
Sodium nitrate (mg/kg)	0.27	-	S.D. : 0.00
Nitrate ion (mg/kg)	2809.1	-	S.D. : 968.19
Sodium nitrate (mg/kg)	32045.5	-	S.D. : 9366.22
중량불량 : - 시료-검사법 : 한국표준 이 성적서는 당해 국가 제정된 시험 및 시험방법으로 시험한 결과로써 합격여부 사용 할 수 없으며, 중량, 산소, 불소 및 수분 함량 등 별도 지정된 사항을 규정합니다.			
2020년 10월 16일			
주식회사 한국분석센터			

<그림 69> 표준화된 국산 배추 및 무 분말의 질산나트륨 공인시험 성적서

2) 질산염 및 아질산염이 표준화된 합성 아질산염 대체 소재 및 선발된 김치 유래 발효 미생물을 이용한 육제품 개발

가) 합성 아질산염의 대체제로서 다양한 농도의 배추 분말 첨가가 분쇄 돈육 소시지의 품질 특성에 미치는 영향 조사

- 본 연구는 다양한 농도의 배추 분말 첨가가 분쇄 돈육 소시지의 품질 특성에 미치는 영향을 조사하였음.
- 돈육 소시지의 품질 특성을 조사하기 위해 다음과 같이 5개의 처리구를 제조하였음 <표 47>: 대조구(0.01% 아질산나트륨), 처리구 1(0.15% 배추 분말 및 0.015% starter culture), 처리구 2(0.25% 배추 분말 및 0.025% starter culture) 처리구 3(0.35% 배추 분말 및 0.035% starter culture) 및 처리구 4(0.40% 셀러리 분말 및 0.04% starter culture).
- 합성 아질산염 대체 천연 채소분말은 제1협동기관인 경성대학교에서 제조한 배추 분말(50,497 ppm 질산나트륨)과 국내 유통 중인 셀러리 분말(32,020 ppm 질산나트륨)을 사용하였음.
- 채소분말에 함유된 질산나트륨의 농도를 계산한 결과 처리구 1, 2, 3 및 4에 함유된 질산나트륨 함량은 각각 75.75 ppm, 126.24 ppm, 176.74 ppm 및 128.08 ppm이었음.
- Starter culture는 상업적으로 판매되는 *Staphylococcus vitulinus*를 이용하였음.
- 배합비에 따라 혼합된 대조구 및 처리구는 약 50 g씩 conical tube에 충전 하였으며, 각 처리구는 40°C 배양기에서 2시간 동안 배양하였음.
- 배양 완료 후, 대조구와 처리구는 90°C의 항온수조에서 내부 온도가 75°C에 도달하도록 가열처리하였음.
- 가열이 완료된 소시지는 얼음/냉수 상에서 20분 동안 냉각하고 분석 전까지 3°C의 냉장고에서 보관하였음.
- 다양한 농도의 배추 분말 첨가가 분쇄 돈육 소시지의 품질 특성에 미치는 영향을 조사하기 위하여 가열 수율, pH, CIE L\*(명도), CIE a\*(적색도), CIE b\*(황색도), 잔류 아질산염 함량, 염지 육색소, 총 육색소 및 염지 효율을 분석하였음.

<표 47> 다양한 농도의 배추 분말을 첨가한 분쇄 돈육 소시지 배합비

재 료(%)	대조구	처리구 1	처리구 2	처리구 3	처리구 4
후 지	70.00	70.00	70.00	70.00	70.00
지 방	15.00	15.00	15.00	15.00	15.00
얼음물	15.00	15.00	15.00	15.00	15.00
소 계	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
소 금	1.50	1.50	1.50	1.50	1.50
포도당	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
인산염	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30
아질산나트륨	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00
아스코브산나트륨	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
배추 분말	0.00	0.15	0.25	0.35	0.00
셀러리 분말	0.00	0.00	0.00	0.00	0.40
Starter culture	0.00	0.015	0.025	0.035	0.04
합 계	101.86	103.01	103.12	103.23	103.29

- 다양한 농도의 배추 분말을 첨가한 분쇄 돈육 소시지의 품질 특성에 대한 실험결과는 <표 48 및 49>와 같음.
- 배추 분말을 첨가한 처리구들(처리구 1~3)은 가열 수율 및 pH에서 대조구보다 낮은 값을 보였음( $p < 0.05$ ).
- 그러나, 채소분말을 이용하여 염지한 모든 처리구는 대조구보다 유의적으로 높은 CIE  $a^*$ (적색도)를 나타냈을 뿐만 아니라( $p < 0.05$ ), 염지 육색소, 총 육색소 및 염지 효율에서도 높은 값을 보였음( $p < 0.05$ ).
- 한편, 배추 분말과 셀러리 분말을 첨가한 분쇄 돈육 소시지는 대조구와 비교하여 잔류 아질산염 함량이 낮았음( $p < 0.05$ ).

<표 48> 다양한 농도의 배추 분말 첨가에 따른 분쇄 돈육 소시지의 가열 수율, pH, CIE L\*(명도), CIE  $a^*$ (적색도) 및 CIE  $b^*$ (황색도) 비교

처리구	가열 수율(%)	pH	CIE L*	CIE $a^*$	CIE $b^*$
대조구	99.64±0.01 <sup>A</sup>	6.15±0.009 <sup>A</sup>	68.79±0.17 <sup>A</sup>	8.85±0.14 <sup>B</sup>	6.98±0.05 <sup>B</sup>
처리구 1	99.24±0.08 <sup>B</sup>	6.12±0.003 <sup>B</sup>	68.41±0.16 <sup>A</sup>	10.10±0.10 <sup>A</sup>	6.97±0.07 <sup>B</sup>
처리구 2	99.24±0.02 <sup>B</sup>	6.10±0.002 <sup>C</sup>	68.28±0.16 <sup>A</sup>	10.12±0.09 <sup>A</sup>	7.04±0.06 <sup>B</sup>
처리구 3	99.19±0.05 <sup>B</sup>	6.08±0.003 <sup>D</sup>	68.44±0.10 <sup>A</sup>	10.06±0.07 <sup>A</sup>	7.39±0.06 <sup>A</sup>
처리구 4	99.20±0.07 <sup>B</sup>	6.16±0.005 <sup>A</sup>	68.29±0.15 <sup>A</sup>	9.98±0.08 <sup>A</sup>	7.52±0.03 <sup>A</sup>

모든 수치는 평균±표준오차.

<sup>A-D</sup>는 같은 열에서 서로 다른 문자 간 유의적 차이를 나타냄( $p < 0.05$ ).

<표 49> 다양한 농도의 배추 분말 첨가에 따른 분쇄 돈육 소시지의 잔류 아질산염 함량, 염지 육색소, 총 육색소 및 염지 효율 비교

처리구	잔류 아질산염(ppm)	염지 육색소(ppm)	총 육색소(ppm)	염지 효율(%)
대조구	37.32±0.53 <sup>A</sup>	34.29±0.09 <sup>C</sup>	47.18±0.18 <sup>B</sup>	72.70±0.36 <sup>C</sup>
처리구 1	14.68±1.67 <sup>C</sup>	37.85±0.24 <sup>B</sup>	48.79±0.11 <sup>A</sup>	77.57±0.50 <sup>B</sup>
처리구 2	16.58±1.62 <sup>C</sup>	39.73±0.28 <sup>A</sup>	48.62±0.22 <sup>A</sup>	81.73±0.69 <sup>A</sup>
처리구 3	22.24±2.05 <sup>B</sup>	40.53±0.09 <sup>A</sup>	49.13±0.11 <sup>A</sup>	82.49±0.09 <sup>A</sup>
처리구 4	16.35±2.13 <sup>C</sup>	40.60±0.13 <sup>A</sup>	48.96±0.18 <sup>A</sup>	82.93±0.35 <sup>A</sup>

모든 수치는 평균±표준오차.

<sup>A-C</sup>는 같은 열에서 서로 다른 문자 간 유의적 차이를 나타냄( $p < 0.05$ ).

- 본 연구에서는 기존에 사용되는 합성 아질산염 및 상업적으로 판매되는 셀러리 분말보다 0.25% 및 0.35% 배추 분말을 첨가하는 경우, 합성 아질산염 대체 분쇄 돈육 소시지에서 효과적인 발색 및 염지 효과를 나타내었음.
- 따라서, 본 연구에서 자체 제조된 배추 분말의 첨가는 육제품 제조 시 합성 아질산염의 천연 대체물질로서의 가능성을 확인하였음.



나) 합성 아질산염의 대체 소재로서 질산염 함량이 표준화된 다양한 채소분말의 종류 및 starter culture 첨가에 따른 분쇄형 소시지의 품질 특성

(1) 질산염 함량이 표준화된 채소분말의 첨가에 따른 분쇄 돈육 소시지의 품질 특성 조사

- 본 연구는 다양한 채소분말의 합성 아질산염의 대체 가능성과 이를 적용한 육제품의 이화학적 특성에 미치는 영향을 조사하였음.
- 다양한 채소분말의 첨가에 따른 분쇄 돈육 소시지의 품질 특성을 조사하기 위해 다음과 같이 4개의 처리구를 제조하였음<표 50>: 대조구(0.015% 아질산나트륨), 처리구 1(0.40% 표준화 배추 분말), 처리구 2(0.40% 표준화 무 분말) 및 처리구 3(0.40% 표준화 시금치 분말).
- 분쇄 돈육 소시지 제조에 사용된 채소분말은 본 연구를 위해 자체 제조한 것으로 사전에 약 30,000 ppm의 질산나트륨을 함유하도록 표준화하였으며, 분쇄 돈육 소시지에 0.4% 채소분말 첨가는 122 ppm의 질산나트륨을 함유함.
- 천연 질산염을 아질산염으로 전환하는데 필요한 starter culture는 *Staphylococcus vitulinus*를 사용하였음.
- 배합비에 따라 혼합된 대조구 및 처리구는 스테퍼를 사용하여 conical tube(각각 약 50 g)에 충전함.
- 대조구는 10℃ 냉장고에서 1시간 동안 보관하였으며, 처리구들은 40℃의 배양기에서 2시간 동안 배양한 뒤, 90℃의 항온수조에서 내부 온도가 75℃에 도달하도록 가열함.
- 가열이 완료된 소시지는 얼음/냉수 상에서 20분 동안 냉각하고 분석 전까지 3℃의 냉장고에서 보관하였음.
- 본 연구는 다양한 채소분말 첨가에 따른 분쇄 돈육 소시지의 품질 특성을 조사하기 위하여 가열 수율, pH, CIE L\*(명도), CIE a\*(적색도), CIE b\*(황색도), 잔류 아질산염 함량, 염지 육색소, 총 육색소, 염지 효율 및 지방 산패도(TBARS)를 분석하였음.

<표 50> 질산염이 표준화된 다양한 채소분말을 첨가한 분쇄 돈육 소시지 배합비

재 료(%)	대조구	처리구 1	처리구 2	처리구 3
후 지	70.00	70.00	70.00	70.00
지 방	15.00	15.00	15.00	15.00
얼음물	15.00	15.00	15.00	15.00
소 계	100.00	100.00	100.00	100.00
소 금	1.50	1.50	1.50	1.50
포도당	1.00	1.00	1.00	1.00
인산염	0.30	0.30	0.30	0.30
아질산나트륨	0.015	0.00	0.00	0.00
아스코브산나트륨	0.05	0.05	0.05	0.05
배추 분말	0.00	0.40	0.00	0.00
무 분말	0.00	0.00	0.40	0.00
시금치 분말	0.00	0.00	0.00	0.40
Starter culture	0.00	0.04	0.04	0.04
합 계	102.865	103.290	103.290	103.290

- 다양한 채소분말의 첨가에 따른 분쇄 돈육 소시지의 품질 특성에 대한 실험결과는 <표 51 및 52>와 같음.
- 가열 수율은 3 종의 채소분말 처리구들과 대조구간의 차이가 없었음( $p>0.05$ ).
- pH와 지방 산패도는 처리구간의 차이는 보이지 않았으나( $p>0.05$ ), 모든 처리구는 대조구 보다 높은 pH 및 지방 산패도를 나타내었음( $p<0.05$ ).
- 채소분말을 첨가한 처리구들은 합성 아질산염을 첨가한 대조구보다 CIE L\*은 낮았음( $p<0.05$ ).
- 시금치 분말을 첨가한 처리구 3은 가장 낮은 CIE a\*를 나타내었으며( $p<0.05$ ), 무 분말을 첨가한 처리구 2는 대조구와 유사한 CIE a\* 및 CIE b\*를 보였음( $p>0.05$ ).
- 잔류 아질산염 함량은 대조구와 비교하여 모든 처리구에서 낮은 값을 나타내었지만 ( $p<0.05$ ), 염지 육색소와 총 육색소 실험결과에서 배추 분말과 무 분말을 첨가한 처리구 1 및 2는 대조구와 유사하였음( $p>0.05$ ).
- 또한, 대조구를 비롯한 배추 분말과 무 분말 처리구는 80% 이상의 염지 효율을 보였으며, 이는 배추 분말과 무 분말이 합성 아질산나트륨을 대체할 소재로 유용하다고 판단됨.

<표 51> 질산염이 표준화된 다양한 채소분말의 첨가에 따른 분쇄 돈육 소시지의 가열 수율, pH, CIE L\*(명도), CIE a\*(적색도) 및 CIE b\*(황색도) 비교

처리구	가열 수율(%)	pH	CIE L*	CIE a*	CIE b*
대조구	98.97±0.12 <sup>A</sup>	6.20±0.00 <sup>B</sup>	67.80±0.10 <sup>A</sup>	10.72±0.07 <sup>A</sup>	6.74±0.05 <sup>C</sup>
처리구 1	98.71±0.16 <sup>A</sup>	6.26±0.02 <sup>A</sup>	67.21±0.29 <sup>B</sup>	10.40±0.10 <sup>B</sup>	7.01±0.05 <sup>AB</sup>
처리구 2	98.68±0.16 <sup>A</sup>	6.28±0.01 <sup>A</sup>	66.67±0.18 <sup>B</sup>	10.74±0.09 <sup>A</sup>	6.91±0.08 <sup>BC</sup>
처리구 3	98.59±0.16 <sup>A</sup>	6.29±0.01 <sup>A</sup>	65.27±0.18 <sup>C</sup>	8.17±0.10 <sup>C</sup>	7.12±0.05 <sup>A</sup>

모든 수치는 평균±표준오차.

<sup>A-C</sup>는 같은 열에서 서로 다른 문자 간 유의적 차이를 나타냄( $p<0.05$ ).

<표 52> 다양한 채소분말의 첨가에 따른 분쇄 돈육 소시지의 잔류 아질산염 함량, 염지 육색소, 총 육색소, 염지 효율 및 지방 산패도(TBARS) 비교

처리구	잔류 아질산염 (ppm)	염지 육색소 (ppm)	총 육색소 (ppm)	염지 효율 (%)	지방 산패도 (mg MDA/kg)
대조구	75.98±1.56 <sup>A</sup>	41.47±0.16 <sup>B</sup>	49.75±0.14 <sup>B</sup>	83.37±0.51 <sup>A</sup>	0.065±0.002 <sup>B</sup>
처리구 1	34.73±1.82 <sup>C</sup>	41.04±0.33 <sup>B</sup>	50.32±0.17 <sup>B</sup>	81.54±0.49 <sup>B</sup>	0.085±0.006 <sup>A</sup>
처리구 2	40.08±2.46 <sup>B</sup>	41.47±0.39 <sup>B</sup>	49.92±0.21 <sup>B</sup>	83.05±0.49 <sup>A</sup>	0.094±0.005 <sup>A</sup>
처리구 3	43.46±1.56 <sup>B</sup>	45.34±0.26 <sup>A</sup>	62.11±0.23 <sup>A</sup>	73.00±0.34 <sup>C</sup>	0.083±0.002 <sup>A</sup>

모든 수치는 평균±표준오차.

<sup>A-C</sup>는 같은 열에서 서로 다른 문자 간 유의적 차이를 나타냄( $p<0.05$ ).

- 종합하면, 시금치 분말 처리구는 육제품의 색상 및 염지 효율에 부정적인 영향을 미치는 것으로 확인되었으나, 무 분말 처리구는 합성 아질산염으로 염지된 대조구와 유사한 적색도, 염지 육색소, 총 육색소 및 염지 효율을 가진 육제품을 생성할 수 있음을 확인하였음.
- 따라서, 무 분말은 다른 잎채소분말보다 천연 염지 육제품 제조에 적합하며, 천연 질산염 원료로 유용하게 사용할 수 있을 것으로 판단됨.

(2) 표준화된 국산 배추 분말 및 김치 유래 starter culture(WiKim0113; *Staphylococcus hominis*)를 이용한 합성 아질산염 대체 육제품 조사

(가) Starter culture 종류에 따른 분쇄형 소시지의 발색 효과 비교

- 국내 유통 중인 수입산 starter culture(*Staphylococcus vitulinus*)와 본 연구에서 선 발된 김치 유래의 starter culture(WiKim0113; *Staphylococcus hominis*)를 동일한 가공조건에서 분쇄형 소시지를 제조하였음.
- 천연 질산염 원료로는 약 30,000 ppm으로 표준화된 배추 분말을 사용하였음.
- 분쇄형 소시지는 <표 53>의 비율로 혼합하였으며, 대조구와 처리구는 스티퍼를 이용하여 약 50g씩 conical tube에 충전하였음.
- 대조구는 2~3°C의 냉장고에서 1시간 보관하였으며, 처리구는 38°C 배양기에서 2 시간 동안 배양하였음.
- 대조구와 처리구는 90°C의 항온수조에서 내부 온도가 75°C가 되도록 가열하였음.
- 가열이 완료된 소시지는 얼음/냉수 상에서 20분 동안 냉각하고 분석 전, 2~3°C의 냉장고에서 보관하였음.
- Starter culture 종류에 따른 분쇄형 소시지의 발색 효과를 비교하기 위해서 소시지 절단면, CIE a\*(적색도), 염지 육색소(nitrosyl hemochrome), 염지 효율(curing efficiency) 및 잔류 아질산염 함량(residual nitrite contents)을 측정하였음.

<표 53> Starter culture 종류에 따른 분쇄형 소시지 배합비

재 료(%)	대조구	<i>S. vitulinus</i> 처리구	WiKim0113 처리구
후 지	70.000	70.000	70.000
지 방	15.000	15.000	15.000
얼음물	15.000	15.000	15.000
소 계	100.000	100.000	100.000
소 금	1.500	1.500	1.500
인산염	0.300	0.300	0.300
아질산나트륨	0.015	0.000	0.000
배추 분말	0.000	0.400	0.400
<i>Staphylococcus vitulinus</i>	0.000	0.040	0.000
WiKim0113	0.000	0.000	0.040
아스코브산나트륨	0.050	0.050	0.050
포도당	1.000	1.000	1.000
합 계	102.865	103.290	103.290

- Starter culture 종류에 따른 분쇄형 소시지의 CIE a\*, 염지 육색소, 염지 효율 및 잔류 아질산염 함량의 측정결과 WiKim0113 처리구는 대조구 및 *S. vitulinus* 처리구에 비하여 발색 효과가 떨어지는 것을 확인함<표 54 및 그림 70>.
- 상업적으로 판매되는 starter culture인 *S. vitulinus*는 일반적으로 균 수가 10<sup>11</sup> CFU/g인 데 반해, WiKim0113의 경우에는 10<sup>10</sup> CFU/g의 균 수를 가지고 있어 대조구와 *S. vitulinus* 처리구에 비하여 낮은 발색 효과를 나타낸 것으로 생각됨.

<표 54> Starter culture 종류에 따른 분쇄형 소시지의 CIE a\*, 염지 육색소, 염지 효율 및 잔류 아질산염 함량 비교

실험 항목	대조구	<i>S. vitulinus</i> 처리구	WiKim0113 처리구
CIE a*	10.79±0.17 <sup>A</sup>	10.83±0.11 <sup>A</sup>	7.20±0.05 <sup>B</sup>
염지 육색소(ppm)	41.62±0.08 <sup>A</sup>	39.59±0.08 <sup>B</sup>	7.25±0.17 <sup>C</sup>
염지 효율(%)	84.42±0.51 <sup>A</sup>	79.74±0.17 <sup>B</sup>	15.68±0.36 <sup>C</sup>
잔류 아질산염(ppm)	72.47±4.20 <sup>A</sup>	42.14±1.00 <sup>B</sup>	0.80±0.02 <sup>C</sup>

모든 수치는 평균±표준오차.

<sup>A-C</sup>는 같은 행에서 서로 다른 문자 간 유의적 차이를 나타냄(p<0.05).



<대조구(150ppm 아질산염 첨가)>



<*S. vitulinus* 처리구>



<WiKim0113 처리구>

<그림 70> Starter culture에 따른 분쇄형 소시지의 절단면

(나) 동일한 균 수 조건에서 starter culture 종류 및 배양시간에 따른 분쇄형 소시지의 발색 효과 비교

- 수입산 starter culture(*Staphylococcus vitulinus*)와 김치 유래의 starter culture(WiKim0113; *Staphylococcus hominis*)의 동일한 균 수 조건을 충족시킨 후 분쇄형 소시지를 제조하였음<표 55>.
- 배양온도는 38°C이었으며, 배양시간에 따른 발색 효과 차이를 확인하기 위해서 각각의 처리구를 2 또는 4시간 동안 배양하였음.
- 배양이 끝난 분쇄형 소시지는 90°C의 항온수조에서 내부 온도가 75°C가 되도록 가열하였으며, 가열이 완료된 소시지는 충분히 냉각한 다음 실험 시료로 사용하였음.
- 동일한 균 수 조건에서 starter culture 종류 및 배양시간에 따른 분쇄형 소시지의 발색 효과를 비교하기 위해서 소시지 절단면, CIE a\*(적색도), 염지 육색소(nitrosyl hemochrome), 염지 효율(curing efficiency) 및 잔류 아질산염 함량(residual nitrite contents)을 측정하였음.

<표 55> 동일한 균 수 조건에서 starter culture 종류 및 배양시간에 따른 분쇄형 소시지 배합비

재 료(%)	S. vitulinus 처리구 (10 <sup>11</sup> CFU/g)	WiKim0113 처리구 (10 <sup>11</sup> CFU/g)
후 지	70.000	70.000
지 방	15.000	15.000
얼음물	15.000	15.000
소 계	100.000	100.000
소 금	1.500	1.500
인산염	0.300	0.300
배추 분말	0.400	0.400
<i>Staphylococcus vitulinus</i>	0.040	0.000
WiKim0113	0.000	0.040
아스코브산나트륨	0.050	0.050
포도당	1.000	1.000
합 계	103.290	103.290

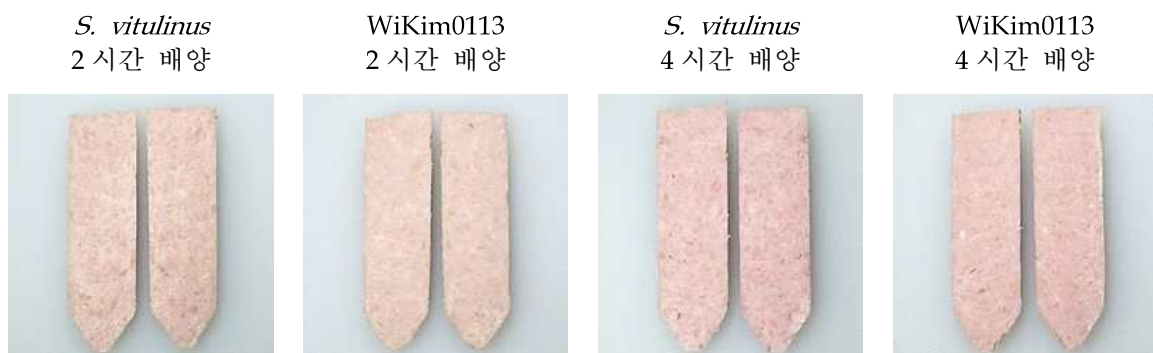
- 동일한 균 수 조건에서 starter culture 종류 및 배양시간에 따른 분쇄형 소시지의 발색 효과를 비교한 결과 WiKim0113은 2시간 배양했을 때보다 4시간 배양하였을 때 비교적 높은 발색 효과를 나타내었으나(p<0.05), 배양시간과 관계없이 *S. vitulinus* 처리구보다 낮은 발색 효과를 나타내었음(p<0.05)<표 56 및 그림 71>.

<표 56> 동일한 균 수 조건에서 starter culture 종류 및 배양시간에 따른 분쇄형 소시지의 CIE a\*, 염지 육색소, 염지 효율 및 잔류 아질산염 함량 비교

실험 항목	<i>S. vitulinus</i>	WiKim0113	<i>S. vitulinus</i>	WiKim0113
	2시간 배양	2시간 배양	4시간 배양	4시간 배양
CIE a*	10.57±0.12 <sup>A</sup>	8.61±0.13 <sup>C</sup>	10.56±0.14 <sup>A</sup>	9.91±0.08 <sup>B</sup>
염지 육색소(ppm)	40.89±0.17 <sup>A</sup>	17.40±0.17 <sup>C</sup>	40.46±0.25 <sup>A</sup>	32.48±0.33 <sup>B</sup>
염지 효율(%)	81.82±0.66 <sup>A</sup>	36.55±0.35 <sup>C</sup>	82.63±0.51 <sup>A</sup>	67.27±0.69 <sup>B</sup>
잔류 아질산염(ppm)	39.86±0.66 <sup>A</sup>	1.38±0.09 <sup>D</sup>	33.17±0.38 <sup>B</sup>	2.85±0.13 <sup>C</sup>

모든 수치는 평균±표준오차.

<sup>A-D</sup>는 같은 행에서 서로 다른 문자 간 유의적 차이를 나타냄(p<0.05).



<그림 71> 상업적 발효균(*S. vitulinus*)와 김치유래 발효균(WiKim0113)의 배양시간에 따른 분쇄형 소시지 절단면

**다) 천연 채소분말 종류 및 배양시간에 따른 유화형 소시지의 품질 특성 조사**

- 본 연구는 합성 아질산염의 천연 대체재로써 사용되는 천연 채소분말 종류 및 배양시간에 따른 유화형 소시지의 품질 특성을 조사하였음.
- 천연 채소분말은 상업적으로 판매되는 외국산 셀러리 분말과 제1협동기관인 경성대학교에서 제조한 표준화된 무 분말(약 32,000 ppm의 질산나트륨 함유)을 사용하였으며, starter culture는 제2협동기관인 세계김치연구소에서 선발한 WiKim0113(*Staphylococcus hominis*)을 이용하였음.
- 천연 채소분말 종류 및 배양시간에 따른 유화형 소시지의 품질 특성을 조사하기 위해 다음과 같이 대조구와 처리구를 제조하였음<표 57>: 대조구(120ppm 아질산나트륨), 처리구 1(0.40% 무 분말 + 2시간 배양), 처리구 2(0.40% 무 분말 + 4시간 배양), 처리구 3(0.40% 셀러리 분말 + 2시간 배양), 처리구 4(0.40% 셀러리 분말 + 4시간 배양).
- 대조구와 처리구는 충전기를 이용하여 약 50 g씩 conical tube에 충전하고, 각 처리구에 따라 37°C 배양기에서 2시간 또는 4시간 동안 배양한 후, 90°C의 항온수조에서 내부 온도가 75°C가 되도록 가열하였음.
- 가열이 완료된 소시지는 얼음/냉수 상에서 20분 동안 냉각하고 분석 전, 2~3°C의 냉장고에서 보관하였음.
- 유화형 소시지의 품질 특성을 조사하기 위하여 가열 수율, pH, CIE L\*(명도), CIE a\*(적색도), CIE b\*(황색도), 잔류 아질산염 함량, 염지 육색소, 총 육색소, 염지 효율, 지방 산패도(TBARS) 및 조직감을 분석하였음.

<표 57> 천연 채소분말 종류 및 배양시간에 따른 유화형 소시지 배합비

재 료(%)	대조구	처리구 1 및 2	처리구 3 및 4
후 지	60.000	60.000	60.000
지 방	20.000	20.000	20.000
얼 음	20.000	20.000	20.000
소 계	100.000	100.000	100.000
소 금	1.500	1.500	1.500
인산염	0.300	0.300	0.300
포도당	1.000	1.000	1.000
아질산나트륨	0.012	0.000	0.000
무 분말	0.000	0.400	0.000
셀러리 분말	0.000	0.000	0.400
WiKim0113	0.000	0.040	0.040
아스코브산나트륨	0.050	0.050	0.050
합 계	102.862	103.290	103.290

- 천연 채소분말 종류 및 배양시간에 따른 유화형 소시지의 가열 수율, pH, CIE L\*(명도), CIE a\*(적색도) 및 CIE b\*(황색도) 결과는 <표 58>과 같음.
- 가열 수율은 대조구에서 가장 높았던(p<0.05) 반면, pH는 4시간 배양한 천연 채소분말 처리구들(처리구 2 및 4)에서 유의적으로 높은 값을 나타내었음(p<0.05).
- 대조구는 처리구들보다 높은 CIE L\* 및 CIE a\*을 보였으나(p<0.05), CIE b\*는 낮게 나타났음(p<0.05).
- 처리구들은 채소분말에 관계없이 배양시간이 증가함에 따라 CIE L\*은 감소하였으나(p<0.05), CIE a\*는 증가하였음(p<0.05).

<표 58> 천연 채소분말 종류 및 배양시간에 따른 유화형 소시지의 가열 수율, pH, CIE L\*(명도), CIE a\*(적색도) 및 CIE b\*(황색도) 비교

처리구	가열 수율(%)	pH	CIE L*	CIE a*	CIE b*
대조구	98.40±0.07 <sup>A</sup>	6.35±0.00 <sup>B</sup>	75.08±0.09 <sup>A</sup>	8.33±0.03 <sup>A</sup>	7.12±0.04 <sup>E</sup>
처리구 1	89.14±0.95 <sup>D</sup>	6.33±0.00 <sup>C</sup>	70.61±0.05 <sup>B</sup>	6.31±0.21 <sup>C</sup>	8.49±0.08 <sup>C</sup>
처리구 2	91.25±0.50 <sup>C</sup>	6.41±0.00 <sup>A</sup>	69.46±0.11 <sup>D</sup>	7.61±0.09 <sup>B</sup>	8.12±0.04 <sup>D</sup>
처리구 3	94.10±0.59 <sup>B</sup>	6.35±0.00 <sup>B</sup>	70.17±0.09 <sup>C</sup>	6.32±0.07 <sup>C</sup>	9.45±0.04 <sup>A</sup>
처리구 4	95.31±0.26 <sup>B</sup>	6.40±0.00 <sup>A</sup>	69.16±0.12 <sup>E</sup>	7.55±0.03 <sup>B</sup>	8.84±0.04 <sup>B</sup>

모든 수치는 평균±표준오차.

<sup>A-E</sup>는 같은 열에서 서로 다른 문자 간 유의적 차이를 나타냄(p<0.05).

- 천연 채소분말 종류 및 배양시간에 따른 유화형 소시지의 잔류 아질산염 함량, 염지 육색소, 총 육색소, 염지 효율 및 지방 산패도(TBARS) 결과는 <표 59>와 같음.
- 잔류 아질산염 함량은 배양시간의 차이에 의한 유의적 차이를 보이지 않았으나 (p>0.05), 염지 육색소 및 염지 효율은 배양시간이 증가함에 따라 증가하였음 (p<0.05).
- 그러나, 모든 처리구는 대조구에 비하여 낮은 잔류 아질산염, 염지 육색소, 염지 효율을 보였으며(p<0.05), 지방 산패도에서 처리구들(처리구 1~4)은 대조구보다 높은 값을 나타내었음(p<0.05).

<표 59> 천연 채소분말 종류 및 배양시간에 따른 유화형 소시지의 잔류 아질산염 함량, 염지 육색소, 총 육색소, 염지 효율 및 지방 산패도(TBARS) 비교

처리구	잔류 아질산염 (ppm)	염지 육색소 (ppm)	총 육색소 (ppm)	염지 효율 (%)	지방 산패도 (mg MDA/kg)
대조구	70.18±3.79 <sup>A</sup>	32.34±0.12 <sup>A</sup>	40.29±0.21 <sup>A</sup>	80.27±0.56 <sup>A</sup>	0.066±0.001 <sup>D</sup>
처리구 1	1.07±0.06 <sup>B</sup>	5.80±0.11 <sup>D</sup>	40.12±0.00 <sup>AB</sup>	14.46±0.27 <sup>D</sup>	0.099±0.001 <sup>AB</sup>
처리구 2	2.11±0.05 <sup>B</sup>	15.44±0.74 <sup>B</sup>	39.61±0.21 <sup>C</sup>	39.02±1.95 <sup>B</sup>	0.104±0.003 <sup>A</sup>
처리구 3	1.60±0.13 <sup>B</sup>	7.54±0.13 <sup>C</sup>	39.70±0.12 <sup>BC</sup>	19.00±0.38 <sup>C</sup>	0.080±0.004 <sup>C</sup>
처리구 4	1.99±0.08 <sup>B</sup>	15.73±0.09 <sup>B</sup>	39.87±0.09 <sup>AB</sup>	39.47±0.27 <sup>B</sup>	0.094±0.005 <sup>B</sup>

모든 수치는 평균±표준오차.

<sup>A-D</sup>는 같은 열에서 서로 다른 문자 간 유의적 차이를 나타냄(p<0.05).

- 천연 채소분말 종류 및 배양시간에 따른 유화형 소시지의 조직감 결과는 <표 60>과 같음.
- 경도, 응집성, 검성, 씹힘성은 대조구에서 가장 높았으며(p<0.05), 4시간 배양한 처리구 중 셀러리 분말을 첨가한 처리구 4가 무 분말을 첨가한 처리구 2보다 모든 조직감 결과에서 높은 값을 보였음(p<0.05).
- 천연 채소분말 및 starter culture(WiKim0113)를 첨가하여 제조한 유화형 소시지는 배양시간이 2시간에서 4시간으로 증가함에 따라 최종제품의 염지 육색소와 염지 효율을 증가시켰으나, 합성 아질산염을 첨가한 유화형 소시지보다는 염지 효과가 낮았음.

<표 60> 천연 채소분말 종류 및 배양시간에 따른 유화형 소시지의 조직감 비교

처리구	경 도(N)	응 집 성	탄 력 성	검 성(N)	씹 힘 성(N)
대조구	35.39±0.84 <sup>A</sup>	0.72±0.00 <sup>A</sup>	0.89±0.01 <sup>A</sup>	25.36±0.55 <sup>A</sup>	22.63±0.53 <sup>A</sup>
처리구 1	22.58±0.79 <sup>C</sup>	0.61±0.01 <sup>C</sup>	0.82±0.02 <sup>BC</sup>	13.66±0.41 <sup>C</sup>	11.28±0.48 <sup>C</sup>
처리구 2	20.05±1.19 <sup>D</sup>	0.61±0.03 <sup>C</sup>	0.80±0.03 <sup>C</sup>	12.05±0.75 <sup>C</sup>	9.70±0.88 <sup>C</sup>
처리구 3	24.71±0.86 <sup>BC</sup>	0.66±0.01 <sup>B</sup>	0.86±0.01 <sup>AB</sup>	16.29±0.92 <sup>B</sup>	14.08±0.82 <sup>B</sup>
처리구 4	26.58±0.55 <sup>B</sup>	0.68±0.01 <sup>AB</sup>	0.87±0.01 <sup>A</sup>	18.14±0.49 <sup>B</sup>	15.86±0.50 <sup>B</sup>

모든 수치는 평균±표준오차.

<sup>A-D</sup>는 같은 열에서 서로 다른 문자 간 유의적 차이를 나타냄(p<0.05).

#### 라) 채소분말, 패각분말 및 아세로라분말을 이용한 합성 첨가물 무첨가(clean label) 돈육 패티의 품질 특성 조사

- 본 연구는 채소분말, 패각분말 및 아세로라분말을 이용하여 제조한 합성 첨가물 무첨가 돈육 패티의 품질 특성을 조사하기 위하여 실시하였음.
- 2개의 대조구 그룹과 4개의 처리구 그룹을 다음과 같이 제조하였음<표 61>: 음성 대조구(소금 및 포도당), 양성 대조구(0.01% 아질산나트륨, 0.05% 아스코브산나트륨 및 0.30% 인산염), 처리구 1(0.40% 배추 분말, 0.04% starter culture, 0.30% 패각분말 및 0.295% 아세로라분말), 처리구 2(0.40% 배추 분말, 0.04% starter culture, 0.60% 패각분말 및 0.295% 아세로라분말), 처리구 3(0.40% 무 분말, 0.04% starter culture, 0.30% 패각분말 및 0.295% 아세로라분말), 처리구 4(0.40% 무 분말, 0.04% starter culture, 0.60% 패각분말 및 0.295% 아세로라분말).
- 합성 아질산염을 대체하기 위해서 약 32,000ppm의 질산나트륨을 함유하는 표준화된 국산 배추 및 무 분말과 함께 starter culture(*Staphylococcus vitulinus*)를 첨가하였음.
- 패각분말 및 아세로라분말은 각각 합성 인산염과 아스코브산나트륨을 대체하기 위하여 사용되었음.
- 배합비에 따라 혼합한 돈육 패티들은 일정한 크기로 성형하고, 대조구를 제외한 처리구는 40°C 배양기에서 2시간 동안 배양하였음.
- 배양이 완료된 돈육 패티는 -18°C에서 냉동한 후, 160~170°C의 전기 그릴에서 중심온도가 75°C에 도달하도록 가열하였음.
- 합성 첨가물 무첨가 돈육 패티의 품질 특성을 조사하기 위하여 pH, 가열 감량, 두께 감소율, 직경 감소율, 전단력, 마이오글로빈 함량, 마이오글로빈 변성도, CIE L\*(명도), CIE a\*(적색도), CIE b\*(황색도), 잔류 아질산염 함량, 염지 육색소, 총 육색소, 염지 효율 및 지방 산패도(TBARS)를 분석하였음.



<표 61> 채소분말, 패각분말 및 아세로라분말을 이용한 합성 첨가물 무첨가 돈육 패티 배합비

재 료(%)	음성 대조구	양성 대조구	처리구 1	처리구 2	처리구 3	처리구 4
후 지	87.507	87.507	87.507	87.507	87.507	87.507
지 방	12.493	12.493	12.493	12.493	12.493	12.493
소 계	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000
얼음물	10.000	10.000	10.000	10.000	10.000	10.000
소 금	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
포도당	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
인산염	0.000	0.300	0.000	0.000	0.000	0.000
패각분말	0.000	0.000	0.300	0.600	0.300	0.600
아질산나트륨	0.000	0.010	0.000	0.000	0.000	0.000
배추 분말	0.000	0.000	0.400	0.400	0.000	0.000
무 분말	0.000	0.000	0.000	0.000	0.400	0.400
Starter culture	0.000	0.000	0.040	0.040	0.040	0.040
아스코브산나트륨	0.000	0.050	0.000	0.000	0.000	0.000
아세로라분말	0.000	0.000	0.295	0.295	0.295	0.295
합 계	112.000	112.360	113.035	113.335	113.035	113.335

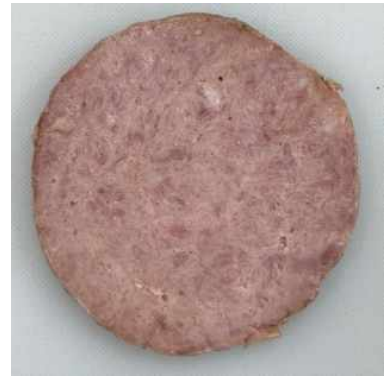
- 채소분말, 패각분말 및 아세로라분말을 이용한 합성 첨가물 무첨가 돈육 패티의 절단면은 <그림 72>와 같으며, 품질 특성에 대한 실험결과는 <표 62, 63 및 64>와 같음.
- 모든 처리구는 대조구들에 비하여 높은 pH를 나타내었으며( $p < 0.05$ ), 패각분말의 첨가량이 증가함에 따라 pH는 유의적으로 증가하였음( $p < 0.05$ ).
- 또한, 합성 첨가물 무첨가 처리구들은 합성 첨가물을 사용한 양성 대조구보다 높은 가열 감량을 나타내었음( $p < 0.05$ ).
- 그러나, 두께 감소율, 직경 감소율, 전단력, CIE L\*, CIE a\* 및 지방 산패도는 양성 대조구와 모든 처리구 사이에 유의적 차이가 없었음( $p > 0.05$ ).
- 합성 첨가물 무첨가 처리구에서 패각분말의 함량이 높아질수록 마이오글로빈 함량이 감소하였으나( $p < 0.05$ ), 처리구간의 마이오글로빈 변성도 및 CIE b\*는 차이가 나타나지 않았음( $p > 0.05$ ).
- 잔류 아질산염 함량은 합성 아질산염을 첨가한 양성 대조구에서 가장 높았음( $p < 0.05$ ).
- 총 육색소는 합성 첨가물 무첨가 처리구간 차이가 없었으나( $p > 0.05$ ), 염지 육색소 및 염지 효율은 패각분말의 첨가량이 증가할수록 유의적으로 감소하였음( $p < 0.05$ ).
- 본 실험결과는 합성 첨가물 무첨가 돈육 패티에서 0.60% 패각분말의 첨가는 염지 색상의 발색을 억제하였으나, 0.30% 패각분말을 첨가한 돈육 패티는 합성 첨가물을 사용한 패티와 유사한 품질 특성을 나타내었음.



<음성 대조구>



<양성 대조구>



<처리구 1>



<처리구 2>



<처리구 3>



<처리구 4>

<그림 72> 채소분말, 패각분말 및 아세로라분말을 이용한 합성 첨가물 무첨가 돈육 패티의 절단면

<표 62> 채소분말, 패각분말 및 아세로라분말을 이용한 합성 첨가물 무첨가 돈육 패티의 pH, 가열 감량, 두께 감소율, 직경 감소율 및 전단력 비교

처리구	pH	가열 감량 (%)	두께 감소율 (%)	직경 감소율 (%)	전단력 (N)
음성 대조구	6.21±0.02 <sup>D</sup>	24.09±0.61 <sup>A</sup>	10.36±0.65 <sup>A</sup>	12.09±0.35 <sup>A</sup>	18.07±0.46 <sup>B</sup>
양성 대조구	6.39±0.02 <sup>C</sup>	13.99±0.33 <sup>D</sup>	6.93±0.45 <sup>B</sup>	10.15±0.23 <sup>B</sup>	19.81±0.33 <sup>A</sup>
처리구 1	6.64±0.02 <sup>B</sup>	19.07±0.53 <sup>B</sup>	7.85±0.55 <sup>B</sup>	10.93±0.43 <sup>B</sup>	18.76±0.34 <sup>AB</sup>
처리구 2	6.81±0.04 <sup>A</sup>	17.26±0.40 <sup>C</sup>	7.59±0.63 <sup>B</sup>	10.71±0.27 <sup>B</sup>	19.72±0.30 <sup>A</sup>
처리구 3	6.65±0.02 <sup>B</sup>	17.73±0.40 <sup>C</sup>	7.87±0.55 <sup>B</sup>	10.91±0.31 <sup>B</sup>	19.01±0.52 <sup>AB</sup>
처리구 4	6.81±0.04 <sup>A</sup>	16.97±0.54 <sup>C</sup>	7.54±0.41 <sup>B</sup>	10.72±0.30 <sup>B</sup>	19.73±0.37 <sup>A</sup>

모든 수치는 평균±표준오차.

<sup>A-D</sup>는 같은 열에서 서로 다른 문자 간 유의적 차이를 나타냄(p<0.05).

<표 63> 채소분말, 패각분말 및 아세로라분말을 이용한 합성 첨가물 무첨가 돈육 패티의 마이오글로빈 함량, 마이오글로빈 변성도, CIE L\*(명도), CIE a\*(적색도) 및 CIE b\*(황색도) 비교

처리구	마이오글로빈 함량(mg/g)	마이오글로빈 변성도(%)	CIE L*	CIE a*	CIE b*
음성 대조구	0.427±0.006 <sup>A</sup>	69.11±1.01 <sup>C</sup>	68.80±0.30 <sup>A</sup>	5.78±0.12 <sup>C</sup>	10.37±0.21 <sup>A</sup>
양성 대조구	0.297±0.004 <sup>D</sup>	77.50±0.63 <sup>A</sup>	68.34±0.23 <sup>AB</sup>	10.02±0.09 <sup>AB</sup>	7.43±0.08 <sup>C</sup>
처리구 1	0.375±0.015 <sup>B</sup>	72.67±1.52 <sup>B</sup>	67.45±0.38 <sup>B</sup>	9.84±0.18 <sup>AB</sup>	8.35±0.16 <sup>B</sup>
처리구 2	0.347±0.006 <sup>C</sup>	73.22±0.66 <sup>B</sup>	67.52±0.30 <sup>B</sup>	9.62±0.14 <sup>B</sup>	8.50±0.09 <sup>B</sup>
처리구 3	0.372±0.007 <sup>B</sup>	73.52±1.01 <sup>B</sup>	67.54±0.35 <sup>B</sup>	10.09±0.14 <sup>A</sup>	8.51±0.29 <sup>B</sup>
처리구 4	0.347±0.005 <sup>C</sup>	75.36±0.71 <sup>AB</sup>	67.67±0.24 <sup>B</sup>	9.86±0.14 <sup>AB</sup>	8.07±0.13 <sup>B</sup>

모든 수치는 평균±표준오차.

<sup>A-D</sup>는 같은 열에서 서로 다른 문자 간 유의적 차이를 나타냄(p<0.05).

<표 64> 채소분말, 패각분말 및 아세로라분말을 이용한 합성 첨가물 무첨가 돈육 패티의 잔류 아질산염 함량, 염지 육색소, 총 육색소, 염지 효율 및 지방 산패도(TBARS) 비교

처리구	잔류 아질산염 (ppm)	염지 육색소 (ppm)	총 육색소 (ppm)	염지 효율 (%)	지방 산패도 (mg MDA/kg)
음성 대조구	0.35±0.03 <sup>C</sup>	0.63±0.08 <sup>D</sup>	52.13±1.14 <sup>BC</sup>	1.20±0.15 <sup>D</sup>	0.52±0.03 <sup>A</sup>
양성 대조구	44.01±1.01 <sup>A</sup>	39.05±0.52 <sup>AB</sup>	51.45±0.60 <sup>C</sup>	75.89±0.24 <sup>A</sup>	0.09±0.01 <sup>B</sup>
처리구 1	33.62±2.07 <sup>B</sup>	40.26±0.60 <sup>A</sup>	56.55±0.96 <sup>A</sup>	71.70±0.65 <sup>B</sup>	0.09±0.01 <sup>B</sup>
처리구 2	34.51±1.20 <sup>B</sup>	37.85±0.71 <sup>BC</sup>	54.68±0.69 <sup>A</sup>	69.22±1.06 <sup>C</sup>	0.10±0.01 <sup>B</sup>
처리구 3	31.43±2.27 <sup>B</sup>	40.19±0.60 <sup>A</sup>	54.40±0.56 <sup>AB</sup>	73.52±0.74 <sup>B</sup>	0.10±0.01 <sup>B</sup>
처리구 4	33.14±1.33 <sup>B</sup>	36.95±0.65 <sup>C</sup>	54.29±0.78 <sup>AB</sup>	67.86±1.42 <sup>C</sup>	0.10±0.01 <sup>B</sup>

모든 수치는 평균±표준오차.

<sup>A-D</sup>는 같은 열에서 서로 다른 문자 간 유의적 차이를 나타냄(p<0.05).

#### 마) 다양한 천연 질산염 소재 및 starter culture를 이용한 합성 아질산염 대체 배양액 제조 및 이를 첨가한 천연 염지 등심 햄의 품질 특성 조사

- 본 연구는 2종의 천연 질산염 소재 및 2 종의 starter culture를 이용하여 제조한 배양액의 합성 아질산염 대체 효과를 확인하고, 이를 첨가하여 제조한 천연 염지 등심 햄의 품질 특성을 비교하였음.
- 배양액 제조 실험에서 천연질산염 소재는 배추 분말과 상업적(Florida Food Products Inc., Eustis, Florida, USA)으로 판매되는 셀러리 분말(VegStable 502)을 이용하였음. 질산환원균으로는 김치 발효미생물인 WiKim0113(*Staphylococcus hominis*)과 시중에 판매(Chr. Hansen Inc., Milwaukee, WI, USA)되는 S-B-61(*Staphylococcus carnosus*)을 사용하였음. 본 연구를 수행하기 위한 배양액은 <표 65>와 같은 비율로 제조하였음: 배양액 1(배추 분말 및 WiKim0113 배양액), 배양액 2(배추 분말 및 S-B-61 배양액), 배양액 3(셀러리 분말 및 WiKim0113 배양액) 및 배양액 4(셀러리 분말 및 S-B-61 배양액). 각 배양액은 37℃의 항온수조에서 약 6시간 배양하여 합성 아질산염 대체 배양액을 제조하였음.

<표 65> 다양한 천연 질산염 소재 및 starter culture로 제조한 합성 아질산염 대체 배양액의 제조 비율

배양액	배양액 1	배양액 2	배양액 3	배양액 4
배추 분말	2.00	2.00	0.00	0.00
셀러리 분말	0.00	0.00	2.00	2.00
WiKim0113	0.20	0.00	0.20	0.00
S-B-61	0.00	0.20	0.00	0.20
포도당	1.00	1.00	1.00	1.00
불용성 패각칼슘 분말	0.06	0.06	0.06	0.06
물	96.74	96.74	96.74	96.74
합계	100.00	100.00	100.00	100.00

배양액: 배양액 1(배추 분말 및 WiKim0113 배양액), 배양액 2(배추 분말 및 S-B-61 배양액), 배양액 3(셀러리 분말 및 WiKim0113 배양액) 및 배양액 4(셀러리 분말 및 S-B-61 배양액).

WiKim0113: 김치 발효미생물(*Staphylococcus hominis*).

S-B-61: 상업적 질산환원균(*Staphylococcus carnosus*).

각 배양액은 37°C의 항온수조에서 약 6시간 배양함.

- 다양한 천연 질산염 소재 및 starter culture를 이용하여 제조한 배양액의 배양 전·후 pH, 아질산나트륨 및 질산나트륨 함량은 <표 66>과 같음. 배추 분말을 첨가한 배양액 1 및 2는 셀러리 분말을 첨가한 배양액 3 및 4보다 배양 전·후 pH에서 모두 낮은 값을 보였음( $p < 0.05$ ). 동일한 천연 질산염 소재 내에서 WiKim0113을 사용한 배양액은 S-B-61을 사용한 배양액보다 배양 전·후 pH가 낮게 나타났음( $p < 0.05$ ).
- 다양한 천연 질산염 소재 및 starter culture를 이용하여 제조한 배양액의 아질산나트륨 함량은 배추 분말을 사용한 배양액(배양액 1 및 2)에서 셀러리 분말을 사용한 배양액(배양액 3 및 4)보다 높았으며( $p < 0.05$ ), 특히 배추 분말에 S-B-61을 사용한 배양액 2의 아질산나트륨 전환량은 612.80 ppm으로 가장 높게 나타났음( $p < 0.05$ ). 반면, 질산나트륨 함량은 배양액 1 및 2가 배양액 3 및 4보다 낮았음( $p < 0.05$ ). 셀러리 분말은 약 32,000 ppm의 질산나트륨을 함유하고 있으며, 이를 배양액에 2% 첨가할 시 약 640 ppm의 질산나트륨이 첨가됨. 37°C에서 6시간 배양 후, 셀러리 분말을 사용한 배양액(배양액 3 및 4)의 질산나트륨 함량은 약 620 ppm으로 질산환원균에 의한 아질산나트륨 전환이 거의 이루어지지 않은 것으로 판단됨.

<표 66> 다양한 천연 질산염 소재 및 starter culture로 제조한 배양액의 배양 전·후 pH 아질산나트륨 및 질산나트륨 함량

배양액	배양 전 pH	배양 후 pH	아질산나트륨(ppm)	질산나트륨(ppm)
배양액 1	5.99±0.03 <sup>D</sup>	5.15±0.02 <sup>D</sup>	527.54±26.51 <sup>B</sup>	56.80±2.77 <sup>B</sup>
배양액 2	6.14±0.01 <sup>C</sup>	5.32±0.05 <sup>C</sup>	612.80±26.18 <sup>A</sup>	31.31±5.34 <sup>B</sup>
배양액 3	6.33±0.00 <sup>B</sup>	5.58±0.01 <sup>B</sup>	2.46±0.02 <sup>C</sup>	620.24±18.60 <sup>A</sup>
배양액 4	6.49±0.00 <sup>A</sup>	6.74±0.01 <sup>A</sup>	1.16±0.03 <sup>C</sup>	624.66±20.30 <sup>A</sup>

배양액: 배양액 1(배추 분말 및 WiKim0113 배양액), 배양액 2(배추 분말 및 S-B-61 배양액), 배양액 3(셀러리 분말 및 WiKim0113 배양액) 및 배양액 4(셀러리 분말 및 S-B-61 배양액).

모든 값은 평균±표준오차.

<sup>A-D</sup>는 같은 열에서 서로 다른 문자는 유의적 차이를 나타냄( $p < 0.05$ ).

- 셀러리 분말을 이용한 배양액은 육제품을 제조하기에는 너무 적은 아질산나트륨 함량 (1.16~2.46 ppm)을 포함하고 있어 천연 염지 등심 햄의 제조에 적합하지 않았음. 따라서 천연 염지 등심 햄 제조에는 합성 아질산염 대체 소재로 배추 분말을 이용한 배양액만 사용하는 것이 바람직하다고 판단하였음.
- 본 연구에서 등심 햄 실험은 2개의 대조구 그룹과 2개의 처리구 그룹을 비교하기 위하여 다음과 같은 염지액을 제조하였음<표 67>: 음성 대조구(아질산나트륨 무첨가), 양성 대조구(합성 아질산나트륨 첨가), 처리구 1(53.08% 배추 분말 및 WiKim0113 배양액 첨가) 및 처리구 2(45.69% 배추 분말 및 S-B-61 배양액 첨가). 모든 염지액은 등심 종량 기준으로 25% 주입하였음. 이때, 양성 대조구와 처리구의 염지액에는 약 280ppm의 아질산나트륨을 함유하고 있었으며, 첨가된 아질산나트륨 함량은 음성 대조구를 제외한 모든 등심 햄에서 70 ppm으로 동일하였음.
- 염지액이 주입된 등심들은 진공 텀블러에서 30분간 염지한 후, 다시 2~3°C의 냉장고에서 약 12시간 동안 염지하였음. 염지가 완료된 등심은 8 mm로 분쇄하였으며, 총진기를 이용하여 직경이 7.9 cm인 plastic casing에 충전하고 80°C의 향운수조에서 내부 온도가 75°C가 되도록 가열하였음. 가열이 완료된 등심 햄은 얼음/냉수 상에서 20분 동안 급속 냉각하고 2~3°C의 냉장고에서 충분히 냉각한 후, 분석에 이용하였음. 천연 염지 등심 햄의 품질 특성을 조사하기 위하여 pH, 가열 감량, CIE L\*(명도), CIE a\*(적색도), CIE b\*(황색도), 잔류 아질산염 함량, 염지 육색소, 총 육색소, 염지 효율 및 지방 산패도(TBARS)를 분석하였음.

<표 67> 합성 아질산염 대체 천연 배양액을 첨가한 등심 햄의 염지액 배합비

처리구	음성 대조구	양성 대조구	처리구 1	처리구 2
소금	6.00	6.000	6.00	6.00
설탕	4.00	4.000	4.00	4.00
인산염	1.20	1.200	1.20	1.20
아질산나트륨	-	0.028	-	-
아스코르브산 나트륨	0.20	0.200	0.20	0.20
물	88.60	88.572	35.52	42.91
배추 분말	-	-	1.06	0.91
WiKim0113	-	-	0.11	-
S-B-61	-	-	-	0.09
포도당	-	-	0.53	0.46
불용성 패각칼슘 분말	-	-	0.03	0.03
물	-	-	51.35	44.20
합계	100.00	100.000	100.00	100.00

처리구: 음성 대조구(아질산나트륨 무첨가), 양성 대조구(합성 아질산나트륨 첨가), 처리구 1(배추 분말 및 WiKim0113 배양액 첨가) 및 처리구 2(배추 분말 및 S-B-61 배양액 첨가).

- 합성 아질산염 대체 천연 배양액을 첨가한 등심 햄의 pH, 가열 감량, CIE L\*(명도), CIE a\*(적색도) 및 CIE b\*(황색도) 결과는 <표 68>과 같음. pH는 모든 처리구에서 유의적인 차이를 나타내지 않았음( $p>0.05$ ). 그러나 가열 감량은 천연 염지된 등심 햄(처리구 1 및 2)에서 대조구들보다 낮게 나타났음( $p<0.05$ ). 합성 아질산염 대체 배양액을 첨가한 처리구 1 및 2는 모든 색도 측정 결과(CIE L\*, CIE a\* 및 CIE b\*)에서 합성 아질산나트륨을 첨가한 양성 대조구와 유사하였음( $p>0.05$ ).

<표 68> 합성 아질산염 대체 천연 배양액을 첨가한 등심 햄의 가열 감량, pH, CIE L\*(명도), CIE a\*(적색도) 및 CIE b\*(황색도) 비교

처리구	pH	가열 감량(%)	CIE L*	CIE a*	CIE b*
음성 대조구	6.32±0.03 <sup>A</sup>	7.69±0.57 <sup>A</sup>	71.64±0.20 <sup>A</sup>	5.10±0.28 <sup>B</sup>	7.65±0.18 <sup>A</sup>
양성 대조구	6.29±0.03 <sup>A</sup>	7.35±0.61 <sup>A</sup>	71.09±0.22 <sup>A</sup>	8.09±0.14 <sup>A</sup>	5.40±0.09 <sup>B</sup>
처리구 1	6.28±0.03 <sup>A</sup>	4.62±0.52 <sup>B</sup>	71.46±0.15 <sup>A</sup>	7.72±0.11 <sup>A</sup>	5.53±0.14 <sup>B</sup>
처리구 2	6.27±0.03 <sup>A</sup>	5.26±0.27 <sup>B</sup>	71.20±0.40 <sup>A</sup>	7.73±0.18 <sup>A</sup>	5.41±0.16 <sup>B</sup>

처리구: 음성 대조구(아질산나트륨 무첨가), 양성 대조구(합성 아질산나트륨 첨가), 처리구 1(배추 분말 및 WiKim0113 배양액 첨가) 및 처리구 2(배추 분말 및 S-B-61 배양액 첨가).

모든 값은 평균±표준오차.

<sup>A, B</sup>는 같은 열에서 서로 다른 문자는 유의적 차이를 나타냄(p<0.05)

- 합성 아질산염 대체 천연 배양액을 첨가한 등심 햄의 잔류 아질산염 함량, 염지 육색소, 총 육색소, 염지 효율 및 지방 산패도(TBARS) 결과는 <표 69>와 같음. 동일한 농도의 아질산나트륨을 첨가(70 ppm)하였는데도 불구하고, 합성 아질산염을 첨가한 양성 대조구는 처리구 1 및 2보다 높은 잔류 아질산염 함량을 나타내었음(p<0.05). 그러나 염지 육색소, 총 육색소, 염지 효율 및 지방 산패도에서는 합성 아질산염 대체 배양액을 첨가한 처리구들은 양성 대조구와 차이를 보이지 않았음(p>0.05).

<표 69> 합성 아질산염 대체 천연 배양액을 첨가한 등심 햄의 잔류 아질산염 함량, 염지 육색소, 총 육색소, 염지 효율 및 지방 산패도(TBARS) 비교

처리구	잔류 아질산염 (ppm)	염지 육색소 (ppm)	총 육색소 (ppm)	염지 효율 (%)	지방 산패도 (mg MDA/kg)
음성 대조구	1.33±0.22 <sup>C</sup>	1.16±0.13 <sup>B</sup>	27.54±0.78 <sup>A</sup>	4.32±0.61 <sup>B</sup>	0.12±0.01 <sup>A</sup>
양성 대조구	16.41±0.88 <sup>A</sup>	17.62±0.42 <sup>A</sup>	28.39±0.59 <sup>A</sup>	62.45±2.73 <sup>A</sup>	0.09±0.01 <sup>B</sup>
처리구 1	12.98±0.75 <sup>B</sup>	17.69±0.16 <sup>A</sup>	27.71±0.59 <sup>A</sup>	64.09±1.75 <sup>A</sup>	0.08±0.01 <sup>B</sup>
처리구 2	13.07±0.65 <sup>B</sup>	18.20±0.29 <sup>A</sup>	27.71±0.46 <sup>A</sup>	65.90±2.07 <sup>A</sup>	0.08±0.00 <sup>B</sup>

처리구: 음성 대조구(아질산나트륨 무첨가), 양성 대조구(합성 아질산나트륨 첨가), 처리구 1(배추 분말 및 WiKim0113 배양액 첨가) 및 처리구 2(배추 분말 및 S-B-61 배양액 첨가).

모든 값은 평균±표준오차.

<sup>A-C</sup>는 같은 열에서 서로 다른 문자는 유의적 차이를 나타냄(p<0.05).

- 본 연구 결과에서 다양한 천연 질산염 소재 및 starter culture를 이용하여 제조한 합성 아질산염 대체 배양액은 상업적으로 사용되고 있는 셀러리 분말을 사용하는 경우 아질산나트륨 전환량이 매우 낮았으나, 배추 분말을 사용한 경우에 높은 아질산나트륨 전환량을 보였음.
- 배추 분말을 사용한 배양액에서 starter culture의 종류는 상업 균인 S-B-61이 김치 발효미생물 WiKim0113보다 높은 아질산나트륨 전환량을 보였음.
- 그러나 이를 이용한 등심 햄 실험에서는 starter culture의 종류와 관계없이 합성 아질산염 대체 배양액을 첨가한 등심 햄은 유사한 품질 특성을 보였음. 그뿐만 아니라, 배양액을 첨가한 등심 햄은 대부분의 품질 특성에서 합성 아질산나트륨을 첨가한 등심 햄과 동등한 염지 효과를 보여 합성 아질산염 대체 기술로써 충분한 가치를 보였음.

[세부 연구개발 목표 2] 국산 채소기반 합성 아질산염 대체 식품소재 및 김치 발효미생물의 starter culture를 활용한 합성 아질산염 대체 육제품 개발

가. 연구수행 방법

1) pH

- pH 측정은 pH meter(Accumt<sup>®</sup> AB150, Thermo Fisher Scientific Inc., Singapore)를 이용하여 측정하였음.

2) 질산 및 아질산 이온 함량

- 질산 및 아질산 이온 함량은 Merino(2009)의 zinc reduction 방법을 이용하여 측정하였음. 측정된 질산 및 아질산 이온 함량은 ppm 단위로 환산하여 나타내었음.

3) 가열 감량

- 가열 감량은 가열 전·후 시료의 중량을 측정한 후, 다음 식을 이용하여 산출하였음.

$$\text{가열 감량(\%)} = \frac{\text{가열 전 시료 중량} - \text{가열 후 시료 중량(g)}}{\text{가열 전 시료 중량(g)}} \times 100$$

4) 색도

- 시료의 절단면을 색차계(chroma meter; CR-400, Konica Minolta Sensing Inc., Osaka, Japan)를 이용하여 명도를 나타내는 L\*, 적색도를 나타내는 a\*, 황색도를 나타내는 b\*를 측정하였음. 이때 사용한 광원은 C광원이며, L\* +94.87, a\* -0.39, b\* +3.88인 표준 백색판으로 보정 후 사용하였음.

5) 잔류 아질산염 함량

- 잔류 아질산염 함량은 AOAC(2016)를 이용하여 측정하였음. 표준물질인 아질산나트륨(S2252, Sigma-Aldrich, St. Louis, USA)으로 검량선을 작성하고 이를 이용하여 잔류 아질산염 함량을 산출하였음.

6) 염지 육색소, 총 육색소 및 염지 효율

- 염지 육색소 및 총 육색소는 Hornsey(1956)의 방법에 따라 각각 80% 아세톤 또는 산성 아세톤 용액을 이용하여 추출하였음. 염지 육색소 및 총 육색소는 spectrophotometer(UV-1800, Shimadzu Corp., Kyoto, Japan)로 각각 540nm(A540) 및 640nm(A640) 파장에서 흡광도를 측정하였으며, 다음 식을 이용하여 산출하였음. 염지 효율은 염지 육색소 및 총 육색소의 비율로 다음 식을 이용하여 나타내었음.

$$\text{염지 육색소(ppm)} = A540 \times 290$$

$$\text{총 육색소(ppm)} = A640 \times 680$$

$$\text{염지 효율(\%)} = \frac{\text{염지 육색소(ppm)}}{\text{총 육색소(ppm)}} \times 100$$

7) 지방 산패도(TBARS)

- 지방 산패도는 Tarladgis 등(1960)의 방법에 따라 분석하였음. 시료 중 지방산화에 의해 유리되는 malonaldehyde와 0.02M 2-thiobarbituric acid(TBA)용액을 반응시킨 후, spectrophotometer(UV-1800, Shimadzu Corp., Kyoto, Japan)를 이용하여

538nm(A538)의 파장에서 흡광도를 측정하고 아래 식을 이용하여 시료 kg당 malonaldehyde의 mg 수로 지방 산패도를 나타냈었음.

$$\text{지방 산패도}(\text{mg malonaldehyde/kg sample}) = A538 \times 7.8$$

#### 8) 조직감

- 조직감 측정은 Texture analyser(TA-XT2i, Stable Micro System Ltd., Surrey, UK)를 이용하여 경도를 측정하였음. 조직감은 각 시료를 2.5 cm 높이로 절단한 후 50 mm diameter cylinder aluminium probe를 이용하여 경도, 응집성, 탄력성, 껌성 및 씹힘성을 측정하였음. 모든 측정 시 cross head speed는 5 mm/s이었음.

#### 9) 참고 문헌

- Merino L. 2009. Development and validation of a method for determination of residual nitrite/nitrate in foodstuffs and water after zinc reduction. Food Anal Methods 2:212-220.
- AOAC. 2016. Official methods of analysis of AOAC International. 20th ed. AOAC International, Rockville, MD, USA.
- Hornsey HC. 1956. The colour of cooked cured pork. I.—Estimation of the nitric oxide-haem pigments. J Sci Food Agric 7:534-540.
- Tarladgis BG, Watts BM, Younathan MT, Dugan L Jr. 1960. A distillation method for the quantitative determination of malonaldehyde in rancid foods. J Am Oil Chem Soc 37:44-48.



나. 연구수행 내용 및 결과

1) 대량 생산된 국산 합성 아질산염 대체 소재 및 김치 발효미생물 starter culture의 배양조건별 질산 및 아질산 이온 함량 조사

가) 채소분말 및 김치 발효미생물을 이용하여 제조한 합성 아질산염 대체 염지액의 아질산나트륨 전환 효과 조사

(1) 채소분말 및 김치 발효미생물을 이용한 합성 아질산염 대체 염지액에서 소금 농도가 아질산나트륨 전환에 미치는 영향

- 무 분말 및 WiKim0113(*Staphylococcus hominis*)을 첨가하여 제조한 합성 아질산염 대체 염지액에서 소금 농도에 따른 아질산나트륨 전환 효과를 조사하기 위하여 아래 <표 70>과 같이 염지액을 제조하였음. 이때 천연 질산염 공급원인 무 분말은 약 32,000 ppm의 질산나트륨을 함유하도록 표준화한 것을 사용하였음. 염지액의 소금 농도는 0%와 8%를 비교하였는데, 8% 소금을 첨가한 염지액을 원료육에 25% 주입할 경우 실제 육에 첨가되는 소금의 양은 2% 수준임. 제조된 염지액은 37°C로 설정된 항온수조에서 최대 36시간 동안 배양하면서, 배양 시간별(0, 4, 8, 12, 24 및 36시간)로 염지액의 pH, 아질산나트륨 및 질산나트륨 함량을 측정하였음.

<표 70> 소금 농도에 따른 합성 아질산염 대체 염지액의 제조 비율

재료(%)	소금 농도	
	0%	8%
소금	0.00	8.00
무 분말	2.00	2.00
WiKim0113	0.20	0.20
포도당	8.00	8.00
물	89.80	81.80
합계	100.00	100.00

WiKim0113: 김치 발효미생물(*Staphylococcus hominis*).

각 염지액은 37°C의 항온수조에서 0, 4, 8, 12, 24 및 36시간 배양함.

- 무 분말 및 WiKim0113을 첨가한 합성 아질산염 대체 염지액에서 소금 농도(salt concentrations, S)와 배양 시간(incubation time, T)을 main effects로 두 변수와 상호작용(S×T)에 대한 효과는 <표 71>과 같음. 소금 농도는 pH 및 아질산나트륨 함량에서 유의적인 차이를 보였음(p<0.05). 배양 시간과 두 변수의 상호작용은 pH에서만 유의적 차이를 나타내었음(p<0.0001).

<표 71> 무 분말 및 WiKim0113을 첨가한 합성 아질산염 대체 염지액에서 소금 농도 및 배양 시간에 따른 주요 및 상호작용 효과

주요 및 상호작용 효과	pH	아질산나트륨 (ppm)	질산나트륨 (ppm)
소금 농도(S)	***	*	NS
배양 시간(T)	***	NS	NS
S × T	***	NS	NS

\* = p<0.05, \*\* = p<0.01, \*\*\* = p<0.0001, NS = not significant.

소금 농도(S): 염지액에 0% 또는 8%의 소금을 첨가함.

배양 시간(T): 각 염지액은 37°C의 항온수조에서 0, 4, 8, 12, 24 및 36시간 배양함.

- 합성 아질산염 대체 염지액에서 두 변수(소금 농도 및 배양 시간)의 상호작용에 따른 pH 결과는 <표 72>와 같음. 염지액 제조 시 첨가한 소금의 농도는 배양 시간과 관계없이 소금을 첨가하지 않은 염지액에서 8%의 소금을 첨가한 염지액보다 유의적으로 높은 pH를 나타내었음( $p < 0.05$ ). 반면, 모든 소금 농도들(0% 및 8%)에서 염지액의 pH는 배양 시간이 36시간으로 증가하는 동안 유의적으로 감소하였음( $p < 0.05$ ).

<표 72> 무 분말 및 WiKim0113을 첨가한 염지액에서 소금 농도 및 배양 시간 상호작용 효과에 따른 pH 비교

배양 시간 (h)	pH	
	소금 0% 첨가	소금 8% 첨가
0	4.89 <sup>Ax</sup>	4.54 <sup>Ay</sup>
4	4.72 <sup>Bx</sup>	4.52 <sup>Ay</sup>
8	4.66 <sup>Cx</sup>	4.51 <sup>ABy</sup>
12	4.55 <sup>Dx</sup>	4.48 <sup>By</sup>
24	4.50 <sup>Ex</sup>	4.40 <sup>Cy</sup>
36	4.40 <sup>Fx</sup>	4.33 <sup>Dy</sup>

소금 농도: 염지액에 0% 또는 8%의 소금을 첨가함.

배양 시간: 각 염지액은 37°C의 항온수조에서 0, 4, 8, 12, 24 및 36시간 배양함.

A-F는 같은 열에서 서로 다른 문자는 유의적 차이를 나타냄( $p < 0.05$ , 평균의 표준오차: 0.01).

x, y는 같은 행에서 서로 다른 문자는 유의적 차이를 나타냄( $p < 0.05$ , 평균의 표준오차: 0.01).

- 염지액에서 소금 농도와 배양 시간에 따른 아질산나트륨 및 질산나트륨 함량은 <표 73>과 같음. 소금의 농도에 따른 질산나트륨 함량 차이는 나타나지 않았으나 ( $p > 0.05$ ), 아질산나트륨 함량은 소금을 첨가하지 않은 염지액에서 8% 소금을 첨가한 염지액보다 유의적으로 높게 나타났음( $p < 0.05$ ). 한편, 배양 시간이 증가함에 따른 아질산나트륨 및 질산나트륨 함량에 유의적 차이는 보이지 않았음( $p > 0.05$ ).

<표 73> 무 분말 및 WiKim0113을 첨가한 염지액에서 소금 농도 및 배양 시간에 따른 아질산나트륨 및 질산나트륨 함량 비교

실험 항목	아질산나트륨(ppm)	질산나트륨(ppm)
소금 농도		
0%	0.044 <sup>A</sup>	639.57 <sup>A</sup>
8%	0.037 <sup>B</sup>	641.52 <sup>A</sup>
평균의 표준오차	0.002	1.70
배양 시간		
0	0.044 <sup>A</sup>	643.59 <sup>A</sup>
4	0.037 <sup>A</sup>	644.33 <sup>A</sup>
8	0.037 <sup>A</sup>	636.29 <sup>A</sup>
12	0.037 <sup>A</sup>	639.94 <sup>A</sup>
24	0.044 <sup>A</sup>	638.47 <sup>A</sup>
36	0.044 <sup>A</sup>	640.67 <sup>A</sup>
평균의 표준오차	0.003	2.94

소금 농도: 염지액에 0% 또는 8%의 소금을 첨가함.

배양 시간: 각 염지액은 37°C의 항온수조에서 0, 4, 8, 12, 24 및 36시간 배양함.

A, B는 같은 열에서 서로 다른 문자는 유의적 차이를 나타냄( $p < 0.05$ ).

- 무 분말 및 WiKim0113을 첨가한 합성 아질산염 대체 염지액에서 소금 농도와 배양 시간에 따른 아질산나트륨 전환 효과를 조사한 결과, <표 72>와 같은 염지액 조건에서는 배양 시간과 관계없이 아질산나트륨 전환이 거의 이루어지지 않는 것을 확인하였음. 소금 농도에 따른 아질산나트륨 전환 효과는 8% 소금을 첨가하는 것보다 소금을 첨가하지 않는 것이 염지액에서 질산나트륨의 아질산나트륨 전환에 유리한 것으로 판단되나, 그 차이가 0.01 ppm 미만으로 미미하였음.

**(2) 채소분말 및 김치 발효미생물을 이용한 합성 아질산염 대체 염지액에서 소금과 인산염의 첨가가 아질산나트륨 전환에 미치는 영향**

- 무 분말 및 WiKim0113(*Staphylococcus hominis*)을 첨가하여 제조한 합성 아질산염 대체 염지액에서 소금 및 인산염 첨가에 따른 아질산나트륨 전환 효과를 조사하기 위하여 아래 <표 74>와 같이 염지액을 제조하였음. 이때 천연 질산염 공급원인 무 분말은 약 32,000 ppm의 질산나트륨을 함유하도록 표준화한 것을 사용하였음. 제조된 염지액은 37°C로 설정된 항온수조에서 24시간 배양한 뒤 pH, 아질산나트륨 및 질산나트륨 함량을 측정하였음.

<표 74> 소금 및 인산염 농도에 따른 합성 아질산염 대체 염지액의 제조 비율

재료(%)	처리구 1	처리구 2	처리구 3	처리구 4
소금	0.00	0.00	8.00	8.00
인산염	0.00	0.10	0.00	0.10
무 분말	2.00	2.00	2.00	2.00
WiKim0113	0.20	0.20	0.20	0.20
포도당	8.00	8.00	8.00	8.00
물	89.80	89.70	81.80	81.70
합계	100.00	100.00	100.00	100.00

처리구: 처리구 1(소금 및 인산염 무첨가), 처리구 2(0% 소금 및 0.1% 인산염 첨가),  
처리구 3(8% 소금 및 0% 인산염 첨가) 및 처리구 4(8% 소금 및 0.1% 인산염 첨가).

WiKim0113: 김치 발효미생물(*Staphylococcus hominis*).

각 처리구는 37°C의 항온수조에서 24시간 배양함.

- 무 분말 및 WiKim0113을 첨가한 합성 아질산염 대체 염지액에서 소금 및 인산염 농도에 따른 pH, 아질산나트륨 및 질산나트륨 함량을 측정한 결과는 <표 75>와 같음. 24시간 배양한 염지액의 pH에서 소금을 첨가하지 않고 인산염만 첨가한 처리구 2는 모든 처리구 중 가장 높은 값을 보였음( $p < 0.05$ ). 인산염을 첨가하지 않은 처리구들(처리구 1 및 3)에서는 소금 농도와 관계없이 가장 낮은 아질산나트륨 함량과 가장 높은 질산나트륨 함량을 보였음( $p < 0.05$ ). 반면, 인산염이 첨가된 처리구들(처리구 2 및 4)에서는 소금을 첨가하지 않은 처리구 2가 8% 소금을 첨가한 처리구 4보다 유의적으로 높은 아질산나트륨 함량을 보였으나( $p < 0.05$ ), 질산나트륨 함량은 낮게 나타났음( $p < 0.05$ ).

<표 75> 무 분말 및 WiKim0113을 첨가한 염지액에서 소금 및 인산염 농도에 따른 pH, 아질산나트륨 및 질산나트륨 함량 비교

실험 항목	처리구 1	처리구 2	처리구 3	처리구 4
pH	4.49±0.02 <sup>C</sup>	5.25±0.01 <sup>A</sup>	4.41±0.01 <sup>D</sup>	5.20±0.01 <sup>B</sup>
아질산나트륨(ppm)	0.04±0.01 <sup>C</sup>	84.81±0.31 <sup>A</sup>	0.03±0.00 <sup>C</sup>	72.93±0.31 <sup>B</sup>
질산나트륨(ppm)	637.74±1.68 <sup>A</sup>	451.42±4.68 <sup>C</sup>	639.22±0.84 <sup>A</sup>	471.91±5.45 <sup>B</sup>

처리구: 처리구 1(소금 및 인산염 무첨가), 처리구 2(0% 소금 및 0.1% 인산염 첨가),  
처리구 3(8% 소금 및 0% 인산염 첨가) 및 처리구 4(8% 소금 및 0.1% 인산염 첨가).

모든 값은 평균±표준오차.

<sup>A-D</sup>는 같은 행에서 서로 다른 문자는 유의적 차이를 나타냄(p<0.05).

- 무 분말 및 WiKim0113을 첨가한 합성 아질산염 대체 염지액에서 소금 및 인산염 농도에 따른 아질산나트륨 전환 효과를 확인한 결과, 소금은 첨가하지 않고 인산염만 첨가하여 염지액을 제조·배양할 때 아질산나트륨 전환이 가장 효과적인 것으로 판단됨.

### (3) 채소분말 및 김치 발효미생물을 이용한 합성 아질산염 대체 염지액에서 당 농도가 아질산나트륨 전환에 미치는 영향

- 무 분말 및 WiKim0113(*Staphylococcus hominis*)을 첨가하여 제조한 합성 아질산염을 대체 염지액에서 당 농도에 따른 아질산나트륨 전환 효과를 조사하기 위하여 아래 <표 76>과 같이 염지액을 제조하였음. 이때 천연 질산염 공급원인 무 분말은 약 32,000 ppm의 질산나트륨을 함유하도록 표준화한 것을 사용하였으며, 제조된 염지액은 37°C로 설정된 항온수조에서 24시간 배양한 후 pH, 아질산나트륨 및 질산나트륨 함량을 측정하였음.

<표 76> 포도당 농도에 따른 합성 아질산염 대체 염지액의 제조 비율

재료(%)	처리구 1	처리구 2	처리구 3
무 분말	2.00	2.00	2.00
WiKim0113	0.20	0.20	0.20
인산염	0.10	0.10	0.10
포도당	0.00	1.00	1.50
물	97.70	96.70	96.20
합계	100.00	100.00	100.00

처리구: 처리구 1(포도당 무첨가), 처리구 2(1% 포도당 첨가) 및 처리구 3(1.5% 포도당 첨가).

WiKim0113: 김치 발효미생물(*Staphylococcus hominis*).

각 처리구는 37°C의 항온수조에서 24시간 배양함.

- 무 분말 및 WiKim0113을 첨가한 합성 아질산염 대체 염지액에서 당 농도에 따른 배양 전·후 pH, 아질산나트륨 및 질산나트륨 함량을 측정한 결과는 <표 77>과 같음. 배양 전 염지액의 pH는 당의 첨가 농도가 높아질수록 유의적으로 감소하였음(p<0.05). 1%의 당을 첨가한 염지액(처리구 2)은 배양 24시간 후 pH와 질산나트륨 함량에서 가장 낮은 값을 나타냄(p<0.05) 반면, 아질산나트륨 함량에서는 가장 높은 값을 보였음(p<0.05).

<표 77> 무 분말 및 WiKim0113을 첨가한 합성 아질산염 대체 염지액에서 당 농도에 따른 배양 전·후 pH, 아질산나트륨 및 질산나트륨 함량 비교

실험 항목	처리구 1	처리구 2	처리구 3
배양 전 pH	6.30±0.00 <sup>A</sup>	6.22±0.00 <sup>B</sup>	6.18±0.00 <sup>C</sup>
배양 후 pH	4.47±0.01 <sup>A</sup>	4.39±0.01 <sup>B</sup>	4.45±0.00 <sup>A</sup>
아질산나트륨(ppm)	77.52±1.23 <sup>C</sup>	160.58±2.00 <sup>A</sup>	102.77±1.48 <sup>B</sup>
질산나트륨(ppm)	548.17±11.22 <sup>A</sup>	423.93±1.40 <sup>B</sup>	522.92±13.11 <sup>A</sup>

처리구: 처리구 1(포도당 무첨가), 처리구 2(1% 포도당 첨가) 및 처리구 3(1.5% 포도당 첨가).  
모든 값은 평균±표준오차.

<sup>A-C</sup>는 같은 행에서 서로 다른 문자는 유의적 차이를 나타냄(p<0.05).

- 따라서, 무 분말 및 WiKim0113을 첨가한 합성 아질산염 대체 염지액에서 질산나트륨을 아질산나트륨으로 전환하기 위한 가장 효과적인 당의 농도는 1%가 적합한 것으로 판단됨.

#### (4) 채소분말을 이용한 합성 아질산염 대체 염지액에서 김치 발효미생물의 종류가 아질산나트륨 전환에 미치는 영향

- 무 분말을 첨가하여 제조한 합성 아질산염 대체 염지액에서 김치 발효미생물의 종류에 따른 아질산나트륨 전환 효과를 조사하기 위하여 아래 <표 78>과 같이 염지액을 제조하였음. 본 연구에 사용한 김치 발효미생물은 WiKim0112(*Lactobacillus plantarum*)와 WiKim0113(*Staphylococcus hominis*)이며, 두 균주는 주연구기관인 우진비앤지에서 제공하였음. 이때 천연 질산염 공급원인 무 분말은 약 32,000 ppm의 질산나트륨을 함유하도록 표준화한 것을 사용하였으며, 제조된 염지액은 37°C로 설정된 항온수조에서 24시간 배양한 후 pH, 아질산나트륨 및 질산나트륨 함량을 측정하였음.

<표 78> 김치 발효미생물 종류에 따른 합성 아질산염 대체 염지액의 제조 비율

재료(%)	처리구 1	처리구 2
무 분말	2.00	2.00
인산염	0.10	0.10
WiKim0112	0.20	0.00
WiKim0113	0.00	0.20
포도당	1.00	1.00
물	96.70	96.70
합계	100.00	100.00

처리구: 처리구 1(0.2% WiKim0112 첨가) 및 처리구 2(0.2% WiKim0113 첨가).

WiKim0112: 김치 발효미생물(*Lactobacillus plantarum*).

WiKim0113: 김치 발효미생물(*Staphylococcus hominis*).

각 처리구는 37°C의 항온수조에서 24시간 배양함.

- 김치 발효미생물 종류에 따른 합성 아질산염 대체 염지액의 배양 전·후 pH, 아질산나트륨 및 질산나트륨 함량을 측정한 결과는 <표 79>와 같음. WiKim0113을 첨가한 처리구 2는 WiKim0112를 첨가한 처리구 1보다 배양 전 pH가 낮게 나타났음

( $p < 0.05$ ). 반면 배양 후 pH에서는 WiKim0112를 첨가한 처리구 1이 3.48로 WiKim0113을 첨가한 처리구 2(4.20)보다 더 낮은 pH를 보였음( $p < 0.05$ ). 배양 24시간 후 염지액의 아질산나트륨 함량은 WiKim0113을 이용한 처리구 2의 경우 156.12 ppm으로 처리구 1(0.07 ppm)보다 유의적으로 높았음( $p < 0.05$ ). 모든 염지액은 약 640 ppm의 질산나트륨이 첨가되었는데, WiKim0112를 첨가한 처리구 1은 배양 24시간 후에도 질산나트륨 함량이 593.82 ppm이었음.

<표 79> 무 분말을 첨가하여 제조한 합성 아질산염 대체 염지액에서 김치 발효미생물에 따른 pH, 아질산나트륨 및 질산나트륨 함량 비교

처리구	배양 전 pH	배양 후 pH	아질산나트륨(ppm)	질산나트륨(ppm)
처리구 1	6.69±0.00 <sup>A</sup>	3.48±0.02 <sup>B</sup>	0.07±0.01 <sup>B</sup>	593.82±10.14 <sup>A</sup>
처리구 2	6.29±0.00 <sup>B</sup>	4.20±0.01 <sup>A</sup>	156.12±2.50 <sup>A</sup>	411.87±14.05 <sup>B</sup>

처리구: 처리구 1(0.20% WiKim0112 첨가) 및 처리구 2(0.20% WiKim0113 첨가).

모든 값은 평균±표준오차.

A, B는 같은 열에서 서로 다른 문자는 유의적 차이를 나타냄( $p < 0.05$ ).

- 본 연구 결과에서 WiKim0112는 <표 78>과 같은 염지액 조건에서 질산나트륨의 환원 능력이 매우 떨어지는 것으로 판단됨. 따라서 김치 발효미생물로는 WiKim0113을 사용하여 합성 아질산염 대체 염지액을 제조하는 것이 아질산나트륨의 전환에 가장 효과적인 것으로 판단됨.

#### (5) 채소분말 및 김치 발효미생물을 이용한 합성 아질산염 대체 염지액에서 교반속도가 아질산나트륨 전환에 미치는 영향

- 무 분말 및 WiKim0113(*Staphylococcus hominis*)을 첨가하여 제조한 합성 아질산염 대체 염지액에서 교반속도에 따른 아질산나트륨 전환 효과를 조사하기 위하여 아래 <표 80>과 같이 염지액을 제조하였음. 이때 천연 질산염 공급원인 무 분말은 약 32,000 ppm의 질산나트륨을 함유하도록 표준화한 것을 사용하였음. 제조된 염지액은 37°C로 설정된 항온수조에서 0, 50, 100 및 150 rpm의 속도로 교반하면서 배양 시간별(12 및 24시간)로 염지액의 pH, 아질산나트륨 및 질산나트륨 함량을 측정하였음.

<표 80> 교반속도에 따른 합성 아질산염 대체 염지액의 제조 비율

재료(%)	교반속도			
	0rpm	50rpm	100rpm	150rpm
무 분말	2.00	2.00	2.00	2.00
인산염	0.10	0.10	0.10	0.10
WiKim0113	0.20	0.20	0.20	0.20
포도당	1.00	1.00	1.00	1.00
물	96.70	96.70	96.70	96.70
합계	100.00	100.00	100.00	100.00

WiKim0113: 김치 발효미생물(*Staphylococcus hominis*).

각 염지액은 37°C의 항온수조에서 12 및 24시간 배양함.

- 무 분말 및 WiKim0113을 첨가한 합성 아질산염 대체 염지액에서 교반속도(stirring speed, S)와 배양 시간(incubation time, T)을 main effects로 두 변수와 상호작용(S×T)에 대한 효과는 <표 81>과 같음. 교반속도와 배양 시간은 모든 실험 항목에서

유의적인 차이를 보였음( $p < 0.0001$ ). 두 변수의 상호작용은 pH를 제외한 아질산나트륨 및 질산나트륨 함량에서 유의적 차이를 나타내었음( $p < 0.0001$ ).

<표 81> 무 분말 및 WiKim0113을 첨가한 합성 아질산염 대체 염지액에서 교반속도 및 배양 시간에 따른 주요 및 상호작용 효과

주요 및 상호작용 효과	pH	아질산나트륨 (ppm)	질산나트륨 (ppm)
교반속도(S)	***	***	***
배양 시간(T)	***	***	***
S × T	NS	***	***

\* =  $p < 0.05$ , \*\* =  $p < 0.01$ , \*\*\* =  $p < 0.0001$ , NS = not significant.

교반속도(S): 각 처리구는 배양 시 0, 50, 100 및 150 rpm의 속도로 교반함.

배양 시간(T): 각 처리구는 37°C의 항온수조에서 12 및 24시간 배양함.

- 합성 아질산염 대체 염지액에서 교반속도와 배양 시간에 따른 pH 변화는 <표 82>와 같음. 배양 시 교반속도에 따른 pH는 교반하지 않은 염지액(0 rpm)에서 가장 높았으며( $p < 0.05$ ), 배양 시 교반한 염지액(50, 100 및 150 rpm) 간에는 배양 후 pH의 차이를 보이지 않았음( $p > 0.05$ ). 한편, 교반속도와 관계없이 배양 시간이 12시간에서 24시간으로 증가할 경우, pH는 유의적으로 감소하였음( $p < 0.05$ ).

<표 82> 무 분말 및 WiKim0113을 첨가한 염지액에서 교반속도 및 배양 시간에 따른 pH 비교

실험 항목	pH
교반속도	
0rpm	4.66 <sup>A</sup>
50rpm	4.61 <sup>B</sup>
100rpm	4.60 <sup>B</sup>
150rpm	4.60 <sup>B</sup>
평균의 표준오차	0.00
배양 시간	
12	4.80 <sup>A</sup>
24	4.43 <sup>B</sup>
평균의 표준오차	0.00

교반속도: 각 염지액은 배양 시 0, 50, 100 및 150rpm의 속도로 교반함.

배양 시간: 각 염지액은 37°C의 항온수조에서 12 및 24시간 배양함.

<sup>A, B</sup>는 같은 열에서 서로 다른 문자는 유의적 차이를 나타냄( $p < 0.05$ ).

- 합성 아질산염 대체 염지액에서 두 변수(교반속도 및 배양 시간)의 상호작용에 따른 아질산나트륨 및 질산나트륨 함량은 <표 83>과 같음. 배양 12시간 경과 후, 아질산나트륨 함량은 100 및 150 rpm으로 배양한 염지액에서 가장 높게 나타났으며( $p < 0.05$ ), 교반속도가 감소함에 따라 아질산나트륨 함량도 감소하였음( $p < 0.05$ ). 반면, 배양 24시간 경과 후, 아질산나트륨 함량에서는 교반하지 않은 염지액에서 149.91 ppm으로 가장 높은 값을 보였으며( $p < 0.05$ ), 이외에 교반 처리한 염지액들(50, 100 및 150 rpm)에서는 유의적인 차이가 없었음( $p > 0.05$ ). 배양 시간이 증가함

에 따라 아질산나트륨 함량은 교반하지 않은 염지액에서는 유의적으로 증가하였으나 ( $p < 0.05$ ), 교반속도를 50 rpm으로 하여 배양한 염지액은 배양 시간에 따른 아질산나트륨 함량 차이를 보이지 않았음( $p > 0.05$ ). 한편, 교반속도를 100 또는 150 rpm으로 하여 배양한 염지액은 배양 시간이 증가함에 따라 아질산나트륨 함량이 감소하였음( $p < 0.05$ ). 질산나트륨 함량은 배양 시간과 관계없이 교반속도가 증가함에 따라 유의적으로 감소하였음( $p < 0.05$ ). 또한, 모든 교반속도에서 배양 시간이 12시간에서 24시간으로 증가함에 따라 질산나트륨 함량이 감소하였음( $p < 0.05$ ).

<표 83> 무 분말 및 WiKim0113을 첨가한 합성 아질산염 대체 염지액에서 교반속도 및 배양 시간 상호작용 효과에 따른 아질산나트륨 및 질산나트륨 함량 비교

교반속도	아질산나트륨(ppm)			질산나트륨(ppm)		
	배양 12시간	배양 24시간	SEM	배양 12시간	배양 24시간	SEM
0rpm	83.19 <sup>Cy</sup>	149.91 <sup>Ax</sup>	0.39	500.23 <sup>Ax</sup>	434.15 <sup>Ay</sup>	1.84
50rpm	144.23 <sup>Bx</sup>	145.05 <sup>Bx</sup>	0.39	466.00 <sup>Bx</sup>	312.87 <sup>By</sup>	1.84
100rpm	154.23 <sup>Ax</sup>	144.51 <sup>By</sup>	0.39	443.45 <sup>Cx</sup>	226.49 <sup>Cy</sup>	1.84
150rpm	153.15 <sup>Ax</sup>	144.78 <sup>By</sup>	0.39	437.60 <sup>Dx</sup>	155.55 <sup>Dy</sup>	1.84
SEM	0.27	0.27	0.55	1.30	1.30	2.60

교반속도: 각 염지액은 배양 시 0, 50, 100 및 150rpm의 속도로 교반함.

배양 시간: 각 염지액은 37°C의 항온수조에서 12 및 24시간 배양함.

<sup>A-D</sup>는 같은 열에서 서로 다른 문자는 유의적 차이를 나타냄( $p < 0.05$ ).

<sup>x, y</sup>는 같은 행에서 서로 다른 문자는 유의적 차이를 나타냄( $p < 0.05$ ).

SEM: 평균의 표준오차.

- 본 연구에서 교반속도를 증가시키면 무 분말에 함유된 천연 질산염이 아질산염으로 빠르게 전환되며, 이로 인해 배양 시간을 단축할 수 있다는 사실을 확인할 수 있었음. 특히, 12시간 배양 시 100 rpm의 교반속도로 배양한 염지액은 150 rpm의 교반속도로 배양한 염지액과 아질산나트륨 전환량은 유사하나, 질산나트륨의 소모량이 적어 배양 시간이 지남에 따른 질산나트륨의 급격한 감소를 억제할 수 있을 것으로 판단됨.

#### (6) 채소분말 및 김치 발효미생물을 이용한 합성 아질산염 대체 염지액에서 채소분말의 종류가 아질산나트륨 전환에 미치는 영향

- 채소분말 및 WiKim0113(*Staphylococcus hominis*)을 첨가하여 제조한 합성 아질산염 대체 염지액에서 채소분말의 종류에 따른 아질산나트륨 전환 효과를 조사하기 위하여 아래 <표 84>와 같이 염지액을 제조하였음. 이때 천연 질산염 공급원으로 사용된 배추 분말과 무 분말은 모두 약 32,000 ppm의 질산나트륨을 함유하도록 표준화한 것이었음. 제조된 염지액은 37°C로 설정된 항온수조에서 100 rpm으로 교반하면서 12시간 배양한 후 pH, 아질산나트륨 및 질산나트륨 함량을 측정하였음.



<표 84> 채소분말 종류에 따른 합성 아질산염 대체 염지액의 제조 비율

재료(%)	처리구 1	처리구 2
배추 분말	2.00	0.00
무 분말	0.00	2.00
인산염	0.10	0.10
WiKim0113	0.20	0.20
포도당	1.00	1.00
물	96.70	96.70
합계	100.00	100.00

처리구: 처리구 1(2% 배추 분말 첨가) 및 처리구 2(2% 무 분말 첨가).

배추 및 무 분말: 약 32,000ppm의 질산나트륨을 함유하도록 표준화함.

WiKim0113: 김치 발효미생물(*Staphylococcus hominis*).

각 처리구는 37°C의 항온수조에서 100rpm으로 혼합하면서 12시간 배양함.

- 채소분말의 종류를 달리한 합성 아질산염 대체 염지액의 배양 전·후 pH, 아질산나트륨 및 질산나트륨 함량을 측정된 결과는 <표 85>와 같음. 배양 전 pH에서는 배추 분말을 첨가한 처리구 1에서 무 분말을 첨가한 처리구 2보다 높은 pH를 보였으나 ( $p < 0.05$ ), 배양 12시간 후 pH에서는 채소분말에 따른 pH의 차이가 없었음 ( $p > 0.05$ ). 12시간 배양 후의 아질산나트륨 함량은 배추 분말을 사용한 처리구 1에서 168.71 ppm으로 무 분말을 첨가한 처리구 2(149.04 ppm)보다 유의적으로 높게 나타났음( $p < 0.05$ ). 반면 질산나트륨 함량에서는 배추 분말과 무 분말 첨가 염지액들 사이에 유의적 차이를 보이지 않았음( $p > 0.05$ ).

<표 85> 채소분말 및 WiKim0113을 첨가한 합성 아질산염 대체 염지액에서 채소 종류에 따른 배양 전·후 pH, 아질산나트륨 및 질산나트륨 함량 비교

처리구	배양 전 pH	배양 후 pH	아질산나트륨(ppm)	질산나트륨(ppm)
처리구 1	6.73±0.01 <sup>A</sup>	4.86±0.01 <sup>A</sup>	168.71±2.43 <sup>A</sup>	459.91±8.41 <sup>A</sup>
처리구 2	6.34±0.01 <sup>B</sup>	4.85±0.01 <sup>A</sup>	149.04±1.82 <sup>B</sup>	471.65±7.85 <sup>A</sup>

처리구: 처리구 1(2% 배추 분말 첨가) 및 처리구 2(2% 무 분말 첨가).

모든 값은 평균±표준오차.

A, B는 같은 열에서 서로 다른 문자는 유의적 차이를 나타냄( $p < 0.05$ ).

- 본 연구에서 초기 pH가 높았던 배추 분말 염지액은 무 분말 염지액보다 질산나트륨의 아질산나트륨 전환에 효과적이었음.
- 채소분말 및 김치 발효미생물을 이용하여 제조한 합성 아질산염 대체 염지액의 아질산나트륨 전환 효과를 조사한 결과를 모두 종합하면, <표 86>의 조건으로 제조한 염지액을 37°C로 설정된 항온수조에서 100 rpm의 속도로 교반하면서 12시간 배양하는 것이 천연 유래의 질산나트륨으로부터 아질산나트륨 전환하는데, 가장 효과적이었음.
- 그러나 위와 같은 염지액 조건에서 아질산나트륨의 전환량은 약 168.71 ppm 수준으로 육제품 제조에 사용하기에 충분하지 않음.
- 또한, 육제품에 사용되는 염지액에는 고농도의 소금, 인산염 등의 부재료가 추가로 첨가되어야 하지만 이러한 조건에서는 염지액의 아질산염 전환량을 높이는데, 한계가 있었음.

- 따라서 채소분말 및 김치 발효미생물의 아질산염 함량을 최대로 전환할 수 있는 배양조건을 정립하여 배양액을 제조하고, 이에 소금, 인산염 등의 부재료를 첨가하여 염지액을 제조하는 것이 염지액 내 아질산염 함량을 최대화하는 방법으로 판단됨.

<표 86> 배추 분말 및 김치 발효미생물을 첨가한 합성 아질산염 대체 염지액의 최적 제조 비율

재료	염지액 조성(%)
배추 분말	2.00
인산염	0.10
WiKim0113	0.20
포도당	1.00
물	96.60
합계	100.00

배추 분말: 약 32,000ppm의 질산나트륨을 함유하도록 표준화.

WiKim0113: 김치 발효미생물(*Staphylococcus hominis*).

염지액은 37℃의 항온수조에서 100rpm으로 혼합하면서 12시간 배양.

나) 국산 채소분말 및 김치 발효미생물을 이용하여 제조한 합성 아질산염 대체 배양액의 아질산나트륨 전환 효과 조사

(1) 채소분말 및 김치 발효미생물을 이용한 합성 아질산염 대체 배양액에서 채소분말의 농도가 아질산나트륨 전환에 미치는 영향

- 김치 발효미생물(WiKim0113; *Staphylococcus hominis*)을 이용하여 배추 분말 내 천연 질산염을 아질산염으로 전환하는 최적 조건을 탐색하기 위하여 배추 분말의 첨가량에 따라 <표 87>과 같이 배양액을 제조하였음. 배양액은 37°C의 항온수조에서 100 rpm으로 교반하면서 24시간 배양한 후, 배양 시간별(0, 4, 8, 12, 16, 20 및 24시간)로 배양액의 pH, 아질산나트륨 및 질산나트륨 함량을 측정하였음.

<표 87> 채소분말의 농도에 따른 합성 아질산염 대체 배양액의 제조 비율

재료(%)	배추 분말 농도			
	1.0%	1.5%	2.0%	2.5%
배추 분말	1.00	1.50	2.00	2.50
WiKim0113	0.20	0.20	0.20	0.20
포도당	1.00	1.00	1.00	1.00
물	97.80	97.30	96.80	96.30
합계	100.00	100.00	100.00	100.00

배추 분말: 약 32,000 ppm의 질산나트륨을 함유하도록 표준화함.

WiKim0113: 김치 발효미생물(*Staphylococcus hominis*).

각 배양액은 37°C의 항온수조에서 100rpm으로 혼합하면서 0, 4, 8, 12, 16, 20 및 24시간 배양함.

- 배추 분말 및 WiKim0113을 첨가한 합성 아질산염 대체 배양액에서 배추 분말의 농도(concentration of Chinese cabbage powder, C)와 배양 시간(incubation time, T)을 main effects로 두 변수와 상호작용(C×T)에 대한 효과는 <표 88>과 같음. 배추 분말 농도와 배양 시간은 모든 실험 결과(pH, 아질산나트륨 및 질산나트륨 함량)에서 유의적인 차이를 나타내었으며(p<0.0001), 두 변수의 상호작용은 pH 및 질산나트륨 함량에서 유의적인 차이를 보였음(p<0.0001).

<표 88> 배추 분말 및 WiKim0113을 첨가한 합성 아질산염 대체 배양액에서 배추 분말 농도 및 배양 시간에 따른 주요 및 상호작용 효과

주요 및 상호작용 효과	pH	아질산나트륨 (ppm)	질산나트륨 (ppm)
배추 분말 농도(C)	***	***	***
배양 시간(T)	***	***	***
C × T	***	NS	***

\* = p<0.05, \*\* = p<0.01, \*\*\* = p<0.0001, NS = not significant.

배추 분말 농도(C): 배양액에 1.0, 1.5, 2.0 및 2.5%의 배추 분말을 첨가함.

배양 시간(T): 각 배양액은 37°C의 항온수조에서 100rpm으로 혼합하면서 0, 4, 8, 12, 16, 20 및 24시간 배양함.

- 배양액에서 두 변수(배추 분말 농도 및 배양 시간)의 상호작용에 따른 pH 결과는 <표 89>와 같음. 배양액 제조 시 첨가한 배추 분말의 농도는 배양 전에는 2.5% 배추 분말을 첨가한 배양액에서 pH가 가장 낮았음(p<0.05). 반대로, 배양 4시간 이후

로는 1.0% 배추 분말을 첨가한 배양액에서 가장 낮은 pH를 나타내었음(p<0.05). 한편, pH는 배추 분말의 농도와 관계없이 배양 시간이 증가함에 따라 감소하는 경향을 보였음(p<0.05).

<표 89> 배추 분말 및 WiKim0113을 첨가한 합성 아질산염 대체배양액에서 배추 분말 농도 및 배양 시간에 따른 pH 비교

배양 시간	pH			
	1.0%	1.5%	2.0%	2.5%
0	5.77 <sup>Aw</sup>	5.76 <sup>Awx</sup>	5.74 <sup>Ax</sup>	5.71 <sup>Ay</sup>
4	4.50 <sup>Bz</sup>	4.53 <sup>By</sup>	4.56 <sup>Bx</sup>	4.65 <sup>Bw</sup>
8	4.50 <sup>By</sup>	4.53 <sup>Bx</sup>	4.54 <sup>BCx</sup>	4.59 <sup>Cw</sup>
12	4.46 <sup>Cx</sup>	4.52 <sup>BCw</sup>	4.52 <sup>Cw</sup>	4.53 <sup>Dw</sup>
16	4.44 <sup>Cx</sup>	4.50 <sup>CDw</sup>	4.49 <sup>Dw</sup>	4.51 <sup>Dw</sup>
20	4.38 <sup>Dx</sup>	4.47 <sup>DEw</sup>	4.48 <sup>DEw</sup>	4.48 <sup>Ew</sup>
24	4.29 <sup>Ex</sup>	4.45 <sup>Ew</sup>	4.46 <sup>Ew</sup>	4.47 <sup>Ew</sup>

배추 분말 농도: 배양액에 1.0, 1.5, 2.0 및 2.5%의 배추 분말을 첨가함.

배양 시간: 각 배양액은 37℃의 항온수조에서 100rpm으로 혼합하면서 0, 4, 8, 12, 16, 20 및 24시간 배양함.

<sup>A-E</sup>는 같은 열에서 서로 다른 문자는 유의적 차이를 나타냄(p<0.05, 평균의 표준오차: 0.003).

<sup>w-z</sup>는 같은 행에서 서로 다른 문자는 유의적 차이를 나타냄(p<0.05, 평균의 표준오차: 0.005).

- 배양액에서 배추 분말 농도와 배양 시간에 따른 아질산나트륨 함량은 <표 90>과 같음. 배추 분말의 첨가량이 가장 낮은 1.0% 배추 분말 첨가 배양액은 배양 시간과 관계없이 가장 낮은 아질산나트륨 함량을 보였으며(p<0.05), 다른 배양액들(1.5, 2.0 및 2.5% 배추 분말 첨가 배양액)은 아질산나트륨 함량에 차이를 보이지 않았음(p>0.05). 한편 배양 시간에 따른 아질산나트륨 함량의 변화는 배양 12시간까지는 배양 시간이 증가함에 따라 아질산나트륨 함량도 증가하였으나(p<0.05), 배양 12시간 이후로는 아질산나트륨을 축적하지 못하고 감소하는 경향을 보였음(p<0.05).

<표 90> 배추 분말 및 WiKim0113을 첨가한 합성 아질산염 대체 배양액에서 배추 분말 농도 및 배양 시간에 따른 아질산나트륨 함량 비교

실험 항목	아질산나트륨 (ppm)
배추 분말 농도	
1.0%	111.66 <sup>B</sup>
1.5%	151.13 <sup>A</sup>
2.0%	149.62 <sup>A</sup>
2.5%	144.55 <sup>A</sup>
평균의 표준오차	3.18
배양 시간	
0	10.47 <sup>F</sup>
4	116.99 <sup>E</sup>
8	163.12 <sup>CD</sup>
12	185.94 <sup>A</sup>
16	177.09 <sup>AB</sup>
20	167.46 <sup>BC</sup>
24	153.62 <sup>D</sup>
평균의 표준오차	4.20

배추 분말 농도: 배양액에 1.0, 1.5, 2.0 및 2.5%의 배추 분말을 첨가함.

배양 시간: 각 배양액은 37°C의 항온수조에서 100rpm으로 혼합하면서 0, 4, 8, 12, 16, 20 및 24시간 배양함.

<sup>A-F</sup>는 같은 열에서 서로 다른 문자는 유의적 차이를 나타냄(p<0.05).

- 배양액에서 배추 분말 농도 및 배양 시간의 상호작용에 따른 질산나트륨 결과는 <표 91>과 같음. 질산나트륨 함량은 모든 배양 시간에서 배추 분말의 농도가 높은 2.5% 배추 분말 첨가 배양액에서 유의적으로 높게 나타났음(p<0.05). 또한, 질산나트륨은 WiKim0113에 의해 환원되어 아질산나트륨으로 전환됨으로 모든 배양액에서 배양 시간이 증가함에 따라 유의적으로 감소하였음(p<0.05).

<표 91> 배추 분말 및 WiKim0113을 첨가한 합성 아질산염 대체 배양액에서 배추 분말 농도 및 배양 시간에 따른 질산나트륨 함량 비교

배양 시간	질산나트륨(ppm)			
	1.0%	1.5%	2.0%	2.5%
0	307.25 <sup>Az</sup>	458.14 <sup>Ay</sup>	621.56 <sup>Ax</sup>	784.98 <sup>Aw</sup>
4	191.18 <sup>Bz</sup>	264.97 <sup>By</sup>	343.92 <sup>Bx</sup>	645.22 <sup>Bw</sup>
8	137.40 <sup>Cz</sup>	207.61 <sup>Cy</sup>	246.29 <sup>Cx</sup>	582.84 <sup>Cw</sup>
12	126.97 <sup>Cz</sup>	189.14 <sup>CDy</sup>	219.60 <sup>CDx</sup>	524.54 <sup>Dw</sup>
16	120.30 <sup>Cy</sup>	186.33 <sup>CDx</sup>	208.48 <sup>Dx</sup>	518.54 <sup>Dw</sup>
20	106.98 <sup>Cy</sup>	172.49 <sup>CDx</sup>	203.43 <sup>Dx</sup>	508.91 <sup>DEw</sup>
24	105.46 <sup>Cz</sup>	164.47 <sup>Dy</sup>	202.06 <sup>Dx</sup>	472.46 <sup>EW</sup>

배추 분말 농도: 배양액에 1.0, 1.5, 2.0 및 2.5%의 배추 분말을 첨가함.

배양 시간: 각 배양액은 37°C의 항온수조에서 100rpm으로 혼합하면서 0, 4, 8, 12, 16, 20 및 24시간 배양함.

<sup>A-E</sup>는 같은 열에서 서로 다른 문자는 유의적 차이를 나타냄(p<0.05, 평균의 표준오차: 6.95).

<sup>w-z</sup>는 같은 행에서 서로 다른 문자는 유의적 차이를 나타냄(p<0.05, 평균의 표준오차: 8.10).

- 배추 분말 및 WiKim0113을 첨가한 합성 아질산염 대체 배양액에서 배추 분말의 농도와 배양 시간에 따른 아질산나트륨 전환 효과를 확인한 결과, 1.5% 배추 분말을 이용하여 12시간 배양하는 것이 배추 분말의 농도와 배양 시간을 최소화하면서도 아질산나트륨 전환량이 높은 배양액을 제조할 수 있는 것으로 판단됨.

## (2) 채소분말 및 김치 발효미생물을 이용한 합성 아질산염 대체 배양액에서 pH 및 배양 시간이 아질산나트륨 전환에 미치는 영향

- 배추 분말 및 김치 발효미생물(WiKim0113; *Staphylococcus hominis*)로 제조한 합성 아질산염 대체 배양액의 pH에 따른 아질산나트륨 전환 효과를 조사하기 위하여 다양한 pH의 완충용액을 이용하여 배양액을 제조하였음<표 92>. 배양액에 첨가된 완충용액은 0.01 M phosphate 완충용액(pH 5, 6 및 7)과 0.01 M Tris-HCl 완충용액(pH 8 및 9)이었음. pH가 조절된 배양액은 37°C의 항온수조에서 100 rpm으로 교반하면서 배양 시간별(0, 2, 4, 8, 12 및 24시간)로 배양액의 pH, 아질산나트륨 및 질산나트륨 함량을 측정하였음.

<표 92> 다양한 완충용액을 이용한 합성 아질산염 대체 배양액의 제조 비율

재료(%)	완충용액 (pH5)	완충용액 (pH6)	완충용액 (pH7)	완충용액 (pH8)	완충용액 (pH9)
배추 분말	1.50	1.50	1.50	1.50	1.50
WiKim0113	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15
포도당	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
완충용액(pH 5)	98.35	0.00	0.00	0.00	0.00
완충용액(pH 6)	0.00	98.35	0.00	0.00	0.00
완충용액(pH 7)	0.00	0.00	98.35	0.00	0.00
완충용액(pH 8)	0.00	0.00	0.00	98.35	0.00
완충용액(pH 9)	0.00	0.00	0.00	0.00	98.35
합계	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00

완충용액: pH 5(0.01M phosphate 완충용액), pH 6(0.01M phosphate 완충용액), pH 7(0.01M phosphate 완충용액), pH 8(0.01M Tris-HCl 완충용액) 및 pH 9(0.01M Tris-HCl 완충용액).

각 배양액은 37℃의 항온수조에서 100rpm으로 혼합하면서 0, 2, 4, 8, 12 및 24시간 배양함.

- 배추 분말 및 WiKim0113을 첨가한 합성 아질산염 대체 배양액에서 완충용액의 pH(pH of buffer solutions, B)와 배양 시간(incubation time, T)을 main effects로 두 변수와 상호작용(B×T)에 대한 효과는 <표 93>과 같음. Main effects(완충용액의 pH 및 배양 시간)와 두 변수의 상호작용은 모든 실험 결과(pH, 아질산나트륨 및 질산나트륨 함량)에서 유의적인 차이를 나타내었음(p<0.0001).

<표 93> 채소분말 및 김치 발효미생물을 이용한 합성 아질산염 대체 배양액에서 완충용액의 pH 및 배양 시간에 따른 pH, 아질산나트륨 및 질산나트륨 함량 비교

주요 및 상호작용 효과	pH	아질산나트륨(ppm)	질산나트륨(ppm)
완충용액(B)	***	***	***
배양 시간(T)	***	***	***
B × T	***	***	***

\* = p<0.05, \*\* = p<0.01, \*\*\* = p<0.0001, NS = not significant.

완충용액(B): pH 5(0.01M phosphate 완충용액), pH 6(0.01M phosphate 완충용액), pH 7(0.01M phosphate 완충용액), pH 8(0.01M Tris-HCl 완충용액) 및 pH 9(0.01M Tris-HCl 완충용액).

배양 시간(T): 각 배양액은 37℃의 항온수조에서 100rpm으로 혼합하면서 0, 2, 4, 8, 12 및 24시간 배양함.

- 배양액에서 두 변수(완충용액의 pH 및 배양 시간)의 상호작용에 따른 pH 결과는 <표 94>와 같음. 배양액 제조 시 첨가한 완충용액의 pH와 관계없이 배양액의 pH는 배양 시간이 증가함에 따라 감소하였음. pH 9 완충용액을 사용한 배양액은 배양 8 시간까지는 다른 완충용액(pH 5, 6, 7 및 8)을 첨가한 배양액들보다 높은 배양액의 pH를 보였음(p<0.05). 그러나, pH 9 완충용액을 첨가한 배양액은 8시간 이후로는 배양액의 pH가 크게 감소하기 시작하여 배양 24시간에서 다른 완충용액을 첨가한 배양액보다 배양액의 pH가 가장 낮았음(p<0.05).

<표 94> 배추 분말 및 WiKim0113을 첨가한 합성 아질산염 대체 배양액에서 완충용액의 pH 및 배양 시간에 따른 pH 비교

배양 시간	pH				
	완충용액(pH5)	완충용액(pH6)	완충용액(pH7)	완충용액(pH8)	완충용액(pH9)
0	5.49 <sup>Az</sup>	5.77 <sup>Ay</sup>	6.62 <sup>Ax</sup>	7.29 <sup>Aw</sup>	8.00 <sup>Av</sup>
2	4.91 <sup>Bz</sup>	5.06 <sup>By</sup>	5.89 <sup>Bx</sup>	6.12 <sup>Bw</sup>	7.31 <sup>Bv</sup>
4	4.60 <sup>Cy</sup>	4.70 <sup>Cx</sup>	5.15 <sup>Cw</sup>	5.10 <sup>Cw</sup>	6.20 <sup>Cv</sup>
8	4.55 <sup>CDx</sup>	4.62 <sup>CDx</sup>	4.76 <sup>Dw</sup>	4.76 <sup>Dw</sup>	5.20 <sup>Dv</sup>
12	4.52 <sup>CDx</sup>	4.60 <sup>Dwx</sup>	4.69 <sup>Dvw</sup>	4.71 <sup>Dv</sup>	4.54 <sup>Ev</sup>
24	4.48 <sup>Dv</sup>	4.56 <sup>Dv</sup>	4.48 <sup>Ev</sup>	4.52 <sup>Ev</sup>	4.21 <sup>Fw</sup>

완충용액: pH 5(0.01M phosphate 완충용액), pH 6(0.01M phosphate 완충용액), pH 7(0.01M phosphate 완충용액), pH 8(0.01M Tris-HCl 완충용액) 및 pH 9(0.01M Tris-HCl 완충용액).

배양 시간: 각 배양액은 37°C의 항온수조에서 100rpm으로 혼합하면서 0, 2, 4, 8, 12 및 24시간 배양함.

<sup>A-F</sup>는 같은 열에서 서로 다른 문자는 유의적 차이를 나타냄(p<0.05, 평균의 표준오차: 0.02).

<sup>v-z</sup>는 같은 행에서 서로 다른 문자는 유의적 차이를 나타냄(p<0.05, 평균의 표준오차: 0.02).

- 배양액에서 완충용액의 pH와 배양 시간의 상호작용에 따른 아질산나트륨 함량은 <표 95>와 같음. pH 5 및 6 완충용액을 첨가한 배양액들은 배양 시간이 증가함에 따라 유의적으로 증가하였으며(p<0.05), 특히 배양 8 및 12시간에서 가장 높은 아질산나트륨을 나타내었음(p<0.05). 반면, pH 7, 8 및 9 완충용액을 첨가한 배양액들의 아질산나트륨 함량은 배양 4시간까지 증가하였음. pH 9 완충용액을 이용한 배양액은 배양 8시간에서 아질산나트륨 함량이 감소하기 시작하였으며(p<0.05), pH 7 완충용액을 첨가한 배양액은 배양 24시간에서 아질산나트륨 함량이 감소하였음(p<0.05). 반면 pH 8 완충용액을 첨가한 배양액은 배양 4시간부터 24시간까지 아질산나트륨 함량의 차이를 보이지 않았음(p>0.05). 배양 4시간 후 아질산나트륨 함량은 pH 7 및 8 완충용액을 사용한 처리구들에서 가장 높았음(p<0.05). 그러나 배양 8시간 이후로는 모든 완충용액의 pH 중 pH 6으로 조절한 배양액에서 유의적으로 가장 높은 아질산나트륨 함량을 보였음(p<0.05). 다만, pH 8 완충용액을 첨가한 배양액은 24시간에서는 pH 6 완충용액 첨가 배양액과 유사한 아질산나트륨 함량을 보였음(p>0.05).

<표 95> 배추 분말 및 WiKim0113을 첨가한 합성 아질산염 대체 배양액에서 완충용액의 pH 및 배양 시간에 따른 아질산나트륨 함량 비교

배양 시간	아질산나트륨 함량(ppm)				
	완충용액(pH5)	완충용액(pH6)	완충용액(pH7)	완충용액(pH8)	완충용액(pH9)
0	0.32 <sup>Ex</sup>	0.31 <sup>Ex</sup>	0.31 <sup>Dx</sup>	0.30 <sup>Cx</sup>	0.28 <sup>Cx</sup>
2	35.34 <sup>Dx</sup>	46.82 <sup>Dx</sup>	44.90 <sup>Cx</sup>	26.67 <sup>Bxy</sup>	7.32 <sup>Cy</sup>
4	113.78 <sup>Cz</sup>	174.33 <sup>Cy</sup>	221.71 <sup>Ax</sup>	220.81 <sup>Ax</sup>	176.02 <sup>Ay</sup>
8	210.00 <sup>Ay</sup>	247.93 <sup>Ax</sup>	217.88 <sup>Ay</sup>	228.01 <sup>Ay</sup>	87.56 <sup>Bz</sup>
12	211.24 <sup>Ay</sup>	245.12 <sup>Ax</sup>	214.39 <sup>Ay</sup>	219.01 <sup>Ay</sup>	63.47 <sup>Bz</sup>
24	181.53 <sup>Bxy</sup>	205.50 <sup>Bx</sup>	167.91 <sup>By</sup>	205.50 <sup>Ax</sup>	21.05 <sup>Cz</sup>

완충용액: pH 5(0.01M phosphate 완충용액), pH 6(0.01M phosphate 완충용액), pH 7(0.01M phosphate 완충용액), pH 8(0.01M Tris-HCl 완충용액) 및 pH 9(0.01M Tris-HCl 완충용액).

배양 시간: 각 배양액은 37℃의 항온수조에서 100rpm으로 혼합하면서 0, 2, 4, 8, 12 및 24시간 배양함.

<sup>A-E</sup>는 같은 열에서 서로 다른 문자는 유의적 차이를 나타냄(p<0.05, 평균의 표준오차: 4.44).

<sup>x-z</sup>는 같은 행에서 서로 다른 문자는 유의적 차이를 나타냄(p<0.05, 평균의 표준오차: 4.73).

- 배양액에서 완충용액의 pH와 배양 시간의 상호작용에 따른 질산나트륨 함량은 <표 96>과 같음. 질산나트륨 농도는 배양 전에는 완충용액의 pH와 관계없이 유사하였으나(p>0.05), 배양 2시간에서는 pH 9 완충용액을 첨가한 배양액에서 가장 높은 질산나트륨 함량을 보였음(p<0.05). 그러나, 배양 4시간 이후로는 pH 5 완충용액을 첨가한 배양액에서 질산나트륨 함량이 가장 높았음(p<0.05). 한편 모든 완충용액을 첨가한 배양액은 배양 시간이 증가함에 따라 질산나트륨 함량이 감소하였음(p<0.05).

<표 96> 배추 분말 및 WiKim0113을 첨가한 합성 아질산염 대체 배양액에서 완충용액의 pH 및 배양 시간에 따른 질산나트륨 함량 비교

배양 시간	질산나트륨 함량(ppm)				
	완충용액(pH5)	완충용액(pH6)	완충용액(pH7)	완충용액(pH8)	완충용액(pH9)
0	439.44 <sup>Aw</sup>	437.49 <sup>Aw</sup>	441.39 <sup>Aw</sup>	424.83 <sup>Aw</sup>	438.51 <sup>Aw</sup>
2	378.75 <sup>Bx</sup>	349.01 <sup>Bx</sup>	356.24 <sup>Bx</sup>	382.59 <sup>Bx</sup>	432.77 <sup>Aw</sup>
4	277.82 <sup>Cw</sup>	201.71 <sup>Cx</sup>	102.78 <sup>Cz</sup>	96.09 <sup>Cz</sup>	145.02 <sup>By</sup>
8	153.70 <sup>Dw</sup>	102.67 <sup>Dx</sup>	79.51 <sup>Cxy</sup>	78.87 <sup>Cxy</sup>	51.48 <sup>Cy</sup>
12	128.94 <sup>DEw</sup>	73.67 <sup>DEx</sup>	69.46 <sup>Cx</sup>	67.98 <sup>Cx</sup>	21.92 <sup>CDy</sup>
24	116.86 <sup>Ew</sup>	39.94 <sup>Ex</sup>	24.70 <sup>Dx</sup>	30.17 <sup>Dx</sup>	5.80 <sup>Dx</sup>

완충용액: pH 5(0.01M phosphate 완충용액), pH 6(0.01M phosphate 완충용액), pH 7(0.01M phosphate 완충용액), pH 8(0.01M Tris-HCl 완충용액) 및 pH 9(0.01M Tris-HCl 완충용액).

배양 시간: 각 배양액은 37℃의 항온수조에서 100rpm으로 혼합하면서 0, 2, 4, 8, 12 및 24시간 배양함.

<sup>A-E</sup>는 같은 열에서 서로 다른 문자는 유의적 차이를 나타냄(p<0.05, 평균의 표준오차: 5.58).

<sup>w-z</sup>는 같은 행에서 서로 다른 문자는 유의적 차이를 나타냄(p<0.05, 평균의 표준오차: 6.05).

- 배추 분말 및 WiKim0113을 첨가한 합성 아질산염 대체 배양액에서 완충용액의 pH와 배양 시간에 따른 아질산나트륨 전환 효과를 조사한 결과, pH 6 완충용액을 사용하여 8시간 또는 12시간 배양하는 경우 아질산나트륨 전환량이 245 ppm 이상으로 다른 완충용액을 사용한 배양액보다 배양 시간과 관계없이 높은 아질산나트륨 전환량을 나타내었음. 다만 본 연구에 사용된 완충용액은 화학적 합성물로 식품에 사용할 수 없기에 pH 6 완충용액을 사용한 배양액의 초기 pH(5.77)와 유사한 pH를 조절하는 방법 또는 식품소재가 필요할 것으로 판단됨.

### (3) 채소분말 및 김치 발효미생물을 이용한 합성 아질산염 대체 배양액에서 pH가 조절된 채소분말의 첨가가 아질산나트륨 전환에 미치는 영향

- 이전 연구에서 pH를 조절하여 제조한 합성 아질산염 대체 배양액 중 초기 pH가 5.77이었던 pH 6 완충용액 배양액은 배양 8시간 및 12시간에서 약 245 ppm 이상의 아질산나트륨 전환량을 보였음. 하지만 이전 연구에서 pH 조절을 위해 사용된 완충용액은 화학적 합성물로 이를 첨가한 배양액은 식품에 사용할 수 없음. 따라서



식품에 사용 가능한 방법으로 배양액의 pH를 조절하는 것이 필요함. 이에 예비 실험을 통해 표준화된 질산나트륨 함량을 조절하여 비교적 높은 pH를 가진 배추 분말을 제조하였으며, 배양액 제조 시 pH가 조절된 배추 분말과 이의 첨가량을 조절하여 초기 pH가 약 5.7인 배양액을 제조하였음<표 97>. 이때 pH가 조절된 배추 분말의 질산나트륨 함량은 약 40,000 ppm으로 표준화하였으며, 배양액 제조 시 배추 분말 첨가량은 2%이었음. 본 실험에서는 pH가 5.7로 조절된 합성 아질산염 대체 배양액의 배양 시간별 아질산나트륨 전환 효과를 조사하기 위하여 시행되었음. 배양액은 37°C의 항온수조에서 100 rpm으로 교반하면서 12시간 배양한 후, 배양 시간별(0, 3, 6, 9 및 12시간)로 배양액의 pH, 아질산나트륨 및 질산나트륨 함량을 측정하였음.

<표 97> pH가 조절된 배추 분말을 사용한 합성 아질산염 대체 배양액의 제조 비율

재료(%)	배양액
배추 분말	2.00
WiKim0113	0.20
포도당	1.00
물	96.80
합계	100.00

배추 분말: 약 40,000ppm의 질산나트륨을 함유하도록 표준화함.

WiKim0113: 김치 발효미생물(*Staphylococcus hominis*).

배양액은 37°C의 항온수조에서 100rpm으로 혼합하면서 0, 3, 6, 9 및 12시간 배양함.

- pH가 조절된 채소분말을 사용한 합성 아질산염 대체 배양액에서 배양 시간별 pH, 아질산나트륨 및 질산나트륨 함량을 측정한 결과는 <표 98>과 같음. 배양 전 합성 아질산염 대체 배양액의 pH는 5.70으로 이전 연구에서 pH6 완충용액을 첨가한 배양액의 초기 pH(5.77)와 유사하였음. pH가 조절된 채소분말을 사용한 합성 아질산염 대체 배양액의 pH와 질산나트륨 함량은 배양 시간이 길어짐에 따라 감소하였음 ( $p < 0.05$ ). 다만, 질산나트륨 함량은 배양 6시간 이후로는 배양 시간에 따른 차이가 없었음( $p > 0.05$ ). 한편, pH가 조절된 채소분말을 사용한 합성 아질산염 대체 배양액의 아질산나트륨 함량은 배양 시간이 증가함에 따라 증가하여 배양 6시간에서 가장 높게 나타났으며( $p < 0.05$ ), 이후 배양 시간이 증가함에 따라 배양액 내 아질산나트륨 함량은 서서히 감소하였음( $p < 0.05$ ).

<표 98> pH가 조절된 배추 분말을 사용한 합성 아질산염 대체 배양액에서 배양 시간에 따른 pH, 아질산나트륨 및 질산나트륨 함량 비교

배양 시간	pH	아질산나트륨(ppm)	질산나트륨(ppm)
0	5.70±0.00 <sup>A</sup>	0.07±0.01 <sup>E</sup>	785.45±2.42 <sup>A</sup>
3	4.74±0.01 <sup>B</sup>	131.93±1.18 <sup>D</sup>	624.52±2.36 <sup>B</sup>
6	4.65±0.01 <sup>C</sup>	286.14±2.37 <sup>A</sup>	443.36±4.55 <sup>C</sup>
9	4.60±0.01 <sup>D</sup>	264.55±2.20 <sup>B</sup>	440.69±4.20 <sup>C</sup>
12	4.52±0.01 <sup>E</sup>	242.96±2.04 <sup>C</sup>	438.03±4.22 <sup>C</sup>

모든 값은 평균±표준오차.

<sup>A-E</sup>는 같은 열에서 서로 다른 문자는 유의적 차이를 나타냄( $p < 0.05$ ).

- 본 연구에서 pH가 조절된 채소분말을 사용한 합성 아질산염 대체 배양액은 배양 6 시간에서 아질산나트륨 전환량이 286.14 ppm으로 가장 높았으며, 이는 pH가 배양액 내 천연 질산염을 아질산염으로 전환하는 데 중요한 역할을 한다는 것을 확인할 수 있었음.

**(4) 채소분말을 이용한 합성 아질산염 대체 배양액에서 질산환원균 종류와 산소 조건이 아질산나트륨 전환에 미치는 영향**

- 채소분말에 질산환원균의 종류와 산소 조건에 따른 아질산나트륨 전환 효과를 조사하기 위하여 다양한 질산환원균을 이용하여 합성 아질산염 대체 배양액을 제조하였음<표 99>. 배양액 제조에 사용된 질산환원균에는 2종의 김치 발효미생물(WiKim0113과 WiKim0112)과 2종의 상업 균(S-B-61과 CS-300)을 사용하였음. 각종 질산환원균이 첨가된 처리구들은 혐기적 조건으로 배양하였으며, 대조구로는 WiKim0113을 호기적 조건으로 배양한 배양액을 사용하였음. 배양 시 사용되는 물과 용기에 CO<sub>2</sub>가스를 과도하게 주입하여 O<sub>2</sub>를 제거하고 입구를 밀폐하여 혐기적 조건을 형성하였음. 각종 질산환원균 및 산소 조건의 배양액들은 37°C의 항온수조에서 100 rpm으로 교반하면서 6시간 배양한 후 pH, 아질산나트륨 및 질산나트륨 함량을 측정하였음.

<표 99> 질산환원균 종류와 산소 조건에 따른 합성 아질산염 대체 배양액의 제조 비율

재료(%)	대조구	처리구 1	처리구 2	처리구 3	처리구 4
배추 분말	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00
WiKim0113	0.20	0.20	0.00	0.00	0.00
WiKim0112	0.00	0.00	0.20	0.00	0.00
S-B-61	0.00	0.00	0.00	0.20	0.00
CS-300	0.00	0.00	0.00	0.00	0.20
포도당	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
물	96.80	96.80	96.80	96.80	96.80
합계	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00

처리구: 대조구(호기성 조건, WiKim0113), 처리구 1(혐기성 조건, WiKim0113), 처리구 2(혐기성 조건, WiKim0112), 처리구 3(혐기성 조건, S-B-61) 및 처리구 4(혐기성 조건, CS-300).

배추 분말: 약 40,000ppm의 질산나트륨을 함유하도록 표준화함.

질산환원균: WiKim0113(*Staphylococcus hominis*), WiKim0112(*Lactobacillus plantarum*) S-B-61(*S. carnosus*) 및 CS-300(*S. carnosus* 및 *S. carnosus spp.*)

각 배양액은 37°C의 항온수조에서 100rpm으로 혼합하면서 6시간 배양함.

- 질산환원균의 종류와 산소 조건에 따른 합성 아질산염 대체 배양액의 배양 전·후 pH, 아질산나트륨 및 질산나트륨 함량을 측정한 결과는 <표 100>과 같음. 혐기적 조건의 처리구(처리구 1~4) 중에서 배양 전 pH는 WiKim0112를 첨가한 처리구 2에서 가장 높았음(p<0.05). 동일한 질산환원균(WiKim0113)을 첨가한 대조구와 처리구 1은 호기적 조건인 대조구에서 혐기적 조건의 처리구 1보다 배양 전 pH가 높게 나타났음(p<0.05). 배양 6시간 후 pH는 상업 균으로 배양한 처리구 3 및 4가 김치 발효미생물을 첨가한 처리구 1 및 2보다 높게 나타났음(p<0.05). 특히 배양 전 가장 높은 pH를 보였던 처리구 2는 배양 6시간 후 가장 낮은 pH를 나타내었음(p<0.05). 한편 동일한 질산환원균(WiKim0113)을 첨가한 대조구와 처리구 1을 비교하였을 때,

산소 조건에 따른 배양 6시간 후의 pH에 차이를 보이지 않았음( $p>0.05$ ). 배양 6시간 후의 아질산나트륨 함량에서 WiKim0113과 S-B-61을 첨가한 처리구들(처리구 1 및 3)은 혐기적 조건의 다른 질산환원균들을 첨가한 처리구들(처리구 2 및 4)보다 비교적 높게 나타났으나( $p<0.05$ ), 모든 혐기적 조건의 처리구들은 호기적 조건의 대조구에 비하여 매우 낮은 아질산나트륨 함량을 보였음( $p<0.05$ ). 배양 6시간 후의 질산나트륨 함량은 호기적 조건의 대조구에서 378.82 ppm으로 가장 낮게 나타났으며( $p<0.05$ ), 혐기적 조건의 처리구들은 질산나트륨 함량이 670.41~778.44 ppm 범위로 첨가한 질산나트륨 함량(약 800 ppm)과 큰 차이를 보이지 않았음.

<표 100> 채소분말을 이용한 합성 아질산염 대체 배양액에서 질산환원균 종류와 산소 조건에 따른 배양 전·후 pH, 아질산나트륨 및 질산나트륨 함량 비교

처리구	배양 전 pH	배양 후 pH	아질산나트륨(ppm)	질산나트륨(ppm)
대조구	5.73±0.01 <sup>A</sup>	4.63±0.00 <sup>C</sup>	291.04±1.54 <sup>A</sup>	378.82±2.67 <sup>C</sup>
처리구 1	5.70±0.00 <sup>B</sup>	4.62±0.00 <sup>C</sup>	98.59±0.90 <sup>C</sup>	674.36±7.81 <sup>B</sup>
처리구 2	5.73±0.00 <sup>A</sup>	3.86±0.00 <sup>D</sup>	1.01±0.01 <sup>D</sup>	778.44±3.94 <sup>A</sup>
처리구 3	5.62±0.01 <sup>C</sup>	4.90±0.01 <sup>A</sup>	102.98±1.54 <sup>B</sup>	670.41±9.04 <sup>B</sup>
처리구 4	5.69±0.00 <sup>B</sup>	4.81±0.00 <sup>B</sup>	1.01±0.13 <sup>D</sup>	776.98±3.55 <sup>A</sup>

처리구: 대조구(호기성 조건, WiKim01113), 처리구 1(혐기성 조건, WiKim01113), 처리구 2(혐기성 조건, WiKim01112), 처리구 3(혐기성 조건, S-B-61) 및 처리구 4(혐기성 조건, CS-300).

모든 값은 평균±표준오차.

<sup>A-D</sup>는 같은 열에서 서로 다른 문자는 유의적 차이를 나타냄( $p<0.05$ ).

- 본 연구의 결과에서 WiKim0113은 혐기적 조건보다는 호기적 조건에서 배추 분말의 질산나트륨을 아질산나트륨으로 전환하는 데 효과적이었음. 혐기적 조건에서는 대부분의 질산환원균은 아질산나트륨 전환 효과가 떨어졌으나, 김치 발효미생물에서는 WiKim0113(*S. hominis*)이, 상업 균에서는 S-B-61(*S. carnosus*)이 혐기적 조건에서도 비교적 높은 아질산나트륨 전환 효과를 보였음.

#### (5) 채소분말을 이용한 합성 아질산염 대체 배양액에서 질산환원균과 당의 종류가 아질산나트륨 전환에 미치는 영향

- 배추 분말 및 질산환원균을 첨가하여 제조한 합성 아질산염 대체 배양액에서 질산환원균과 당 종류에 따른 아질산나트륨 전환 효과를 조사하기 위하여 <표 101>과 같이 배양액을 제조하였음. 질산환원균으로는 이전 연구에서 효과를 보였던 김치 발효미생물(WiKim0113, *Staphylococcus hominis*)과 상업 균(S-B-61, *Staphylococcus carnosus*)을 이용하였음. 제조된 배양액은 37°C로 설정된 항온수조에서 100rpm으로 교반하면서 6시간 배양한 후 pH, 아질산나트륨 및 질산나트륨 함량을 측정하였음.

<표 101> 질산환원균 및 당의 종류에 따른 합성 아질산염 대체 배양액 제조 비율

재료(%)	처리구 1	처리구 2	처리구 3	처리구 4	처리구 5	처리구 6
배추 분말	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00
WiKim0113	0.20	0.00	0.20	0.00	0.20	0.00
S-B-61	0.00	0.20	0.00	0.20	0.00	0.20
포도당	1.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00
과당	0.00	0.00	1.00	1.00	0.00	0.00
설탕	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00	1.00
물	96.80	96.80	96.80	96.80	96.80	96.80
합계	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00

처리구: 처리구 1(포도당 및 WiKim0113), 처리구 2(포도당 및 S-B-61), 처리구 3(과당 및 WiKim0113), 처리구 4(과당 및 S-B-61), 처리구 5(설탕 및 WiKim0113) 및 처리구 6(설탕 및 S-B-61)

배추 분말: 약 40,000ppm의 질산나트륨을 함유하도록 표준화함.

WiKim0113: 김치 발효미생물(*Staphylococcus hominis*).

S-B-61: 상업 균(*Staphylococcus carnosus*).

각 배양액은 37℃의 항온수조에서 100rpm으로 혼합하면서 6시간 배양함.

- 배추 분말 및 질산환원균을 첨가한 합성 아질산염 대체 배양액에서 질산환원균(nitrate-reducing bacteria, N)과 당의 종류(sugar, S)를 main effects로 두 변수와 상호작용(N×S)에 대한 효과는 <표 102>와 같음. 질산환원균은 배양 후 pH에서만 유의적 차이를 보였으며(p<0.01), 당의 종류는 배양 후 pH(p<0.0001) 및 질산나트륨 함량(p<0.05)에서 유의적인 차이를 보였음. 두 변수의 상호작용에서는 모든 실험 결과에서 유의적인 차이를 보이지 않았음(p>0.05).

<표 102> 채소분말을 이용한 합성 아질산염 대체 배양액에서 질산환원균 및 당의 종류에 따른 주요 및 상호작용 효과

주요 및 상호작용 효과	배양 전 pH	배양 후 pH	아질산나트륨 (ppm)	질산나트륨 (ppm)
질산환원균(N)	NS	**	NS	NS
당 종류(S)	NS	***	NS	*
N × S	NS	NS	NS	NS

\* = p<0.05, \*\* = p<0.01, \*\*\* = p<0.0001, NS = not significant.

질산환원균(N): WiKim0113(김치 발효미생물, *S. hominis*) 및 S-B-61(상업 균, *S. carnosus*).

당의 종류(S): 포도당, 과당 및 설탕.

- 배추 분말과 질산환원균을 첨가한 합성 아질산염 대체 배양액에서 질산환원균 및 당 종류에 따른 배양 전·후 pH, 아질산나트륨 및 질산나트륨 함량을 측정된 결과는 <표 103>과 같음. 질산환원균 및 당 종류와 관계없이 배양 전 pH는 유사하였음(p>0.05). 배양 6시간 후 pH는 S-B-61을 사용한 배양액에서 WiKim0113을 사용한 배양액보다 높게 나타났음(p<0.05). 한편 배양 후 pH는 설탕을 첨가한 배양액에서 가장 높았으나(p<0.05), 포도당을 첨가한 배양액은 배양 후 pH에서 가장 낮았음(p<0.05). 6시간 배양 후 아질산나트륨 함량은 질산환원균 또는 당의 종류에 따른 유의적 차이를 보이지 않았음(p>0.05). 질산나트륨 함량은 질산환원균의 종류에 따른 차이를 보이지 않았으나(p>0.05), 당의 종류 중에서는 설탕을 첨가한 배양액이 다른 당을 첨가한 배양액보다 높은 질산나트륨 함량을 보였음(p<0.05).

<표 103> 합성 아질산염 대체 채소분말을 이용한 배양액에서 질산환원균 및 당의 종류에 따른 배양 전·후 pH, 아질산나트륨 및 질산나트륨 함량 비교

실험 항목	배양 전 pH	배양 후 pH	아질산나트륨 (ppm)	질산나트륨 (ppm)
<b>질산환원균</b>				
Wikim0113	5.75 <sup>A</sup>	5.20 <sup>B</sup>	298.46 <sup>A</sup>	362.35 <sup>A</sup>
S-B-61	5.74 <sup>A</sup>	5.22 <sup>A</sup>	298.13 <sup>A</sup>	363.74 <sup>A</sup>
평균의 표준오차	0.01	0.02	3.56	7.47
<b>당 종류</b>				
포도당	5.75 <sup>A</sup>	5.15 <sup>C</sup>	300.15 <sup>A</sup>	360.27 <sup>B</sup>
과당	5.75 <sup>A</sup>	5.23 <sup>B</sup>	299.65 <sup>A</sup>	357.24 <sup>B</sup>
설탕	5.74 <sup>A</sup>	5.26 <sup>A</sup>	295.09 <sup>A</sup>	371.63 <sup>A</sup>
평균의 표준오차	0.01	0.02	3.89	7.58

질산환원균: Wikim0113(김치 발효미생물, *S. hominis*) 및 S-B-61(상업 균, *S. carnosus*).

당의 종류: 포도당, 과당 및 설탕.

<sup>A-C</sup>는 같은 열에서 서로 다른 문자는 유의적 차이를 나타냄(p<0.05).

- 본 연구에서 질산환원균과 당의 종류는 배양 6시간 후의 아질산나트륨 전환량에 영향을 미치지 않았으며, 이는 <표 101>과 같은 배양액 제조조건에서는 김치 발효미생물(WiKim0113, *S. hominis*)은 상업 균(*S. carnosus*)과 동등한 수준의 질산나트륨 환원력을 나타낸 것으로 판단됨.

**(6) 채소분말 및 김치 발효미생물을 이용한 합성 아질산염 대체 배양액에서 패각칼슘의 첨가가 아질산나트륨 전환에 미치는 영향**

- 배추 분말 및 김치 발효미생물(WiKim0113, *Staphylococcus hominis*)을 첨가하여 제조한 합성 아질산염 대체 배양액에서 천연 pH 조절제로서 패각칼슘의 첨가에 따른 아질산나트륨 전환 효과를 조사하기 위하여 <표 104>와 같이 배양액을 제조하였음. 본 연구에서 사용된 패각칼슘은 수용성이었으며, pH 조절 방법은 회분식(batch) 또는 단계식(step)으로 조절하였음. 처리구 1은 패각칼슘을 배양 전에 모두 첨가한 후 6시간 배양하는 회분식 방법으로 pH를 조절하였음. 반면, 처리구 2는 패각칼슘을 배양 시간별로 1%씩 첨가하는 단계식 방법으로 pH를 조절하였음. 대조구는 패각칼슘을 첨가하지 않았으며, 37°C의 항온수조에서 100 rpm으로 교반하면서 6시간 배양한 후 pH, 아질산나트륨 및 질산나트륨 함량을 측정하였음.

<표 104> 패각칼슘 첨가 방법에 따른 합성 아질산염 대체 배양액의 제조 비율

처리구	대조구	처리구 1	처리구 2
배추 분말	2.00	2.00	2.00
WiKim0113	0.20	0.20	0.20
포도당	1.00	1.00	1.00
수용성 패각칼슘	0.00	6.00	6.00
물	96.80	90.80	90.80
합계	100.00	100.00	100.00

처리구: 대조구(패각칼슘 무첨가), 처리구 1(회분식 배양, 6% 패각칼슘 첨가) 및 처리구 2(단계식 배양, 시간당 1%의 패각칼슘 첨가).

배추 분말: 약 40,000ppm의 질산나트륨을 함유하도록 표준화함.

WiKim0113: 김치 발효미생물(*Staphylococcus hominis*).

각 배양액은 37°C의 항온수조에서 100rpm으로 혼합하면서 6시간 배양함.

- pH 조절제로서 수용성 패각칼슘의 첨가방식에 따른 합성 아질산염 대체 배양액의 배양 전·후 pH, 아질산나트륨 및 질산나트륨 함량을 측정한 결과는 <표 105>와 같음. 배양 전 pH는 예상했던 것과 같이 패각칼슘을 회분식으로 조절한 처리구 1에서 6.55로 가장 높은 값을 보였음( $p < 0.05$ ). 반면, 6시간 배양 후 pH에서는 패각칼슘을 단계식으로 조절한 처리구 2에서 회분식으로 조절한 처리구 1보다 높게 나타났음( $p < 0.05$ ). 아질산나트륨 함량은 패각칼슘을 단계식으로 조절한 처리구 2에서 519.10 ppm으로 처리구 중 가장 높게 나타났음( $p < 0.05$ ). 반면, 질산나트륨 함량은 처리구 2에서 가장 낮았음( $p < 0.05$ ).

<표 105> 채소분말 및 김치 발효미생물을 이용한 따른 합성 아질산염 대체 배양액에서 패각칼슘 첨가 방법에 따른 배양 전·후 pH, 아질산나트륨 및 질산나트륨 함량 비교

실험 항목	대조구	처리구 1	처리구 2
배양 전 pH	5.72±0.01 <sup>C</sup>	6.55±0.00 <sup>A</sup>	5.94±0.00 <sup>B</sup>
배양 후 pH	4.64±0.01 <sup>C</sup>	5.12±0.01 <sup>B</sup>	5.23±0.01 <sup>A</sup>
아질산나트륨(ppm)	286.14±1.89 <sup>C</sup>	412.75±1.89 <sup>B</sup>	519.10±1.06 <sup>A</sup>
질산나트륨(ppm)	459.45±4.67 <sup>A</sup>	325.45±14.35 <sup>B</sup>	99.38±3.71 <sup>C</sup>

처리구: 대조구(패각칼슘 무첨가), 처리구 1(회분식 배양, 6% 패각칼슘 첨가) 및 처리구 2(단계식 배양, 시간당 1%의 패각칼슘 첨가).

모든 값은 평균±표준오차.

<sup>A-C</sup>는 같은 행에서 서로 다른 문자는 유의적 차이를 나타냄( $p < 0.05$ ).

- 본 연구에서 pH 조절을 위한 패각칼슘의 첨가는 합성 아질산염 대체 배양액에서 질산나트륨의 아질산나트륨 전환에 긍정적인 효과를 보였으며, 특히 패각칼슘을 단계식으로 첨가하여 배양하는 경우, 질산나트륨으로부터 아질산나트륨 전환을 최대화할 수 있는 것으로 판단됨.

### (7) 채소분말을 이용한 합성 아질산염 대체 배양액에서 패각칼슘 및 질산환원균의 종류에 따른 아질산나트륨 전환에 미치는 영향

- 배추 분말 이용한 합성 아질산염 대체 배양액에서 패각칼슘 및 질산환원균의 종류에 따른 아질산나트륨 전환 효과를 조사하기 위하여 <표 106>과 같이 배양액을 제조하였음. 질산환원균으로는 이전 연구에서 질산나트륨 환원력이 유사하였던 김치 발효미생물(WiKim0113, *Staphylococcus hominis*)과 상업 균(S-B-61, *Staphylococcus carnosus*)을 이용하였음. pH 조절제로써 사용되는 패각칼슘은 수용성과 불용성이 있으며, pH를 상승시키고 유지하는 능력은 불용성 패각칼슘이 수용성 패각칼슘보다 우수함. 수용성 패각칼슘은 이전 연구에서 사용하였던 단계식 pH 조절 방법(배양 시간별로 1%씩 수용성 패각칼슘을 첨가)을 이용하여 배양하였으며, 불용성 패각칼슘은 배양액의 pH를 증가시키고 유지하는 능력이 우수하므로 수용성 패각칼슘보다 소량 첨가하고 회분식으로 pH를 조절하였음. 수용성 및 불용성 패각칼슘의 첨가량은 pH 조절 방법을 고려하여 배양액의 초기 pH가 약 6이 되도록 첨가하였음. 패각칼슘의 종류와 질산환원균을 첨가한 모든 배양액은 37°C의 항온수조에서 100 rpm으로 교반하면서 6시간 배양한 후 pH, 아질산나트륨 및 질산나트륨 함량을 측정하였음.

<표 106> 패각칼슘 및 질산환원균의 종류에 따른 합성 아질산염 대체 배양액 제조 비율

재료(%)	처리구 1	처리구 2	처리구 3	처리구 4
배추 분말	2.00	2.00	2.00	2.00
수용성 패각칼슘	6.00	6.00	0.00	0.00
불용성 패각칼슘	0.00	0.00	0.06	0.06
WiKim0113	0.20	0.00	0.20	0.00
S-B-61	0.00	0.20	0.00	0.20
포도당	1.00	1.00	1.00	1.00
물	90.80	90.80	96.74	96.74
합계	100.00	100.00	100.00	100.00

처리구: 처리구 1(수용성 패각칼슘 및 WiKim0113), 처리구 2(수용성 패각칼슘 및 S-B-61),  
처리구 3(불용성 패각칼슘 및 WiKim0113) 및 처리구 4(불용성 패각칼슘 및 S-B-61)

배추 분말: 약 40,000ppm의 질산나트륨을 함유하도록 표준화함.

WiKim0113: 김치 발효미생물(*Staphylococcus hominis*).

S-B-61: 상업 균(*Staphylococcus carnosus*).

각 배양액은 37℃의 항온수조에서 100rpm으로 혼합하면서 6시간 배양함.

- 배추 분말을 첨가한 천연 염지 배양액에서 패각칼슘의 종류(types of oyster shell calcium, T)와 질산환원균(nitrate-reducing bacteria, N)을 main effects로 두 변수와 상호작용(T×N)에 대한 효과는 <표 107>과 같음. 패각칼슘의 종류와 두 변수의 상호작용에서는 모든 실험 결과에서 유의적인 차이를 보이지 않았음(p>0.05). 다만, 질산환원균은 배양 후 pH(p<0.01)와 아질산나트륨 함량(p<0.05)에서 유의적 차이를 보였음.

<표 107> 채소분말을 이용한 합성 아질산염 대체 배양액에서 패각칼슘 및 질산환원균의 종류에 따른 주요 및 상호작용 효과

주요 및 상호작용 효과	배양 전 pH	배양 후 pH	아질산나트륨(ppm)	질산나트륨(ppm)
패각칼슘의 종류(T)	NS	NS	NS	NS
질산환원균(N)	NS	**	*	NS
T × N	NS	NS	NS	NS

\* = p<0.05, \*\* = p<0.01, \*\*\* = p<0.0001, NS = not significant.

패각칼슘의 종류(T): 수용성 패각칼슘 및 불용성 패각칼슘.

질산환원균(N): WiKim0113(김치 발효미생물, *Staphylococcus hominis*) 및 S-B-61(상업 균, *Staphylococcus carnosus*).

- 패각칼슘 및 질산환원균의 종류에 따른 합성 아질산염 대체 배양액의 배양 전·후 pH, 아질산나트륨 및 질산나트륨 함량을 측정된 결과는 <표 108>과 같음. 수용성 또는 불용성 패각칼슘을 첨가한 배양액은 배양 전·후 pH, 아질산나트륨 및 질산나트륨 함량에서 유의적인 차이를 보이지 않았음(p>0.05). 또한, 서로 다른 질산환원균을 첨가한 배양액에서도 배양 전 pH와 질산나트륨 함량에 차이를 보이지 않았음(p>0.05). 다만, 상업 균(S-B-61)을 첨가한 배양액은 김치 발효미생물(WiKim0113)을 첨가한 배양액보다 배양 후 pH와 아질산나트륨 함량에서 높은 값을 보였음(p<0.05).

<표 108> 패각칼슘 및 질산환원균의 종류에 따른 합성 아질산염 대체 배양액의 배양 전·후 pH, 아질산나트륨 및 질산나트륨 함량 비교

주요 및 상호작용 효과	배양 전 pH	배양 후 pH	아질산나트륨(ppm)	질산나트륨(ppm)
패각칼슘				
수용성 패각칼슘	5.97 <sup>A</sup>	5.27 <sup>A</sup>	539.78 <sup>A</sup>	81.22 <sup>A</sup>
불용성 패각칼슘	6.05 <sup>A</sup>	5.25 <sup>A</sup>	538.52 <sup>A</sup>	82.78 <sup>A</sup>
평균의 표준오차	0.05	0.02	6.80	13.22
질산환원균				
WiKim0113	5.98 <sup>A</sup>	5.10 <sup>B</sup>	519.10 <sup>B</sup>	99.38 <sup>A</sup>
S-B-61	6.05 <sup>A</sup>	5.43 <sup>A</sup>	559.20 <sup>A</sup>	64.63 <sup>A</sup>
평균의 표준오차	0.05	0.02	6.80	13.22

패각칼슘의 종류: 수용성 패각칼슘 및 불용성 패각칼슘.

질산환원균: WiKim0113(김치 발효미생물, *Staphylococcus hominis*) 및 S-B-61(상업 균, *Staphylococcus carnosus*).

A, B는 같은 열에서 서로 다른 문자는 유의적 차이를 나타냄(p<0.05).

- 본 연구에서 패각칼슘의 종류는 합성 아질산염 대체 배양액 내에서 질산나트륨의 아질산나트륨 전환에 영향이 없었으나, 패각칼슘은 종류에 따라 사용량과 첨가방식에 차이가 있었기에 패각칼슘의 종류가 배양액의 아질산나트륨 전환에 영향 없었다고 단정할 순 없음. 다만, 불용성 패각칼슘을 사용한 배양액은 회분식으로 pH를 조절하였기에 배양 시 작업이 편리하였음. 반면, 수용성 패각칼슘을 사용한 배양액은 정기적으로 패각칼슘을 첨가해야 하므로 배양 시 작업자의 지속적인 관리가 필요하다는 단점이 있음. 그러나, 햄이나 베이컨과 같이 주사기로 염지액을 주입하는 육제품 제조 시에는 용해도가 높은 수용성 패각칼슘으로 제조한 배양액이 더 적합할 것으로 판단됨.
- 한편, 패각칼슘을 이용하여 pH를 조절한 합성 아질산염 대체 배양액에서 김치 발효 미생물(WiKim0113)의 아질산나트륨 전환량은 519.10 ppm으로 시중에 판매되는 질산환원균(S-B-61) 대비 약 93% 수준의 아질산나트륨 전환 효과를 나타내었음.



2) 최적 배양조건 및 상업적 생산조건에 따른 한국형 합성 아질산염 대체 육제품 개발기술 확립

가) 최적 배양조건에 따른 육제품 유형별(분쇄형 소시지, 유화형 소시지, 햄) 제품 개발 및 발색 효과 등 기능적 특성 및 유통 안전성 조사

(1) 합성 아질산염 대체 배양액에서 질산환원균의 종류에 따른 아질산나트륨 전환 효과 및 이를 첨가한 합성 아질산염 대체 분쇄형 소시지의 이화학적 특성 및 유통 안정성 조사

- 본 연구는 질산환원균의 종류에 따른 배양액 내 아질산나트륨 전환 효과 및 이를 다양한 농도로 첨가한 육제품에서의 이화학적 특성 및 저장 안정성을 확인하기 위하여 수행되었음. 천연 질산염 소재로는 약 40,000 ppm의 질산나트륨을 함유한 배추 분말을 이용하였음. 질산환원균으로는 시판되는 외국산 미생물인 S-B-61(*Staphylococcus carnosus*; Chr. HANSEN)과 국산 김치 발효미생물인 WiKim0113(*Staphylococcus hominis*; 우진비앤지)을 사용하여 <표 109>와 같이 배양액을 제조하였음. 제조된 배양액은 37°C의 항온수조에서 100 rpm으로 혼합하면서 6시간 배양하였음.

<표 109> 질산환원균 종류별 합성 아질산염 대체 배양액의 제조 비율

재 료(%)	배양액 1	배양액 2
배추 분말	2.00	2.00
WiKim0113	0.20	0.00
S-B-61	0.00	0.20
포도당	1.00	1.00
수용성 패각칼슘	6.00	6.00
물	90.80	90.80
합 계	100.00	100.00

배양액: 배양액 1, WiKim0113(*Staphylococcus hominis*) 첨가; 배양액 2, S-B-61(*Staphylococcus carnosus*) 첨가.

- 질산환원균 종류별 합성 아질산염 대체 배양액의 전·후 pH, 아질산나트륨 및 질산나트륨 함량은 <표 110>과 같음. 배양 전·후 pH에서 WiKim0113을 이용한 배양액 1은 S-B-61을 이용한 배양액 2보다 낮았음( $p < 0.05$ ). 특히, 배양액 1의 배양 후 pH는 5.19로 배양 전(pH 5.93)보다 비교적 크게 감소하였음. 배양액 2의 아질산나트륨 함량은 배양액 1보다 높았으나( $p < 0.05$ ), 질산나트륨 함량은 배양액 2가 배양액 1보다 낮았음( $p < 0.05$ ). 본 연구에서 WiKim0113으로 제조한 합성 아질산염 대체 배양액은 시판 제품인 S-B-61을 사용하는 것보다 낮은 pH와 아질산나트륨 전환량을 보였지만, 육제품에 적용할 수 있는 충분한 아질산나트륨 함량과 시판 질산환원균(S-B-61)을 사용한 배양액 대비 약 95%의 질산나트륨 환원력을 보였음.

<표 110> 질산환원균 종류별 합성 아질산염 대체 배양액의 pH, 아질산나트륨 및 질산나트륨 함량 비교

배양액	배양 전 pH	배양 후 pH	아질산나트륨 (ppm)	질산나트륨 (ppm)
배양액 1	5.93±0.01 <sup>B</sup>	5.19±0.02 <sup>B</sup>	531.52±7.82 <sup>B</sup>	114.81±6.33 <sup>A</sup>
배양액 2	5.97±0.01 <sup>A</sup>	5.71±0.03 <sup>A</sup>	559.50±6.89 <sup>A</sup>	89.22±6.87 <sup>B</sup>

배양액: 배양액 1, WiKim0113(*Staphylococcus hominis*) 첨가; 배양액 2, S-B-61(*Staphylococcus carnosus*) 첨가.

모든 수치는 평균±표준오차.

A, B는 같은 열에서 서로 다른 문자 간 유의적 차이를 나타냄(p<0.05).

- 질산환원균 종류별 합성 아질산염 대체 배양액을 분석한 결과 S-B-61 및 WiKim0113으로 제조한 배양액은 모두 합성 아질산염의 대체 가능성을 보였으며, 이를 육제품에 첨가하였을 때, 합성 아질산염과의 차이를 비교하기 위하여 분쇄형 소시지를 제조하였음<표 111>. 이때 처리구는 다음과 같이 준비하였음: 음성 대조구, 아질산나트륨 무첨가; 양성 대조구, 0.007% 합성 아질산나트륨 첨가(70ppm NaNO<sub>2</sub>); 처리구 1, 6.58% WiKim0113 배양액 첨가(35 ppm NaNO<sub>2</sub>); 처리구 2, 6.26% S-B-61 배양액 첨가(35 ppm NaNO<sub>2</sub>); 처리구 3, 13.17% WiKim0113 배양액 첨가(70 ppm NaNO<sub>2</sub>); 처리구 4, 12.51% S-B-61 배양액 첨가(70 ppm NaNO<sub>2</sub>).

<표 111> 합성 아질산염 대체 배양액을 첨가한 분쇄형 소시지의 제조 비율

재 료(%)	음성 대조구	양성 대조구	처리구 1	처리구 2	처리구 3	처리구 4
후 지	70.000	70.000	70.000	70.000	70.000	70.000
지 방	15.000	15.000	15.000	15.000	15.000	15.000
얼음/물	15.000	15.000	15.000	15.000	15.000	15.000
소 계	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000
소 금	1.500	1.500	1.500	1.500	1.500	1.500
인산염	0.300	0.300	0.300	0.300	0.300	0.300
포도당	1.000	1.000	1.066	1.063	1.132	1.125
아질산나트륨	0.000	0.007	0.000	0.000	0.000	0.000
아스코르브산나트륨	0.050	0.050	0.050	0.050	0.050	0.050
배추 분말	0.000	0.000	0.132	0.125	0.263	0.250
WiKim0113	0.000	0.000	0.013	0.000	0.026	0.000
S-B-61	0.000	0.000	0.000	0.013	0.000	0.025
수용성 패각칼슘	0.000	0.000	0.395	0.375	0.790	0.751
합 계	102.850	102.857	103.456	103.426	104.061	104.001

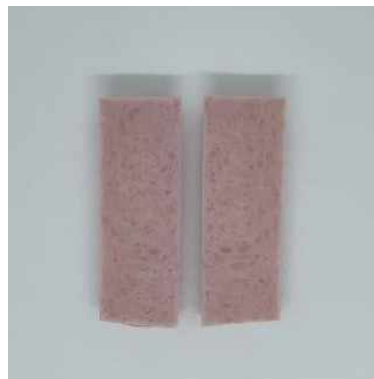
처리구: 음성 대조구, 아질산나트륨 무첨가; 양성 대조구, 0.007% 합성 아질산나트륨 첨가(70ppm NaNO<sub>2</sub>); 처리구 1, 6.58% WiKim0113 배양액 첨가(35ppm NaNO<sub>2</sub>); 처리구 2, 6.26% S-B-61 배양액 첨가(35ppm NaNO<sub>2</sub>); 처리구 3, 13.17% WiKim0113 배양액 첨가(70ppm NaNO<sub>2</sub>); 처리구 4, 12.51% S-B-61 배양액 첨가(70ppm NaNO<sub>2</sub>).

- 원료육은 과도한 결합 조직 및 근내 지방을 제거하고 분쇄기를 이용하여 원료육과 지방을 3 mm 크기로 분쇄하였음. 이후 혼합기를 이용하여 처리구별로 원료들을 혼합하였음. 혼합된 육은 conical tube에 50 g씩 충전하였으며 2,000×g로 원심분리하여 내부 기포를 제거하였음. 충전된 소시지는 90℃ 항온수조에서 심부온도가 75℃가 될 때까지 가열하였음. 가열이 완료된 소시지는 얼음물에서 20분간 급속 냉각하고 2~3℃ 냉장고에서 충분히 냉각한 후 진공포장 하였음. 합성 아질산염 대체 배양액을 첨가한 분쇄형 소시지의 이화학적 특성을 확인하기 위하여 제조 후 다음날에 pH, 가열 감량, 색도, 잔류 아질산염 함량, 염지 육색소, 총 육색소, 염지 효율, 지방 산패도(TBARS) 및 조직감을 분석하였음. 또한, 합성 아질산염 대체 배양액을 첨가한 분쇄형 소시지의 저장 안정성을 확인하기 위하여 모든 처리구는 2~3℃ 냉장고에서 30일간 보관하면서 제조 후 1일, 15일 및 30일에 일반세균수, 대장균 및 대장균균을 조사하였음.

- 합성 아질산염 대체 배양액의 질산환원균 종류 및 첨가량에 따른 분쇄형 소시지의 절단면은 <그림 73>과 같으며 pH, 가열 감량 및 색도는 <표 112>와 같음. 질산환원균의 종류와 관계없이 합성 아질산염 대체 배양액 첨가량이 증가함에 따라 pH는 감소하였음( $p < 0.05$ ). 이와 반대로 가열 감량은 합성 아질산염 대체 배양액 첨가량이 증가함에 따라 유의적으로 증가하였는데( $p < 0.05$ ), 이는 합성 아질산염 대체 배양액 첨가로 인한 소시지의 pH 감소가 보수력에 영향을 미친 것으로 판단됨. CIE L\*은 배양액 종류와 관계없이 배양액의 첨가량이 높은 처리구들(처리구 3 및 4)에서 합성 아질산염을 첨가한 양성 대조구와 유사하였으며( $p > 0.05$ ), 배양액 첨가량이 낮은 처리구들(처리구 1 및 2)은 아질산염을 첨가하지 않은 음성 대조구와 CIE L\*에서 차이를 보이지 않음( $p > 0.05$ ). 적색도를 나타내는 CIE a\*는 배양액의 질산환원균 종류 및 첨가량과 관계없이 모든 처리구(처리구 1~4)에서 차이가 없었으며( $p > 0.05$ ), 모든 처리구는 양성 대조구와 동등한 수준의 CIE a\*를 보였음( $p > 0.05$ ). CIE b\*는 음성 대조구에서 가장 높았으며( $p < 0.05$ ), 합성 아질산염을 첨가한 양성 대조구는 모든 처리구(처리구 1~4)보다 낮은 CIE b\*를 보였음( $p < 0.05$ ).



<음성 대조구>



<양성 대조구>



<처리구 1>



<처리구 2>



<처리구 3>



<처리구 4>

<그림 73> 합성 아질산염 대체 배양액의 질산환원균 종류 및 첨가량에 따른 분쇄형 소시지의 절단면 비교

<표 112> 합성 아질산염 대체 배양액의 질산환원균 종류 및 첨가량에 따른 분쇄형 소시지의 pH, 가열 감량 및 색도 비교

처리구	실험 항목				
	pH	가열 감량(%)	CIE L*	CIE a*	CIE b*
음성대조구	6.26±0.03 <sup>A</sup>	1.40±0.06 <sup>C</sup>	68.87±0.14 <sup>A</sup>	8.05±0.09 <sup>B</sup>	7.15±0.13 <sup>A</sup>
양성대조구	6.26±0.02 <sup>A</sup>	1.27±0.05 <sup>C</sup>	67.54±0.21 <sup>B</sup>	10.17±0.12 <sup>A</sup>	6.31±0.04 <sup>D</sup>
처리구 1	6.09±0.01 <sup>B</sup>	2.59±0.11 <sup>B</sup>	68.26±0.24 <sup>A</sup>	10.19±0.16 <sup>A</sup>	6.68±0.03 <sup>C</sup>
처리구 2	6.09±0.01 <sup>B</sup>	2.38±0.08 <sup>B</sup>	68.50±0.23 <sup>A</sup>	9.97±0.15 <sup>A</sup>	6.65±0.03 <sup>C</sup>
처리구 3	5.94±0.01 <sup>C</sup>	3.45±0.08 <sup>A</sup>	66.96±0.21 <sup>B</sup>	10.24±0.19 <sup>A</sup>	6.87±0.04 <sup>B</sup>
처리구 4	5.95±0.01 <sup>C</sup>	3.32±0.10 <sup>A</sup>	67.23±0.20 <sup>B</sup>	10.06±0.15 <sup>A</sup>	6.81±0.03 <sup>BC</sup>

처리구: 음성 대조구, 아질산나트륨 무첨가; 양성 대조구, 0.007% 합성 아질산나트륨 첨가(70ppm NaNO<sub>2</sub>); 처리구 1, 6.58% WiKim0113 배양액 첨가(35ppm NaNO<sub>2</sub>); 처리구 2, 6.26% S-B-61 배양액 첨가(35ppm NaNO<sub>2</sub>); 처리구 3, 13.17% WiKim0113 배양액 첨가(70ppm NaNO<sub>2</sub>); 처리구 4, 12.51% S-B-61 배양액 첨가(70ppm NaNO<sub>2</sub>).

모든 수치는 평균±표준오차.

<sup>A-D</sup>는 같은 열에서 서로 다른 문자 간 유의적 차이를 나타냄(p<0.05).

- 합성 아질산염 대체 배양액의 질산환원균 종류 및 첨가량에 따른 분쇄형 소시지의 잔류 아질산염 함량, 염지 육색소, 총 육색소, 염지 효율 및 지방 산패도(TBARS)는 <표 113>과 같음. 처리구 3 및 4는 양성 대조구와 동일한 농도의 아질산나트륨이 첨가되었지만, 잔류 아질산염 함량은 낮았음(p<0.05). 염지 육색소는 합성 아질산염 대체 배양액의 첨가량이 높은 처리구 3 및 4에서 가장 높게 나타났음(p<0.05). 반면 70ppm의 합성 아질산나트륨이 첨가된 양성 대조구는 배양액의 첨가량이 낮은 처리구들(처리구 1 및 2; 35 ppm 아질산나트륨 첨가)과 유사한 염지 육색소를 보였음(p>0.05). 총 육색소는 모든 처리구에서 유의적인 차이가 없었음(p>0.05). 염지 효율은 아질산나트륨이 첨가되지 않은 음성 대조구를 제외한 모든 처리구에서 80% 이상의 높은 염지 효율을 보였음. 특히, 높은 농도의 합성 아질산염 대체 배양액을 첨가한 처리구들(처리구 3 및 4)이 가장 높은 염지 효율을 보였음(p<0.05). 한편, 지방 산패도(TBARS)는 합성 아질산염을 첨가한 양성 대조구에서 가장 낮았으며(p<0.05), 합성 아질산염이 첨가되지 않은 음성 대조구에서 가장 높았음(p<0.05). 합성 아질산염 대체 배양액 첨가 처리구(처리구 1~4)들에서는 질산환원균의 종류 및 배양액 첨가량과 관계없이 동일한 지방 산패도를 나타내었음(p>0.05). 한편 지방 산패도는 pH에 의해 영향을 받는데, 배양액 첨가 처리구들(처리구 1~4)은 낮은 pH에 의해 양성 대조구보다 높은 지방 산패도를 나타내었을 가능성이 있음.

<표 113> 합성 아질산염 대체 배양액의 질산환원균 종류 및 첨가량에 따른 분쇄형 소시지의 잔류 아질산염 함량, 염지 육색소, 총 육색소, 염지 효율 및 지방 산패도(TBARS) 비교

처리구	실험 항목				
	잔류 아질산염 (ppm)	염지 육색소 (ppm)	총 육색소 (ppm)	염지 효율 (%)	지방 산패도 (mg MDA/kg)
음성대조구	0.78±0.04 <sup>D</sup>	1.31±0.04 <sup>D</sup>	44.77±0.93 <sup>A</sup>	2.94±0.14 <sup>C</sup>	0.062±0.002 <sup>A</sup>
양성대조구	17.38±0.91 <sup>A</sup>	37.56±0.79 <sup>C</sup>	45.79±0.76 <sup>A</sup>	81.97±0.54 <sup>B</sup>	0.038±0.003 <sup>C</sup>
처리구 1	15.06±0.33 <sup>B</sup>	38.23±0.61 <sup>BC</sup>	46.58±0.97 <sup>A</sup>	82.17±0.50 <sup>B</sup>	0.049±0.002 <sup>B</sup>
처리구 2	15.06±0.41 <sup>B</sup>	37.80±0.74 <sup>C</sup>	46.13±0.92 <sup>A</sup>	81.98±0.72 <sup>B</sup>	0.051±0.004 <sup>B</sup>
처리구 3	12.72±0.22 <sup>C</sup>	40.70±0.67 <sup>A</sup>	46.92±1.05 <sup>A</sup>	86.86±0.56 <sup>A</sup>	0.050±0.002 <sup>B</sup>
처리구 4	14.88±0.32 <sup>B</sup>	40.02±0.78 <sup>AB</sup>	46.58±0.88 <sup>A</sup>	85.91±0.25 <sup>A</sup>	0.047±0.003 <sup>B</sup>

처리구: 음성 대조구, 아질산나트륨 무첨가; 양성 대조구, 0.007% 합성 아질산나트륨 첨가(70ppm NaNO<sub>2</sub>); 처리구 1, 6.58% WiKim0113 배양액 첨가(35ppm NaNO<sub>2</sub>); 처리구 2, 6.26% S-B-61 배양액 첨가(35ppm NaNO<sub>2</sub>); 처리구 3, 13.17% WiKim0113 배양액 첨가(70ppm NaNO<sub>2</sub>); 처리구 4, 12.51% S-B-61 배양액 첨가(70ppm NaNO<sub>2</sub>).

모든 수치는 평균±표준오차.

<sup>A-D</sup>는 같은 열에서 서로 다른 문자 간 유의적 차이를 나타냄(p<0.05).

- 합성 아질산염 대체 배양액의 질산환원균 종류 및 첨가량에 따른 분쇄형 소시지의 조직감은 <표 114>와 같음. 경도, 검성 및 저작성은 높은 농도의 배양액이 첨가된 처리구 3 및 4에서 가장 높았음(p<0.05). 응집력은 음성 대조구에서 가장 높았으며(p<0.05), 양성 대조구와 합성 아질산염 대체 배양액 첨가 처리구들(처리구 1~4)에서는 응집력의 차이가 없었음(p>0.05). 탄력성은 모든 처리구에서 차이를 보이지 않았음(p>0.05).
- 한편, 합성 아질산염 대체 배양액을 첨가한 분쇄형 소시지의 저장 안정성을 확인하기 위해 시행한 저장 기간(0, 15 및 30일)에 따른 일반세균수, 대장균 및 대장균군은 분석 결과[데이터가 표시되지 않음], 일반세균수는 저장 30일 기준 모든 처리구에서 10<sup>3</sup>CFU/g 이하의 낮은 균 수를 나타내었음. 또한, 저장 기간 중 대장균 및 대장균군은 모든 처리구에서 검출되지 않았음.

<표 114> 합성 아질산염 대체 배양액의 질산환원균 종류 및 첨가량에 따른 분쇄형 소시지의 조직감 비교

처리구	실험 항목				
	경도(N)	응집성	탄력성	검성(N)	저작성(N)
음성대조구	64.75±0.94 <sup>D</sup>	0.737±0.001 <sup>A</sup>	0.907±0.004 <sup>A</sup>	47.69±0.60 <sup>D</sup>	43.26±0.66 <sup>D</sup>
양성대조구	67.70±0.81 <sup>C</sup>	0.730±0.001 <sup>B</sup>	0.908±0.003 <sup>A</sup>	49.42±0.55 <sup>C</sup>	44.86±0.55 <sup>CD</sup>
처리구 1	71.86±0.93 <sup>B</sup>	0.727±0.001 <sup>B</sup>	0.904±0.004 <sup>A</sup>	52.23±0.62 <sup>B</sup>	47.23±0.55 <sup>B</sup>
처리구 2	68.89±1.09 <sup>C</sup>	0.728±0.002 <sup>B</sup>	0.907±0.006 <sup>A</sup>	50.11±0.72 <sup>C</sup>	45.47±0.77 <sup>C</sup>
처리구 3	75.70±0.95 <sup>A</sup>	0.731±0.001 <sup>B</sup>	0.903±0.001 <sup>A</sup>	55.34±0.63 <sup>A</sup>	50.00±0.66 <sup>A</sup>
처리구 4	76.06±0.76 <sup>A</sup>	0.729±0.001 <sup>B</sup>	0.903±0.001 <sup>A</sup>	55.44±0.54 <sup>A</sup>	50.08±0.55 <sup>A</sup>

처리구: 음성 대조구, 아질산나트륨 무첨가; 양성 대조구, 0.007% 합성 아질산나트륨 첨가(70ppm NaNO<sub>2</sub>); 처리구 1, 6.58% WiKim0113 배양액 첨가(35ppm NaNO<sub>2</sub>);

처리구 2, 6.26% S-B-61 배양액 첨가(35ppm NaNO<sub>2</sub>); 처리구 3, 13.17% WiKim0113 배양액 첨가(70ppm NaNO<sub>2</sub>); 처리구 4, 12.51% S-B-61 배양액 첨가(70ppm NaNO<sub>2</sub>).

모든 수치는 평균±표준오차.

<sup>A-D</sup>는 같은 열에서 서로 다른 문자 간 유의적 차이를 나타냄(p<0.05).

- 본 연구는 합성 아질산염 대체 배양액의 질산환원균 종류 및 첨가량에 따른 분쇄형 소시지의 이화학적 특성을 비교하였음. 배양액 제조 시 시판되는 외국산 미생물 (S-B-61, *S. carnosus*)의 환원력은 국산 김치 발효미생물(WiKim0113, *S. hominis*) 보다 높았으나, 김치 발효미생물은 시판되는 외국산 미생물의 약 95%에 해당하는 환원 능력을 나타내었음. 배양액의 질산환원균 종류는 분쇄형 소시지의 이화학적 특성에 영향을 미치지 않았음. 반면, 질산환원균의 종류와 관계없이 합성 아질산염 대체 배양액의 첨가량은 분쇄형 소시지의 품질 특성에 영향을 주었음. 합성 아질산염을 첨가한 소시지와 같은 농도의 아질산나트륨 첨가된 천연 염지 분쇄형 소시지는 합성 아질산염을 첨가한 소시지보다 우수한 염지 색소 특성을 보여 합성 아질산염 대체 소재로서 효과적이었음. 그뿐만 아니라, 합성 아질산염 대체 배양액을 첨가한 소시지는 합성 아질산염과 유사한 수준의 저장 안정성을 확인할 수 있었음.

## (2) 다양한 채소분말을 이용한 배양액 제조 및 이를 이용한 천연 염지 유화형 소시지의 품질 특성

- 본 연구는 다양한 채소분말을 이용하여 pre-converted 배양액을 제조하고 이를 육제 품에 첨가하여 합성 아질산염 대체재로서 적합성을 검토하기 위해서 수행되었음. Pre-converted 배양액을 제조하기 위해 국내산 배추, 무, 시금치, 상추 및 순무를 무작위로 선별하였으며, 각 원료 채소는 60℃에서 12시간 열풍건조한 후 분쇄하여 분말화하였음. 모든 채소분말은 말토덱스트린을 첨가하여 질산나트륨 함량이 40,000 ppm 되도록 표준화하였음. 표준화된 채소분말에 김치 발효미생물(WiKim0113; *Staphylococcus hominis*)과 포도당 등을 첨가하여 배양액을 제조하였음<표 115>.

<표 115> 다양한 채소분말을 이용한 pre-converted 배양액의 제조 비율

재 료(%)	배추 분말 배양액	무 분말 배양액	시금치 분말 배양액	상추 분말 배양액	순무 분말 배양액
배추 분말	2.00	0.00	0.00	0.00	0.00
무 분말	0.00	2.00	0.00	0.00	0.00
시금치 분말	0.00	0.00	2.00	0.00	0.00
상추 분말	0.00	0.00	0.00	2.00	0.00
순무 분말	0.00	0.00	0.00	0.00	2.00
WiKim0113	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20
포도당	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
수용성 패각칼슘 물	6.00 90.80	6.00 90.80	6.00 90.80	6.00 90.80	6.00 90.80
합 계	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00

- 다양한 채소분말을 첨가한 배양액은 37°C 항온수조에서 6시간 배양하였으며, 채소분말별 pre-converted 배양액의 이화학적 특징은 <표 116>과 같음. 배양 후 pH는 순무 분말 배양액에서 가장 높았으며(p<0.05), 배추 분말 배양액에서 가장 낮게 나타났음(p<0.05). 아질산나트륨 함량은 배추 및 시금치 분말 배양액에서 유의적으로 높게 나타났음(p<0.05). 반면, 높은 pH를 나타내었던 순무 분말 배양액은 아질산나트륨 함량이 0.44 ppm으로 가장 낮았음(p<0.05). 무 분말 배양액의 아질산나트륨 함량은 376.46 ppm으로 육제품 제조에 사용 가능한 수준이었으나, 상추 분말 배양액은 육제품 제조에 사용하기 어려운 수준의 아질산나트륨 함량(192.45 ppm)을 함유하였음. 배양 후 질산나트륨 함량은 순무 분말 배양액을 제외하고 아질산나트륨 함량이 낮았던 상추 분말 배양액에서 가장 높았으며(p<0.05), 배추 및 시금치 분말 배양액에서 가장 낮은 질산나트륨 함량을 보였음(p<0.05). 본 연구에서 다양한 채소분말을 첨가한 배양액의 이화학적 특성을 비교하였을 때 배추, 무 및 시금치 분말을 첨가한 pre-converted 배양액은 육제품에서 적용 가능한 수준의 아질산나트륨을 함유하고 있어 합성 아질산나트륨을 대체하기 위한 소재로서 가능성을 보였음.

<표 116> 다양한 채소분말을 첨가한 pre-converted 배양액의 배양 후 pH, 아질산나트륨 및 질산나트륨 함량 비교

배양액	배양 후 pH	아질산나트륨 (ppm)	질산나트륨 (ppm)
배추 분말 배양액	5.09±0.05 <sup>C</sup>	501.94±6.95 <sup>A</sup>	171.72±14.49 <sup>C</sup>
무 분말 배양액	5.18±0.02 <sup>BC</sup>	376.46±7.81 <sup>B</sup>	389.66±17.62 <sup>B</sup>
시금치 분말 배양액	5.15±0.04 <sup>BC</sup>	485.62±3.83 <sup>A</sup>	211.32±12.33 <sup>C</sup>
상추 분말 배양액	5.25±0.04 <sup>AB</sup>	192.45±5.59 <sup>C</sup>	452.36±9.59 <sup>A</sup>
순무 분말 배양액	5.37±0.04 <sup>A</sup>	0.44±0.25 <sup>D</sup>	28.71±2.59 <sup>D</sup>

모든 수치는 평균±표준오차.

<sup>A-D</sup>는 같은 열에서 서로 다른 문자는 유의적 차이를 나타냄(p<0.05).

- 다양한 채소분말을 이용한 pre-converted 배양액을 분석한 결과 배추, 무 및 시금치 분말을 첨가한 배양액은 합성 아질산염의 대체 가능성을 나타내었으며, 이를 첨가하여 천연 염지 육제품을 제조할 때 합성 아질산염 대체재로서 적합성을 확인하기 위하여 <표 117>과 같이 유화형 소시지를 제조하였음: 음성 대조구: 아질산나트륨 무첨가; 양성 대조구, 0.007% 합성 아질산나트륨 첨가; 처리구 1, 13.95% pre-converted 배추 분말 배양액 첨가; 처리구 2, 18.59% pre-converted 무 분말 배양액 첨가; 처리구 3, 14.41% pre-converted 시금치 분말 배양액 첨가. 양성 대조구 및 모든 천연 염지 처리구들은 70 ppm의 아질산나트륨 함유하였음.

<표 117> 다양한 채소분말로 제조한 pre-converted 배양액을 첨가한 천연 염지 유화형 소시지의 제조 비율

재 료(%)	음성 대조구	양성 대조구	처리구 1	처리구 2	처리구 3
후 지	60.000	60.000	60.000	60.000	60.000
지 방	20.000	20.000	20.000	20.000	20.000
얼음/물	20.000	20.000	20.000	20.000	20.000
소 계	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000
소 금	1.500	1.500	1.500	1.500	1.500
인산염	0.300	0.300	0.300	0.300	0.300
포도당	1.000	1.000	1.139	1.186	1.144
아질산나트륨	0.000	0.007	0.000	0.000	0.000
아스코르브산나트륨	0.050	0.050	0.050	0.050	0.050
배추 분말	0.000	0.000	0.279	0.000	0.000
무 분말	0.000	0.000	0.000	0.372	0.000
시금치 분말	0.000	0.000	0.000	0.000	0.288
WiKim0113	0.000	0.000	0.028	0.037	0.029
수용성 패각칼슘	0.000	0.000	0.837	1.116	0.865
합 계	102.850	102.857	104.133	104.561	104.176

처리구: 음성 대조구, 아질산염 무첨가; 양성 대조구, 0.007% 합성 아질산나트륨 첨가; 처리구 1, 13.95% pre-converted 배추 분말 배양액 첨가; 처리구 2, 18.59% pre-converted 무 분말 배양액 첨가; 처리구 3, 14.41% pre-converted 시금치 분말 배양액 첨가.

- 다양한 채소분말로 제조한 pre-converted 배양액의 첨가에 따른 천연 염지 유화형 소시지의 절단면은 <그림 74>와 같으며, pH, 가열 감량 및 색도는 <표 118>과 같음. 모든 천연 염지 유화형 소시지(처리구 1, 2 및 3)는 대조구들보다 pH가 유의적으로 낮았음( $p < 0.05$ ). 특히, 천연 염지 처리구들 중에서 처리구 2의 pH가 가장 낮았는데( $p < 0.05$ ) 처리구 2는 다른 처리구들(처리구 1 및 3)에 비해 많은 양의 배양액 첨가로 인해 낮은 pH가 나타난 것으로 판단됨. 가열 감량은 대조구들보다 합성 아질산염 대체 처리구(처리구 1, 2 및 3)에서 높게 나타났는데( $p < 0.05$ ), 이는 제조 시 첨가된 배양액의 낮은 pH가 유화형 소시지의 보수력을 감소시켜 발생한 것으로 판단됨. 채소분말 배양액을 첨가한 처리구 1, 2 및 3은 모든 대조구보다 CIE L\*이 낮았음( $p < 0.05$ ). 적색도를 나타내는 CIE a\*는 배추와 무 분말 배양액을 첨가한 처리구 1 및 2에서 가장 높았음( $p < 0.05$ ). 한편, 처리구 3은 합성 아질산염을 첨가한 양성 대조구보다 낮은 CIE a\*를 나타내는데( $p < 0.05$ ), 이는 시금치 분말 자체의 녹색 색소에 의한 영향으로 판단됨. CIE b\*는 음성 대조구에서 가장 높게 나타났으며( $p < 0.05$ ), 모든 천연 염지 처리구들(처리구 1, 2 및 3)은 양성 대조구에 비하여 높은 CIE b\*를 나타냈음( $p < 0.05$ ).





<그림 74> 다양한 채소분말로 제조한 pre-converted 배양액의 첨가에 따른 천연 염지 유화형 소시지의 절단면 비교

<표 118> 다양한 채소분말로 제조한 pre-converted 배양액의 첨가에 따른 천연 염지 유화형 소시지의 pH, 가열 감량 및 색도 비교

처리구	pH	가열 감량 (%)	CIE L*	CIE a*	CIE b*
음성 대조구	6.28±0.01 <sup>A</sup>	1.43±0.10 <sup>B</sup>	74.93±0.06 <sup>A</sup>	6.58±0.06 <sup>D</sup>	8.21±0.05 <sup>A</sup>
양성 대조구	6.27±0.01 <sup>A</sup>	1.20±0.13 <sup>B</sup>	73.56±0.08 <sup>B</sup>	8.90±0.06 <sup>B</sup>	6.94±0.02 <sup>D</sup>
처리구 1	5.87±0.01 <sup>B</sup>	11.95±1.30 <sup>A</sup>	70.31±0.08 <sup>C</sup>	9.59±0.09 <sup>A</sup>	7.33±0.07 <sup>C</sup>
처리구 2	5.79±0.02 <sup>C</sup>	10.56±1.24 <sup>A</sup>	70.42±0.08 <sup>C</sup>	9.65±0.06 <sup>A</sup>	7.32±0.04 <sup>C</sup>
처리구 3	5.89±0.02 <sup>B</sup>	11.03±1.36 <sup>A</sup>	69.01±0.08 <sup>D</sup>	7.05±0.19 <sup>C</sup>	7.73±0.03 <sup>B</sup>

처리구: 음성 대조구, 아질산염 무첨가; 양성 대조구, 0.007% 합성 아질산나트륨 첨가; 처리구 1, 13.95% pre-converted 배추 분말 배양액 첨가; 처리구 2, 18.59% pre-converted 무 분말 배양액 첨가; 처리구 3, 14.41% pre-converted 시금치 분말 배양액 첨가.

모든 수치는 평균±표준오차.

<sup>A-D</sup>는 같은 열에서 서로 다른 문자는 유의적 차이를 나타냄(p<0.05).

- 다양한 채소분말로 제조한 pre-converted 배양액의 첨가에 따른 천연 염지 유화형 소시지의 잔류 아질산염 함량, 염지 육색소, 총 육색소, 염지 효율 및 지방 산패도(TBARS)는 <표 119>와 같음. 음성 대조구를 제외한 모든 유화형 소시지는 제조 시 70ppm의 아질산나트륨을 첨가하였는데, 이들 가운데 합성 아질산나트륨을 첨가한 양성 대조구가 가장 높은 잔류 아질산염 함량을 보였음(p<0.05). 반면, 염지 육색소는 천연 염지된 처리구 1, 2, 및 3에서 양성 대조구보다 높았는데(p<0.05), 이는 낮은 pH에 의해 염지 속도가 증가하여 채소분말 배양액을 첨가한 처리구(처리구 1, 2 및 3)에서 비교적 낮은 잔류 아질산나트륨 함량과 높은 염지 효율이 나타난 것으로 판단됨. 총 육색소는 채소분말 배양액을 첨가한 처리구들(처리구 1, 2 및 3)이 음성 및 양성 대조구보다 높게 나타났음(p<0.05). 처리구 1 및 2는 합성 아질산나트륨을 첨가한 양성 대조구보다 높은 염지 효율을 나타내었으나(p<0.05), 시금치 분말 배양액을 이용한 처리구 3의 경우 높은 총 육색소 함량에 의해 염지 효율이 양성 대조구보다 낮게 나타났음(p<0.05). 지방 산패도(TBARS)는 모든 천연 염지 처리구와 합성 아질산나트륨 첨가 양성 대조구에서 차이를 보이지 않았음(p>0.05).

<표 119> 다양한 채소분말로 제조한 pre-converted 배양액의 첨가에 따른 천연 염지 유화형 소시지의 잔류 아질산염 함량, 염지 육색소, 총 육색소, 염지 효율 및 지방 산패도(TBARS) 비교

처리구	잔류 아질산염 (ppm)	염지 육색소 (ppm)	총 육색소 (ppm)	염지 효율 (%)	지방 산패도 (mg MDA/kg)
음성 대조구	0.46±0.02 <sup>D</sup>	1.21±0.03 <sup>E</sup>	39.10±0.16 <sup>C</sup>	3.09±0.08 <sup>E</sup>	0.06±0.00 <sup>A</sup>
양성 대조구	20.42±1.45 <sup>A</sup>	31.95±0.09 <sup>D</sup>	40.23±0.18 <sup>C</sup>	79.43±0.50 <sup>C</sup>	0.05±0.00 <sup>A</sup>
처리구 1	14.70±0.28 <sup>B</sup>	37.80±0.40 <sup>C</sup>	44.20±0.53 <sup>B</sup>	85.53±0.27 <sup>B</sup>	0.06±0.00 <sup>A</sup>
처리구 2	11.25±0.29 <sup>C</sup>	39.25±0.67 <sup>B</sup>	44.65±0.60 <sup>B</sup>	87.85±0.42 <sup>A</sup>	0.06±0.00 <sup>A</sup>
처리구 3	15.69±0.40 <sup>B</sup>	41.57±0.50 <sup>A</sup>	55.31±1.22 <sup>A</sup>	75.36±0.88 <sup>D</sup>	0.06±0.00 <sup>A</sup>

처리구: 음성 대조구, 아질산염 무첨가; 양성 대조구, 0.007% 합성 아질산나트륨 첨가; 처리구 1, 13.95% pre-converted 배추 분말 배양액 첨가; 처리구 2, 18.59% pre-converted 무 분말 배양액 첨가; 처리구 3, 14.41% pre-converted 시금치 분말 배양액 첨가.

모든 수치는 평균±표준오차.

<sup>A-E</sup>는 같은 열에서 서로 다른 문자는 유의적 차이를 나타냄(p<0.05).

- 본 연구에서는 다양한 국내산 채소분말을 이용하여 pre-converted 배양액을 제조하고 합성 아질산염 대체 효과를 검토하였음. 다양한 채소분말 중 배추, 무 및 시금치 분말을 첨가한 배양액은 육제품에서 합성 아질산염을 대체 가능한 아질산나트륨 함량을 보였음. 합성 아질산염 대체 pre-converted 채소분말 배양액은 유화형 소시지의 가열 수율을 감소시켰으나, 지방 산패도(TBARS)에서는 합성 아질산나트륨을 첨가한 유화형 소시지와 동등한 항산화력을 보였음. 특히, 유화형 소시지에 배추와 무 분말로 제조한 pre-converted 배양액의 첨가는 염지 색소를 발현시키는데, 합성 아질산염보다 효과적이었음. 따라서, 배추와 무 분말을 첨가한 pre-converted 배양액은 육제품에서 합성 아질산염의 대체 소재로서 가능성을 보였음.

### (3) 다양한 합성 아질산염 대체 방법이 천연 염지 햄의 품질 특성에 미치는 영향

- 본 연구는 국내산 배추를 이용하여 다양한 합성 아질산염 대체 방법을 제시하고 이를 이용한 천연 염지 햄의 품질 특성을 합성 아질산염 첨가 제품과 비교하였음. 염지 햄 제조를 위해 지역 축산물공판장에서 후지를 구입하였으며, 과도한 지방을 제거한 후 처리구별로 무작위로 배분하였음. 다양한 합성 아질산염 대체 염지법으로 제조한 돈육 햄의 품질 특성을 조사하기 위한 처리구는 다음과 같이 준비하였음: NC, 아질산염 무첨가 처리구; PC, 합성 아질산염 첨가 처리구(70 ppm 아질산나트륨); VP, 배추 분말 첨가 처리구(70 ppm 질산나트륨); PCS, pre-converted 배추 분말 배양액 첨가 처리구(70 ppm 아질산나트륨); PCP, pre-converted 배추 분말 첨가 처리구(70 ppm 아질산나트륨). 천연 염지 처리구들(VP, PCS 및 PCP)은 배추 분말 내 질산나트륨을 환원하기 위하여 환원균으로 WiKim0113(*Staphylococcus hominis*)을 사용하였음. 각 처리구들은 <표 120>에 따라 염지액을 제조하고 원료육 중량을 기준으로 25%에 해당하는 염지액을 원료육에 주입하였음. 염지된 원료육을 8mm 크기로 분쇄하고 진공 텀블러(vacuum tumbler)를 이용하여 30분간 텀블링함. 이후 염지된 분쇄육은 3℃ 냉장고에서 12시간 동안 보관하였음. 12시간 후 분쇄육은 지름 7.9 cm의 플라스틱 케이싱에 약 250g씩 충전하고 80℃ 항온수조에서 심부 온도가 75℃가 될 때까지 가열하였음. 단, VP 처리구는 천연 질산염으로부터 아질산염을 전환하기 위해 가열 전 37℃에서 2시간 동안 배양한 후 가열처리를 진행하였

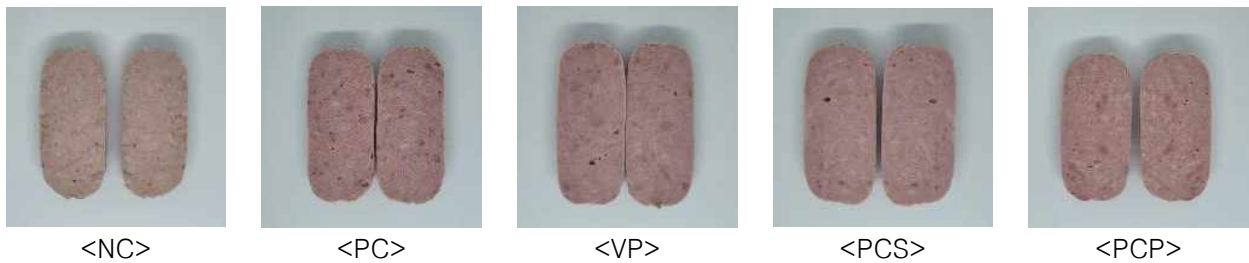
음. 가열이 완료된 모든 처리구는 얼음물에서 20분간 급속 냉각하고 3℃ 냉장고에서 약 12시간 보관한 후 분석에 시료로 사용하였음.

<표 120> 다양한 염지 방법으로 제조한 돈육 햄의 염지액 비율

재 료(%)	처리구				
	NC	PC	VP	PCS	PCP
소 금	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
설 탕	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00
인산염	1.20	1.20	1.20	1.20	1.20
아질산나트륨	-	0.04	-	-	-
아스코르브산나트륨	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20
물	88.60	88.56	87.63	81.52	73.51
배추 분말	-	-	0.88	1.54	-
WiKim0113	-	-	0.09	0.15	-
포도당	-	-	-	0.77	-
수용성 패각칼슘	-	-	-	4.62	-
pre-converted 배추 분말	-	-	-	-	15.09
합 계	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00

처리구: NC, 아질산염 무첨가 처리구; PC, 합성 아질산염 첨가 처리구(70ppm 아질산나트륨); VP, 배추 분말 첨가 처리구(70ppm 질산나트륨); PCS, pre-converted 배추 배양액 첨가 처리구(70ppm 아질산나트륨); PCP, pre-converted 배추 분말 첨가 처리구(70ppm 아질산나트륨).

- 다양한 합성 아질산염 대체 방법에 따른 천연 염지 돈육 햄의 절단면은 <그림 75>와 같으며, pH, 가열 감량 및 색도는 <표 121>과 같음. 배추 분말을 이용하여 염지한 처리구(VP)는 합성 아질산나트륨이 첨가된 PC보다 pH가 높았음( $p < 0.05$ ). 그러나 다른 천연 염지 처리구들(PCS 및 PCP)은 PC 처리구보다 낮은 pH를 나타내었음( $p < 0.05$ ). 특히 pre-converted 배추 분말을 첨가한 PCP 처리구는 모든 처리구 중 가장 낮은 pH를 보였음( $p < 0.05$ ). 가열 감량은 천연 염지 처리구들(VP, PCS 및 PCP)이 NC 및 PC 처리구보다 유의적으로 낮게 나타났음( $p < 0.05$ ). 천연 염지 처리구들 중 가장 낮은 pH를 나타내었던 PCP는 다른 천연 염지 처리구들(VP 및 PCS)보다 가열 감량이 높았으나( $p < 0.05$ ), VP 및 PCS 처리구는 pH의 차이가 있었음에도 가열 감량에서 유의적인 차이를 보이지 않았음( $p > 0.05$ ). CIE L\*은 pre-converted 배추 배양액을 첨가한 PCS 처리구와 아질산나트륨을 첨가하지 않은 NC 처리구에서 가장 높았으며( $p < 0.05$ ), 이외 다른 처리구들(PC, VP 및 PCP)간의 CIE L\*에 차이가 없었음( $p > 0.05$ ). 천연 염지 방법을 사용한 VP 및 PCP 처리구의 CIE a\*는 합성 아질산나트륨을 첨가한 PC 처리구와 유사하였음( $p > 0.05$ ). 한편, pre-converted 배추 배양액을 첨가한 PCS 처리구는 PC 처리구 보다 CIE a\*가 낮았으나( $p < 0.05$ ), 아질산나트륨을 첨가하지 않은 NC 처리구보다는 CIE a\*가 높게 나타났음( $p < 0.05$ ). 채소 분말을 이용하여 염지한 VP 처리구는 다른 처리구들에 비하여 가장 낮은 CIE b\*를 보인( $p < 0.05$ ) 반면, pre-converted 배추 분말을 첨가한 PCP 처리구는 아질산나트륨을 첨가하지 않은 NC 처리구와 함께 CIE b\*가 가장 높았음( $p < 0.05$ ).



<그림 75> 다양한 합성 아질산염 대체 방법으로 염지한 돈육 햄의 절단면 비교

<표 121> 다양한 합성 아질산염 대체 방법으로 염지한 돈육 햄의 pH, 가열 감량 및 색도 비교

처리구	pH	가열 감량 (%)	CIE L*	CIE a*	CIE b*
NC	6.22±0.02 <sup>AB</sup>	19.01±0.29 <sup>A</sup>	67.72±0.35 <sup>A</sup>	8.07±0.22 <sup>C</sup>	8.38±0.16 <sup>A</sup>
PC	6.19±0.01 <sup>B</sup>	16.79±0.36 <sup>B</sup>	65.54±0.46 <sup>B</sup>	11.30±0.19 <sup>A</sup>	6.90±0.14 <sup>B</sup>
VP	6.25±0.00 <sup>A</sup>	12.72±0.15 <sup>D</sup>	65.23±0.28 <sup>B</sup>	11.39±0.07 <sup>A</sup>	6.26±0.11 <sup>C</sup>
PCS	5.82±0.01 <sup>C</sup>	13.00±0.25 <sup>D</sup>	67.01±0.27 <sup>A</sup>	10.77±0.15 <sup>B</sup>	6.91±0.10 <sup>B</sup>
PCP	5.43±0.00 <sup>D</sup>	15.02±0.50 <sup>C</sup>	65.22±0.21 <sup>B</sup>	11.24±0.18 <sup>A</sup>	8.42±0.05 <sup>A</sup>

처리구: NC, 아질산염 무첨가 처리구; PC, 합성 아질산염 첨가 처리구(70ppm 아질산나트륨); VP, 배추 분말 첨가 처리구(70ppm 질산나트륨); PCS, pre-converted 배추 배양액 첨가 처리구(70ppm 아질산나트륨); PCP, pre-converted 배추 분말 첨가 처리구(70ppm 아질산나트륨).

모든 수치는 평균±표준오차.

<sup>A-D</sup>는 같은 열에서 서로 다른 문자 간 유의적 차이를 나타냄(p<0.05).

- 다양한 합성 아질산염 대체 방법에 따른 천연 염지 돈육 햄의 잔류 아질산염, 염지 육색소, 총 육색소, 염지 효율 및 지방 산패도(TBARS)는 <표 122>와 같음. 잔류 아질산염 함량은 합성 아질산나트륨을 첨가한 PC 처리구에서 가장 높았으며(p<0.05), 천연 염지 처리구들 중에서는 pre-converted 배추 배양액을 첨가한 PCS가 유의적으로 높게 나타났음(p<0.05). 염지 육색소 및 총 육색소는 PCP 처리구에서 합성 아질산나트륨을 첨가한 PC 처리구보다 높았음(p<0.05). 한편, PC 처리구는 PCS 처리구와 염지 육색소에 차이를 보이지 않았으며(p>0.05), VP 처리구보다는 높은 염지 육색소를 보였음(p<0.05). PC 처리구의 총 육색소는 PCP 처리구를 제외한 천연 염지 방법을 사용한 처리구들(VP 및 PCS)과 차이가 없었음(p>0.05). VP 처리구는 PC 처리구 보다 낮은 염지 효율을 보였으나(p<0.05), pre-converted 배추 배양액 또는 pre-converted 배추 분말을 사용하여 염지한 햄(PCS 및 PCP 처리구)은 합성 아질산나트륨으로 염지한 햄(PC 처리구)보다 높은 염지 효율을 나타내었음(p<0.05). 지방 산패도(TBARS)에서는 합성 아질산나트륨을 첨가한 PC 처리구와 천연 염지 처리구들(VP, PCS 및 PCP)간의 차이는 없었으며(p>0.05), 모든 처리구 중 아질산염이 첨가되지 않은 NC 처리구가 가장 높은 지방 산패도를 나타내었음(p<0.05).

<표 122> 다양한 합성 아질산염 대체 방법으로 염지한 돈육 햄의 잔류 아질산염, 염지 육색소, 총 육색소, 염지 효율 및 지방 산패도(TBARS) 비교

처리구	잔류 아질산염 (ppm)	염지 육색소 (ppm)	총 육색소 (ppm)	염지 효율 (%)	지방 산패도 (mg MDA/kg)
NC	1.54±0.25 <sup>E</sup>	1.45±0.00 <sup>D</sup>	53.21±0.42 <sup>B</sup>	2.73±0.02 <sup>E</sup>	0.21±0.07 <sup>A</sup>
PC	16.71±0.17 <sup>A</sup>	43.50±1.54 <sup>B</sup>	54.57±2.26 <sup>B</sup>	79.85±0.48 <sup>C</sup>	0.04±0.00 <sup>B</sup>
VP	2.14±0.17 <sup>D</sup>	38.28±0.35 <sup>C</sup>	56.27±0.59 <sup>AB</sup>	68.04±0.39 <sup>D</sup>	0.07±0.01 <sup>B</sup>
PCS	9.40±0.31 <sup>B</sup>	44.59±1.58 <sup>B</sup>	52.53±1.89 <sup>B</sup>	84.90±0.25 <sup>A</sup>	0.06±0.00 <sup>B</sup>
PCP	2.98±0.05 <sup>C</sup>	49.30±0.17 <sup>A</sup>	59.33±0.28 <sup>A</sup>	83.11±0.58 <sup>B</sup>	0.06±0.00 <sup>B</sup>

처리구: NC, 아질산염 무첨가 처리구; PC, 합성 아질산염 첨가 처리구(70ppm 아질산나트륨); VP, 배추 분말 첨가 처리구(70ppm 질산나트륨); PCS, pre-converted 배추 배양액 첨가 처리구(70ppm 아질산나트륨); PCP, pre-converted 배추 분말 첨가 처리구(70ppm 아질산나트륨).

모든 수치는 평균±표준오차.

<sup>A-E</sup>는 같은 열에서 서로 다른 문자 간 유의적 차이를 나타냄(p<0.05).

- 본 연구는 국산 배추 분말을 이용하여 다양한 합성 아질산염 대체 방법을 제시하였으며, 본 연구에서 제시된 방법들로 제조된 천연 염지 햄은 합성 아질산나트륨이 첨가된 염지 햄과 유사한 품질 특성을 보였음. 특히, 사전에 질산나트륨을 아질산나트륨으로 전환한 pre-converted 배추 배양액과 pre-converted 배추 분말을 이용한 합성 아질산염 대체 방법들은 육제품의 염지 색상 발현에 효과적이었음.

#### 나) 기존 시판제품과의 비교를 통한 한국형 합성 아질산염 대체 기술 산업화

##### (1) 국내 유통되는 소시지 제품과 한국형 합성 아질산염 대체 소시지의 품질 특성 비교

- 본 연구는 국산 채소 기반 합성 아질산염 대체 소재 및 김치 발효미생물 (WiKim0113, *Staphylococcus hominis*)을 이용하여 제조한 한국형 합성 아질산염 대체 소시지를 국내 유통되는 합성 아질산염 첨가 및 무첨가 소시지들의 품질 특성과 비교하였음. 4개의 제조사(A, B, C 및 D)에서 생산되는 합성 아질산염 첨가 및 무첨가 소시지를 각각 구매하였으며, 한국형 합성 아질산염 대체 소시지는 선행 연구와 같이 배추 분말을 이용하여 pre-converted 배양액 제조한 후 이를 첨가하여 천연 염지 소시지(70 ppm의 아질산나트륨 첨가)를 제조하였음<표 123>. 또한, 한국형 천연 염지 소시지의 합성 아질산염 대체 효과를 확인하기 위하여 70 ppm의 합성 아질산염 첨가한 소시지를 시료로 준비하였음. 모든 소시지 제품은 pH, 수분활성도, 식염, 색도, 잔류 아질산염 함량, 염지 육색소 및 염지 효율을 분석하였음.

<표 123> 국내 유통되는 합성 아질산염 첨가/무첨가 소시지와 한국형 합성 아질산염 대체 소시지의 특징

합성 아질산염 첨가 여부	제조원	시료 번호	주요 표기 사항
합성 아질산염 첨가	경성대학교	시료 1	돼지고기, 정제소금, 70ppm의 합성 아질산나트륨 첨가
	A사	시료 2	돼지고기, 정제수, 정제소금, 혼합제제(덱스트린, 치자적색소, 치자황색소), 아질산나트륨, 콜라겐케이싱
	B사	시료 3	돼지고기, 정제수, 정제소금, 아질산나트륨, 콜라겐케이싱
	C사	시료 4	돼지고기, 정제수, 정제소금, 혼합제제(코치닐추출색소, 적양배추색소, 덱스트린), 치자황색소, 아질산나트륨
	D사	시료 5	돼지고기, 정제수, 정제소금, 락색소, 아질산나트륨, 콜라겐케이싱
합성 아질산염 무첨가	경성대학교	시료 6	돼지고기, 정제소금, pre-converted 배추 분말 배양액
	A사	시료 7	돼지고기, 정제수, 정제소금, 베지스테이블502, 혼합제제(덱스트린, 치자적색소, 치자황색소), 야채발효균, 콜라겐케이싱
	B사	시료 8	돼지고기, 정제수, 정제소금, 과일혼합추출분말, 콜라겐케이싱
	C사	시료 9	돼지고기, 정제수, 정제소금, 천일염, 식물성유산균발효액ENT, 혼합제제(코치닐추출색소, 적양배추색소, 덱스트린), 콜라겐케이싱
	D사	시료 10	돼지고기, 정제수, 정제소금, 셀러리 분말, 락색소

- 국내 유통되는 합성 아질산염 첨가/무첨가 소시지 제품과 한국형 합성 아질산염 대체 기술로 제조된 소시지의 pH, 수분활성도 및 식염은 <표 124>와 같음. 한국형 합성 아질산염 대체 기술로 제조된 소시지(시료 6)의 pH는 5.95로 국내 유통 중인 소시지 제품(6.11~6.30)보다 유의적으로 낮은 pH를 보였음( $p < 0.05$ ). 반면, 수분활성도에서는 한국형 합성 아질산염 대체 기술로 제조된 소시지(시료 6)는 A사의 합성 아질산염 첨가 소시지(시료 2)를 제외하고는 모든 시료와 유사하였음( $p > 0.05$ ). 한국형 합성 아질산염 대체 기술로 제조된 소시지(시료 6)의 식염은 1.86%로 시중에 유통되는 소시지 제품들의 식염(1.27~1.69%)보다 높았음( $p < 0.05$ ).

<표 124> 국내 유통되는 합성 아질산염 첨가/무첨가 소시지 제품과 한국형 합성 아질산염 대체 기술로 제조된 소시지의 pH, 수분활성도 및 식염 비교

합성 아질산염 첨가 여부	시료 번호 (제조원)	실험 항목		
		pH	수분활성도	식염(%)
합성 아질산염 첨가	시료 1 (경성대)	6.25±0.01 <sup>B</sup>	0.948±0.002 <sup>A</sup>	1.73±0.02 <sup>B</sup>
	시료 2 (A사)	6.30±0.01 <sup>A</sup>	0.937±0.004 <sup>B</sup>	1.53±0.03 <sup>D</sup>
	시료 3 (B사)	6.24±0.01 <sup>B</sup>	0.944±0.003 <sup>AB</sup>	1.55±0.02 <sup>D</sup>
	시료 4 (C사)	6.13±0.01 <sup>DE</sup>	0.950±0.002 <sup>A</sup>	1.27±0.01 <sup>F</sup>
	시료 5 (D사)	6.17±0.02 <sup>CD</sup>	0.951±0.003 <sup>A</sup>	1.59±0.04 <sup>CD</sup>
합성 아질산염 무첨가	시료 6 (경성대)	5.95±0.01 <sup>F</sup>	0.950±0.001 <sup>A</sup>	1.86±0.02 <sup>A</sup>
	시료 7 (A사)	6.24±0.03 <sup>B</sup>	0.949±0.002 <sup>A</sup>	1.57±0.04 <sup>CD</sup>
	시료 8 (B사)	6.21±0.02 <sup>BC</sup>	0.947±0.001 <sup>A</sup>	1.64±0.02 <sup>BC</sup>
	시료 9 (C사)	6.11±0.02 <sup>E</sup>	0.945±0.004 <sup>AB</sup>	1.38±0.02 <sup>E</sup>
	시료 10 (D사)	6.17±0.03 <sup>CD</sup>	0.944±0.006 <sup>AB</sup>	1.69±0.03 <sup>B</sup>

모든 수치는 평균±표준오차.

<sup>A-F</sup>는 같은 열에서 서로 다른 문자는 유의적 차이를 나타냄(p<0.05).

- 국내 유통되는 합성 아질산염 첨가/무첨가 제품과 한국형 합성 아질산염 대체 기술로 제조된 소시지의 절단면은 <그림 76>과 같으며, CIE L\*(명도), CIE a\*(적색도) 및 CIE b\*(황색도)는 <표 125>와 같음. CIE L\*은 합성 아질산염 첨가 여부와 관계 없이 경성대학교에서 제조한 소시지(시료 1 및 시료 6), C사의 합성 아질산염 첨가 소시지(시료 4) 및 B사의 합성 아질산염 무첨가 소시지(시료 8)에서 가장 높게 나타났음(p<0.05). A사의 합성 아질산염 첨가 소시지(시료 2)는 모든 소시지 중 가장 높은 CIE a\*를 보였으며(p<0.05), A사의 합성 아질산염 무첨가 소시지인 시료 7은 합성 아질산나트륨 무첨가 소시지 중에서 가장 높은 CIE a\*를 나타내었음(p<0.05). 한편, D사의 합성 아질산염 무첨가 소시지(시료 10)는 착색제가 첨가되었음에도 한국형 합성 아질산염 대체 기술로 제조된 소시지(시료 6)보다 낮은 CIE a\*를 나타내었음(p<0.05). 그뿐만 아니라, D사의 합성 아질산염 첨가 소시지(시료 5)는 시료 6과 유사한 CIE a\*를 보였음(p>0.05). 국내 유통되는 소시지 중 유일하게 착색제를 첨가하지 않은 B사의 소시지들(시료 3 및 8)은 이와 유사하게 착색제를 첨가하지 않은 시료 6보다 낮은 CIE a\*를 보였음(p<0.05). CIE b\*는 합성 아질산염 무첨가 소시지 중 한국형 합성 아질산염 대체 기술로 제조된 소시지(시료 6)에서 가장 낮았음(p<0.05).

합성 아질산염 첨가 제품



<시료 1(경성대)>

<시료 2(A사)>

<시료 3(B사)>

<시료 4(C사)>

<시료 5(D사)>

합성 아질산염 무첨가 제품



<시료 6(경성대)>

<시료 7(A사)>

<시료 8(B사)>

<시료 9(C사)>

<시료 10(D사)>

<그림 76> 국내 유통되는 합성 아질산염 첨가/무첨가 소시지 제품과 한국형 합성 아질산염 대체 기술로 제조된 소시지의 절단면 비교

<표 125> 국내 유통되는 합성 아질산염 첨가/무첨가 소시지 제품과 한국형 합성 아질산염 대체 기술로 제조된 소시지의 CIE L\*(명도), CIE a\*(적색도) 및 CIE b\*(황색도) 비교

합성 아질산염 첨가 여부	시료 번호 (제조원)	실험 항목		
		CIE L*	CIE a*	CIE b*
합성 아질산염 첨가	시료 1 (경성대)	67.76±0.13 <sup>A</sup>	10.20±0.08 <sup>D</sup>	6.41±0.03 <sup>F</sup>
	시료 2 (A사)	61.57±0.29 <sup>F</sup>	14.24±0.11 <sup>A</sup>	6.62±0.07 <sup>F</sup>
	시료 3 (B사)	64.87±0.39 <sup>D</sup>	7.69±0.26 <sup>G</sup>	9.13±0.17 <sup>B</sup>
	시료 4 (C사)	67.89±0.20 <sup>A</sup>	13.33±0.15 <sup>B</sup>	11.48±0.04 <sup>A</sup>
	시료 5 (D사)	65.49±0.44 <sup>CD</sup>	10.38±0.21 <sup>D</sup>	9.04±0.15 <sup>BC</sup>
합성 아질산염 무첨가	시료 6 (경성대)	67.35±0.12 <sup>A</sup>	10.19±0.09 <sup>D</sup>	7.00±0.03 <sup>E</sup>
	시료 7 (A사)	62.80±0.27 <sup>E</sup>	12.54±0.13 <sup>C</sup>	8.81±0.06 <sup>C</sup>
	시료 8 (B사)	67.87±0.36 <sup>A</sup>	8.34±0.17 <sup>F</sup>	8.12±0.12 <sup>D</sup>
	시료 9 (C사)	66.41±0.60 <sup>B</sup>	10.45±0.27 <sup>D</sup>	9.19±0.16 <sup>B</sup>
	시료 10 (D사)	65.78±0.17 <sup>BC</sup>	9.55±0.28 <sup>E</sup>	9.27±0.14 <sup>B</sup>

모든 수치는 평균±표준오차.

<sup>A-G</sup>는 같은 열에서 서로 다른 문자는 유의적 차이를 나타냄(p<0.05).

- 국내 유통되는 합성 아질산염 첨가/무첨가 소시지 제품과 한국형 합성 아질산염 대체 기술로 제조된 소시지의 잔류 아질산염 함량, 염지 육색소 및 염지 효율은 <표 126>과 같음. 합성 아질산염 무첨가 소시지 제품들(시료 6~10)은 모두 10 ppm 이



하의 낮은 아질산염 잔류량을 보였으나, 그중 한국형 합성 아질산염 대체 기술로 제조된 소시지(시료 6)가 잔류 아질산염 함량이 높았음( $p < 0.05$ ). 합성 아질산염을 첨가한 국내 유통 소시지 제품 중 시료 2 및 3의 잔류 아질산염 함량은 다른 합성 아질산염 첨가 제품들(시료 1, 4 및 5)과 시료 6보다 낮았음( $p < 0.05$ ). 한국형 합성 아질산염 대체 기술로 제조된 소시지(시료 6)는 합성 아질산염 첨가 여부와 관계없이 가장 높은 염지 육색소를 보였음( $p < 0.05$ ). 시료 6은 염지 육색소를 바탕으로 비교적 높은 83.97%의 염지 효율을 보였으나, 합성 아질산염을 첨가한 C사의 소시지(시료 4)가 92.90%로 가장 높은 염지 효율을 보였음( $p < 0.05$ ).

<표 126> 국내 유통되는 합성 아질산염 첨가/무첨가 소시지 제품과 한국형 합성 아질산염 대체 기술로 제조된 소시지의 잔류 아질산염 함량, 염지 육색소 및 염지 효율 비교

합성 아질산염 첨가 여부	시료 번호 (제조원)	실험 항목		
		잔류 아질산염 (ppm)	염지 육색소(ppm)	염지 효율(%)
합성 아질산염 첨가	시료 1 (경성대)	13.20±0.60 <sup>B</sup>	35.86±0.46 <sup>B</sup>	78.32±0.83 <sup>C</sup>
	시료 2 (A사)	3.83±0.37 <sup>DE</sup>	34.61±0.75 <sup>B</sup>	70.03±0.59 <sup>E</sup>
	시료 3 (B사)	5.44±0.35 <sup>D</sup>	29.77±0.41 <sup>C</sup>	74.20±0.83 <sup>D</sup>
	시료 4 (C사)	15.62±0.15 <sup>A</sup>	30.21±0.24 <sup>C</sup>	92.90±1.49 <sup>A</sup>
	시료 5 (D사)	13.83±0.30 <sup>B</sup>	26.58±0.34 <sup>D</sup>	80.95±1.11 <sup>BC</sup>
합성 아질산염 무첨가	시료 6 (경성대)	8.61±0.53 <sup>C</sup>	39.76±0.37 <sup>A</sup>	83.97±0.67 <sup>B</sup>
	시료 7 (A사)	5.37±0.08 <sup>D</sup>	31.13±0.89 <sup>C</sup>	71.07±0.43 <sup>DE</sup>
	시료 8 (B사)	1.89±0.12 <sup>F</sup>	27.79±0.53 <sup>D</sup>	80.93±1.46 <sup>BC</sup>
	시료 9 (C사)	2.79±0.10 <sup>EF</sup>	21.32±0.96 <sup>F</sup>	61.98±1.70 <sup>F</sup>
	시료 10 (D사)	5.47±0.10 <sup>D</sup>	24.36±0.20 <sup>E</sup>	82.49±1.33 <sup>B</sup>

모든 수치는 평균±표준오차.

<sup>A-F</sup>는 같은 열에서 서로 다른 문자는 유의적 차이를 나타냄( $p < 0.05$ ).

- 본 연구에서 국내 유통되는 합성 아질산염 첨가/무첨가 소시지 제품과 한국형 합성 아질산염 대체 기술로 제조된 소시지의 이화학적 특성을 비교하였음. 한국형 합성 아질산염 대체 기술로 제조된 소시지는 국내 유통되는 제품과 달리 착색제를 첨가하지 않았음에도 합성 아질산염 무첨가 소시지 중에서 비교적 높은 CIE  $a^*$ 를 보였으며, 심지어 착색제와 합성 아질산나트륨을 첨가한 소시지 제품과 유사한 적색도를 보였음. 이외에도 한국형 합성 아질산염 대체 기술로 제조된 소시지는 시판제품보다 우수한 염지 육색소를 함유하였으며, 80% 이상의 염지 효율을 보여 한국형 합성 아질산염 대체 기술의 상업화 가능성을 보였음.

(2) 국내 유통되는 합성 아질산염 첨가/무첨가 햄 제품과 한국형 합성 아질산염 대체 기술로 제조된 햄의 품질 특성 비교

- 본 연구는 국산 채소 기반 합성 아질산염 대체 소재 및 김치 발효 미생물 (WiKim0113, *Staphylococcus hominis*)을 이용하여 제조한 한국형 합성 아질산염 대체 햄을 국내 유통되는 합성 아질산염 첨가 및 무첨가 햄들의 품질 특성과 비교하기 위하여 수행하였음. 4 개의 제조사(A, B, C, 및 D)에서 생산되는 합성 아질산염 첨가 및 무첨가 제품을 각각 구매하였으며, 한국형 합성 아질산염 대체 제품은 선행 연구와 같이 배추 분말을 이용하여 pre-converted 배양액 제조한 후 이를 첨가하여 천연 염지 햄(70 ppm의 아질산나트륨 첨가)을 제조하였음<표 127>. 또한, 한국형 천연 염지 햄의 합성 아질산염 대체 효과를 확인하기 위하여 70 ppm의 합성 아질산염 첨가한 햄을 시료로 준비하였음. 모든 햄 제품은 pH, 수분활성도, 식염, 색도, 잔류 아질산염 함량, 염지 육색소 및 염지 효율을 분석하였음.

<표 127> 국내 유통되는 합성 아질산염 첨가/무첨가 햄 제품과 한국형 합성 아질산염 대체 햄의 특징

합성 아질산염 첨가 여부	제조원	시료 번호	주요 표기 사항
합성 아질산염 첨가	경성대학교	시료 1	돼지고기, 정제소금, 70ppm의 합성 아질산나트륨 첨가
	A사	시료 2	돼지고기, 정제수, 정제소금, 혼합제제(덱스트린, 치자적색소, 치자황색소), 아질산나트륨
	B사	시료 3	돼지고기, 정제수, 정제소금, 덱스트린, 코치닐추출색소, 아질산나트륨
	C사	시료 4	돼지고기, 정제수, 정제소금, 덱스트린, 코치닐추출색소, 적양배추색소, 치자황색소, 아질산나트륨
	D사	시료 5	돼지고기, 정제수, 정제소금, 혼합제제(덱스트린, 치자적색소, 치자황색소), 아질산나트륨
합성 아질산염 무첨가	경성대학교	시료 6	돼지고기, 정제소금, pre-converted 배추 분말 배양액
	A사	시료 7	돼지고기, 정제수, 정제소금, 베지스테이블502, 혼합제제(덱스트린, 치자적색소, 치자황색소), 야채발효균
	B사	시료 8	돼지고기, 정제수, 정제소금, 과일혼합추출분말, 코치닐추출색소
	C사	시료 9	돼지고기, 정제수, 천연염, 베지890, 혼합제제(코치닐추출색소, 적양배추색소, 덱스트린), 치자황색소, 덱스트린
	D사	시료 10	돼지고기, 정제수, 정제소금, 셀러리 분말, 락색소

- 국내 유통되는 합성 아질산염 첨가/무첨가 햄 제품과 한국형 합성 아질산염 대체 기술로 제조된 햄의 pH, 수분활성도 및 식염은 <표 128>과 같음. 한국형 합성 아질산염 대체 기술로 제조된 햄의 pH(시료 6)는 5.83으로 국내 유통 중인 햄 제품(6.03~6.54)보다 매우 낮은 pH를 보였음(p<0.05). 반면, 수분활성도에서는 한국형 합성 아질산염 대체 기술로 제조된 햄(시료 6)은 모든 시료와 유사하였음(p>0.05).

국내 유통되는 햄 제품의 식염은 1.46~2.07% 범위였으며, 한국형 합성 아질산염 대체 기술로 제조된 햄(시료 6)은 1.57%로 시중에 유통되는 햄 제품의 범위 내 수준이었음.

<표 128> 국내 유통되는 합성 아질산염 첨가/무첨가 햄 제품과 한국형 합성 아질산염 대체 기술로 제조된 햄의 pH, 수분활성도 및 식염 비교

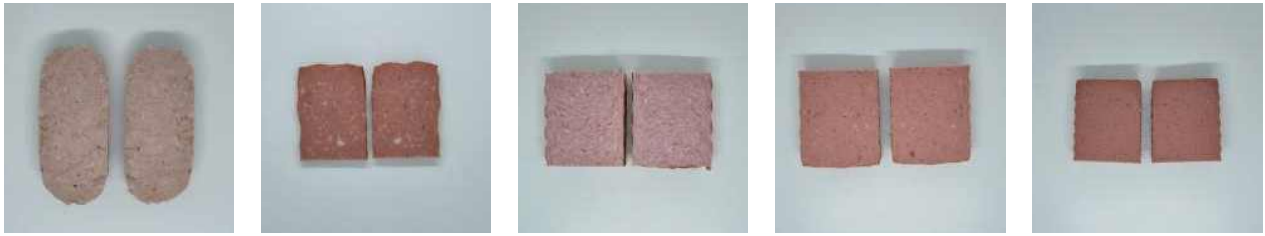
합성 아질산염 첨가 여부	시료 번호 (제조원)	실험 항목		
		pH	수분활성도	식염(%)
합성 아질산염 첨가	시료 1 (경성대)	6.19±0.01 <sup>D</sup>	0.948±0.003 <sup>B</sup>	1.37±0.02 <sup>G</sup>
	시료 2 (A사)	6.21±0.02 <sup>CD</sup>	0.948±0.003 <sup>B</sup>	1.79±0.01 <sup>CD</sup>
	시료 3 (B사)	6.37±0.02 <sup>B</sup>	0.951±0.003 <sup>AB</sup>	1.76±0.02 <sup>D</sup>
	시료 4 (C사)	6.54±0.02 <sup>A</sup>	0.951±0.002 <sup>AB</sup>	1.75±0.05 <sup>D</sup>
	시료 5 (D사)	6.51±0.01 <sup>A</sup>	0.952±0.002 <sup>AB</sup>	1.85±0.01 <sup>BC</sup>
합성 아질산염 무첨가	시료 6 (경성대)	5.83±0.01 <sup>F</sup>	0.951±0.003 <sup>AB</sup>	1.57±0.03 <sup>E</sup>
	시료 7 (A사)	6.40±0.01 <sup>B</sup>	0.959±0.002 <sup>A</sup>	1.48±0.01 <sup>F</sup>
	시료 8 (B사)	6.03±0.07 <sup>E</sup>	0.952±0.002 <sup>AB</sup>	2.07±0.05 <sup>A</sup>
	시료 9 (C사)	6.30±0.01 <sup>BC</sup>	0.955±0.002 <sup>AB</sup>	1.46±0.02 <sup>F</sup>
	시료 10 (D사)	6.36±0.02 <sup>B</sup>	0.949±0.003 <sup>B</sup>	1.91±0.02 <sup>B</sup>

모든 수치는 평균±표준오차.

A-G는 같은 열에서 서로 다른 문자는 유의적 차이를 나타냄(p<0.05).

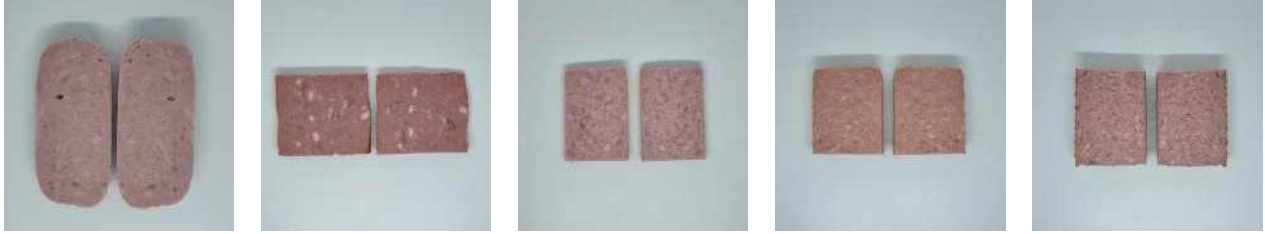
- 국내 유통되는 합성 아질산염 첨가/무첨가 햄 제품과 한국형 합성 아질산염 대체 기술로 제조된 햄의 절단면은 <그림 77>과 같으며, CIE L\*(명도), CIE a\*(적색도) 및 CIE b\*(황색도)는 <표 129>와 같음. 명도를 나타내는 CIE L\*은 모든 시료 중 한국형 합성 아질산염 대체 기술로 제조된 햄(시료 6)이 가장 높았지만(p<0.05), 적색도를 나타내는 CIE a\*는 가장 낮게 나타났음(p<0.05). 국내 유통되는 햄 시료들은 합성 아질산나트륨 첨가 여부와 관계없이 착색제들을 첨가하였기 때문에 시료 6보다 높은 적색도를 보인 것으로 판단됨. 경성대학교에서 제조한 시료 1 및 6은 B사에서 제조한 햄 제품(시료 3 및 8)보다는 CIE b\*가 높았으나(p<0.05), 대부분의 유통 중인 햄 제품보다는 낮은 CIE b\*를 나타내었음(p<0.05).

합성 아질산염 첨가 제품



<시료 1(경성대)> <시료 2(A사)> <시료 3(B사)> <시료 4(C사)> <시료 5(D사)>

합성 아질산염 무첨가 제품



<시료 6(경성대)> <시료 7(A사)> <시료 8(B사)> <시료 9(C사)> <시료 10(D사)>

<그림 77> 국내 유통되는 합성 아질산염 첨가/무첨가 햄 제품과 한국형 합성 아질산염 대체 기술로 제조된 햄의 절단면 비교

<표 129> 국내 유통되는 합성 아질산염 첨가/무첨가 햄 제품과 한국형 합성 아질산염 대체 기술로 제조된 햄의 CIE L\*(명도), CIE a\*(적색도) 및 CIE b\*(황색도) 비교

합성 아질산염 첨가 여부	시료 번호 (제조원)	실험 항목		
		CIE L*	CIE a*	CIE b*
합성 아질산염 첨가	시료 1 (경성대)	65.69±0.32 <sup>BC</sup>	11.27±0.16 <sup>E</sup>	6.84±0.08 <sup>E</sup>
	시료 2 (A사)	55.56±0.23 <sup>G</sup>	13.14±0.12 <sup>C</sup>	11.92±0.16 <sup>A</sup>
	시료 3 (B사)	65.13±0.35 <sup>C</sup>	13.34±0.17 <sup>C</sup>	5.60±0.13 <sup>G</sup>
	시료 4 (C사)	61.66±0.38 <sup>E</sup>	14.36±0.14 <sup>B</sup>	11.53±0.12 <sup>B</sup>
	시료 5 (D사)	56.12±0.16 <sup>FG</sup>	14.92±0.11 <sup>A</sup>	11.39±0.07 <sup>B</sup>
합성 아질산염 무첨가	시료 6 (경성대)	67.10±0.20 <sup>A</sup>	10.67±0.16 <sup>F</sup>	6.98±0.07 <sup>E</sup>
	시료 7 (A사)	56.60±0.28 <sup>F</sup>	14.32±0.14 <sup>B</sup>	8.22±0.10 <sup>D</sup>
	시료 8 (B사)	66.20±0.28 <sup>B</sup>	11.71±0.17 <sup>DE</sup>	6.31±0.11 <sup>F</sup>
	시료 9 (C사)	63.93±0.35 <sup>D</sup>	11.86±0.29 <sup>D</sup>	11.60±0.14 <sup>B</sup>
	시료 10 (D사)	62.17±0.24 <sup>E</sup>	12.89±0.15 <sup>C</sup>	8.71±0.07 <sup>C</sup>

모든 수치는 평균±표준오차.

<sup>A-G</sup>는 같은 열에서 서로 다른 문자는 유의적 차이를 나타냄(p<0.05).

- 국내 유통되는 합성 아질산염 첨가/무첨가 햄 제품과 한국형 합성 아질산염 대체 기술로 제조된 햄의 잔류 아질산염 함량, 염지 육색소 및 염지 효율은 <표 130>과 같음. 합성 아질산나트륨을 첨가한 햄 제품들(시료 1~5)은 합성 아질산염 무첨가 햄 제품들(시료 6~10)보다 잔류 아질산염 함량이 높았음( $p < 0.05$ ). 특히 시료 4의 잔류 아질산염은 50.46 ppm으로 모든 시료 중 가장 높았음( $p < 0.05$ ). 합성 아질산나트륨 무첨가 제품 중에서 한국형 합성 아질산염 대체 기술로 제조된 햄(시료 6)과 D사의 합성 아질산염 무첨가 햄 제품이 유사한 잔류 아질산염 함량을 보였으며( $p > 0.05$ ), 합성 아질산염 무첨가 햄 제품은 모두 10 ppm 이하의 아질산염 잔류량을 나타내었음. 합성 아질산나트륨 무첨가 처리구 중에서는 한국형 합성 아질산염 대체 기술로 제조된 햄(시료 6)은 A사의 햄 제품(시료 7)과 함께 염지 육색소가 가장 높았음( $p < 0.05$ ). 한국형 합성 아질산염 대체 기술로 제조된 햄(시료 6)의 염지 효율은 80% 이상으로 합성 아질산염 무첨가 제품 중에서는 B사의 햄 제품(시료 8)과 함께 가장 높은 염지 효율을 보였음( $p < 0.05$ ).

<표 130> 국내 유통되는 합성 아질산염 첨가/무첨가 햄 제품과 한국형 합성 아질산염 대체 기술로 제조된 햄의 잔류 아질산염 함량, 염지 육색소 및 염지 효율 비교

합성 아질산염 첨가 여부	시료 번호 (제조원)	실험 항목		
		잔류 아질산염 (ppm)	염지 육색소 (ppm)	염지 효율 (%)
합성 아질산염 첨가	시료 1 (경성대)	15.77±0.27 <sup>D</sup>	44.15±1.09 <sup>C</sup>	79.73±0.41 <sup>D</sup>
	시료 2 (A사)	15.71±1.29 <sup>D</sup>	28.03±0.33 <sup>EF</sup>	67.22±0.77 <sup>F</sup>
	시료 3 (B사)	24.30±1.02 <sup>C</sup>	32.14±0.80 <sup>D</sup>	80.92±1.17 <sup>CD</sup>
	시료 4 (C사)	50.46±0.73 <sup>A</sup>	52.20±1.50 <sup>B</sup>	89.45±1.48 <sup>A</sup>
	시료 5 (D사)	35.69±1.41 <sup>B</sup>	71.05±0.50 <sup>A</sup>	84.09±1.24 <sup>BC</sup>
합성 아질산염 무첨가	시료 6 (경성대)	8.12±0.40 <sup>E</sup>	44.59±0.99 <sup>C</sup>	83.97±0.28 <sup>BC</sup>
	시료 7 (A사)	5.40±0.40 <sup>F</sup>	44.13±0.17 <sup>C</sup>	75.03±0.21 <sup>E</sup>
	시료 8 (B사)	1.74±0.32 <sup>G</sup>	30.55±0.11 <sup>DE</sup>	86.96±0.46 <sup>AB</sup>
	시료 9 (C사)	4.10±0.13 <sup>F</sup>	26.78±1.78 <sup>F</sup>	70.34±3.76 <sup>F</sup>
	시료 10 (D사)	9.75±0.13 <sup>E</sup>	29.58±0.49 <sup>E</sup>	77.23±1.30 <sup>DE</sup>

모든 수치는 평균±표준오차.

A-G는 같은 열에서 서로 다른 문자는 유의적 차이를 나타냄( $p < 0.05$ ).

- 본 연구에서 국내 유통되는 합성 아질산염 첨가/무첨가 햄 제품과 한국형 합성 아질산염 대체 기술로 제조된 햄의 품질 특성을 비교한 결과 배합 비율, 착색제 첨가 여부 등에 따른 차이로 인해 한국형 합성 아질산염 대체 햄 제품의 적색도는 매우 낮았음. 하지만 한국형 합성 아질산염 대체 기술로 제조된 햄 제품은 합성 아질산염 무첨가 제품과 비교하여 염지 육색소 및 염지 효율에서 효과적이었으며, 심지어 일

부 시판 합성 아질산염 첨가 제품보다 높은 염지 육색소와 염지 효율을 보여 염지 햄 제품에서 한국형 합성 아질산염 대체 기술의 상업화 가능성을 보였음.

다) 한국형 합성 아질산염 대체 기술을 적용한 육제품에 대한 국가공인시험기관 분석 결과

(1) 한국형 합성 아질산염 대체 기술을 적용한 육제품의 적색도(a\*-value) 및 아질산이온 함량

- 국산 채소 분말 및 김치 발효미생물(WiKim0113, *Staphylococcus hominis*)을 이용한 한국형 합성 아질산염 대체 육제품의 발색 효과 및 법적 안정성을 검증하기 위하여 합성 아질산염 첨가 육제품과 한국형 합성 아질산염 대체 육제품 제조한 후<표 131>, 국가공인시험기관에 적색도와 아질산이온 함량 분석을 의뢰하였음.

<표 131> 합성 아질산염 첨가 및 대체 육제품의 제조 비율

재 료(%)	돈육 등심 햄		돈육 분쇄형 소시지	
	합성 아질산염 첨가	합성 아질산염 대체	합성 아질산염 첨가	합성 아질산염 대체
돈 육(등심)	100.000	100.000	0.000	0.000
돈 육(후지)	0.000	0.000	70.000	70.000
지 방	0.000	0.000	15.000	15.000
얼음/물	22.140	20.377	15.000	15.000
소 금	1.500	1.500	1.500	1.500
인산염	0.300	0.300	0.300	0.300
포도당	1.000	1.193	1.000	1.066
아질산나트륨	0.010	0.000	0.007	0.000
아스코르브산나트륨	0.050	0.050	0.050	0.050
배추 분말	0.000	0.385	0.000	0.132
WiKim0113	0.000	0.039	0.000	0.013
수용성 패각칼슘	0.000	1.156	0.000	0.395
합 계	125.00	125.00	102.857	103.456

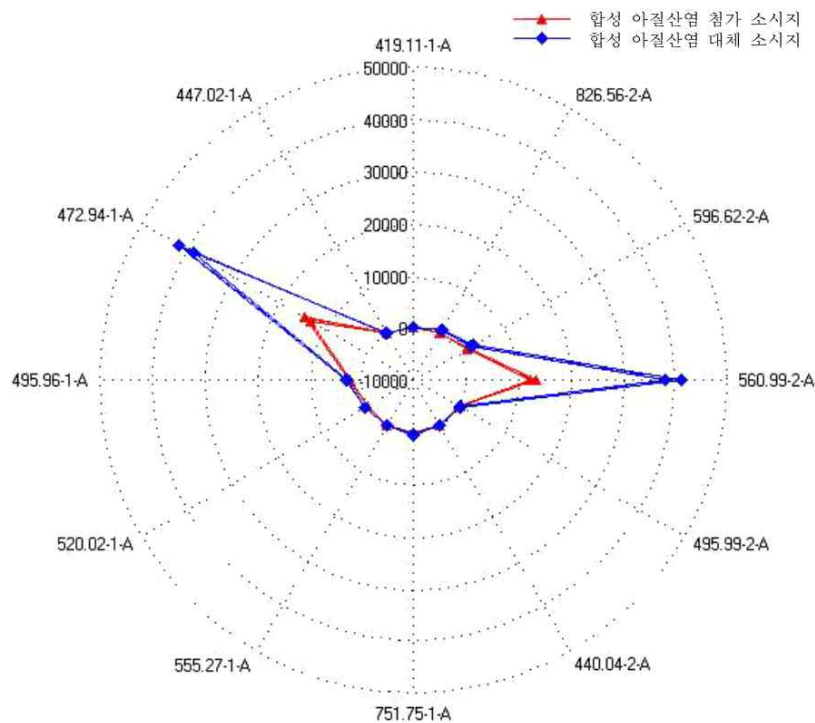
- 국가공인시험기관에서 분석한 합성 아질산염 첨가 및 대체 육제품의 적색도(a\*-value)와 아질산이온 함량은 <표 132>와 같음.
- 국가공인시험기관에서 분석한 돈육 등심 햄의 적색도는 합성 아질산염 대체 등심 햄(6.45)이 합성 아질산염 첨가 등심 햄(5.88)보다 높았음. 반면, 돈육 소시지에서는 합성 아질산염 대체 소시지의 적색도(6.17)가 더 낮았으며, 이는 합성 아질산염을 첨가 소시지(6.85) 대비 약 90%의 적색도를 나타내었음.
- 합성 아질산염 첨가 및 대체 육제품의 아질산이온 함량은 합성 아질산염 첨가 여부와 육제품의 종류와 관계없이 0.02~0.03g/kg이었음. 햄류 및 소시지류의 아질산이온 함량의 법적 기준은 0.07g/kg 미만으로, 국산 채소 분말 및 김치 발효미생물을 이용한 한국형 합성 아질산염 대체 육제품은 법적 식품 규격을 충족하였음.

<표 132> 합성 아질산염 첨가 및 대체 육제품의 적색도(a\*-value)와 아질산이온 함량에 대한 국가공인시험기관의 분석 결과

육제품 종류	합성 아질산염 첨가 여부	적색도(a*-value)	아질산이온 함량 (g/kg)
돈육 등심 햄	합성 아질산염 첨가	5.88	0.02
	합성 아질산염 대체	6.45	0.02
돈육 분쇄형 소시지	합성 아질산염 첨가	6.85	0.03
	합성 아질산염 대체	6.17	0.02

(2) 한국형 합성 아질산염 대체 기술을 적용한 육제품의 관능적 특성

- 국산 채소 분말 및 김치 발효미생물(WiKim0113, *Staphylococcus hominis*)을 이용한 한국형 합성 아질산염 첨가 육제품의 관능적 특성을 검증하기 위하여 이전 <표 131>과 같이 합성 아질산염 첨가 소시지와 한국형 합성 아질산염 대체 소시지를 제조한 후, 국가공인시험기관에 관능적 특성(전자 코 및 전자 혀) 분석을 의뢰하였음.
- 전자 코 분석 결과 모든 소시지 472.94-1-A와 560.99-2-A에서 높은 peak를 보였는데<그림 78>, 이들 peak(472.94-1-A 및 560.99-2-A)의 예상 성분은 ethanol이었음. 합성 아질산염 대체 소시지는 합성 아질산염 첨가 소시지보다 약 2배 이상의 ethanol 향미를 나타낸 것으로 판단됨.



<그림 78> 합성 아질산염 첨가 및 대체 소시지의 전자 코 분석 결과

- 합성 아질산염 첨가 및 대체 소시지의 전자 혀 분석 결과는 <표 133>과 같음. 국산 배추 분말 및 김치 발효 미생물을 이용한 한국형 합성 아질산염 대체 소시지는 합성 아질산염 대체 소시지보다 단맛, 짠맛 및 쓴맛은 낮았으나, 신맛은 높았음. 한편, 합성 아질산염 대체 소시지와 합성 아질산염 대체 소시지의 감칠맛은 비교적 유사하였음.



<표 133> 합성 아질산염 첨가 및 대체 소시지의 전자 혀 분석 결과

분석 시료	단맛	짠맛	쓴맛	신맛	감칠맛
합성 아질산염 첨가 소시지	6.4	6.7	6.9	4.3	5.9
합성 아질산염 대체 소시지	5.6	5.3	5.1	7.7	6.1

시험·검사 성적서

발행번호	R202111-2557	접수번호	211100590-003
검사연월일	2021-09-09	접수연월일	2021-09-31
제품명	돈육소시지(첨가 아질산염 대체제)		
(품목)제조번호		품목제조신고번호	
유형·재질·품목명	소시지		
제조(수입)일		유통(품질유지)기한	
의뢰자	성명 신광원 소재지 (48434) 부산광역시 남구 수영로 309 경성대학교 (전화번호: , 팩스번호: 0504-314-7659 , 전자우편: processing402@naver.com )	업체명 업체명 경성대학교산학협력단	
제조원	업체명 소제지	제조국	
시험·검사목적	식품   기타(참고용)		
시험·검사 항목 및 결과			
시험·검사 항목	시험·검사 기준	시험·검사 결과	비고
아질산이온 (g/kg)		0.02	
중합판정 : - 시험·검사원 : 안준규 시험·검사책임자 : 유다해 - 이 성적서는 의뢰자가 제시한 시료 및 시료명으로 시험한 결과로서 참고용에 한하여 사용 할 수 있으며, 총보, 선전, 광고 및 소송용 등 용도 이외의 사용을 금합니다. 2021년 09월 09일 주식회사 한국분석센터			
주소 : (48792)부산광역시 동구 고관로 46 부림빌딩 4층, 전화 : 051714-4691, 팩스 : 051714-4692			

시험·검사 성적서

발행번호	R202111-2556	접수번호	211100590-002
검사연월일	2021-09-09	접수연월일	2021-09-31
제품명	돈육소시지(합성 아질산염)		
(품목)제조번호		품목제조신고번호	
유형·재질·품목명	소시지		
제조(수입)일		유통(품질유지)기한	
의뢰자	성명 신광원 소재지 (48434) 부산광역시 남구 수영로 309 경성대학교 (전화번호: , 팩스번호: 0504-314-7659 , 전자우편: processing402@naver.com )	업체명 업체명 경성대학교산학협력단	
제조원	업체명 소제지	제조국	
시험·검사목적	식품   기타(참고용)		
시험·검사 항목 및 결과			
시험·검사 항목	시험·검사 기준	시험·검사 결과	비고
아질산이온 (g/kg)		0.03	
중합판정 : - 시험·검사원 : 안준규 시험·검사책임자 : 유다해 - 이 성적서는 의뢰자가 제시한 시료 및 시료명으로 시험한 결과로서 참고용에 한하여 사용 할 수 있으며, 총보, 선전, 광고 및 소송용 등 용도 이외의 사용을 금합니다. 2021년 09월 09일 주식회사 한국분석센터			
주소 : (48792)부산광역시 동구 고관로 46 부림빌딩 4층, 전화 : 051714-4691, 팩스 : 051714-4692			

시험·검사 성적서

발행번호	R202111-3379-1	접수번호	211100811-001
검사연월일	2021-11-11	접수연월일	2021-11-04
제품명	돈육소시지(첨가 아질산염)		
(품목)제조번호		품목제조신고번호	
유형·재질·품목명			
제조(수입)일		유통(품질유지)기한	
의뢰자	성명 신광원 소재지 (48434) 부산광역시 남구 수영로 309 경성대학교 (전화번호: , 팩스번호: 0504-314-7659 , 전자우편: processing402@naver.com )	업체명 업체명 경성대학교산학협력단	
제조원	업체명 소제지	제조국	
시험·검사목적	식품   기타(참고용)		
시험·검사 항목 및 결과			
시험·검사 항목	시험·검사 기준	시험·검사 결과	비고
색도-L	-	69.2566	
색도-a	-	6.8516	
색도-b	-	9.0106	
중합판정 : - 시험·검사원 : 안준규 시험·검사책임자 : 유다해 - 이 성적서는 의뢰자가 제시한 시료 및 시료명으로 시험한 결과로서 참고용에 한하여 사용 할 수 있으며, 총보, 선전, 광고 및 소송용 등 용도 이외의 사용을 금합니다. 2021년 11월 11일 주식회사 한국분석센터			
주소 : (48792)부산광역시 동구 고관로 46 부림빌딩 4층, 전화 : 051714-4691, 팩스 : 051714-4692			

시험·검사 성적서

발행번호	R202111-3379-1	접수번호	211100811-002
검사연월일	2021-11-11	접수연월일	2021-11-04
제품명	돈육소시지(첨가 아질산염대체제)		
(품목)제조번호		품목제조신고번호	
유형·재질·품목명			
제조(수입)일		유통(품질유지)기한	
의뢰자	성명 신광원 소재지 (48434) 부산광역시 남구 수영로 309 경성대학교 (전화번호: , 팩스번호: 0504-314-7659 , 전자우편: processing402@naver.com )	업체명 업체명 경성대학교산학협력단	
제조원	업체명 소제지	제조국	
시험·검사목적	식품   기타(참고용)		
시험·검사 항목 및 결과			
시험·검사 항목	시험·검사 기준	시험·검사 결과	비고
색도-L	-	69.7548	
색도-a	-	6.1658	
색도-b	-	10.3215	
중합판정 : - 시험·검사원 : 안준규 시험·검사책임자 : 유다해 - 이 성적서는 의뢰자가 제시한 시료 및 시료명으로 시험한 결과로서 참고용에 한하여 사용 할 수 있으며, 총보, 선전, 광고 및 소송용 등 용도 이외의 사용을 금합니다. 2021년 11월 11일 주식회사 한국분석센터			
주소 : (48792)부산광역시 동구 고관로 46 부림빌딩 4층, 전화 : 051714-4691, 팩스 : 051714-4692			

<그림 79> 합성 아질산염 첨가 및 대체 소시지의 적색도(a\*-value)와 아질산이온 함량에 대한 국가공인시험기관 시험 성적서



시험·검사 성적서

발행번호	R202111-3381-1	접수번호	211100811-003	
검사완료일	2021-11-12	접수연월일	2021-11-04	
제품명	등심햄(합성아질산염)			
(품목)제조번호		품목제조신고번호		
유형·재질·품목명				
제조(수입)일		유통(품질유지)기관		
의뢰자	성명	신강원	업체명	경성대학교산학협력단
	소재지	[48434] 부산광역시 남구 수영로 309 경성대학교 (전화번호: 0504-314-7859, 팩스번호: 0504-314-7859, 전자우편: processing402@naver.com)		
제조원	업체명		제조국	
	소재지			
시험·검사목적	식품   기타(광고용)			
시험·검사 항목 및 결과				
시험·검사 항목	시험·검사 기준	시험·검사 결과	비고	
색도-L	-	70.9411		
색도-a	-	5.8823		
색도-b	-	9.4362		
아질산이온 (g/kg)	-	0.02		
종합판결 : -				
시험·검사원 : 안준구		시험·검사책임자 : 유다혜		
- 이 성적서는 의뢰자가 제시한 시료 및 시료명으로 시험한 결과로서 광고용에 한하여 사용 할 수 있으며, 홍보, 선전, 광고 및 소송용 등 용도 이외의 사용을 금합니다.				
2021년 11월 12일				
주식회사 한국분석센터				
주소 : [48792]부산광역시 동구 고래로 46 부림빌딩 4층, 전화 : 051714-4691, 팩스 : 051714-4692				

시험·검사 성적서

발행번호	R202111-3381-1	접수번호	211100811-004	
검사완료일	2021-11-12	접수연월일	2021-11-04	
제품명	등심햄(천연아질산염대체)			
(품목)제조번호		품목제조신고번호		
유형·재질·품목명				
제조(수입)일		유통(품질유지)기관		
의뢰자	성명	신강원	업체명	경성대학교산학협력단
	소재지	[48434] 부산광역시 남구 수영로 309 경성대학교 (전화번호: 0504-314-7859, 팩스번호: 0504-314-7859, 전자우편: processing402@naver.com)		
제조원	업체명		제조국	
	소재지			
시험·검사목적	식품   기타(광고용)			
시험·검사 항목 및 결과				
시험·검사 항목	시험·검사 기준	시험·검사 결과	비고	
색도-L	-	70.6649		
색도-a	-	6.4506		
색도-b	-	8.9487		
아질산이온 (g/kg)	-	0.02		
종합판결 : -				
시험·검사원 : 안준구		시험·검사책임자 : 유다혜		
- 이 성적서는 의뢰자가 제시한 시료 및 시료명으로 시험한 결과로서 광고용에 한하여 사용 할 수 있으며, 홍보, 선전, 광고 및 소송용 등 용도 이외의 사용을 금합니다.				
2021년 11월 12일				
주식회사 한국분석센터				
주소 : [48792]부산광역시 동구 고래로 46 부림빌딩 4층, 전화 : 051714-4691, 팩스 : 051714-4692				

<그림 80> 합성 아질산염 첨가 및 대체 햄의 적색도(a\*-value)와 아질산이온 함량에 대한 국가공인시험기관 시험 성적서



시험·분석 결과보고서

2021년 9월 17일

한국식품산업클러스터진흥원

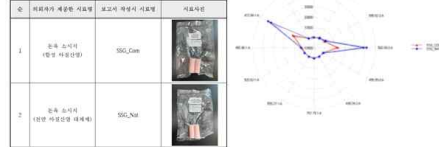
\* 본 시험/분석 결과는 의뢰자가 제공한 시료로 한정하여 홍보, 선전, 광고 및 법적 증빙용으로 사용을 금합니다.

결과보고서 요약

신청인	기업명	경성대학교 산학협력단	대표자	신강원
	주소	부산광역시 남구 수영로 309 경성대학교	연락처	-
수행기관	기관명	한국식품산업클러스터진흥원	대표자	김영재
	주소	전북 익산시 왕궁면 국가식품로 100	연락처	063-720-0614
	책임자	강성란 팀장		
	시험원	박주현 대리		
시료정보	접수번호	QS-21-214		
	시료명	돈육 소시지(합성 아질산염) 외 1		
	목적	연구용		
	분석항목	전자코, 전자혀		

요약

1. 분석의뢰대상
2. 시료의뢰: 돈육 소시지(합성 아질산염), 돈육 소시지(천연 아질산염 대체)
3. 채취기관: 경성대학교 산학협력단
4. 시료명상: 고체
5. 시료저장: -



	AHS*	PKS	CTS**	NMS***	CPS	ANS	SCS
SSG_Com	4.3	6.4	6.7	5.9	6.2	6.9	7.8
SSG_Nat	7.7	5.6	5.3	6.1	5.8	5.1	4.2

\* Measurement taste of each sensor of sensor array

Sensor	Measurement taste	Representative measurement taste
AHS	Sourness, Astringency, Bitterness	Sourness
PKS	Sweetness	Sweetness
CTS	Saltiness	Saltiness
NMS	Umami, Saltiness, Astringency	Umami
ANS	Bitterness	Bitterness

<그림 81> 합성 아질산염 첨가 및 대체 소시지의 전자 코 및 전자 혀에 대한 국가공인시험기관 시험 성적서

## 2-6. 국산 채소류 및 김치 발효미생물의 상업화를 위한 홍보 및 마케팅 강화

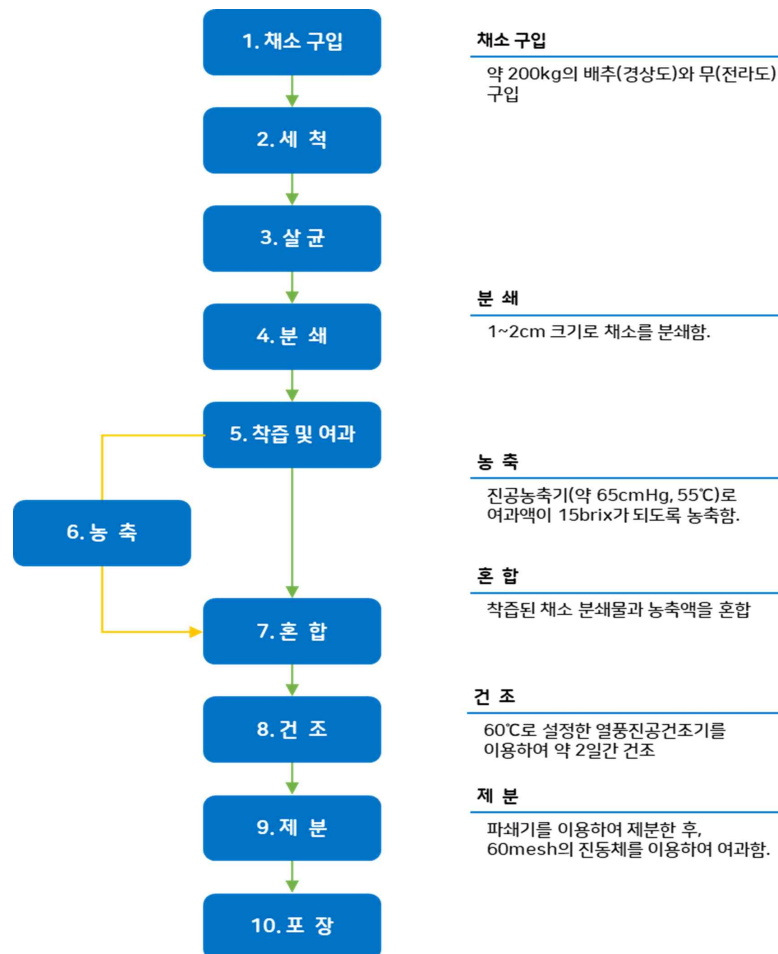
세부 연구개발 목표	세부 연구개발 내용 및 범위	연구비(천원)	연구개발기관
<ul style="list-style-type: none"> <li>국산 채소류의 합성아질산염 대체 소재 대량 생산체계 구축 및 개발</li> <li>제품의 경제성 분석 및 홍보방안 마련</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>시제품 제조</li> <li>상품화를 위한 개발제품의 경제성 분석</li> <li>홍보를 위한 유사제품의 유통현황 분석 및 브로슈어 제작</li> </ul>	18,000	(주)티오에프

### [세부 연구개발 목표] 국산 채소류의 합성 아질산염 대체 소재 대량 생산체계 구축 및 개발 제품의 경제성 분석 및 홍보방안 마련

#### 가. 연구수행 방법

##### 1) 생산 위탁을 통한 시제품 제조

- 경성대학교(lab scale)에서 제조한 공정을 토대로 pilot scale 시생산을 진행하였음.
- (주)티오에프에서는 각각 200kg의 배추와 무를 구입하여 세척, 살균, 분쇄, 착즙, 여과, 농축, 건조 및 제분 공정을 통해 채소 분말을 제조하였고, 경성대학교는 약 2.5kg의 배추와 무를 세척, 탈수, 분쇄, 건조 및 제분하여 채소 분말을 제조하였음.
- 시생산은 <그림 82>와 같이 진행함.



<그림 82> (주)티오에프(plant scale)의 채소 분말 제조공정

2) 홍보를 위한 유사 제품의 유통현황 분석 및 브로슈어 제작

- 2021 COEX FOOD WEEK(제 16회 서울국제식품산업전 전시회(2021년 11월 24일 ~ 11월 27일)에 부스전시 참석하여 홍보 및 시장조사를 진행함.

나. 연구수행 내용 및 결과

1) 생산 위탁을 통한 시제품 제조



<그림 83> 시생산한 배추, 무분말

제조원	배추 분말		무 분말	
	건조 전	건조 후	건조 전	건조 후
(주)티오에프 (plant scale)				
경성대학교 (lab scale)				

<그림 84> 채소 입자 및 채소 분말의 외관 비교

- 건조 전 분쇄한 채소의 입자는 약 0.5~2cm의 불균일한 형태였음. 경성대학교(lab scale)에서 제조한 채소 분말의 외관은 비교적 채소 고유의 색상을 유지했지만, (주)티오에프(plant scale)에서 제조한 채소 분말의 경우, 어두운 갈색이었음. 명도는 채소 종류와 관계없이 경성대학교(lab scale)에서 제조한 채소 분말이 (주)티오에프(plant

scale)에서 제조한 채소 분말보다 높았음( $p < 0.05$ ). 반면, 적색도는 (주)티오에프(plant scale)에서 제조한 채소 분말에서 유의적으로 더 높은 값을 보였음( $p < 0.05$ ). 황색도의 경우 배추 분말은 제조원에 따른 차이를 보이지 않았음( $p > 0.05$ ). 그러나 무 분말은 (주)티오에프(plant scale)에서 제조한 분말에서 29.03으로 경성대학교(lab scale)에서 제조한 분말(18.10)보다 높은 황색도를 보였음( $p < 0.05$ ). 이러한 결과는 plant scale의 채소 건조 시 입자 크기(표면적)와 건조 처리량 등의 차이로 인한 건조시간이 증가하여 채소의 외부가 과도하게 건조되어 외관 및 색도에 영향을 미친 것으로 판단됨.

<표 134> 채소 분말의 명도, 적색도 및 황색도 비교

분석 항목	시 료	(주)티오에프 (plant scale)	경성대학교 (lab scale)
명도(CIE L*)	배추 분말	57.67±1.50 <sup>B</sup>	76.18±0.49 <sup>A</sup>
	무 분말	66.64±1.45 <sup>B</sup>	89.64±0.25 <sup>A</sup>
적색도(CIE a*)	배추 분말	5.41±0.21 <sup>A</sup>	-6.21±0.16 <sup>B</sup>
	무 분말	7.51±0.28 <sup>A</sup>	-0.82±0.04 <sup>B</sup>
황색도(CIE b*)	배추 분말	25.07±0.98 <sup>A</sup>	25.32±1.32 <sup>A</sup>
	무 분말	29.03±0.37 <sup>A</sup>	18.10±0.25 <sup>B</sup>

<표 135> 채소 분말의 수분함량 비교

분석 항목	시 료	(주)티오에프 (plant scale)	경성대학교 (lab scale)
수분함량(%)	배추 분말	6.98±0.74 <sup>A</sup>	5.73±0.30 <sup>B</sup>
	무 분말	5.05±0.08 <sup>A</sup>	3.87±0.33 <sup>B</sup>

- (주)티오에프에서 제조한 배추와 무 분말의 수분함량은 각각 6.98% 및 5.05%로 경성대학교(lab scale)에서 제조한 채소 분말보다 수분함량(배추 분말 : 5.73%, 무 분말 (3.87%)이 높았음( $p < 0.05$ ).

<표 136> 채소 분말의 아질산나트륨 함량 비교

분석 항목	시 료	(주)티오에프 (plant scale)	경성대학교 (lab scale)
아질산나트륨(ppm)	배추	0.14±0.00 <sup>A</sup>	0.14±0.00 <sup>A</sup>
	배추 분말	0.81±0.00 <sup>A</sup>	0.14±0.00 <sup>B</sup>
	무	0.20±0.00 <sup>B</sup>	0.27±0.00 <sup>A</sup>
	무 분말	0.27±0.00 <sup>B</sup>	1.35±0.00 <sup>A</sup>

- 배추를 제외한 채소 및 채소 분말의 아질산나트륨 함량은 유의적인 차이가 있었으나 ( $p < 0.05$ ), (주)티오에프(plant scale)와 경성대학교(lab scale)에서 사용 및 제조한 모든 채소 및 채소 분말은 2 ppm 미만의 낮은 아질산나트륨을 함유하고 있었음.
- (주)티오에프(plant scale)에서 제조한 배추 분말의 질산나트륨 함량은 42,333 ppm으로 경성대학교(lab scale)에서 제조한 배추 분말의 질산나트륨 함량(42,979 ppm)과 유사하였음( $p > 0.05$ ). 반면, 무 분말은 경성대학교(lab scale)에서 제조한 분말(14,201 ppm)이 (주)티오에프(plant scale)에서 제조한 분말(13,136 ppm)보다 높은 질산나트륨 함량을 나타내었음( $p < 0.05$ ). 경성대학교(lab scale)에서 제조한 무 분말은 (주)티오에프(plant scale)에서 제조한 무 분말보다 높은 질산나트륨 함량을 보였음( $p < 0.05$ ). 이는 경성대학교(lab scale)에서 제조한 채소 분말과 (주)티오에프(plant scale)에서 제

조한 채소 분말의 수분함량 및 채소 원료의 질산나트륨 함량 차이로 인해 발생한 것으로 사료됨. 한편, 제조원과 관계없이 무 분말은 배추 분말보다 매우 낮은 질산나트륨 함량을 함유하였는데, 이는 원료 자체의 질산나트륨 함량(배추: 약 1,600 ppm, 무: 약 700 ppm)에 기인한 것으로 판단됨.

<표 137> 채소 분말의 질산나트륨 함량 비교

분석 항목	시 료	(주)티오에프 (plant scale)	경성대학교 (lab scale)
질산나트륨(ppm)	배추	1,609±34 <sup>B</sup>	1,697±39 <sup>A</sup>
	배추 분말	42,333±704 <sup>A</sup>	42,979±969 <sup>A</sup>
	무	702±18 <sup>B</sup>	760±35 <sup>A</sup>
	무 분말	13,136±742 <sup>B</sup>	14,201±381 <sup>A</sup>

발급번호 : MAMM-ABAY-NVXV-GRCS-KPFL

### 식품 · 식품첨가물 품목제조보고서

보고인	성명 김성미	생년월일 1968년 10월 31일		
	주소 부산광역시 해운대구 센텀중앙로 145, 103동 3205	전화번호 휴대전화		
영양소	영양(상호) (주)이삭에프앤비	영양등록번호 20080156135		
	소재지 부산광역시 기장군 장안읍 오리산단로 132			
제품정보	식품의 유형	과, 채기공품	품목제조보고번호	20080156135166
	제품명	유분말T		
	유통기한	제조일로부터 24개월		
	품질유지기한			
	원재료명 또는 성분명 및 배합비율	뫼장에 기재		
	용도 용법	뫼장에 기재		
	보관방법 및 포장재질	뫼장에 기재		
	포장방법 및 포장단위	뫼장에 기재		
	성상	고유의 색택과 향미를 가지며 이며, 이취가 없다.		
	품목의 특성	<ul style="list-style-type: none"> <li>■ 고열량 · 저지방 식품 해당 여부 [ ]에 [ ]아니오 [O] 해당 있음</li> <li>■ 알, 유아를 섭취대상으로 표시 [ ]에 [ ]아니오</li> <li>■ 판매하는 식품 해당 여부 [ ]에 [ ]아니오</li> <li>■ 고열량식품으로 표시해 판매하는 식품의 해당 여부 [ ]에 [ ]아니오</li> <li>■ 살균 · 멸균 제품의 해당 여부 [O]아니오 [ ]살균 [ ]멸균</li> </ul>		
기타				

「식품위생법」 제37조 제5항 및 같은 법 시행규칙 제45조 제1항에 따라 식품 (식품첨가물) 품목제조 사항을 보고합니다.

2022년 01월 05일  
보고인 김성미

부산광역시 기장군수 귀하

품목보고번호 : 20080156135166

처리부서	항조경제국 환경위생과	처리지성명	이경진	처리일자	2022년 01월 06일
------	-------------	-------	-----	------	---------------

발급번호 : MAMM-ABAY-YELG-XXQS-VDCC

### 식품 · 식품첨가물 품목제조보고서

보고인	성명 김성미	생년월일 1968년 10월 31일		
	주소 부산광역시 해운대구 센텀중앙로 145, 103동 3205	전화번호 휴대전화		
영양소	영양(상호) (주)이삭에프앤비	영양등록번호 20080156135		
	소재지 부산광역시 기장군 장안읍 오리산단로 132			
제품정보	식품의 유형	과, 채기공품	품목제조보고번호	20080156135167
	제품명	뫼추분말T		
	유통기한	제조일로부터 24개월		
	품질유지기한			
	원재료명 또는 성분명 및 배합비율	뫼장에 기재		
	용도 용법	뫼장에 기재		
	보관방법 및 포장재질	뫼장에 기재		
	포장방법 및 포장단위	뫼장에 기재		
	성상	고유의 색택과 향미를 가지며 이며, 이취가 없다.		
	품목의 특성	<ul style="list-style-type: none"> <li>■ 고열량 · 저지방 식품 해당 여부 [ ]에 [ ]아니오 [O] 해당 있음</li> <li>■ 알, 유아를 섭취대상으로 표시 [ ]에 [ ]아니오</li> <li>■ 판매하는 식품 해당 여부 [ ]에 [ ]아니오</li> <li>■ 고열량식품으로 표시해 판매하는 식품의 해당 여부 [ ]에 [ ]아니오</li> <li>■ 살균 · 멸균 제품의 해당 여부 [O]아니오 [ ]살균 [ ]멸균</li> </ul>		
기타				

「식품위생법」 제37조 제5항 및 같은 법 시행규칙 제45조 제1항에 따라 식품 (식품첨가물) 품목제조 사항을 보고합니다.

2022년 01월 05일  
보고인 김성미

부산광역시 기장군수 귀하

품목보고번호 : 20080156135167

처리부서	항조경제국 환경위생과	처리지성명	이경진	처리일자	2022년 01월 06일
------	-------------	-------	-----	------	---------------

<그림 85> 무, 배추분말의 품목제조보고서

- 위 공정을 토대로 품목제조보고 및 제품화 진행.





<그림 86> 무, 배추분말 제품출시

## 2) 홍보를 위한 유사 제품의 유통현황 분석 및 브로슈어 제작

- 상기 2 가지 제품의 브로슈어를 제작하고 2021 COEX FOOD WEEK(제 16회 서울국제 식품산업전 전시회(2021년 11월 24일 ~ 11월 27일)에 부스전시 참석하여 제품 2종 홍보진행.

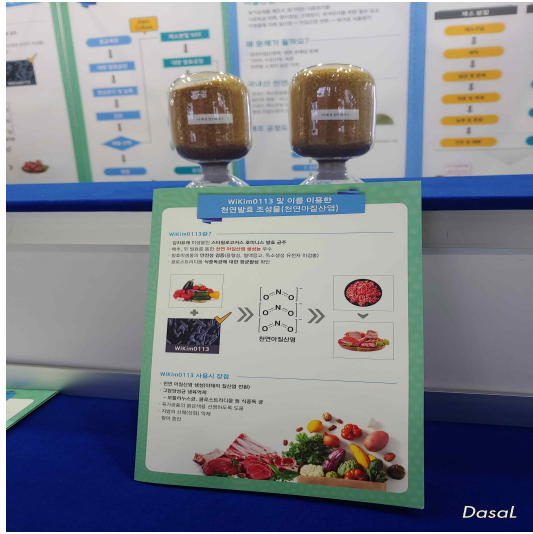
The image displays six brochures for Wikim0113, organized into two rows of three. The top row includes:
 

- Wikim0113 및 이를 이용한 천연발효 조성물(천연아질산염):** Explains the benefits of Wikim0113, such as its safety and effectiveness in food fermentation, and shows its application in various food products.
- Wikim0113을 이용한 천연 발효조성을 생산공정:** A flowchart detailing the production process from 'Start Culture' through various stages like '대량 발효공정' and '재조성 및 농축' to the final '천연발효조성물'.
- Wikim0113 개발 내용:** A detailed technical document with multiple tables and charts, including 'Table 1. Production and characterization of Wikim0113', 'Table 2. Detection and action ability of Wikim0113', and 'Table 3. Detection of phages by phage-tailor-made antibodies'. It also includes a 'Table 4. Phage-tailor-made antibodies for detection of Wikim0113'.

 The bottom row includes:
 

- 육제품 Mix용 천연 채소분말:** A flowchart for vegetable powder production, starting with '채소 구입' and '채취', followed by '살균 및 분쇄', '착즙 및 여과', '농축 및 혼합', '건조 및 계분', and '포장'.
- 육제품 Mix용 천연 채소분말:** A flowchart for vegetable powder production using Wikim0113, starting with '채소 구입' and '채취', followed by '살균 및 분쇄', '착즙 및 여과', '농축 및 혼합', '건조 및 계분', and '포장'.
- 연구 논문 및 특허:** A section detailing research papers and patents related to Wikim0113, including a table of patents and a list of research papers.

<그림 87> 무분말T, 배추분말T 브로슈어



<그림 88> 제 16회 서울국제식품산업전 참석



### 3. 연구개발과제의 수행 결과 및 목표 달성 정도

#### 1) 연구수행 결과

##### (1) 정성적 연구개발성과

- 김치유래 발효미생물의 선발 및 특성 규명완료
- 고효성 질산환원능 김치유래 미생물 발굴 및 안전성 검토완료.
- 선발된 김치 발효미생물의 배양조건 및 특성조사 완료.
- 국산 채소류 및 부산물(무, 배추)을 이용한 합성 아질산염 대체 식품소재 선정완료.
- 합성 아질산염 대체용 채소류 발효특성 조사(질산염 30,000 ppm 이상 확보완료).
- 국산 채소 분말화 최적조건 확립 및 발효미생물 산업용 배양조건 확인완료.
- 선발된 김치유래 발효미생물을 활용한 합성 아질산염 대체 육제품 적용완료(수입산 외국 제품 대체용 가능성 확인).
- 선발된 발효미생물의 대량생산 체계 확립. 수입제품 대비 80%이상 기능 확인.
- 개발된 채소분말과 Starter culture를 활용한 육제품 개발. 목표 30,000ppm 이상대비 실제 개발시 40,000ppm 이상의 질산염 함유 천연소재 개발완료.

##### (2) 정량적 연구개발성과(해당 시 작성하며, 연구개발과제의 특성에 따라 수정이 가능합니다)

< 정량적 연구개발성과표 >

(단위 : 건, 백만원, 명)

성과지표명		연도	1단계	2단계	계	가중치 (%)
			(2019~2021)	(YYYY~YYYY)		
전담기관 등록·기탁 지표	논문(SCI)	목표(단계별)	10		10	-
		실적(누적)	8		8	
	평균 IF	목표(단계별)	1.6		1.6	5
		실적(누적)	2.97		2.97	
	특허출원	목표(단계별)	7		7	5
		실적(누적)	8		8	
	특허등록	목표(단계별)	2		2	5
		실적(누적)	3		3	
	생명자원	목표(단계별)	0		0	-
		실적(누적)	3		3	
	학술발표	목표(단계별)	9		9	10
		실적(누적)	25		25	
연구개발과제 특성 반영 지표	교육지도	목표(단계별)	0		0	-
		실적(누적)	1		1	
	인력양성	목표(단계별)	4		4	5
		실적(누적)	5		5	
	기술이전	목표(단계별)	2		2	10
		실적(누적)	2		2	
	기술료	목표(단계별)	115.2		115.2	5
		실적(누적)	20		20	
	제품화	목표(단계별)	2		2	20
		실적(누적)	2		2	
	매출액	목표(단계별)	30		30	10
		실적(누적)	0		0	
	고용창출	목표(단계별)	2		2	20
		실적(누적)	2		2	
	포상 및 수상	목표(단계별)	0		0	-
		실적(누적)	5		5	
	홍보(전시)	목표(단계별)	2		2	5
		실적(누적)	3		3	
계					100	

(3) 세부 정량적 연구개발성과(해당되는 항목만 선택하여 작성하되, 증빙자료를 별도 첨부해야 합니다)

[과학적 성과]

논문(국내외 전문 학술지) 게재

번호	논문명	학술지명	주저자명	호	국명	발행기관	SCIE 여부 (SCIE/비SCIE)	게재일	등록번호 (ISSN)	기여율
1	Effect of Using Vegetable Powders as Nitrite/Nitrate Sources on the Physicochemical Characteristics of Cooked Pork Products	Food Science of Animal Resources	Jong Youn Jeong	6	대한민국	Korean Society for Food Science of Animal Resources	SCI	2020.09.01	2636-0772	100%
2	Investigating the Effects of Chinese Cabbage Powder as an Alternative Nitrate Source on Cured Color Development of Ground Pork Sausages	Food Science of Animal Resources	Jong Youn Jeong	6	대한민국	Korean Society for Food Science of Animal Resources	SCI	2020-11-01	2636-0772	100%
3	Effect of Radish Powder Concentration and Incubation Time on the Physicochemical Characteristics of Alternatively Cured Pork Products	Journal of Animal Science and Technology	Su Min Bae	6	대한민국	Korean Society of Animal Science and Technology	SCI	2020-11-30	2672-0191	100%
4	Probiotic Properties of Lactiplantibacillus Plantarum LB5 Isolated from Kimchi Based on Nitrate Reducing Capability	Foods	Hyejin Sohn	12	대한민국	MDPI	SCI	2020-11-30	2304-8158	25%
5	Use of Green Tea Extract and Rosemary Extract in Naturally Cured Pork Sausages with White Kimchi Powder	Food science of animal resources	Jiye Yoon	5	대한민국	Korean Society for Food Science of Animal Resources	SCI	2021-09-01	2636-0772	100%
6	Effects of Lemon Extract Powder and Vinegar Powder on the Quality Properties of Naturally Cured Sausages with White Kimchi Powder	Food science of animal resources	Su Min Bae	6	대한민국	Korean Society for Food Science of Animal Resources	SCI	2021-11-01	2636-0772	100%
7	Comparison of the Probiotic Potential between Lactiplantibacillus plantarum Isolated from Kimchi and Standard Probiotic Strains Isolated from Different Sources	Foods	Sung Wook Hong	9	대한민국	MDPI	SCI	2021-09-08	2636-0772	100%
8	Characterization of Staphylococcus hominis subsp. hominis WiKim0113 Isolated from Kimchi as a Starter Culture for the Production of Natural Pre-converted Nitrite	Food science of animal resources	Hye Iyeon Hwang	4	대한민국	Korean Society for Food Science of Animal Resources	SCI	2020-04-06	2636-0772	100%

국내 및 국제 학술회의 발표

번호	회의 명칭	발표자	발표 일시	장소	국명
1	2019 KFN International Symposium and Annual Meeting	배수민, 조민국, 홍기택, 최재형, 정다훈, 윤지예, 정종연	2019. 10. 24.	제주국제컨벤션센터(제주ICC)	대한민국
2	2019 KFN International Symposium and Annual Meeting	최재형, 조민국, 홍기택, 배수민, 임동엽, 정종연, 조민국, 홍기택, 최재형	2019. 10. 24.	제주국제컨벤션센터(제주ICC)	대한민국
3	2019 KFN International Symposium and Annual Meeting	배수민, 윤지예, 연다경, 정종연	2019. 10. 24.	제주국제컨벤션센터(제주ICC)	대한민국
4	2019 KFN International Symposium and Annual Meeting	배수민, 최재형, 조민국, 홍기택, 연다경, 정종연	2019. 10. 24.	제주국제컨벤션센터(제주ICC)	대한민국
5	2019 KFN International Symposium and Annual Meeting	최재형, 홍기택, 조민국, 배수민, 연다경, 정종연	2019. 10. 24.	제주국제컨벤션센터(제주ICC)	대한민국
6	2019 KFN International Symposium and Annual Meeting	이호재, 황혜련, 김태운, 이미애, 강성욱, 홍성욱	2019. 10. 25	제주국제컨벤션센터(제주ICC)	대한민국
7	2020 KFN International Symposium and Annual Meeting	배수민, 윤지예, 박승화, 정다훈, 정종연	2020. 10. 21. ~ 2020. 10. 23.	제주국제 컨벤션센터	대한민국
8	2020 KFN International Symposium and Annual Meeting	배수민, 윤지예, 정다훈, 박승화, 정종연	2020. 10. 21. ~ 2020. 10. 23.	제주국제 컨벤션센터	대한민국
9	52 <sup>nd</sup> KoSFA International Symposium and Annual Meeting	윤지예, 배수민, 박승화, 정다훈, 정종연	2020. 10. 29. ~ 2020. 10. 30.	온라인 생중계	대한민국
10	52 <sup>nd</sup> KoSFA International Symposium and Annual Meeting	윤지예, 배수민, 정다훈, 박승화, 정종연	2020. 10. 29. ~ 2020. 10. 30.	온라인 생중계	대한민국
11	한국축산학회	손혜진	2020.8.27	온라인	대한민국
12	한국낙농식품응용생물학회	손혜진	2020.10.16	온라인	대한민국
13	2020한국미생물생명공학회 e-Conference	홍성욱, 황혜련, 이호재, 김태운	2020.9.23.~25.	온라인	대한민국
14	2020년 한국식품영양과학회 국제 심포지엄 및 정기학술대회	황혜련, 이호재, 손혜진, 김태운, 한성구, 홍성욱	2020.10.21.	제주국제 컨벤션센터	대한민국
15	53rd KoSFA International Symposium and Annual Meeting	배수민, 정종연	2021.05.27	온라인	대한민국
16	53rd KoSFA International Symposium and Annual Meeting	배수민, 정종연	2021.05.27	온라인	대한민국
17	2021 KoSFoST International Symposium and Annual Meeting	윤지예, 정종연	2021.07.07.	대전컨벤션센터	대한민국
18	2021 KoSFoST International Symposium and Annual Meeting	박승화, 정종연	2021.07.07.	대전컨벤션센터	대한민국
19	2021 KFN International Symposium and Annual Meeting	강선영, 정종연	2021.10.27	부산 벅스코	대한민국
20	2021 KFN International Symposium and Annual Meeting	윤지예, 정종연	2021.10.29	부산 벅스코	대한민국
21	2021 KFN International Symposium and Annual Meeting	박승화, 정종연	2021.10.29	부산 벅스코	대한민국
22	2021 KFN International Symposium and Annual Meeting	강선영, 정종연	2021.10.27	부산 벅스코	대한민국
23	2021 KFN International Symposium and Annual Meeting	정다훈, 정종연	2021.10.27	부산 벅스코	대한민국
24	KMB 2021	이호재, 홍성욱	2021.06.23	부산 벅스코	대한민국
25	KMB 2021	황혜련, 홍성욱	2021.06.24	부산 벅스코	대한민국

기술 요약 정보

연도	기술명	요약 내용	기술 완성도	등록 번호	활용 여부	미활용사유	연구개발기관 외 활용여부	허용방식

보고서 원문

연도	보고서 구분	발간일	등록 번호

생명자원(생물자원, 생명정보)/화합물

번호	생명자원(생물자원, 생명정보)/화합물 명	등록/기탁 번호	등록/기탁 기관	발생 연도
1	<i>Staphylococcus hominis</i> WiKim0113	KACC81108BP	한국농업미생물자원센터	2019.11.04
2	<i>Lactobacillus plantarum</i> WiKim0112	KCCM12811P	한국미생물보존센터	2020.10.22
3	<i>Staphylococcus hominis</i> WiKim0113 미생물 유전체 생명정보	PRJNA750864	GenBank/EMBL/DDBJ	2021.07.30

[기술적 성과]

□ 지식재산권(특허, 실용신안, 의장, 디자인, 상표, 규격, 신제품, 프로그램)

번호	지식재산권 등 명칭 (건별 각각 기재)	국명	출원			등록			기여율	활용 여부
			출원인	출원일	출원 번호	등록인	등록일	등록 번호		
1	천연 아질산염을 생산하는 스타필로코커스 호미니스 WiKim0113 및 이를 이용한 천연발효 조성물	대한민국	한국식품연구원	2019.11.18	10-2019-0147858	한국식품연구원	2020.11.17	10-2181880	100%	√
2	고농도의 질산염을 가지는 채소 분말의 제조 방법 및 상기 제조된 채소 분말을 이용한 합성 아질산염 무첨가 육제품의 제조방법	대한민국	경성대학교 산학협력단	2019.11.27	10-2019-0154184	경성대학교 산학협력단	2021.10.28	10-2321463	100%	√
3	질산염 제거능을 갖는 락토바실러스 플란타룸 WiKim0112 및 이를 포함하는 조성물	대한민국	한국식품연구원, 건국대학교 산학협력단	2020.10.28	10-2020-0141505	한국식품연구원, 건국대학교 산학협력단	2021.10.18	10-2316396	100%	
4	백김치 분말 및 아세로라즙 분말을 함유하는 합성 아질산염 대체용 첨가제	대한민국	경성대학교 산학협력단	2020.10.19	10-2020-0135424	-	-	-	100%	
5	배추 분말 또는 무 분말을 함유하는 합성 아질산염 대체용 첨가제	대한민국	경성대학교 산학협력단	2020.10.22	10-2020-0137229	-	-	-	100%	√
6	배추 분말을 함유하는 합성 아질산염 대체용 첨가제	대한민국	경성대학교 산학협력단	2020.10.22	10-2020-0137228	-	-	-	100%	
7	백김치 분말과 천연 항산화제 및 항미생물제를 포함하는 합성 아질산염 대체용 첨가제	대한민국	경성대학교 산학협력단	2021.03.11	10-2021-0032041	-	-	-	100%	
8	표준화된 채소 분말을 함유한 합성 아질산염 대체용 첨가제 및 이를 이용한 합성 아질산염 무첨가 육제품	대한민국	경성대학교 산학협력단	2021.05.28	10-2021-0069506	-	-	-	100%	

○ 지식재산권 활용 유형

※ 활용의 경우 현재 활용 유형에 √ 표시, 미활용의 경우 향후 활용 예정 유형에 √ 표시합니다(최대 3개 중복선택 가능).

번호	제품화	방어	전용실시	통상실시	무상실시	매매/양도	상호실시	담보대출	투자	기타
1				√						
2						√				
3				√						
4				√						
5						√				
6				√						
7				√						
8				√						

□ 저작권(소프트웨어, 서적 등)

번호	저작권명	창작일	저작자명	등록일	등록 번호	저작권자명	기여율

□ 신기술 지정

번호	명칭	출원일	고시일	보호 기간	지정 번호

□ 기술 및 제품 인증

번호	인증 분야	인증 기관	인증 내용		인증 획득일	국가명
			인증명	인증 번호		

□ 표준화

○ 국내표준

번호	인증구분 <sup>1)</sup>	인증여부 <sup>2)</sup>	표준명	표준인증기구명	제안주체	표준종류 <sup>3)</sup>	제안/인증일자

- \* 1) 한국산업규격(KS) 표준, 단체규격 등에서 해당하는 사항을 기재합니다.
- \* 2) 제안 또는 인증 중 해당하는 사항을 기재합니다.
- \* 3) 신규 또는 개정 중 해당하는 사항을 기재합니다.

○ 국제표준

번호	표준화단계구분 <sup>1)</sup>	표준명	표준기구명 <sup>2)</sup>	표준분과명	의장단 활동여부	표준특허 추진여부	표준개발 방식 <sup>3)</sup>	제안자	표준화 번호	제안일자

- \* 1) 국제표준 단계 중 신규 작업항목 제안(NP), 국제표준초안(WD), 위원회안(CD), 국제표준안(DIS), 최종국제표준안(FDIS), 국제표준(IS) 중 해당하는 사항을 기재합니다.
- \* 2) 국제표준화기구(ISO), 국제전기기술위원회(IEC), 공동기술위원회1(JTC1) 중 해당하는 사항을 기재합니다.
- \* 3) 국제표준(IS), 기술시방서(TS), 기술보고서(TR), 공개활용규격(PAS), 기타 중 해당하는 사항을 기재합니다.

[경제적 성과]

□ 시제품 제작

번호	시제품명	출시/제작일	제작 업체명	설치 장소	이용 분야	사업화 소요 기간	인증기관 (해당 시)	인증일 (해당 시)

□ 기술 실시(이전)

번호	기술 이전 유형	기술 실시 계약명	기술 실시 대상 기관	기술 실시 발생일	기술료 (해당 연도 발생액)	누적 징수 현황
1	통상실시권	천연 아질산염을 생산하는 스타필로코커스 호미니스 WiKim0113 및 이를 포함하는 천연발효 조성물 특허 및 균주 2건 기술이전	우진비앤지(주)	2021.12.24	10,000,000	10,000,000
2	양도	고농도의 질산염을 가지는 채소 분말의 제조 방법 및 상기 제조된 채소 분말을 이용한 합성 아질산염 무첨가 육제품의 제조방법 특허 양도	우진비앤지(주)	2021.12.10	5,000,000	5,000,000
3	양도	배추 분말 또는 무 분말을 함유하는 합성 아질산염 대체용 첨가제 특허 양도	우진비앤지(주)	2021.12.10	5,000,000	5,000,000

\* 내부 자금, 신용 대출, 담보 대출, 투자 유치, 기타 등

□ 사업화 투자실적

번호	추가 연구개발 투자	설비 투자	기타 투자	합계	투자 자금 성격*

□ 사업화 현황

번호	사업화 방식 <sup>1)</sup>	사업화 형태 <sup>2)</sup>	지역 <sup>3)</sup>	사업화명	내용	업체명	매출액		매출 발생 연도	기술 수명
							국내 (천원)	국외 (달러)		
1	자기실시	신제품 개발	국내	무분말T	품목제조 보고	(주)이삭에 프엔비				
2	자기실시	신제품 개발	국내	배추분말T	품목제조 보고	(주)이삭에 프엔비				

\* 1) 기술이전 또는 자기실시

\* 2) 신제품 개발, 기존 제품 개선, 신공정 개발, 기존 공정 개선 등

\* 3) 국내 또는 국외

□ 매출 실적(누적)

사업화명	발생 연도	매출액		합계	산정 방법
		국내(천원)	국외(달러)		
합계					

□ 사업화 계획 및 무역 수치 개선 효과

성과		국산 채소분말을 활용한 천연아질산염 첨가제 개발			
사업화 계획	사업화 소요기간(년)	3년			
	소요예산(천원)	754,700			
	예상 매출규모(천원)	현재까지	3년 후	5년 후	
		0	200,000	1,000,000	
	시장 점유율	단위(%)	현재까지	3년 후	5년 후
			국내	0	5
국외			0	0	0
향후 관련기술, 제품을 응용한 타 모델, 제품 개발계획	질산염이 풍부한 채소 및 아질산염 생성능이 우수한 균주를 추가적으로 발굴, 개발하여 현재 개발된 기술보다 우수한 제품으로 개선 예정				
무역 수치 개선 효과(천원)	수입대체(내수)	현재	3년 후	5년 후	
	수출	0	200,000	1,000,000	
		0	0	0	

□ 고용 창출

순번	사업화명	사업화 업체	고용창출 인원(명)		합계
			2020년	yyyy년	
1	박사후 연구원	세계김치연구소	1		1
2	정규직 채용	우진비앤지 주식회사	1		1
합계			2		2

□ 고용 효과

구분			고용 효과(명)	
고용 효과	개발 전	연구인력	24	
		생산인력	26	
	개발 후	연구인력	24	
		생산인력	24	

□ 비용 절감(누적)

순번	사업화명	발생연도	산정 방법	비용 절감액(천원)
합계				

□ 경제적 파급 효과

(단위: 천원/년)

구분	사업화명	수입 대체	수출 증대	매출 증대	생산성 향상	고용 창출 (인력 양성 수)	기타
해당 연도							
기대 목표							

□ 산업 지원(기술지도)

순번	내용	기간	참석 대상	장소	인원

□ 기술 무역

(단위: 천원)

번호	계약 연월	계약 기술명	계약 업체명	계약업체 국가	기 징수액	총 계약액	해당 연도 징수액	향후 예정액	수출/수입

[사회적 성과]

□ 법령 반영

번호	구분 (법률/시행령)	활용 구분 (제정/개정)	명칭	해당 조항	시행일	관리 부처	제정/개정 내용

□ 정책활용 내용

번호	구분 (제안/채택)	정책명	관련 기관 (담당 부서)	활용 연도	채택 내용

□ 설계 기준/설명서(시방서)/지침/안내서에 반영

번호	구분 (설계 기준/설명서/지침/안내서)	활용 구분 (신규/개선)	설계 기준/설명서/ 지침/안내서 명칭	반영일	반영 내용

□ 전문 연구 인력 양성

번호	분류	기준 연도	현황											
			학위별				성별		지역별					
			박사	석사	학사	기타	남	여	수도권	충청권	영남권	호남권	기타	
1	학위배출	2020		○			○					○		
2	학위배출	2020			○			○				○		
3	학위배출	2020			○			○				○		
4	학위배출	2021			○		○					○		
5	학위배출	2021			○		○					○		
6	학위배출	2020	○				○		○					

□ 산업 기술 인력 양성

번호	프로그램명	프로그램 내용	교육 기관	교육 개최 횟수	총 교육 시간	총 교육 인원
1	전문가초청세미나	전통발효식품에서 유용미생물 분리	세계김치연구소	1회	1시간	19명

□ 다른 국가연구개발사업에의 활용

번호	중앙행정기관명	사업명	연구개발과제명	연구책임자	연구개발비

□ 국제화 협력성과

번호	구분 (유치/파견)	기간	국가	학위	전공	내용

□ 홍보 실적

번호	홍보 유형	매체명	제목	홍보일
1	기사 보도	국제신문	경성대학교 식품생명공학전공 연구팀, 국제저명 학술대회에서 최우수 포스터논문상 수상	2020.11.09.
2	기사 보도	부산일보	경성대학교 식품생명공학과 정종연 교수 연구팀, 국제저명 학술대회에서 우수포스터상 수상	2021.07.29
3	전시회 참석	코엑스	16회 서울식품산업전 부스 전시 참석	2021.11.24. - 2021. 11. 27



□ 포상 및 수상 실적

번호	종류	포상명	포상 내용	포상 대상	포상일	포상 기관
1	수상	우수포스터 발표상	2020년도 한국식품영양과학회 71차 학술발표회 우수포스터 발표논문 수상	경성대학교 연구팀	2020.10.23	한국식품영양과학회
2	수상	최우수포스터 발표상	최우수포스터 발표상	경성대학교 연구팀	2020.10.30	한국축산식품학회
3	수상	우수포스터상	우수포스터상	경성대학교 연구팀	2021.07.29	한국식품과학회
4	수상	KFN 스타 발표상	KFN 스타 발표상	경성대학교 연구팀	2021.10.29	한국식품영양과학회
5	수상	우수포스터 발표상	우수포스터 발표상	경성대학교 연구팀	2021.10.29	한국식품영양과학회

[인프라 성과]

□ 연구시설·장비

구축기관	연구시설/ 연구장비명	규격 (모델명)	개발여부 (○/×)	연구시설·장비 종합정보시스템* 등록여부	연구시설·장비 종합정보시스템* 등록번호	구축일자 (YY.MM.DD)	구축비용 (천원)	비고 (설치 장소)

\* 「과학기술기본법 시행령」 제42조제4항제2호에 따른 연구시설·장비 종합정보시스템을 의미합니다.

[그 밖의 성과](해당 시 작성합니다)

(4) 계획하지 않은 성과 및 관련 분야 기여사항(해당 시 작성합니다)

- 2019년 *Staphylococcus hominis* WiKim0113 균주 기탁을 통해 생명자원 실적에 기여함
- 2020년 *Lactobacillus plantarum* WiKim0112 균주 기탁을 통해 생명자원 실적에 기여함
- 2021년 *Staphylococcus hominis* WiKim0113 균주 유전체 정보 기탁을 통해 생명정보 실적에 기여함
- 2020년 한국식품영양과학회 우수포스터 발표상 수상을 통해 포상 및 수상 실적에 기여함
- 2020년 한국축산식품학회 최우수포스터 발표상 수상을 통해 포상 및 수상 실적에 기여함
- 2021년 한국식품과학회 우수포스터상 수상을 통해 포상 및 수상 실적에 기여함
- 2021년 한국식품영양과학회 KFN 스타 발표상 수상을 통해 포상 및 수상 실적에 기여함
- 2021년 한국식품영양과학회 우수포스터 발표상 수상을 통해 포상 및 수상 실적에 기여함

## 2) 목표 달성 수준

추진 목표	달성 내용	달성도(%)
○ 국산 채소류 및 부산물을 이용한 합성 아질산염 대체 식품소재 개발	○ 국산 채소류 및 부산물의 종류별, 산지별, 수확시기에 따른 질산염 및 아질산염 함량 조사를 통한 원료 안정성 확보 ○ 합성 아질산염 대체 소재로서 pilot scale 국산 채소류 농축 및 분말화 최적 조건 확립	○ 100 ○ 100
○ 김치 유래 발효미생물을 활용한 합성 아질산염 대체 육제품 적용 검토	○ 농축 및 분말화 국산 채소류 및 과일류 질산이온 및 아질산이온 농도 표준화 기술 확보 ○ 선발된 김치 유래 발효미생물을 이용한 육제품 개발	○ 100 ○ 100
○ 국산 채소 기반 합성아질산염 대체 식품소재 및 김치 발효미생물의 starter culture를 활용한 합성 아질산염 대체 육제품 개발	○ 대량생산된 국산 합성아질산염 대체 소재 및 김치 발효미생물 starter culture의 배양조건별 질산 및 아질산 이온 함량 조사 ○ 최적 배양조건 및 상업적 생산조건에 따른 한 국형 합성 아질산염 대체 육제품 개발기술 확립	○ 100 ○ 100
○ 선발된 발효미생물의 대량생산 체계 구축 및 산업화	○ 최종 선발된 김치유래 발효미생물 2종 대량생산체계 확립 ○ 제품출시 및 산업화	○ 100 ○ 60

## 4. 목표 미달 시 원인분석

### 1) 목표 미달 원인(사유) 자체분석 내용

- 제품출시 및 산업화
  - 본 연구기간내(2년8개월) 대량배양 생산체계와 시스템은 모두 확보 되었으나, 제품화를 달성하지 못함.
  - 미생물 생균제 제품의 특성상 안정성 확보가 뒷받침 되어야 하나, 본 연구기간동안 6개월의 안정성을 확보함.
  - 생균제 특성상 상온 6개월이상, 냉장보관 1년 이상의 안정성이 확보 되어야 시장성이 있다고 판단됨.
  - 본 연구기간내 최종 2종의 미생물을 확보하여 진행하였으나, 1종의 미생물은 수율에 비해 낮은 아질산염 전환능으로 인하여, 현재는 시장성확보가 되지않고 있는 실정임.
  - 특히, 배양공정에 혐기조건(CO2 공급)배양으로 인하여 생산단가가 상승하게 되고 대표적인 유산균(*Lactobacillus plantarum*)의 특성상 차별화 하기 어려울 것으로 판단됨.

## 2) 자체 보완활동

---

- 현재 여러 가지 동결보존조건(부형제 조성변경, 보관조건 변경, 공정 후단 pH조건 변경) 변경으로 안정성 실험을 진행중에 있음.
  - WiKim0112 균주를 대신하여 세계김치연구소에서 연구개발중인 WiKim0160 균주를 기술이전 받아 종료 1차년도 이후부터 배양공정 개발실험을 진행중에 있음.
  - 미생물 생균제 안정성 확보 후 제품 등록하여, 대량생산 및 판매가 가능할 것으로 기대됨.
- 

## 3) 연구개발 과정의 성실성

---

- 미생물 배양에 있어 Lab scale과 pilot scale의 차이는 매우 큰 것이 일반적임.
  - 우진비앤지 주식회사는 미생물 발효에 있어 특화된 기업으로 대량배양공정개발 전문인력을 다수 보유하고 있으며, 오랜 경험과 기업 노하우로 위와같은 문제점을 다수 극복한 경험이 있음.
  - 자체 연구결과를 토대로 안정성 연구에 박차를 가하고 있음.
  - (주)티오에프는 본 연구과제 수행중 설비증축과 판로확대 및 마케팅을 전담하여 제품 출시 후 매출증진에 기여도가 클것으로 예상됨.
- 

## 5. 연구개발성과의 관련 분야에 대한 기여 정도

---

- 본 연구개발성과는 고가의 외국산 채소 분말 및 발효 미생물을 사용하는 외국의 합성 아질산염 대체 기술로부터 탈피하여 국내 소비자에 익숙한 소재인 국산 채소 및 김치 유래 미생물로 적용함으로써, 국내 합성 아질산염 대체 소재 확보 통해 순수한 국내 원천기술 확보에 기여할 것임.
  - 또한, 본 성과는 육제품에서 합성 아질산염을 대체할 수 있는 소재 및 방법을 제시함과 동시에 산업적 활용을 위한 표준화 기술을 제공함으로써, 합성 아질산염 대체 관련 기초연구 및 산업에서의 파급효과가 클 것으로 기대됨.
  - 최근 국내외 소비자들의 자연 친화적 식품에 대한 요구가 증가하고 있으므로, 본 연구의 개발성과를 통해 육가공 분야에서 합성 아질산염에 대한 우려를 감소시키고 친자연주의 식품의 소비를 활성화할 것임.
  - 본 연구의 수행을 통해 국내 합성 아질산염 대체 기술 분야에 전문 기술인력을 양성하였으며, 참여연구원들은 이 분야의 핵심역량을 갖는 전문가로서 관련 학계 및 산업계에 이바지할 것으로 기대됨.
-

## 6. 연구개발성과의 관리 및 활용 계획

- 국산 다양한 채소 소재의 생산지 및 수확 시기별 이화학적 특성에 관련한 연구개발성과는 국내산 합성 아질산염 대체 소재 개발의 기초자료로써 활용될 것으로 예상됨.
- 본 연구개발성과는 국산 합성 아질산염 대체 소재 및 발효 미생물을 제공할 뿐만 아니라, 대체 소재의 표준화를 통해 일정 수준의 질산염을 함유하도록 가공하여 상업적으로 적용 가능한 제품의 구현화 사례를 제시함으로써, 이를 활용한 합성 아질산염 대체 육제품의 상품화가 추진될 수 있도록 기반 기술을 관리·축적하고 응용 분야를 확대할 것임.
- 또한, 본 개발성과는 국내 합성 아질산염 대체 기술로서 대체 소재 및 이를 이용한 육제품 제조기술과 관련하여 국제 학술지에 다수의 논문게재와 지식재산권(특허) 출원 및 등록할 수 있을 것임.

< 연구개발성과 활용계획표 >

구분(정량 및 정성적 성과 항목)		연구개발 종료 후 5년 이내	
국외논문	SCIE		
	비SCIE		
	계		
국내논문	SCIE	1	
	비SCIE		
	계	1	
특허출원	국내		
	국외		
	계		
특허등록	국내	5	
	국외		
	계	5	
인력양성	학사	1	
	석사	1	
	박사		
	계	2	
사업화	제품화	2건	
	매출액	4,520 백만원	
	고용창출	1명	
제품개발	신제품개발		
비임상시험 실시			
임상시험 실시 (IND 승인)	의약품	1상	
		2상	
		3상	
	의료기기		
진료지침개발			
신의료기술개발			
성과홍보			
포상 및 수상실적			
정성적 성과 주요 내용		신제품 출시 및 사업화 매출 발생	

### < 별첨 자료 >

중앙행정기관 요구사항	별첨 자료
1.	1) 자체평가의견서 2) 연구성과 활용계획서
2.	1) 2)

## 연구개발보고서 초록

과 제 명	(국문) 식물성 천연물 및 김치 발효 미생물을 이용한 한국형 육제품의 합성아질산염 대체 소재 개발 및 산업화 (영문) Development and industrialization of synthetic nitrite substitutes for meat products using plant based materials and microorganisms from Kimchi						
주관연구기관	우진비엔지 주식회사		주 관 연 구 책 임 자	(소속) 우진비엔지 주식회사			
참 여 기 업			총 연 구 기 간	(성명) 이성호			
총연구개발비 (754,700천원)	계	754,700	총 연 구 기 간	2019. 05. 20 - 2021. 12. 31(2년 8개월)			
	정부출연 연구개발비	566,000		총 인 원	20명		
	기업부담금	18,900		총 참 여 수 연 구 원	내부인원	20명	
	연구기관부담금	169,800		외부인원			
<p>○ 연구개발 목표 및 성과</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- (목적)육제품의 합성 아질산염 대체 소재로서 국산 채소류를 이용하여 천연 소재로 표준화하고 김치 유래 발효미생물을 활용하여 한국형 아질산염 대체공법을 위한 starter culture로 개발하여 대량 생산체계를 확립함으로써 2건 이상의 사업화 제품을 개발.</li> </ul> <p>○ 연구내용 및 결과</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- 김치로부터 분리한 고활성 질산환원능을 가진 미생물 2종 개발 : 국내기술로 독자적으로 분리 및 연구한 질산환원능을 가진 미생물 2종에 대한 특허등록 2건, 국제특허기탁 2건 완료.</li> <li>- 수입산 합성아질산염을 대체하는 국산 채소류를 이용한 천연 아질산염 소재 발굴 : 국산 채소 부산물을 활용한 고농도 질산염을 함유하는 천연소재 2종 제품을 출시하여 기존 수입에 의존하던 합성아질산염 원료수급방안 해결.</li> <li>- 육가공 제품 제조시 합성아질산염을 대체하는 천연아질산염 이용 육제품 제조방법확립 : 제조 공정을 원천 국산화 하여 원료수급 및 제조공정 국산화 100% 달성.</li> <li>- 수입산 육가공제품 발효 미생물과 동일한 수준의 대량생산공정 개발 완료 : 1 * 10<sup>11</sup> cfu/g을 함유하는 발효 미생물 대량공정 개발.</li> </ul> <p>○ 연구성과 활용실적 및 계획</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- 합성 아질산염 대체하는 채소분말 이용한 육제품 제조방법 특허, 주관기관에 기술이전 2건.</li> <li>- 천연아질산염을 생산하는 균주 2종에 관련된 특허 및 균주 주관기관에 기술이전 2건.</li> <li>- 천연질산염을 함유하는 채소분말 제품 출시 2건, 박람회 부스전시 1건.</li> <li>- 본과제 관련 국내외 학술대회 발표 25건, 우수 포스터 상 등 수상 5건.</li> <li>- 국산 다양한 채소 소재의 생산지 및 수확 시기별 이화학적 특성에 관련한 연구개발성과는 국내산 합성 아질산염 대체 소재 개발의 기초자료로써 활용될 것으로 예상.</li> </ul>							

[별첨 2]

## 자체평가의견서

### 1. 과제현황

		과제번호		119028-3	
사업구분	맞춤형혁신식품 및 천연안심소재 기술개발사업				
연구분야	천연안심소재 산업화		과제구분	단위	
사업명	맞춤형 혁신식품 개발			주관	
과제명	식물성 천연물 및 김치 발효 미생물을 이용한 한국형 육제품의 합성아질산염 대체 소재 개발 및 산업화		과제유형	(개발)	
연구개발기관	우진비앤지 주식회사		연구책임자	이성호	
연구기간 연구개발비 (천원)	연차	기간	정부	민간	계
	1차년도	2019.05.20. - 2019.12.31	144,000	48,000	192,000
	2차년도	2020.01.01. - 2020.12.31	206,000	68,700	274,700
	3차년도	2021.01.01. - 2021.12.31	216,000	72,000	288,000
	계	2019.05.20. - 2021.12.31	566,000	188,700	754,700
참여기업					
상대국			상대국연구개발기관		

※ 총 연구기간이 5차년도 이상인 경우 셀을 추가하여 작성 요망

2. 평가일 : 2022. 02. 14

3. 평가자(연구책임자) :

소속	직위	성명
우진비앤지 주식회사	이사	이성호

4. 평가자(연구책임자) 확인 :

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

확약	
----	--



## I. 연구개발실적

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

### 1. 연구개발결과의 우수성/창의성

■ 등급 : 우수, 보통, 미흡, 극히불량)

#### ■ 우수

- 해외 수입품에 의존하는 육제품 가공 Starter culture의 원천 국산화.
- 국내 소비자들에게 익숙한 김치로부터 분리한 미생물 Starter culture 개발.

### 2. 연구개발결과의 파급효과

■ 등급 : 우수, 보통, 미흡, 극히불량)

#### ■ 우수

- 원 자재비 감소를 위한 채소 부산물 활용 제품개발.
- 국산 합성 아질산염 대체 소재 및 발효 미생물 제공.
- 대체 소재 표준화를 통해 일정 수준의 질산염을 함유하도록 가공하여 산업화 적용 사례 제시.

### 3. 연구개발결과에 대한 활용가능성

■ 등급 : 우수, 보통, 미흡, 극히불량)

#### ■ 우수

- 국산 다양한 채소 소재의 생산지 및 수확 시기별 이화학적 특성에 관련한 연구개발성과는 국내산 합성 아질산염 대체 소재 개발의 기초자료로써 활용.
- 합성 아질산염 대체 육제품의 상품화가 추진될 수 있도록 기반 기술을 관리·축적하고 응용 분야를 확대될 것임.

### 4. 연구개발 수행노력의 성실도

■ 등급 : 우수, 보통, 미흡, 극히불량)

#### ■ 보통

- 연구개발기간내 대부분의 연구와 개발은 달성하였지만, 제품 2종 등록을 3차년도 2021년 12월에 추진하여, 2022년 1월에 등록되었음.
- 연구기간내 미생물 Starter culture의 안정성을 확보하지 못하여 미생물 Starter culture의 제품등록이 되지않은 점.

### 5. 공개발표된 연구개발성과(논문, 지적소유권, 발표회 개최 등)

■ 등급 : 우수, 보통, 미흡, 극히불량)

#### ■ 우수

- 연구계획당시 목표대비 논문 평균IF가 매우 높음
- 특허 출원 및 등록 또한 초과달성하여 다양한 연구지표 제시
- 특히 본 연구과제를 활용한 각종 학회 학술발표, 포스터 발표 등을 초과달성하고, 수상실적 또한 우수하다고 판단됨.

## II. 연구목표 달성도

세부연구목표 (연구계획서상의 목표)	비중 (%)	달성도 (%)	자체평가
고활성 질산환원능 김치유래 미생물 발굴	15	15	세계김치연구소의 자체 연구능력을 토대로 신규 strain 발굴
김치유래 미생물의 안전성 및 안정성 확보	10	10	안전성 및 안정성 확보 완료
국산 채소류 및 부산물을 이용한 합성아질산염 대체 식품소재 개발	30	30	채소류 부산물은 연구계획단계의 질산염 함량 목표수치를 초과달성함
국산 채소기반 합성아질산염 대체 식품소재 및 김치 발효미생물의 starter culture를 활용한 합성 아질산염 대체 육제품 개발	45	28	Starter culture의 대량생산 공정개발 완료. Starter culture의 육제품 적용 완료. Starter culture의 장기보관 안정성은 미흡
합계	100점	83점	

## III. 종합의견

### 1. 연구개발결과에 대한 종합의견

### 2. 평가시 고려할 사항 또는 요구사항

### 3. 연구결과의 활용방안 및 향후조치에 대한 의견



#### IV. 보안성 검토

○ 연구과제내용중 미생물 배지조성 및 배양공정 부분은 보안으로 유지 요망.

※ 보안성이 필요하다고 판단되는 경우 작성함.

##### 1. 연구책임자의 의견

○ 배지조성과 배양공정은 우진비앤지 주식회사의 배양기술이 노출될수 있기 때문

##### 2. 연구개발기관 자체의 검토결과

[별첨 3]

## 연구성과 활용계획서

### 1. 연구과제 개요

사업추진형태	<input checked="" type="checkbox"/> 자유응모과제 <input type="checkbox"/> 지정공모과제		분 야	천연안심소재    산업화
연구과제명	식물성 천연물 및 김치 발효 미생물을 이용한 한국형 육제품의 합성아질산염 대체 소재 개발 및 산업화			
주관연구개발기관	우진비앤지 주식회사		주관연구책임자	이성호
연구개발비	정부지원 연구개발비	기관부담연구개발비	기타	총연구개발비
	566,000(천원)	188,700(천원)		754,700(천원)
연구개발기간	2019. 05. 20 ~ 2021. 12. 31			
주요활용유형	<input checked="" type="checkbox"/> 산업체이전 <input type="checkbox"/> 교육 및 지도 <input type="checkbox"/> 정책자료 <input type="checkbox"/> 기타(                      ) <input type="checkbox"/> 미활용 (사유:                      )			

### 2. 연구목표 대비 결과

당초목표	당초연구목표 대비 연구결과
① 합성아질산염 대체 소재 발효를 위한 김치유래 미생물 발굴 및 국산 채소류를 이용한 합성 아질산염 대체 식품소재 개발	○ 고농도 질산염을 함유하는 국산채소류(배추, 무)를 김치유래 미생물을 이용하여 아질산염 대체 식품소재를 개발.
② 종균 산업용 배양, 채소류 농축 분말화 최적조건 확립 및 김치유래 발효미생물을 활용한 합성아질산염 대체 육제품 적용	○ Lab scale 및 pilot scale에서 채소류 농축 분말화 공정 확립. ○ 김치유래 발효미생물을 활용한 합성아질산염 대체 육제품 적용 연구 완료.
③ 국산 채소기반 합성 아질산염 대체 소재 및 김치 발효미생물 Starter culture 대량생산체계구축을 통한 육제품 개발 및 산업화	○ 김치유래 발효미생물 Starter culture 대량생산체계 확립완료.

\* 결과에 대한 의견 첨부 가능

### 3. 연구목표 대비 성과

(단위 : 건수, 백만원, 명)

성과 목표	사업화지표										연구기반지표									
	지식 재산권				기술 실시 (이전)		사업화				기술 인증	학술성과			교육 지도	인력 양성	정책 활용·홍보		기타 (타연구활용비)	
	특허 출원	특허 등록	품종 등록	S M A R T	건 수	기술 료	제 품 화	매 출 액	수 출 액	고 용 창 출		투 자 유 치	논 문				학 술 발 표	정 책 활 용		홍 보 전 시
													S C I	비 S C I						
단위	건	건	건	건	건	건	건	백만원	백만원	백만원	명	백만원	건	건	건	건	명	건	건	
가중치	5	5			10	5	20	10		20				5	10		5		5	
최종 목표	7	2			2	115.2	2	30		2			10		1.6	9	4		2	
당해 년도	목표	7	2		2	115.2	2	30		2			10		1.6	9	4		2	
	실적	8	3		3	20	2	0		2			8		2.97	25	5		3	
달성률 (%)	100	100			100	17.4	100	0		100			80		100	100	100		100	

210mm×297mm[(백상지(80g/m<sup>2</sup>) 또는 중질지(80g/m<sup>2</sup>)]

[별첨 2]

### 4. 핵심기술

구분	핵심기술명
①	고활성 질산환원능 김치유래 미생물 발굴
②	국산 채소류 및 부산물을 이용한 합성아질산염 대체 식품소재 개발
③	국산 채소기반 합성아질산염 대체 식품소재 및 김치 발효미생물의 starter culture를 활용한 합성 아질산염 대체 육제품 개발

### 5. 연구결과별 기술적 수준

구분	핵심기술 수준					기술의 활용유형(복수표기 가능)				
	세계 최초	국내 최초	외국기술 복제	외국기술 소화·흡수	외국기술 개선·개량	특허 출원	산업체이전 (상품화)	현장으로 해결	정책 자료	기타
①의 기술		√				√	√		√	
②의 기술					√	√	√			
③의 기술					√	√	√			

\* 각 해당란에 √ 표시

6. 각 연구결과별 구체적 활용계획

핵심기술명	핵심기술별 연구결과활용계획 및 기대효과
①의 기술	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 고효성 질산환원능 김치유래 미생물 2종 산업화</li> <li>○ 수입에 의존하는 육제품 가공용 Starter culture 원천 국산화</li> </ul>
②의 기술	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 1차 생산물이 아닌 채소 부산물을 활용한 원자재비 감소</li> <li>○ 파슬리, 샐러리등 이국적인 풍미를 지닌 채소를 벗어나, 국내 소비자에게 친근한 국산 채소를 이용한 식품소재로서 마케팅 자료 및 정책자료로 활용</li> </ul>
③의 기술	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 합성 아질산염을 대체할 안정성 및 안전성이 확보된 원천 국내기술을 활용한 가공 육제품개발 이바지</li> </ul>

7. 연구종료 후 성과창출 계획

(단위 : 건수, 백만원, 명)

성과목표	사업화지표											연구기반지표								
	지식재산권				기술실시(이전)		사업화					기술인증	학술성과			교육지도	인력양성	정책활용·홍보		기타(타연구활용예외)
	특허출원	특허등록	품종등록	SMART	건수	기술료	제품화	매출액	수출액	고용창출	투자유치		논문SCI	비SCI	논문평판I-F			학술발표	정책활용	
단위	건	건	건	건	건	백만원	건	백만원	백만원	명	백만원	건	건	건	건	명	건	건		
가중치							2													
최종목표							2													
연구기간내 달성실적	8	3			3	20	2			2		8		2.97	25	1	5		3	
연구종료후 성과창출 계획																				



## 주 의

1. 이 보고서는 농림축산식품부에서 시행한 맞춤형혁신식품 및 천연안심소재 기술개발사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표하는 때에는 반드시 농림축산식품부에서 시행한 맞춤형혁신식품 및 천연안심소재 기술개발사업의 연구결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀 유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 안 됩니다.