

아질산 대체 소재로서 개발한 천연 복합추출물의 항산화와 항균 활성 및 소시지 적용에서의 품질 특성

박정현¹ · 최일² · 이호² · 김민웅³ · 조운성³ · 김유경³ · 김영인³ · 권서연³ · 김영목^{3*} · 이양봉^{3*}
¹(주)엔피바이옴, ²(주)비에스티, ³국립부경대학교 식품공학과

Antioxidant and Antimicrobial Activities of Natural Composite Extracts Developed as Substitutes for Nitrite, and Quality Characteristics on Sausage Applications

Joung-Hyun Park¹, Il Choi², Ho Lee², Min-Ung Kim³, Yun-Sung Cho³, Yu-Kyeong Kim³,
Yeong-In Kim³, Seo-Yeon Kwon³, Young-Mog Kim^{3*}, Yang-Bong Lee^{3*}

¹NP-Biome Co. Ltd., Busan, Korea

²BST Co., Ltd., Seongnam, Korea

³Department of Food Science and Technology, Pukyong National University, Busan, Korea

(Received September 12, 2024/Revised October 22, 2024/Accepted October 31, 2024)

ABSTRACT - To develop a natural preservative as an alternative to synthetic nitrites, we investigated antioxidant and antimicrobial activities of natural composite extracts (NP-NAP and NP-NAMR) and the quality characteristics on sausage applications. ABTS radical-scavenging activities ranged from 90.1 to 100% for NP-NAP and NP-NAMR at 0.5 to 1.0% (w/v), while FRAP values at 10 mg/mL were 811 and 770 μ M trolox equivalents, respectively. Antimicrobial activities (99.99 to 100%) against *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* and *Salmonella* - were observed for NP-NAP and NP-NAMR at 0.1% (w/v). Additionally, 89.0-91.4% and 84.7-100% efficacy against *Clostridium perfringens* were observed at 1-2% (w/v), respectively. Regarding sausage quality, the test groups had pH values ranging from 6.41 to 6.57 and exhibited high Hunter's a-values (23.5 and 28.8) when NP-NAMR was added ($P < 0.05$). Cohesiveness were high in NP-NAP 1%, but all other test groups except NP-NAMR 2% showed no significant difference from positive controls ($P < 0.05$). The mean malondialdehyde levels (0.87 ± 0.13 to $1.183 \pm 0.39 \mu$ M) were similar to those of positive controls (0.93 ± 0.23 to $0.96 \pm 0.29 \mu$ M). Additionally, microbial counts (1.10 to $1.32 \log$ CFU) at 1% addition were similar to that of 1.31 for nitrite pickling salt (NPS) at 0.08%, while counts (0.17 to 0.49) at 2% addition were lower than that of 0.53 for commercial product from Spain (CPS) at 1%. There were no significant differences in overall palatability among the test groups, except for NP-NAMR at 2% ($P < 0.05$). In conclusion, natural composite extracts (NP-NAP and NP-NAMR) are considered effective alternatives to synthetic nitrites and commercial preservatives by meeting food code standards with antioxidant, antimicrobial activities and stable red color.

Key words: Nitrite alternative, Antioxidant, Antimicrobial, Red pigment, Natural preservative

*Correspondence to: Young-Mog Kim, Yang-Bong Lee,
Department of Food Science and Technology, Pukyong
National University, Busan 48513, Korea
Tel: +82-51-629-5832, Fax: +82-51-629-5824
E-mail: ymkim@pknu.ac.kr
Tel: +82-51-629-5829, Fax: +82-51-629-5824
E-mail: yblee@pknu.ac.kr

Copyright © The Korean Society of Food Hygiene and Safety. All rights reserved. The Journal of Food Hygiene and Safety is an Open-Access journal distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

아질산 나트륨(sodium nitrite) 또는 아질산염은 클로스 트리움 보툴리눔(*Clostridium botulinum*) 균체 증식 및 spore의 발아를 억제하고 다른 bacteria에 대한 항균 활성이 있음에 따라 육가공에서 전통적으로 사용되어 왔으며 또한 염지육에서 색상과 풍미의 발달에 기여하고, 효과적인 항산화제로 작용한다^{1,2)}. 아질산 및 질산은 니트로소화 반응을 거쳐 양성자화 되지 않은 아민류가 있는 경우는 N-니트로사민(nitrosamines)을 형성할 수 있는 화합물인 산화질소를 생성할 수 있다^{1,3)}. N-nitrosamines은, 환경, 특히 식품에서 일차, 이차 또는 삼차 아민류가 아질산에 노출될 때 생성되는 것으로 알려져 있으며⁴⁾, N-Nitrosodimethylamine (NDMA)과 N-Nitrosodiethylamine (NDEA)은 가장 강력한 발암성 및 유전독성을 지닌 휘발성 N-니트로소 화합물로 간주된다¹⁻⁵⁾.

WHO 산하 기관인 국제암연구소(International Agency for Research on Cancer, IARC)에서 발색제로 사용되는 아질산염을 1급 발암물질로 발표함에 따라 합성아질산염의 사용이 이슈로 제기되었으며, 식육 가공품 소비에 있어 부정적인 요인으로 작용하고 있다^{2,5,6)}. 이로 인해 합성 아질산염의 대체를 위한 연구의 필요성이 부각되면서 천연 아질산염의 대체 가능성 관련 연구가 활발히 수행되고 있다. 스위스 근대(*Swiss chard*) 분말 중 질산염에서 변환된 천연 아질산염이 익힌 돈육 패티의 28일간 냉장 보관 중 색상의 안정성과 유통 기간에 미치는 영향 조사⁷⁾, 천연 채소 분말의, 보존 처리 돈육에서 합성 아질산나트륨 대체 가능성 연구⁸⁾ 합성 아질산염의 잠재적 대체물로 각각 약 16,000 및 14,000 mg/kg 질산염을 함유하는 무와 비트 뿌리 분말의 발효 건조 소시지에의 사용 연구⁹⁾, 국내산 배추를 열풍 건조한 배추 가루를 돈육 제품에 다양한 수준으로 첨가하고 합성 아질산나트륨 또는 시판 제품과 비교한 바 있다¹⁰⁾.

또한 합성 아질산염을 치자 추출물로 대체했을 때 닭고기 패티의 품질 특성 연구¹¹⁾, 방울토마토 및 체리토마토 페이스트의 합성 아질산염 대체 효과¹²⁾ 파프리카 올레오레진 용액을 첨가한 유화 돈육 소시지의 품질 특성 연구¹³⁾와 잠재적인 천연 항균제로서의 유익균 및 그 대사 산물의 사용에 대한 연구도 있었다²⁾.

이처럼 합성 첨가물 성분은 소비자들로부터 거부되고 있고 클린 라벨 식품에 대한 관심이 높아져 합성 성분들에 대한 우려와 함께 천연 재료를 사용하여 이를 대체하기 위한 다양한 연구와 노력이 수행되고 있다¹⁴⁾. 그럼에도 불구하고 질산염을 함유하는 채소 분말을 이용해 분말 내 질산염을 아질산 이온으로 환원시켜 합성 아질산염 배제 육제품을 제조하는 기술⁸⁻¹⁰⁾은 니트로사민 생성 우려가 여전히 있을 것으로 판단된다.

이에 따라 본 연구에서는 이와는 전혀 다른 기전으로 아질산염 효과(항산화, 항균, 색 고정)를 보이는 천연물 유

래 복합추출물을 합성 아질산염 대체제로 개발하고 이의 성분 특성과 소시지에의 적용 시 항산화와 항균 활성 및 소시지의 품질 특성 등에 대해 규명함으로써 새로운 합성 아질산염 대체제로서의 가능성을 모색하였다.

Materials and Methods

시약 및 재료

항산화 활성 측정을 위한 ABTSTM (C₁₈H₁₆N₄O₆S₄(NH₄)₂), potassium persulfate, phosphate-buffered saline (PBS), iron (III) chloride hexahydrate (FeCl₃·6H₂O), sodium acetate, 2,4,6-tripyridyl-s-triazine (TPTZ, C₁₈H₁₂N₆), (±)-6-hydroxy-2,5,7,8-tetra-methylchromane-2-carboxylic acid (Trolox, C₁₄H₁₈O₄)와 *C. perfringens*에 대한 항균 활성의 양성 대조구로서 sodium nitrite는 Sigma-Aldrich Co. (St. Louis, MO, USA)에서 구입하였다. TBARS용 시약은 TBARS assay kit (BOTBR-200, BIOMAX, Guri, Korea)를 사용하였으며 기타 사용한 모든 시약은 분석용 1급 시약을 사용하였다.

본 실험에 사용한 천연물 유래 복합추출물은 녹차, 강황(이상 (주) 토종마을, 남양주), 브로콜리((주)서울청과, 서울), 마늘(청원농산, 김해)과 효모 추출물((주)아이씨푸드, 대전), 파인애플(수일통상(주), 서울), 텍스트린((주)삼양사, 인천) 및 홍국 색소(남영 F&C, 안산)를 원료로 사용하였다. 양성 대조구로는 아질산 함유 피클링솔트(nitrite pickling salt, NPS; 태원식품산업(주), 안산)와 스페인산 수입품(commercial product from Spain, CPS; Prosur, Murcia, Spain)을 사용하였다.

천연 복합추출물의 제조

천연 복합추출물은 (주)에코베이직(진주)에서 위탁 제조하였으며 원료로서 녹차(*Camellia sinensis*) 농축액, 효모(*Saccharomyces cerevisiae*) 발효 추출물, 마늘(*Allium sativum*) 추출액, 강황(*Curcuma longa*) 추출액, 브로콜리(*Brassica oleracea var. italica*) 추출액과 파인애플(*Ananas comosus*) 추출액은 각각 녹차 잎, 통마늘, 강황 뿌리와 브로콜리 및 파인애플 과실 부위를 각각 10배량의 가수 후 열수(70±5°C) 추출하고 농축, 여과(200 mesh)하여 제조하였다. 효모(*Saccharomyces cerevisiae*) 발효 농축액은 효모를 접종하여 발효(30°C, 96 h)한 후 여과(200 mesh)하여 제조하였다. 다음으로 녹차 농축액, 강황 추출액, 브로콜리 추출액, 파인애플 추출액 및 마늘 추출액을 효모 발효농축액과 혼합한 후 살균(90°C, 30 min) 및 여과하였다. 여액에 대해 부형제로 옥수수 전분 유래 텍스트린(DE 17 이상)을 첨가하여 최종 brix를 30 이상으로 제조하고 분무 건조하여 천연 보존료 NP-NAP를 제조하였다. 또한, NP-NAMR은 NP-NAP에 홍국(*Monascus pilosus*) 색소(Monascus Color)를 첨가하여 제조하였다.

아질산 이온 정량

천연 복합추출물의 아질산 이온 정량은 식품의 기준 및 규격 고시 제8. 일반시험법 3.6.1 아질산이온 가. 디아조화(diazotization)법에 따라 분석광도계(Cary8454 UV-Vis, Agilent, Santa Clara, CA, USA)로 분석(검출 한계 0.2 ppm)하였다¹⁵⁾.

항산화능 측정

ABTS법. 천연 복합추출물의 항산화능은 ABTS radical을 이용하는 ABTS assay를 변형하여 측정하였다¹⁶⁾. 7.4 mM ABTSTM와 2.45 mM potassium persulfate를 high-performance liquid chromatography (HPLC) D.W.로 10 mL되게 각각 제조하고 두 용액을 혼합 후 은박지(암소)로 씌우고 16시간 동안 반응시킨 후 OD 값이 0.9-1.0이 되도록 PBS를 첨가하여 ABTS radical 용액으로 사용하였다. 항산화능 측정용 시료는 PBS로 0.1%, 0.5%, 1.0%의 용액을 제조하고 두 개의 2 mL 용량의 microtube에 시료 용액과 PBS (대조군)를 각각 30 μ L를 넣고 ABTS radical 용액 1 mL을 혼합하여 총 2분간 반응시킨 후 UV-Spectrophotometer (V-530, JAS Co. Ltd, Tokyo, Japan)로 734 nm에서 흡광도를 측정(blank는 PBS)하였다. ABTS radical-scavenging ability는 아래의 식을 이용하여 계산하였다.

Radical-scavenging ability (%)

$$= [1 - (\text{sample 흡광도} - \text{blank 흡광도}) / (\text{control 흡광도} - \text{blank 흡광도})] \times 100$$

FRAP법. FRAP 환원능은 Benzie와 Strain의 방법을 이용하여 측정하였다¹⁷⁾. 즉, 300 mM sodium acetate와 10 mM TPTZ (2,4,6-tripyridyl-s-triazine), 20 mM iron (III) chloride hexahydrate 3개의 용액을 실험 직전에 10:1:1의 비율로 혼합하여 FRAP 시약으로 사용하였다. 10 mg/mL의 시료 용액 30 μ L와 제조한 FRAP 시약 1 mL을 혼합하여 암소 (37°C) 조건에서 5분간 반응시킨 후 593 nm에서 흡광도를 측정하였다. 시료의 FRAP 환원능은 1 mg에 해당하는 trolox((\pm)-6-hydroxy-2,5,7,8-tetra-methyl-chroman-2-carboxylic acid)의 용량(μ M)으로 표현하였다.

Radical-scavenging ability (%)

$$= (\text{sample 흡광도} - \text{blank 흡광도}) / (\text{trolox standard 흡광도} - \text{blank 흡광도}) \times \text{trolox concentration } (\mu\text{M})$$

항균성 시험

천연 복합추출물의 항균성은 ASTM E2149에 따라 분석하였다¹⁸⁾. 균주는 그람 양성균 2종(*Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Listeria monocytogenes* KCCM 40307)과 그람 음성균 2종(*Escherichia coli* KCTC 2571, *Salmonella* Typhimurium ATCC 14028)을 대상으로 하였다. 즉, 사용

할 균주를 한천 plate에서 24시간 배양시킨 후, 독립 colony를 접종시켜 멸균된 희석 수에 1×10^8 CFU/mL에 도달할 수 있게 접종 균주를 다음 접종 균주 현탁액의 탁도는 약 2×10^5 CFU/mL로 조정하였다. 삼각플라스크에 1/500 TSB (tryptic soy broth; Difco, St. Louis, MO, USA) 50 mL, 균액 1 mL, 시료 0.05 mL (0.1%, w/v) 접종하고 접종된 삼각 플라스크를 24시간 배양(37 \pm 1°C, 120 rpm)한 다음 생균 수를 확인하였다. *Clostridium perfringens* (KCTC 5014)에 대한 항균성은 reinforced clostridial medium broth 200 mL에 *C. perfringens*를 접종하고 배양(37°C, 24-48 h)한 후 흡광도(600 nm)를 측정하여 균의 배양 정도를 확인하였다. 또한 *C. perfringens*에 대한 항균성은 시료를 처리 농도별(2.0-0.01%, v/v)로 배지를 이용하여 희석하고 양성 대조군은 아질산나트륨(sodium nitrite)를 아질산 이온 기준으로 700 및 400 ppm으로 처리하여 배양(24 h)한 후 600 nm에서 흡광도를 측정하여 균의 배양 정도를 확인하였다. *C. perfringens*의 증식 억제율은 다음과 같이 산출하였다.

C. perfringens 항균성(%)

$$= [(\text{음성대조군 흡광도} - \text{시험군 흡광도}) / \text{음성대조군 흡광도}] \times 100$$

소시지 시제품의 제조

천연 복합추출물(NP-NAP, NP-NAMR)의 상용화 가능성을 검증하기 위해 소시지 시제품을 제조하였다. 소시지 시제품은 (주)네이처스하이(경남, 김해)에서 주요 원료의 배합비(Table 1)를 기준으로 제조하였다. 양성 대조군으로 nitrite 함유 피클링솔트(NPS)와 스페인산 수입품(CPS)을 각각 첨가한 소시지를 함께 제조하였다. 소시지 시제품은 염지(24 h, 10°C 이하), 배합, 케이싱 충전, 훈연 가열(78°C, 40 min), 진공 포장 및 열탕 가열(90°C, 10 min) 후 냉각하여 제조하였으며 소시지의 가열 수율은 가열 전 중량(g) 대비 스모크 살균 후 중량(g) 비로 산출하였으며 스페인산 수입품(CPS) 1% 첨가가가 94.3%, 그 외 모든 시험구는 94.7%였다. 제조한 소시지 시제품은 냉장(4 \pm 1°C)하면서 실험에 사용하였다.

pH 측정

소시지의 pH는 시료를 멸균백을 통해 으갠 후 3개의 멸균백에 각 5 g씩 담고 증류수 30 mL를 넣어 5분간 혼합한 다음 원심분리(3,745 \times g, 15분)하고 여과한 후 pH meter (Orion Star, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA)로 측정하였다.

육색 측정

소시지의 색도는 1.5 cm의 두께로 절단한 소시지를 color reader (Geometry Reflectance Meter, Lovibond, U.K.)를 사용하여 소시지 단면(내부)을 10회에 걸쳐 명도(CIE L*, lightness),

Table 1. Formulation of sausages with NP-NAP, NP-NAMR and pickling salt

Ingredients (%)	NC ¹⁾	PC ²⁾	NP-NAP		NP-NAMR	
Minced meat	86.2	86.2	85.2	84.2	85.2	84.2
Cold water	10.0	10.0		10.0		10.0
Salt	0.80	0.72		0.8		0.8
Starch	3.0	3.0		3.0		3.0
NPS ³⁾	0.0	0.08		0.0		0.0
NP-NAP	0.0	0.0	1.0	2.0		0.0
NP-NAMR	0.0	0.0		0.0	1.0	2.0
Total	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0

¹⁾NC: negative control, ²⁾PC: positive control, ³⁾NPS: nitrite pickling salt.

적색도(CIE a*, redness), 황색도(CIE b*, yellowness) 및 색차(CIE ΔE)를 측정하였다.

조직감 측정

소시지의 조직감은 texture analyzer (Brookfield, WI, USA)로 측정하였다. 즉, 소시지의 높이는 1.3 cm, 2번 물림으로 distance 70%로 가압하고, test speed 1 mm/s로 하여 시료구 당 5회 반복 측정하였다.

TBARS 정량

소시지의 냉장(4±1°C) 중 thiobarbituric acid reactive substance (TBARS) 정량은 OxiTec™ TBARS assay kit (BO-TBR-200, ㈜바이오맥스, 경기도)를 이용하여 malondialdehyde (MDA)를 측정하고 MDA의 표준 검량선 농도 기준 μM로 제시하였다.

일반 세균수와 미생물 품질 규격 측정

소시지의 냉장 중 세균수와 식약처 고시 소시지류의 규격에 따른 대장균군, 살모넬라, 리스테리아 모노사이토제네스, 황색포도상구균은 식품의 기준 및 규격 고시 제8. 일반시험법 4. 미생물시험법¹⁹⁾에 따라 측정하였다.

관능검사

14명의 학생을 대상으로 검사 전 교육을 실시한 다음 관능검사를 시행하였다. 소시지 시제품 6종의 관능적 기호도를 육색, 향, 조직감, 종합적인 기호도에 대해 9점 척도법(매우 좋지 않음 1, 매우 좋음 9)으로 평가하였다. 소시지 시료는 균일하게(3 mm) 잘라 난수표를 이용해 분류한 후 제공하여 평가하였다. 인간 대상 연구에 대한 기관생명윤리위원회 심의를 필(PKNU IRB 2024-08-003)하였다.

통계 처리

모든 실험은 3회 이상 반복 실시하였으며 결과는 평균 값과 표준편차로 표시하였다. 통계 처리는 R statistical

software program (R-4.3.1)을 이용해 one-way ANOVA (completely randomized design)로 분석하였고, 각 시료의 항목별 평균에 대한 결과 값의 다중 비교를 위해 Duncan's multiple range test로써 각 군의 유의차($P<0.05$)를 검증하였다.

Results and Discussion

소재의 성분 및 특성

아질산 이온 함량

천연 복합추출물 NP-NAP의 아질산 이온을 식품의 기준 및 규격 고시법에 따라 분석 결과 불검출되었다(data not shown). 단, NP-NAMR의 경우 NP-NAP에 홍국 색소(3% 이하)만 첨가되어 색소 외 성분은 같다.

항산화 활성

천연 복합추출물(NP-NAP, NP-NAMR)의 항산화 활성으로서 ABTS 라디칼 저해능을 측정한 결과는 Fig. 1과 같다. NP-NAP와 NP-NAMR 모두 농도 의존적으로 ABTS 저해능도 증가하는 경향이었으며 NP-NAP는 0.5와 1.0%(w/v)에서 각각 97.6%와 100%에 이르는, 높은 ABTS 라디칼 저해능을 보였고, NP-NAMR도 0.5와 1.0%에서 각 90.1%와 99.1%로 90% 이상의 높은 저해능을 보였다. 한편 NP-NAP는 0.1% 첨가에서도 81.3%의 저해능을 보여 NP-NAMR (43.6%) 보다 비교적 높은 수준의 ABTS 라디칼 저해능을 보였다. 이는 NP-NAMR이 홍국홍색소 첨가 외 NP-NAP와 성분이 같은 것에서 색소 첨가에 의한 차이로 판단된다. Cho 등¹⁶⁾은 ABTS 라디칼 소거능과 총 페놀(total phenolics) 함량은 매우 높은 상관성($r^2=0.953$)을 갖는 것으로 보고하였는데 이상의 결과는 (-)-epigallocatechingallate, (-)-epigallocatechin, (-)-epicatechin 등 polyphenol 성분(총 catechin함량 60% 이상)과 gallic acid가 함유된 분석 시약급 polyphenon 60이 363 μg/mL에서 93.6±2.0%의 ABTS 저해능을 보인 것과 유사하였다²⁰⁾.

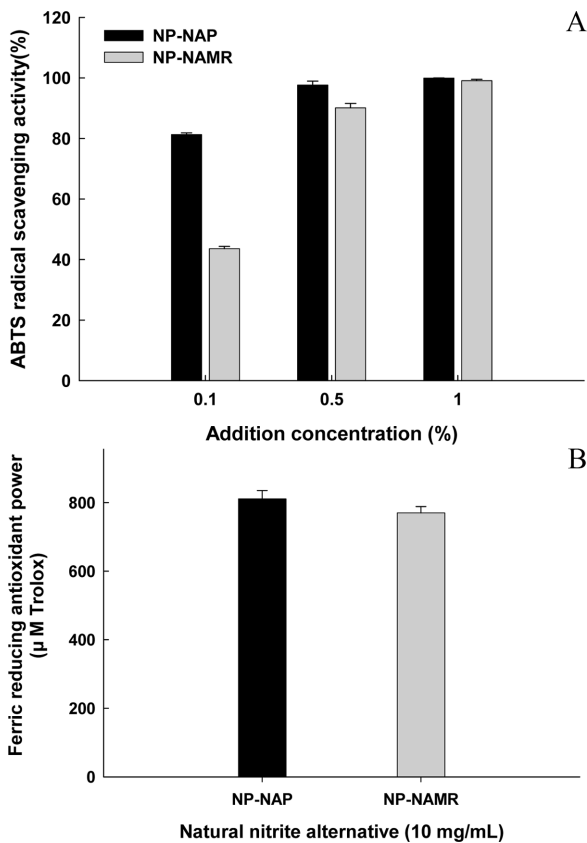


Fig. 1. ABTS radical-scavenging activity (A) and ferric-reducing antioxidant power (B) of NP-NAP and NP-NAMR as affected by their concentrations.

또한 NP-NAP, NP-NAMR의 항산화 활성으로서 철이온 환원능(FRAP)을 측정된 결과, NP-NAP는 10 mg/mL에서 811±24.7 µM trolox에 상당하였고, NP-NAMR은 같은 농도에서 770±18.7 µM trolox에 상당하는 FRAP 활성을 보였다(Fig. 1). NP-NAP가 다소 높은 FRAP를 보인 것은 역시 NP-NAP와 성분이 같은 것에서 홍국홍색소 첨가에 의한 차이로 판단된다. Rice-Evans²¹⁾는 green tea 1,000 ppm이 3.8±0.03 mM trolox의 항산화능을 보고했던 바 green tea 200 ppm 이상의 항산화 활성과 같다.

항균 활성

NP-NAP, NP-NAMR의 항균 활성을 그람 양성균 2종(*S. aureus* ATCC 6538, *L. monocytogenes* KCCM 40307)과 그람 음성균 2종(*E. coli* KCTC 2571, *S. Typhimurium* ATCC 14028)을 대상으로 분석한 결과는 Table 2와 같다. 그 결과, 그람 양성균인 *S. aureus* ATCC 6538의 경우, 양성 대조구로서 스페인산 시판 제품(CPS, T-10 KR Plus, PROSUR, Murcia, Spain)의 98.64%를 제외한 모든 시험구에서 99.99% 이상의 감소율을 보였다. *L. monocytogenes* KCCM 40307에 대한 시험에서도 CPS (99.65%)를 제외한 모든 시험구에서 초기 균수 대비 99.99% 이상의 감소율을 보였다. 한편 그람 음성균인 *E. coli* KCTC 2571의 경우, CPS (99.97%)를 제외한 모든 시험구에서 초기 균수 대비 100%의 감소율을 보였다. *S. Typhimurium* ATCC 14028에서는 양성 대조구인 CPS가 저해율 0%로 항균성을 보이지 않은 반면 이를 제외한 모든 시험구에서 초기 균수 대비 99.99% 이상의 감소율을 보였다. Oh 등²²⁾은 증제 녹차의 항균력 검색 결과 10³ CFU/mL의 균주 접종에서 부탄올 분획물은 *L. monocytogenes* Scott A, *S. aureus* IFO 3060에 대해 125-1,000 µg/disk의 농도에서 생육 저해 효과가 있었고 *E. coli* IFO 13168에는 250-1,000 µg/disk, *S. Typhimurium* ATCC 14028에는 500-1,000 µg/disk 농도에서 생육 저해 효과가 있음을 보고하였다. 또한 Gul and Bakht²³⁾는, 평판 확산법에 의거 강황으로부터 실온 및 121°C에서의 물 추출물(6, 12 µg)이 *E. coli* ATCC 25922와 *S. Typhi* clinical isolates에 대해 생육 저지환(6-10 mm)을 보임을 확인하였다. 단, 실온 추출물은 4°C, 30일 보관 후에도 항균 활성을 유지한 반면 121°C 추출물은 활성을 잃어 추출 온도가 항균 활성에 주요 영향 요인임을 알 수 있다. 당 소재는 70±5°C 추출물임에 따라 항균 활성 유지에 적절한 조건으로 사료된다.

Clostridium 속 *C. perfringens*는 20종 이상의 유해 독소를 분비하는 병원성 균으로서 동물과 인간 모두의 장 질환과 관련 있는 것으로 알려져 있다²⁴⁾. NP-NAP와 NP-NAMR의 *C. perfringens*에 대한 항균 활성을 측정된 결과는 Fig. 2와 같다. 그 결과, NP-NAP와 NP-NAMR은 0.5% (w/v)에서 각각 41.8%와 24.5%의 균 감소율을 보였고 1%

Table 2. Antimicrobial activities of nitrite alternative natural preservatives

Sample	Bacteria & Results	<i>S. aureus</i> ATCC 6538		<i>L. monocytogenes</i> KCCM 40307		<i>E. coli</i> KCTC 2571		<i>S. Typhimurium</i> ATCC 14028	
		Initial count	Inhibition rate (%)	Initial count	Inhibition rate (%)	Initial count	Inhibition rate (%)	Initial count	Inhibition rate (%)
Control			-		-		-		-
CPS ¹⁾ 0.1%		1.7×10 ⁵	98.6400	4.2×10 ⁵	99.6500	3.2×10 ⁵	99.9694	2.2×10 ⁵	0
NP-NAP 0.1%			99.9980		99.9998		100.000		99.9998
NP-NAMR 0.1%			99.9991		99.9929		100.000		99.9971

¹⁾CPS: a commercial product from Spain.

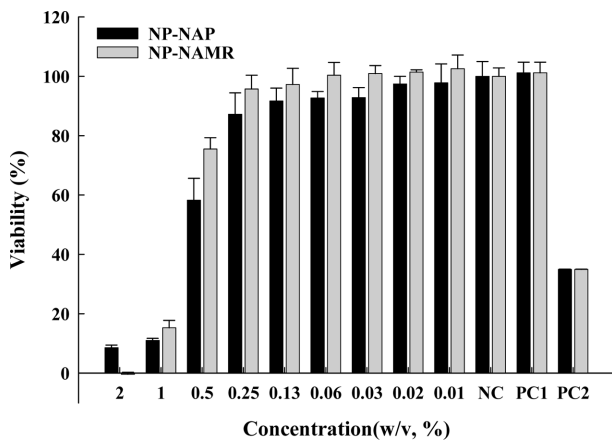


Fig. 2. Viability of *C. perfringens* as affected by the concentration of NP-NAP, NP-NAMR and positive control (PC). NC is negative control, PC1 and PC2 are nitrite 70 and 400 µg/mL, respectively.

(w/v)에서는 각각 89.0%와 84.7%를 보였으며 2% (w/v)에서는 각각 91.4%와 100% 이상의 감소율을 보였다. 한편 대조구인 아질산염(sodium nitrite)은 아질산 이온으로서 70 ppm (PC1)에서는 균이 감소하지 않았으며 아질산 이온 400 ppm (PC2)에서 약 65.1%의 균 감소율을 보였다. 이에 따라 합성 아질산염은 식약처 관리 기준(아질산 이온으로서 70 ppm)¹⁵⁾ 보다 5.7배 이상 높은 농도에서도 *C. perfringens*에 대하여 65.1% 이하의 비교적 낮은 항균 활성을 보인 반면 NP-NAP와 NP-NAMR은 1.0% (w/v) 농도에서 *C. perfringens*에 대해 84.7-89.0%의 비교적 높은 항균 활성을 보였다. Kopjar 등²⁵⁾은 녹차의 총페놀(total phenolics) 함량은 2.26±0.11 g/kg이고 이 중 수용성 폴리페놀 성분인 총탄닌(total tannin)은 0.69 g/kg 함유한다고 하였고 Díaz Carrasco 등²⁶⁾은 녹차 추출물 등 탄닌을 함유하는 식물 추출물의 *C. perfringens* 및 *S. Typhimurium* 등에 대한 항균 활성을 보고하였으며 효모 세포벽(yeast cell wall)은 *C. perfringens*의 lag phase 지속 시간을 3.6시간 증가시키고 최대 증식률을 50% 이상 감소시키는 것으로 알려져 있다²⁷⁾. 이에 따라 천연 복합추출물 중 녹차 추출물

의 탄닌 등 페놀 성분과 효모 추출물에 의한 항균 활성으로 사료되며 이 밖에 마늘 및 강황 추출물 등 천연 복합추출물 구성 성분들에 의한 복합적 항균 효과로 추정된다^{28,29)}.

천연 복합추출물 적용 소시지 시제품의 품질 특성

소시지의 냉장 중 pH

아질산 대체 천연 보존료로서 복합추출물(NP-NAP, NP-NAMR)을 첨가하여 제조한 소시지 시제품의 냉장 중 pH는 Table 3과 같다. 그 결과, NP-NAP 첨가구(pH 6.47-6.81)와 NP-NAMR 첨가구(pH 6.41-6.68)는 nitrite 함유 피클링솔트(NPS) 0.08% 첨가구(pH 6.84-7.10)와 스페인산 수입품(CPS) 1% 첨가구(pH 6.70-7.06) 보다 다소 낮은 pH 값을 보였는데 이는 NP-NAP와 NP-NAMR 자체의 pH가 각각 4.5±1.0 및 4.2±1.0로 비교적 낮은 때문으로 사료된다. NP-NAP 첨가구와 두 양성 대조구(NPS, CPS)는 냉장 2주 차까지 pH가 다소 상승한 후 4주 차에 다소 감소한 한편 NP-NAMR 첨가구는 냉장 1주 차에 다소 증가(pH 6.63-6.68)한 후에 4주 차까지 pH 6.43-6.57로 감소 경향을 보였다. 1주 차에 소폭 상승 후 저감하는 NP-NAMR 첨가 소시지의 pH 변화 경향은 돈육 패티에 대한 연구⁷⁾에서 60 ppm sodium nitrite와 1% 근대(*S. chard*) 분말 첨가 시와 유사하였고 NP-NAP와 NPS, CPS 첨가구에서의 2주 차까지 소폭 상승 후 저감하는 경향은 셀러리(celery) 분말 2% 첨가 돈육 패티의 경우와 유사하였다. Li 등³⁰⁾은 tea saponins의 항산화 및 항균 활성은 pH 값에 의존한다고 하였다. 즉, 산성(pH 4.8)에서 *S. aureus*와 *E. coli*에 대한 항균 활성이 높은 반면 알칼리(pH 8.0)에서는 90% 이상의 superoxide 라디칼 소거능을 보였다. 이상의 결과 본 연구에서 소시지의 pH는 6.4-7.1이므로 항산화 및 항균 활성을 모두 기대할 수 있는 범위로 사료된다.

소시지의 색도

소시지 시제품의 4주간 냉장 중 색도를 측정하여 Table 4에 나타내었다. 그 결과, 홍국홍색소 함유 NP-NAMR 첨가구가 타 시험구 대비 유의적으로 높은 적색도(a 값)를

Table 3. pH of pilot sausage products during 4 week storage

Sample	Storage time (week)			
	0	1	2	4
NP-NAP 1%	6.47±0.059 ^c	6.64±0.015 ^{cd}	6.81±0.021 ^b	6.45±0.026 ^d
NP-NAP 2%	6.47±0.026 ^c	6.60±0.025 ^d	6.77±0.044 ^b	6.52±0.026 ^c
NP-NAMR 1%	6.43±0.042 ^c	6.68±0.000 ^c	6.67±0.046 ^c	6.57±0.042 ^c
NP-NAMR 2%	6.41±0.012 ^c	6.63±0.049 ^d	6.60±0.023 ^d	6.43±0.032 ^d
NPS ¹⁾ 0.08%	6.84±0.026 ^a	6.97±0.023 ^a	7.10±0.031 ^a	6.76±0.032 ^a
CPS ²⁾ 1%	6.70±0.021 ^b	6.91±0.006 ^b	7.06±0.006 ^a	6.70±0.017 ^b

¹⁾NPS: nitrite pickling salt, ²⁾CPS: a commercial product from Spain.
^{a-d)}Means±SD in the same column are significantly different ($P<0.05$).

보였는데 NP-NAMR 2% 첨가구가 28.81로 비교적 가장 높았고 다음으로 1% 첨가구에서 23.54로 타 시험구 대비 유의적으로 높은 a 값을 보였다($P<0.05$). 한편 NP-NAP 1% 및 2% 첨가구에서는 각각 5.05 및 3.75의 a 값을 보였으며 양성 대조구로서 NPS 0.08% 및 CPS 1% 첨가구는 각각 7.41 및 6.12의 a 값을 보였다. 밝기 L 값은 두 양성 대조구(67.13-67.62)와 NP-NAP 첨가구(67.62-69.97)에서 NP-NAMR 첨가구(57.19-53.48) 대비 유의적으로 높은 L 값을 보였다($P<0.05$). 황색도 b 값은 NP-NAP 2% 첨가구(18.26)가 비교적 낮은 값을 보였으나 두 양성 대조구(16.99-17.81) 대비 유의적 차이는 보이지 않았으며 NP-NAP 2%를 제외한 기타 시험구(18.65-19.76)는 NPS 0.08% 첨가구(16.99±0.44) 대비 유의적으로 높은 수준이었으나 CPS 1% (17.81±0.85)와는 유의적 차이가 없었다($P<0.05$). 색차(ΔE)에서는 NP-NAMR 첨가구(50.08-56.04)가 유의적으로 높은 수준이었으나 NP-NAP 첨가구(32.79-35.38)와 양성 대조구(34.91-35.20)는 유의적 차이를 보이지 않았다($P<0.05$). 본 연구에서의 소시지의 적색도(a 값)의 경우, 배추(*Chinese cabbage*) 분말 0.15-0.35% 첨가 시 a 값(10.06-10.12)의 2배 이상, 100 ppm의 sodium nitrite 첨가 시 a 값(8.85)¹⁰⁾의 2-3배 수준이면서 저장 기간 중 안정하여 소시지 제조 시 홍국 홍색소를 함유하는 NP-NAMR의 첨가는 기존 아질산염의 근육 내 미오글로빈과의 결합을 통한 색 고정 효과³⁾를 대체할 수 있을 것으로 사료된다.

소시지의 조직감

NP-NAP와 NP-NAMR을 첨가해 제조한 소시지 시제품의 4주간 냉장 후 조직감을 측정하였다. 즉 fracturability (부서짐성), springiness (탄성), cohesiveness (응집성), gumminess (검성), hardness (경도) 및 chewiness (씹힘성)은 Table 5와 같다. Springiness와 cohesiveness는 NP-NAP 1%가 각각 0.956±0.03 및 0.408±0.03로 2%(각각 0.89±0.03 및 0.37±0.02) 보다 유의적으로 높았으며 cohesiveness의 경우 NP-NAP 1%가 유의적으로 높았으나 이를 제외한 모든 시험구(0.366±0.02-0.37±0.02)에서는 두 양성 대조구(0.378±0.02, 0.346±0.02)와는 유의적인 차이가 없었다($P<0.05$). Fracturability, gumminess 및 hardness는 NP-NAMR 2% 첨가구가 각각 1.90±0.09, 0.69±0.05 및 1.90±0.09로 1% 첨가구(각각 1.65±0.13, 0.61±0.08 및 1.66±0.13)보다 유의적으로 높았으며 그 중 fracturability와 hardness는 NP-NAMR 2%가 유의적으로 높았으나 이를 제외한 모든 시험구(각각 1.62±0.07-1.70±0.15 및 1.62±0.07-1.70±0.15)에서는 두 양성 대조구(1.67±0.10, 1.73±0.16)와 유의적 차이가 없었다($P<0.05$). 한편 gumminess는 NP-NAMR 2% (0.69±0.05)가 CPS 1% (0.61±0.06) 대비 유의적으로 높았으나 이를 제외한 모든 시험구(0.60±0.05-0.64±0.05)에서는 두 양성 대조구(0.64±0.04, 0.61±0.06)와 유의적인 차이가 없었다($P<0.05$). 또한 Chewiness는 모든 시험구(0.55±0.08-0.63±0.07)가 양성 대조구(0.57±0.06, 0.55±0.08)와 유의적

Table 4. CIE color values of pilot sausage products stored for 4 weeks

Sample	L*	a*	b*	ΔE
NP-NAP1%	67.6±1.3 ^a	5.1±0.3 ^d	19.1±0.4 ^{ab}	35.4±1.4 ^c
NP-NAP 2%	70.0±2.7 ^a	3.8±0.7 ^e	18.3±1.1 ^{bc}	32.8±3.0 ^c
NP-NAMR 1%	57.2±0.3 ^b	23.5±1.1 ^b	18.7±0.5 ^{ab}	50.1±0.9 ^b
NP-NAMR 2%	53.5±0.9 ^c	28.8±0.4 ^a	19.8±0.7 ^a	56.0±0.5 ^a
NPS ¹⁾ 0.08%	67.1±1.0 ^e	7.4±0.7 ^c	17.0±0.4 ^c	35.2±0.8 ^c
CPS ²⁾ 1%	67.6±1.8 ^a	6.1±0.6 ^d	17.8±0.9 ^{bc}	34.9±2.0 ^c

¹⁾NPS: nitrite pickling salt, ²⁾CPS: a commercial product from Spain.

^{a-d}Means±SD in the same column are significantly different ($P<0.05$).

Table 5. The texture profiles of pilot sausage products stored for 4 weeks

Sample	Fracturability (kg)	Springiness (ratio)	Cohesiveness (ratio)	Gumminess (kg)	Hardness (kg)	Chewiness (kg)
NP-NAP 1%	1.62±0.07 ^b	0.96±0.03 ^a	0.41±0.03 ^a	0.64±0.05 ^{ab}	1.62±0.07 ^b	0.63±0.07 ^a
NP-NAP 2%	1.70±0.15 ^b	0.89±0.03 ^b	0.37±0.02 ^{bc}	0.60±0.05 ^b	1.70±0.15 ^b	0.56±0.05 ^a
NP-NAMR 1%	1.65±0.13 ^b	0.90±0.03 ^b	0.37±0.02 ^{bc}	0.61±0.08 ^b	1.66±0.13 ^b	0.55±0.08 ^a
NP-NAMR 2%	1.90±0.09 ^a	0.89±0.03 ^b	0.37±0.02 ^{bc}	0.69±0.05 ^a	1.90±0.09 ^a	0.61±0.06 ^a
NPS ¹⁾ 0.08%	1.67±0.10 ^b	0.90±0.08 ^{ab}	0.38±0.02 ^b	0.64±0.04 ^{ab}	1.67±0.10 ^b	0.57±0.06 ^a
CPS ²⁾ 1%	1.73±0.16 ^b	0.92±0.03 ^{ab}	0.35±0.02 ^c	0.61±0.06 ^b	1.73±0.16 ^b	0.55±0.08 ^a

¹⁾NPS: nitrite pickling salt, ²⁾CPS: a commercial product from Spain.

^{a-c}Means±SD in the same column are significantly different ($P<0.05$).

차이가 없었다($P<0.05$). 파프리카 올레오레진 용액을 함유한 유화 돈육 소시지의 hardness는 2.67-3.03 kg, cohesiveness는 0.01을 보여 본 연구에서의 hardness가 비교적 낮은 한편 cohesiveness는 비교적 높은 수준이었다¹³⁾.

소시지의 냉장 중 TBARS

소시지 시제품의 냉장 중 TBARS (malondialdehyde, MDA) 함량을 측정한 결과, 냉장 4주까지 모든 시험구에서 2 μM 미만의 MDA 값을 보였다(Table 6). 냉장 4주 기준 NP-NAP와 NP-NAMR은 2% 첨가구에서 유의적으로 낮은 수준이었으나 저장 기간 중 평균 TBARS (MDA) 함량에서는 모든 시험구(0.87 ± 0.13 - 1.18 ± 0.39)에서 상호 유의적인 차이 없이 유사하였다($P<0.05$). 결국, NP-NAP와 NP-NAMR 첨가 소시지의 냉장 시험에서 모든 시험구는 자체 품질 지표(10 μM)보다 현저히 낮은 TBARS (MDA) 함량을 보였으며 스페인산 수입품 CPS 1% 첨가구와 아질산 함유 NPS 0.08% 첨가 양성 대조구 대비 통계적으로 유의적인 차이를 보이지 않았다. 본 연구에서의 MDA를 g 당 μM 로 환산 한 0.1-0.3 $\mu\text{M}/\text{g}$ 은 시판 raw sausage의 MDA 0.1 $\mu\text{M}/\text{g}$ 내외와 유사하였고 fried sausage의 MDA 1.0 $\mu\text{M}/\text{g}$ 내외 보다는 낮은 수준이었다³¹⁾.

소시지의 냉장 중 미생물 품질 특성

소시지 시제품의 냉장 중 일반 세균수는 Table 7과 같다. 그 결과, 양성 대조구 중 NPS 0.08% 첨가구에서는 0주 차 2.81 log CFU에서 4주 차까지 4.11 log CFU로 증가하였으며 CPS 1% 첨가구는 냉장 중 증감하면서 4주 차에 3.36 log CFU 수준을 보였다. 한편 NP-NAP 1% 첨가구는 2주 차 3.20 log CFU에서 4주 차에 4.10 log CFU로 다소 증가하였으며 NP-NAP 2% 첨가구는 0주 차 3.23 log CFU에서 2주 차까지 3.08 log CFU로 감소한 후 4주 차에 3.40 log CFU로 증가하였다. 또한, NP-NAMR 1% 첨가구는 0주 차 3.04 log CFU에서 증감하면서 4주 차에 4.36 log CFU로 다소 증가하였다. NP-NAMR 2% 첨가구에서는 0주 차 2.94 log CFU에서 2주 차까지 3.04 log CFU를 보였으며 4주 차에 3.43 log CFU로 다소 증가하였다. 초기 균수 대비 냉장 4주 차까지 총 증가 균수(log CFU)는, NP-NAP 1% (1.06)와 NP-NAMR 1% 첨가구 (1.32)는 양성 대조구 NPS 0.08% (1.30)과 유사하였고 NP-NAP 2% (0.17)와 NP-NAMR 2% 첨가구(0.49)는 스페인산 수입품 CPS 1% 첨가구(0.53) 대비 다소 적었다. 이상의 결과, 초기 균 수가 3 log CFU 수준임에 따라 냉장 중 총 균수에 변화가 있는 것으로 판단되나 NP-NAP 2% 첨가구와 NP-NAMR 2% 첨가구에서 0일차 대비 총 0.17 log

Table 6. TBARS contents (μM) of pilot sausage products during 4 week storage

Sample	Storage time (week)				Average
	0	1	2	4	
NP-NAP 1%	0.73 \pm 0.18	1.03 \pm 0.11	0.69 \pm 0.01	1.65 \pm 0.11 ^a	1.025 \pm 0.44 ^a
NP-NAP 2%	1.17 \pm 0.16	1.13 \pm 0.09	0.89 \pm 0.05	1.07 \pm 0.04 ^d	1.065 \pm 0.12 ^a
NP-NAMR 1%	0.92 \pm 0.11	1.14 \pm 0.11	0.93 \pm 0.13	1.74 \pm 0.10 ^a	1.183 \pm 0.39 ^a
NP-NAMR 2%	0.95 \pm 0.13	0.77 \pm 0.01	1.01 \pm 0.11	0.75 \pm 0.09 ^e	0.87 \pm 0.13 ^a
NPS ¹⁾ 0.08%	0.88 \pm 0.27	0.72 \pm 0.04	0.86 \pm 0.14	1.26 \pm 0.07 ^e	0.93 \pm 0.23 ^a
CPS ²⁾ 1%	0.82 \pm 0.17	0.80 \pm 0.10	0.83 \pm 0.08	1.39 \pm 0.10 ^b	0.96 \pm 0.29 ^a

¹⁾NPS: nitrite pickling salt, ²⁾CPS: a commercial product from Spain.

^{a-e} Means \pm SD in the same column are significantly different ($P<0.05$).

Table 7. Total plate counts (log CFU/g) of pilot sausage products added with preservatives during 4 week

Sample	Storage time (week)				Total increased counts*
	0	1	2	4	
NP-NAP 1%	3.04 \pm 0.04	3.00 \pm 0.03	3.20 \pm 0.12	4.10 \pm 0.05	1.06
NP-NAP 2%	3.23 \pm 0.09	3.08 \pm 0.02	2.98 \pm 0.13	3.40 \pm 0.11	0.17
NP-NAMR 1%	3.04 \pm 0.09	2.85 \pm 0.10	3.56 \pm 0.10	4.36 \pm 0.04	1.32
NP-NAMR 2%	2.94 \pm 0.18	3.04 \pm 0.04	3.04 \pm 0.21	3.43 \pm 0.02	0.49
NPS ¹⁾ 0.08%	2.81 \pm 0.04	2.58 \pm 0.02	3.62 \pm 0.08	4.11 \pm 0.16	1.30
CPS ²⁾ 1%	2.83 \pm 0.43	2.70 \pm 0.19	3.04 \pm 0.19	3.36 \pm 0.10	0.53

¹⁾NPS: nitrite pickling salt, ²⁾CPS: a commercial product from Spain.

* Total microbial counts of week 4 – total microbial counts of week 0.

Table 8. Sensory evaluation of pilot sausage products stored for 4 weeks

	Sample	Color	Flavor	Tenderness	Overall palatability
1	NP-NAP 1%	6.0±1.8 ^{ab}	7.0±1.8 ^a	7.4±1.3 ^a	6.7±1.9 ^a
2	NP-NAP 2%	6.0±1.7 ^{ab}	6.9±1.7 ^a	6.8±1.6 ^a	6.9±1.3 ^{ab}
3	NP-NAMR 1%	6.5±2.6 ^{ab}	7.1±1.2 ^a	6.1±1.5 ^a	6.1±1.7 ^{ab}
4	NP-NAMR 2%	5.5±2.6 ^b	7.2±1.5 ^a	6.7±1.5 ^a	6.0±1.5 ^b
5	NPS ¹⁾ 0.08%	7.1±1.4 ^a	7.6±1.5 ^a	6.6±1.6 ^a	7.4±1.3 ^a
6	CPS ²⁾ 1%	7.3±1.6 ^{ab}	6.9±1.5 ^a	6.2±1.5 ^a	7.0±1.1 ^{ab}

¹⁾NPS: nitrite pickling salt, ²⁾CPS: a commercial product from Spain.

^{a-b}Means±SD in the same column are significantly different ($P<0.05$).

CFU 및 0.49 log CFU의 증가에 머물러 자체 품질 기준(초기 균 수 대비 증가 수준 3 log CFU 이하)을 만족하는 안정적인 항균 활성을 확인하였다. 미생물 국제 규격은 즉석 식품류 소시지의 경우 미생물 품질 기준 상한이 5 log CFU/g이지만 일반 염지 소시지의 경우엔 해당 없음(N/A)으로 제시하고 있다³²⁾. 이 밖에 소시지 시제품에 대한 대장균, 살모넬라, 리스테리아 모노사이토제네스, 황색포도상구균에 대한 분석 결과 모두 0/g 및 음성이었으며 기타 잔류 아질산 이온도 불검출(data not shown)로 식약처 고시 소시지류의 기준 및 규격을 만족하였다.

소시지의 관능 평가

소시지 시제품의 냉장 4주 차 관능적 기호도를 평가하였다(Table 8). 그 결과, 색(color)에 대한 기호도의 경우 두 양성 대조구 첨가구(NPS, CPS)가 7점 이상으로 비교적 높은 점수를 보였으나 시험구와의 통계적 유의차는 없었다($P<0.05$). 향미(flavor)의 경우, 시험구 대부분 7점 내외의 수준을 보이면서 역시 두 양성 대조구와 통계적 유의차를 보이지 않아 유사하였다($P<0.05$). 연도(tenderness)의 경우도 NP-NAP 1% 첨가구가 7.36으로 비교적 가장 높은 수준이었으나 타 시험구 및 양성 대조구 대비 통계적 유의차 없이 유사하였다($P<0.05$). 전체적 기호도에서는 NP-NAMR 2% 첨가구가 6±1.51로 비교적 낮았으나 타 시험구와 양성 대조구는 모두 통계적 유의차 없이 유사하였다($P<0.05$). NP-NAMR 2% 첨가구의 경우, 색상 기호도에서 비교적 낮은 5.5±2.62를 보인 것이 전체 기호도에 부정적인 영향이 있는 것으로 판단되는데 이는 최근 합성 아질산염에 대한 부정적 인식에 따른 적색에 대한 낮은 기호도로 반영된 결과로 사료된다.

Acknowledgment

본 연구는 2023년 중소벤처기업부의 창업성장기술개발사업[RS-2023-00261547]에 의해 연구되었습니다. 또한, 본 연구의 일부는 교육부 재원의 부경대학교 3단계 산학협력

선도대학육성사업(LINC3.0)의 지원을 받아 수행되었으며 이에 감사드립니다.

국문 요약

본 연구는 합성 아질산염 대체 천연보존료로 개발하고자 천연물 유래 복합추출물(NP-NAP, NP-NAMR)의 성분 특성과 소시지에의 적용 시 품질 특성을 규명하였다. NP-NAP와 NP-NAMR 0.5-1.0% (w/v)는 90.1-100%의 ABTS 라디칼 저해능과 10 mg/mL에서 각각 811 µM 및 770 µM trolox 상당의 FRAP 활성을 보였다. NP-NAP와 NP-NAMR은 *S. aureus*와 *L. monocytogenes*, *E. coli* 및 *S. Typhimurium*에 대해 0.1% (w/v)에서 99.99-100%의 감소율을 보였고 *C. perfringens*에 대해 1%와 2% (w/v)에서 각각 89.0-91.4%와 84.7-100% 이상의 감소율을 보였다. 천연 복합추출물 첨가 소시지 시제품의 냉장 중 품질 특성에서 4주 차 pH (6.43-6.57)와 NP-NAMR 첨가 시 높은 a 값(23.54% 및 28.81)을 확인하였다. Springiness와 cohesiveness는 NP-NAP 1%가 높았으나 다른 모든 시험구는 양성 대조구와 유의적 차이가 없었다($P<0.05$). 냉장 중 평균 MDA (0.87-1.183 µM)는 양성 대조구(0.93-0.96 µM)와 유사하였으며($P<0.05$) 총 증가균수(log CFU)는 1% 첨가(1.10-1.32) 시 nitrite pickling salt (NPS) 0.08% (1.31)과 유사하였고 2% 첨가 시(0.17-0.49)는 commercial product from Spain (CPS) 1% (0.53)보다 적었다. 종합적 기호도는 NP-NAMR 2% 제외한 모든 시험구는 통계적 유의차가 없었다. 이상의 결과, 과채 추출물 유래 NP-NAP와 NP-NAMR은 항산화, 항균 활성과 안정적인 적색도와 함께 식약처 고시 소시지류의 기준 및 규격을 만족하여 합성 아질산염과 시판 수입품을 대체하는, 유효한 소재가 될 수 있을 것으로 사료된다.

Conflict of interests

The authors declare no potential conflict of interest.

ORCID

Joung-Hyun Park	https://orcid.org/0000-0001-6517-2485
Il Choi	https://orcid.org/0009-0006-3456-9424
Ho Lee	https://orcid.org/0000-0002-5529-5665
Min-Ung Kim	https://orcid.org/0000-0002-1257-1463
Yung-Sung Cho	https://orcid.org/0009-0000-2476-2681
Yu-Kyeong Kim	https://orcid.org/0000-0002-4517-0981
Yeong-In Kim	https://orcid.org/0009-0005-5410-3915
Seo-Yeon Kwon	https://orcid.org/0009-0000-3353-9692
Young-Mog Kim	https://orcid.org/0000-0002-2465-8013
Yang-Bong Lee	https://orcid.org/0000-0001-8985-6283

References

- Flores, M., Toldrá, F., Chemistry, safety, and regulatory considerations in the use of nitrite and nitrate from natural origin in meat products-Invited review. *Meat Sci.*, **171**, 108272 (2021).
- Barcenilla, C., Ducic, M., López, M., Prieto, M., Álvarez-Ordóñez, A., Application of lactic acid bacteria for the bio-preservation of meat products: A systematic review. *Meat Sci.*, **183**, 108661 (2022).
- Rostkowska, K., Zwierz, K., Rozanski, A., Moniuszko-Jakoniuk, J., Roszczenko, A., Formation and Metabolism of N-Nitrosamines. *Pol. J. Environ. Stud.*, **7**, 321-326 (1998).
- Gray, J.I., Randall, C.J., The nitrite/N-nitrosamine problem in meats: An update. *J. Food Prot.*, **42**, 168-179 (1979).
- Kim, T.K., Ku, S.K., Kim, Y.B., Jeon, K.H., Choi, Y.S., Substitution and technology trend of synthetic additives in processed meat industry: Nitrite and phosphate. *Food Sci. Anim. Resour. Ind.*, **6**, 98-108 (2017).
- Choi, S.K., Lee, Y., Seo, J.E., Park, J.E., Lee, J.Y., Kwon, H., Elucidation of dishes high in N-nitrosamines using total diet study data. *J. Food Hyg. Saf.*, **33**, 361-368 (2018).
- Shin, D.M., Hwang, K.E., Lee, C.W., Kim, T.K., Park, Y.S., Han, S.G., Effect of Swiss chard (*Beta vulgaris* var. *cicla*) as nitrite replacement on color stability and shelf-life of cooked pork patties during refrigerated storage. *Korean J. Food Sci. Anim. Resour.*, 418-428 (2017).
- Jeong, J.Y., Bae, S.M., Yoon, J., Jeong, D.H., Gwak, S.H., Effect of using vegetable powders as nitrite/nitrate sources on the physicochemical characteristics of cooked pork products. *Food Sci. Anim. Resour.*, **40**, 831-843 (2020).
- Ozaki, M.M., Munekata, P.E., Jacinto-Valderrama, R.A., Efraim, P., Pateiro, M., Lorenzo, J.M., Pollonio, M.A.R., Beetroot and radish powders as natural nitrite source for fermented dry sausages. *Meat Sci.*, **171**, 108275 (2021).
- Jeong, J.Y., Bae, S.M., Yoon, J., Jeong, D.H., Gwak, S.H., Investigating the effects of Chinese cabbage powder as an alternative nitrate source on cured color development of ground pork sausages. *Food Sci. Anim. Resour.*, **40**, 990-1000 (2020).
- Pak, J.I., Jung, H.S., Lee, S.K., Kim, G.Y., Jho, J.W., Kang, S.M., Effect of substitution of nitrite with *Gardenia jasminoides* extract on quality characteristics of chicken meat patty. *J. Agri. Life Environ. Sci.*, **32**, 34-43 (2020).
- Hong, J.H., Lee, S.H., Kim, H.Y., Effect of cherry tomato paste for nitrite replacement on emulsion-type pork sausage. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **50**, 506-514 (2021).
- Kim, G.H., Chin, K.B., Evaluation of quality characteristics of low-nitrite pork sausages with paprika oleoresin solution during refrigerated storage. *Food Sci. Anim. Resour.*, **41**, 428-439 (2021).
- Yong, H.I., Kim, T.K., Choi, H.D., Jung, S., Choi, Y.S., Technological strategy of clean label meat products. *Food and Life*, **2020**, 13-20 (2020).
- MFDS, (2024, April 19). Food standards and specifications 8-General test methods 3.6.1 Nitrite ion A. diazotization. Retrieved from https://www.mfds.go.kr/brd/m_211/view.do?seq=14817
- Cho, E.J., Ju, H.M., Jeong, C.H., Eom, S.H., Heo, H.J., Kim, D.O., Effect of phenolic extract of dry leaves of *Lespedeza cuneata* G. Don on antioxidant capacity and tyrosinase inhibition. *Kor. J. Hort. Sci. Technol.*, **29**, 358-365 (2011).
- Benzie, I.F., Strain, J.J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Anal. Biochem.*, **239**, 70-76 (1996).
- ASTM International, (2024, April 19). ASTM E2149-13:standard test method for determining the antimicrobial activity of antimicrobial agents under dynamic contact conditions. Retrieved from <https://www.astm.org/e2149-13.html>
- MFDS, (2024, April 19). Food standards and specifications 8. General test methods 4. Microbiological Test Method. Retrieved from https://www.mfds.go.kr/brd/m_211/view.do?seq=14817
- Masek, A., Chrzescijanska, E., Latos, M., Zaborski, M., Podsek, A., Antioxidant and antiradical properties of green tea extract compounds. *Int. J. Electrochem. Sci.*, **12**, 6600-6610 (2017).
- Rice-Evans, C., Implications of the mechanisms of action of tea polyphenols as antioxidants in vitro for chemoprevention in humans. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **220**, 262-266 (1999).
- Oh, D.H., Lee, M.K., Park, B.K., Antimicrobial activities of commercially available tea on the harmful foodborne organisms. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **28**, 100-106 (1999).
- Gul, P., Bakht, J. Antimicrobial activity of turmeric extract and its potential use in food industry. *J. Food Sci. Technol.*, **52**, 2272-2279 (2015).
- Kiu, R., Hall, L.J., An update on the human and animal enteric pathogen *Clostridium perfringens*. *Emerg. Microbes Infect.*, **7**, 1-15 (2018).
- Kopjar, M., Tadić, M., Piližota, V., Phenol content and antioxidant activity of green, yellow and black tea leaves. *Chem. Biol. Technol. Agric.*, **2**, 1-6 (2015).
- Díaz Carrasco, J.M., Redondo, L.M., Redondo, E.A., Dominguez, J.E., Chacana, A.P., Fernandez Miyakawa, M.E., Use of plant extracts as an effective manner to control *Clostridium perfringens* induced necrotic enteritis in poultry. *BioMed Res. Int.*, **2016**, 3278359 (2016).
- Santovito, E., Greco, D., Marquis, V., Raspoet, R., D'Asca-

- nio, V., Logrieco, A.F., Avantiato, G., Antimicrobial activity of yeast cell wall products against *Clostridium perfringens*. *Foodborne Pathog. Dis.*, **16**, 638-647 (2019).
28. Liaqat, A., Zahoor, T., Atif Randhawa, M., Shahid, M., Characterization and antimicrobial potential of bioactive components of sonicated extract from garlic (*Allium sativum*) against foodborne pathogens. *J. Food Process. Preserv.*, **43**, e13936.
29. Alirezalu, K., Hesari, J., Nemati, Z., Munekata, P.E., Barba, F.J., Lorenzo, J.M., Combined effect of natural antioxidants and antimicrobial compounds during refrigerated storage of nitrite-free frankfurter-type sausage. *Food Res. Int.*, **120**, 839-850 (2019).
30. Li, Y., Du, Y., Zou, C., Effects of pH on antioxidant and antimicrobial properties of tea saponins. *Eur. Food Res. Technol.*, **228**, 1023-1028 (2009).
31. Hejazy, M., Khatibi, S. A., Shamsi, Z., The effect of frying process on the level of malondialdehyde in different meat products. *J. Nutr. Food Secur.*, **6**, 367-373.
32. Centre for Food Safety (CFS), (2024, July 14). Microbiological guidelines for food. Retrieved from https://www.cfs.gov.hk/english/food_leg/files/food_leg_Microbiological_Guidelines_for_Food_e.pdf