

돈육 소시지에 첨가한 키토산의 아질산염 대체 효과에 관한 연구

윤선경 · 박선미 · 김연주¹ · 안동현*
부경대학교 식품생명공학부 · 수산식품연구소
¹부산지방식품의약품안전청 시험분석실

Studies on Substitution Effect of Chitosan against Sodium Nitrite in Pork Sausage

Sun Kyoung Youn, Sun-Mee Park, Yeoun-Ju Kim¹ and Dong-Hyun Ahn*

Faculty of Food Science & Biotechnology/Institute of sea food science, Pukyong National University
¹Division of Experiment and Analysis, Pusan Regional Food & Drug Administration

Sodium nitrite which is added in processing of meat process product to develop color and to keep bacteria from growing, produces toxic substance after reacting, bring about deterioration by oxidation and toxic substance. So natural material is needed to substitute this sodium nitrite for. Chitosan which is made of chitin by processing of deacetylase, has various function of antibiosis and antimutation. We studied about the substitution effect of chitosan against sodium nitrite in pork sausage. As a result, of storing the sausage, antimicrobial effect of sodium nitrite was detected by 0.35% of chitosan(M.W. 30 kDa). This chitosan had same color developing effect even though addition content of sodium nitrite reduced until 15 ppm which is less than 1/10 of standard level. And chitosan decreased fast a residual nitrite. This result shows that chitosan inhibited a formation of nitrosamine.

Key words: chitosan, sodium nitrite, pork sausage

서 론

생활 수준이 향상됨에 따라 국내의 식육 소비량이 증가하고 있으며, 식육을 이용한 가공제품의 생산량도 매년 증가하고 있는 추세이다⁽¹⁾. 그 중 국내에서 소비되는 축육 소시지의 양은 1970년대 중반부터 크게 증가하기 시작하여 1990년대에는 전 생산량의 47%에 달하는 생산규모로 발전하였으며, 앞으로도 소시지의 생산시장은 계속 확대되리라 예상된다⁽²⁾. 이에 현재 유통되고 있는 축육 가공제품 중 가장 많은 비중을 차지하는 소시지에 대한 연구가 더욱더 필요한 실정이다. 한편, 축육 가공제품에서 발색제로 첨가되는 아질산염은 염지육색의 발현 및 안정화⁽³⁻⁵⁾뿐만 아니라, *Clostridium botulinum*에 대한 정균작용, 분비독소의 생성억제작용^(6,7), 육제품의 풍미향상⁽⁸⁾, 산패취 발생감소⁽⁹⁾ 등의 중요한 역할을 하기 때문에 많이 이용되고 있다. 그러나 식품 및 생체내의 잔존 아질산염은 그 자체가 독성을 가지며, 다량 섭취할 경우 methemoglobin병 등 중독증상을 일으킨다⁽¹⁰⁻¹²⁾. 아질산염

과 제 2급 및 3급 아민과의 nitroso화 반응은 위장 내의 낮은 산성조건에서 쉽게 일어나는 발암물질인 nitrosamine을 생성할 수 있다⁽¹³⁾. 이러한 위험성에 대해서는 축육가공제품에 첨가되는 아질산염의 양과 제조된 제품 중에 존재하는 아질산근의 양에 크게 관계한다고 알려져 있다⁽¹⁴⁻¹⁶⁾. 그러나 아질산염이 지니는 다양한 작용을 대체할 수 있는 물질이 없어 육제품에 아질산염의 잔존량을 철저히 규제하면서 사용하고 있는 실정이다⁽¹⁷⁾. 따라서 아질산염은 가능한 한 사용하지 않는 것이 바람직하므로 천연 물질로 완전히 대체하거나 그 사용량을 줄이면서 아질산염의 작용을 대체할 수 있는 방법이 강구되어야 하겠다. 지금까지 알려진 바로는 식품에서 일어나는 nitrosamine 생성반응은 nitrite와 반응할 수 있는 화합물에 의해 억제될 수 있다고 알려져 있다^(18,19). 이것은 이들이 nitrosamine 생성의 기질인 아민과 경쟁적으로 작용하기 때문이며, 또한 생성억제도는 상호간의 농도 및 pH에 의해 영향을 받는다고 보고되고 있다⁽²⁰⁻²³⁾. 최근에는 국내외에서 nitrosamine 생성억제인자인 비타민 C, α -tocopherol, 총 phenol 화합물, 황화합물의 함량이 높은 식품이 아질산염 소거작용에 미치는 영향에 대한 연구가 이루어지고 있으며⁽²⁴⁻²⁸⁾, 특히 녹황색 채소는 비타민 C를 비롯하여 α -tocopherol, 총 phenol 화합물을 섭취할 수 있는 주요 공급원이므로 많이 연구되고 있다. 많은 연구결과에 따르면 채소추출물이 nitrosamine 형성을 억제함을 알 수 있었고, 이는 채소즙

*Corresponding author : Dong-Hyun Ahn, Faculty of Food Science and Biotechnology/Institute of Seafood Science, Pukyong National University, Daeyean 3-dong, Nam-gu, Pusan 608-737, Korea
Tel: 82-51-620-6429
Fax: 82-51-622-9248
E-mail: dhahn@pknu.ac.kr

에 함유된 ascorbic acid 등이 아질산염을 nitric oxide로 분해시키기 때문인 것으로 알려져 있다^(24,25). 한편 최근에는 새우나 게의 가공폐기물인 키틴을 탈 아세틸화하여 얻어진 키토산을 각종 식품에 적용했을 때 뛰어난 보존제로서의 효과가 있어 식품의 저장성 연장을 위해 이용하고 있다⁽²⁹⁻³⁵⁾. 따라서 본 연구에서는 최근 부각되고 있는 수산 폐자원인 키토산을 이용하여 아질산염 대체효과 및 아질산염의 소거능력에 대해 연구하였다.

재료 및 방법

재료

소시지는 도살 직후의 신선한 돼지 적육과 등지방을 원료로 하여 상법에 의해 제조했다. 키토산은 분자량이 약 1 kDa, 5 kDa의 것을 (주)키토라이프, 분자량이 약 30 kDa은 (주)Biotech, 분자량이 약 120 kDa은 (주)신영키토산의 것을 구입하여 사용했다. 키토산의 분자량이 약 1 kDa과 5 kDa은 탈 아세틸화도가 95%이상, 분자량이 약 30 kDa은 탈 아세틸화도가 92%이상으로, 중금속과 비소 모두 검출되지 않은 것이며, 또한 분자량이 약 120 kDa은 탈 아세틸화도가 85% 이상으로, 중금속은 20 ppm 이하이고, 비소가 검출되지 않은 것을 사용했다.

소시지의 제조

신선한 돼지 뒷다리 적육과 지방 등을 세절하여, 적육 60%, 지방 20%, 얼음물 20%의 비율로 silent cutter(ST11, ADE Co., Germany)에 넣고 혼합 및 유화했다. 이때 적육과 지방, 얼음물의 비율을 100%로 하여 이에 대해 식염, 인산염, 설탕, monosodium glutamate, ascorbic acid, casein, 전분과 함께 nutmeg, white pepper, allspice 등의 향신료를 Table 1의 조성과 같이 첨가하여 조제했다. 아질산염은 150 ppm을 표준으로 첨가했고, 실험 조건에 따라 전혀 첨가하지 않은 것에서부터 75 ppm까지 첨가한 것을 대조구로 했다. 완성된 유화물은 직경 4.3 cm의 polyvinyl제 case에 충전하고 결찰하여 봉했다. 75°C의 열탕 중에 넣어 중심온도가 65°C 이상에서 30분 정도 가열처리 하고 급냉 후, 저장성 실험을 위해 일부는 30°C에 저장하고, 색 및 아질산염 잔류량 측정을 위해 나

머지는 진공포장 하여 10°C로 저장하면서 주기적으로 시료를 채취하여 실험했다.

키토산의 첨가

분자량이 약 1 kDa과 5 kDa의 키토산은 농도별로 초순수에 용해하였고, 분자량 30 kDa과 120 kDa의 키토산은 농도별로 0.3%의 Lactic acid에 용해한 후 1 N NaOH를 이용하여 pH를 5.5로 조절하여 소시지에 첨가했다. 소시지 제조 시 첨가하는 얼음물의 양은 첨가한 키토산 용액의 양을 제외하고 첨가하여 수분의 첨가량을 일정하게 했다. 키토산의 아질산염 소거능 실험에서는 분자량 약 1 kDa, 5 kDa, 30 kDa과 120 kDa의 키토산을 각각 0.02 g씩 첨가하여 실험하였다.

소시지의 저장성

제조한 소시지를 30°C에 각각 저장하면서 경시적으로 검체를 채취하여 세균수를 측정했다. 세균수의 측정은 각 시료 1 g을 무균적으로 채취하여 멸균한 phosphate buffered saline 용액(pH 7.4) 9 mL를 넣어 homogenize한 다음, 10배 희석법으로 희석하여 nutrient agar에 도말하고, 30°C에서 24시간 배양 후 colony 수를 측정했다.

키토산의 항균력

각 미생물의 생육조건에 적합한 Mueller Hinton broth, MRS 배지, Thioglycollate 배지에 시험균주 즉, 돈육 소시지의 부패미생물로 알려져 있는 균주를 접종하여 30°C에서 24 시간 동안 액체 배양한 후, O.D를 0.2로 일정하게 희석하여 각각의 배지 45 mL에 균액 600 µL씩 접종한다. 접종된 균액과 농도별 키토산을 각각 1.5 mL 혼합하여 30°C에서 48시간 배양하면서 600 nm에서 흡광도를 측정하여 균의 생육억제율을 결정했다. 혐기성 균주의 경우는 Gas-Pak(BBL)에 물 10 mL를 넣어 가스를 발생시킨 후 anaerobic jar(BBL)에 넣고 catalyst를 넣어 anaerobic jar(BBL)내의 공기를 혐기 상태로 만든 후 37°C에서 48시간 배양하여 O.D를 0.2로 일정하게 맞추어 접종된 균액과 키토산을 혼합하여 흡광도를 측정하여 다음과 같이 계산하였다.

$$\% = [1 - (\text{키토산을 첨가한 균액의 O.D.값} / \text{키토산을 첨가하지 않은 균액의 O.D.값})] \times 100$$

소시지의 색도 측정

소시지를 제조하여 진공 포장한 후 10°C에 저장한 시료를 개봉 후 3분간 방치하고 1.5×1.5×1 cm의 크기로 잘라 색차계(Color techno system Co., Japen JC801)를 이용하여 L* (명도), a*(적색도), b*(황색도)값으로 나타냈다. 이때 사용된 표준색판은 L* = 93.73, a* = -0.12, b* = 0.11였다.

소시지내 아질산염 잔류량 측정-Diazotization

소시지 내의 아질산염의 잔류량은 식품공전상의 Diazotization 방법을 이용하여 측정하였다. 즉 10°C에 저장한 소시지 10 g을 세절하고 80°C의 물과 고루 섞어 200 mL 메스플라스크에 정량적으로 옮긴 후 여기에 0.5 N NaOH 10 mL와 황산 아연 10 mL를 넣고 섞어 80°C에서 20분간 중탕한다. 중탕 후 냉각하고 초산암모늄 완충액 20 mL를 넣어 최종 부피를

Table 1. Ingredients for preparation of emulsion sausage

Lean meat	60%
Fat	20%
Ice water	20%
Sodium chloride	1.4%
Sodium phosphate	0.3%
sugar	0.5%
MSG	0.2%
Ascorbic acid	0.05%
Casein	1.0%
White pepper	0.3%
Nutmeg	0.1%
Allspice	0.1%
Starch	1.0%
Sodium nitrite	150 ppm

200 mL로 한다. 내용물을 잘 혼합하여 10분간 방치 후 여과하여 최초의 여액 20 mL를 버리고 맑은 여액을 삼각플라스크에 받아 시험용액으로 한다. 따로 소시지 대신 물 10 mL를 사용하여 동일하게 조작한 것을 공시험용액으로 한다. 시험용액과 공시험용액 20 mL에 Sulfanilamide solution 1 mL와 N-(1-Naphtyl) ethylenediamine solution 1 mL, 물을 넣어 25 mL로 하고 잘 섞어 발색시켜 20분간 방치 후 물 20 mL로 동일하게 조작한 것을 대조액으로 하여 파장 540 nm에서 흡광도를 측정한다. 미리 작성한 검량선에서 시험용액 20 mL 중의 아질산이온량(μg)을 구하고 다음식에 따라 검체중의 아질산 이온의 농도를 산출한다.

$$\text{아질산이온(mg/kg)} = \frac{\text{검량선에서 구한 아질산 이온량}(\mu\text{g})}{\text{검체채취량(g)}} \times \frac{1}{100}$$

키토산의 아질산염 소거능

키토산의 아질산염 소거작용은 Kato 등⁽¹⁷⁾과 Kang 등⁽¹⁸⁾의 방법으로 측정하였다. 즉 1 mM NaNO₂ 용액 1 mL에 분자량 약 30 kDa과 120 kDa을 각각 0.02 g 첨가하고 여기에 0.1 N HCl(pH 1.2)와 구연산 완충액(pH 3.0, 4.2 그리고 6.0)을 사용하여 반응용액의 pH를 각각 1.2, 4.2, 5.5 로 조정하여 반응용액의 부피를 10 mL로 하였다. 이 용액을 37°C에서 1시간동안 반응시킨 후 각각 1 mL씩 취하고 여기에 2% 초산용액 5 mL와 Griess 시약(30% Acetic acid로 각각 조제한 1% sulfanilic acid 와 naphthylamine을 1:1비로 혼합한 것. 사용직전 조제) 0.4 mL를 가하여 잘 혼합시킨 다음 실온에서 15분간 방치 후 520 nm에서 흡광도를 측정하고 아래식에 의하여 아질산염 소거율을 구했다.

$$N(\%) = \left(1 - \frac{A-C}{B}\right) \times 100$$

- N: 아질산염 소거율
- A: 1 mM NaNO₂ 용액에 시료 첨가 후 흡광도
- B: NaNO₂ 용액의 흡광도
- C: 시료 자체의 흡광도

결과 및 고찰

소시지의 저장성

소시지의 저장성은 세균수로 측정하였으며, 아질산염만을 첨가하여 제조한 일반적인 소시지와 아질산염과 키토산을 전혀 첨가하지 않은 소시지를 기준으로 키토산을 처리한 소시지의 세균수와 비교하여 저장성으로 나타났다. 각 분자량의 키토산을 0.50% 첨가하고 아질산염을 전혀 첨가하지 않은 경우, 분자량 약 1 kDa과 5 kDa의 키토산을 첨가한 것은 저장 7일째 세균수가 8.8×10⁸ CFU/mL이상으로 저장성 개선 효과가 거의 없었다. 그러나 분자량 약 30 kDa과 120 kDa의 키토산을 첨가한 경우는 전체적인 세균수가 4.5×10⁴ CFU/mL이하로 저장성 향상효과가 아주 커서, 아질산염을 정상적인 수준(150 ppm)으로 첨가한 일반적인 경우에 비해 크게 뒤지지 않는 저장성을 나타냈다(Fig. 1). 이는 소시지의 보존상

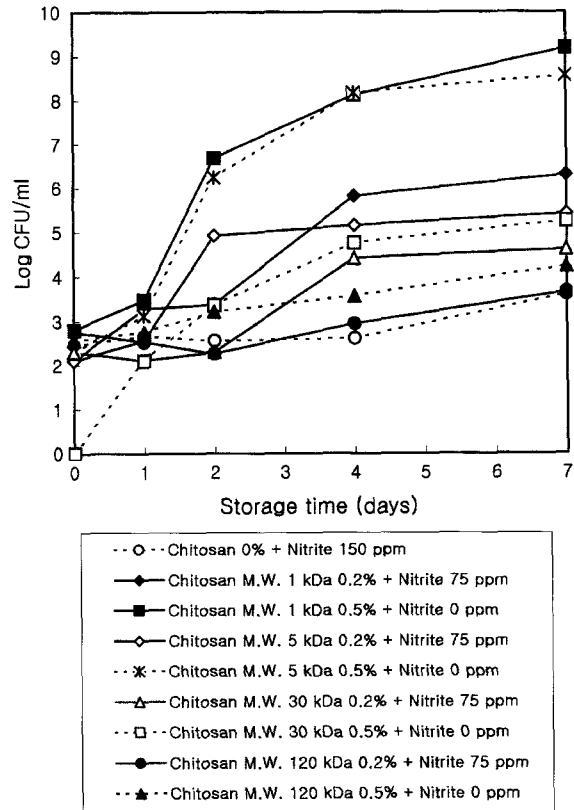


Fig. 1. Changes in total microbial count of the sausage with various molecular weight of chitosans during storage at 30°C.

키토산의 첨가로 인해 아질산염의 첨가량을 줄일 수 있으며, 그 대체효과는 분자량 약 30 kDa이상의 것이 뛰어나다는 것을 나타냈다. 그러나 분자량 약 120 kDa의 키토산은 소시지에 첨가함에 있어 지나치게 높은 점도가 문제가 될 수 있다. 따라서 분자량 약 30 kDa의 키토산을 이용하여 아질산염의 첨가량을 줄일 수 있는 농도를 조사하였다. 분자량 약 30 kDa의 키토산을 0.20%의 농도로 첨가하고 아질산염을 150 ppm에서부터 75 ppm, 60 ppm, 45 ppm, 30 ppm, 15 ppm, 7.5 ppm까지 첨가하거나 첨가하지 않고 제조한 소시지를 저온살균 처리하여 30°C에 저장하면서 세균수를 측정했다. 그 결과 아질산염과 키토산을 전혀 첨가하지 않은 것의 세균수가 저장 7일째 8.0×10⁷ CFU/mL인데 비해 키토산을 첨가한 것의 경우 세균수가 저장 7일째 5.9×10⁵ CFU/mL이하로 전체적으로 보존효과가 나타났으며, 키토산을 첨가하고 아질산염을 150 ppm첨가한 것의 세균수가 저장 7일째 6.0×10³ CFU/mL으로 보존효과가 가장 좋았다. 그러나 아질산염을 15 ppm이하로 첨가한 것의 경우 30 ppm이상 첨가한 것에 비해 저장 4일째부터 세균수 2.9×10⁵ CFU/mL정도까지 급격히 증가하여 저장성이 낮았다. 따라서 분자량 약 30 kDa의 키토산을 0.2%의 농도로 첨가하고 아질산염을 함께 사용할 경우 아질산염의 첨가량을 30 ppm까지 줄여도 저장 7일째의 세균수가 9.8×10⁴ CFU/mL이하로 어느 정도 저장효과가 유지되는 것으로 나타났다(Fig. 2). 분자량 약 30 kDa의 키토산을 0.35%의 농도로 첨가하고 아질산염을 농도별로 첨가하였을 경우에는 아질산염을 7.5 ppm 첨가한 것과 전혀 첨가하지 않은

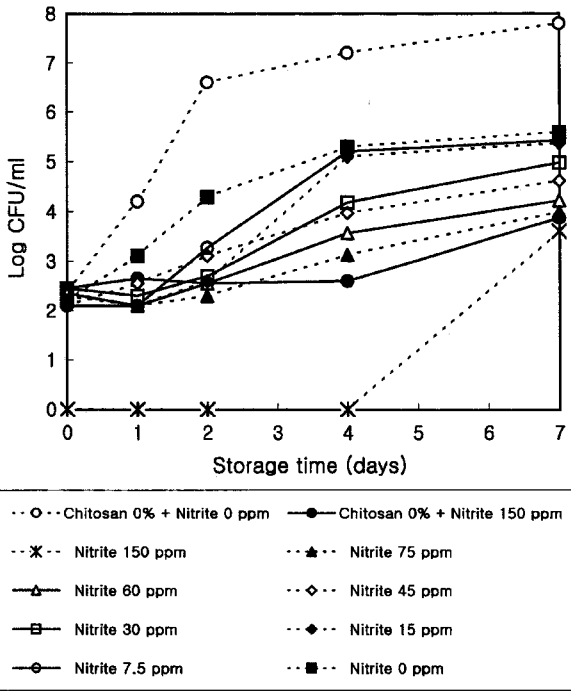


Fig. 2. Changes in total microbial count of the sausage by added various amount of sodium nitrite during storage at 30°C (Chitosan M.W. 30 kDa, 0.20%).

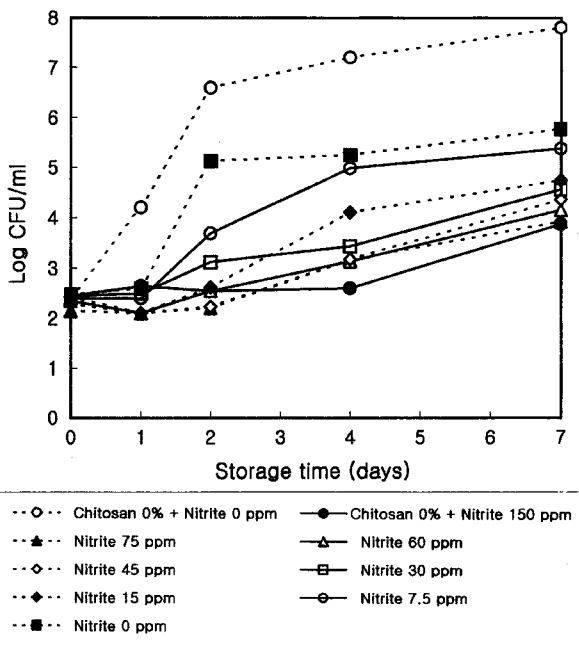


Fig. 3. Changes in total microbial count of the sausage by added various amount of sodium nitrite during storage at 30°C (Chitosan M.W. 30 kDa, 0.35%).

것의 세균수가 저장 1일 이후부터 급격히 증가하여 저장 2 일째에는 각각 1.3×10^5 CFU/mL과 6.0×10^6 CFU/mL로 나타난 반면 아질산염의 첨가량이 15 ppm인 시료는 저장 7일째까지 7.4×10^4 CFU/mL로 저장성이 상당히 유지되는 것으로 나타났다(Fig. 3). 또한 분자량 약 30 kDa의 키토산을 0.50%의 농도로 첨가하고 아질산염을 농도별로 첨가하였을

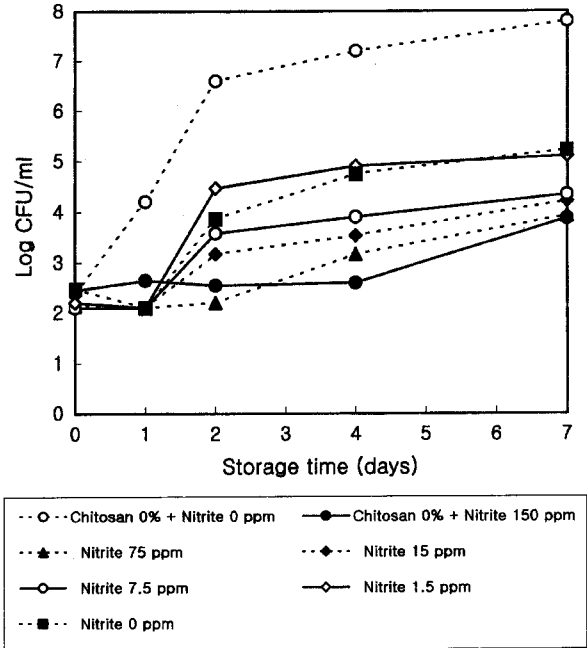


Fig. 4. Changes in total microbial count of the sausage by added various amount of sodium nitrite during storage at 30°C (Chitosan M.W. 30 kDa, 0.50%).

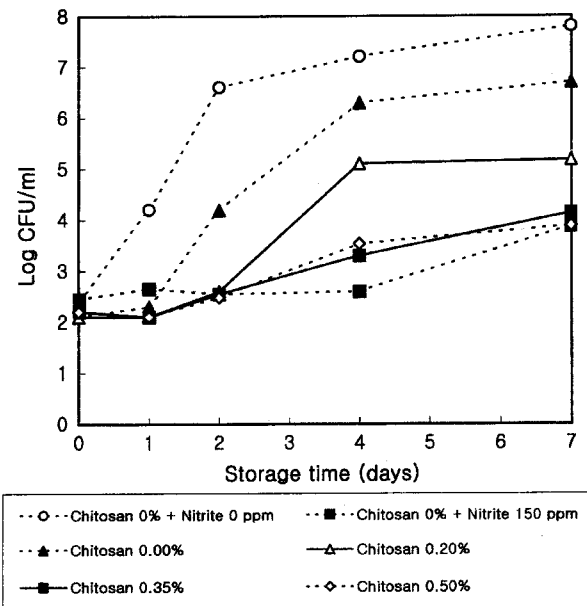


Fig. 5. Changes in total microbial count of the sausage by added various amount of chitosan during storage at 30°C (Chitosan M.W. 30 kDa and Sodium Nitrite 15 ppm).

경우에는 아질산염을 7.5 ppm까지 줄여도 세균수가 2.4×10^4 CFU/mL이하로 나타나 저장성이 상당히 유지되었다(Fig. 4). 따라서 분자량 약 30 kDa의 키토산과 아질산염을 농도별로 첨가하여 제조한 소시지는 키토산을 0.20% 첨가하였을 경우 아질산염을 30 ppm까지, 키토산을 0.35% 첨가한 경우 아질산염을 15 ppm까지, 키토산을 0.50% 첨가하였을 경우에는 아질산염을 7.5 ppm까지 절감하여도 저장성이 유지됨을 알 수 있었다. 분자량 약 30 kDa의 키토산을 0.20%, 0.35%, 0.50%

Table 2. Effect of growth inhibition of chitosans against spoilage bacteria in sausage

Chitosan		<i>S. enteritidis</i>	<i>S. typhimurium</i>	<i>E. coli</i>	<i>L. viridescens</i>	<i>Cl. perfringens</i>	<i>Cl. historyticum</i>
1 kDa	0.20%	-	-	-	-	-	-
	0.35%	-	-	-	2.70	-	-
	0.50%	-	-	-	7.10	1.20	-
5 kDa	0.10%	-	-	-	-	-	-
	0.20%	-	-	-	3.10	-	-
	0.35%	-	12.4	5.99	8.80	0.60	-
30 kDa	0.50%	-	16.7	19.1	14.2	3.70	6.70
	0.001%	-	0.60	-	11.2	4.40	1.57
	0.01%	-	2.90	26.1	24.4	25.6	19.7
	0.10%	86.9	18.9	94.5	47.7	37.6	53.7
	0.20%	86.3	77.8	94.6	72.9	53.2	66.1
	0.35%	86.6	86.0	94.3	75.3	78.7	74.0
120 kDa	0.50%	86.4	93.8	94.4	78.0	86.4	77.7
	0.001%	0.91	3.20	1.70	37.1	18.3	13.0
	0.01%	15.3	33.4	28.2	41.4	56.4	29.7
	0.10%	34.9	68.9	95.0	67.2	82.7	69.3
	0.20%	86.9	84.0	95.2	71.7	86.4	75.8
	0.35%	87.3	93.4	95.0	75.1	86.9	78.2
	0.50%	86.8	93.6	94.7	78.6	88.2	79.9

-.: Not detected growth inhibition.

Table 3. Changes in color of sausage by added various concentration of nitrite and chitosan(M.W. 30 kDa)

Treatment	L*	a*	b*	Treatment	L*	a*	b*
Standard	72.10	11.04	12.95	Nitrite(D)+Chitosan(0.35%)	71.04	10.37	12.67
Nitrite(A)+Chitosan(0.00%)	70.88	10.73	12.92	Nitrite(E)+Chitosan(0.00%)	71.75	10.52	12.78
Nitrite(A)+Chitosan(0.20%)	74.07	11.55	12.98	Nitrite(E)+Chitosan(0.20%)	70.72	10.92	12.55
Nitrite(A)+Chitosan(0.35%)	74.25	11.55	12.94	Nitrite(E)+Chitosan(0.35%)	71.38	10.57	12.77
Nitrite(A)+Chitosan(0.50%)	72.85	11.40	13.10	Nitrite(E)+Chitosan(0.50%)	72.65	10.10	12.54
Nitrite(B)+Chitosan(0.20%)	72.05	11.35	13.38	Nitrite(F)+Chitosan(0.00%)	74.56	6.03	15.02
Nitrite(B)+Chitosan(0.35%)	71.77	10.99	13.20	Nitrite(F)+Chitosan(0.20%)	74.36	6.32	15.38
Nitrite(C)+Chitosan(0.00%)	70.07	10.81	12.93	Nitrite(F)+Chitosan(0.35%)	73.92	6.71	14.54
Nitrite(C)+Chitosan(0.20%)	70.47	10.58	12.89	Nitrite(F)+Chitosan(0.50%)	73.10	6.31	16.32
Nitrite(C)+Chitosan(0.35%)	72.48	10.84	12.86	Nitrite(G)+Chitosan(0.50%)	75.90	5.05	16.55
Nitrite(D)+Chitosan(0.20%)	73.42	10.57	12.77				

(A): 75 ppm, (B): 60 ppm, (C): 45 ppm, (D): 30 ppm, (E): 15 ppm, (F): 7.5 ppm, (G):1.5 ppm
Standard: Chitosan 0.00% + Nitrite 150 ppm

의 농도로 첨가하고, 아질산염을 15 ppm 첨가하여 제조한 소시지의 저장성을 살펴보면, 키토산을 0.35%이상의 농도로 첨가하였을 때 저장 7일의 세균수가 1.3×10^4 CFU/mL 이하로 저장성이 유지되었다. 결국 분자량 약 30 kDa의 키토산을 사용할 경우 아질산염의 첨가량은 15 ppm까지로 절감할 수 있었으며, 이 때 저장성을 유지할 수 있는 키토산의 농도는 0.35%이상이었다(Fig. 5). 한편 분자량이 약 1 kDa, 5 kDa, 30 kDa, 120 kDa인 키토산을 농도별로 0.001%에서부터 0.5%까지 첨가하여 소시지의 부패균들에 대한 키토산의 생육억제효과를 조사하였다. 일반적으로 문제가 되는 *E. coli*, *S. enteritidis*, *S. typhimurium*은 분자량 약 30 kDa의 키토산을 0.35%, 분자량 약 120 kDa의 키토산을 0.2%이상 첨가했을 때 80%이상의 생육억제효과를 나타냈으며, *L. viridescens*의 경우는 70%이상의 생육억제효과를 나타냈다. 또한 진공포장 시 문제가 되는 혐기성 균주들에 대한 키토산의 생육억제

을 살펴보면 키토산 분자량 약 1 kDa의 0.35%의 농도에서, 분자량 약 5 kDa의 0.2%의 농도에서 낮은 생육억제율을 나타내었다. 분자량 약 30 kDa와 분자량 약 120 kDa에서는 0.001%의 농도부터 생육억제효과가 나타났으며 0.50%의 농도에서 70%이상의 생육억제율을 나타냈다(Table 2). 결과적으로 분자량 약 120 kDa의 키토산의 경우 돈육소시지의 부패에 관여하는 대부분의 균에 대해 강한 생육억제효과가 있는 것으로 나타났다. 지금까지의 결과로 소시지의 보존상 키토산의 첨가로 인해 아질산염의 첨가량을 크게 줄일 수 있는 것을 의미하며, 축산가공제품에 있어서 아질산염의 안전성을 고려할 때 중요한 의미를 지니는 결과로 사료된다. 그러므로 소시지에 키토산을 첨가하는 방법으로 가장 바람직한 것은 아질산염이 지니는 역할 중 저장성과 염지색의 발현이라는 가장 중요한 두 가지 역할을 제대로 수행할 수 있는 범위 내에서 최소한의 아질산염을 첨가하고, 저장성 부분

Table 4. Changes in color of sausages with 15 ppm nitrite according to added various chitosans

Treatment	Color														
	0 day			7days			14days			21days			35days		
	L*	a*	b*	L*	a*	b*	L*	a*	b*	L*	a*	b*	L*	a*	b*
Nitrite 0 ppm + Chitosan 0%	73.81	6.58	15.66	73.62	6.73	15.26	73.78	6.57	15.45	78.83	4.58	12.53	78.82	4.01	13.21
Nitrite 15 ppm + Chitosan 0%	74.87	9.01	12.94	74.97	9.61	12.47	79.94	7.51	10.50	79.43	7.16	10.61	79.50	6.70	10.88
Nitrite 15 ppm + Chitosan(A)0.2%	72.39	9.27	12.52	72.42	10.33	13.53	72.78	9.83	14.05	71.73	10.51	13.51	71.64	9.86	13.53
Nitrite 15 ppm + Chitosan(B)0.2%	69.09	9.56	12.47	69.08	11.05	12.79	69.45	11.64	13.46	69.27	11.78	13.14	69.43	11.18	13.12
Nitrite 15 ppm + Chitosan(C)0.2%	70.36	9.38	12.57	72.47	10.87	12.72	72.38	10.93	12.88	71.54	10.21	12.74	71.89	10.09	12.11
Nitrite 15 ppm + Chitosan(D)0.2%	70.28	9.52	12.42	72.32	10.53	13.24	72.14	10.72	12.65	72.34	10.62	12.57	72.37	10.43	12.62

(A): M.W. 1 kDa (B): M.W. 5 kDa (C): M.W. 30 kDa (D): M.W. 120 kDa

Table 5. Changes in color of sausages with 150 ppm nitrite according to added various chitosans

Treatment	Color														
	0 day			7 days			14 days			21 days			35 days		
	L*	a*	b*	L*	a*	b*	L*	a*	b*	L*	a*	b*	L*	a*	b*
Nitrite 0 ppm + Chitosan 0%	73.81	6.58	15.66	73.62	6.73	15.26	73.78	6.57	15.45	78.83	4.58	12.53	78.82	4.01	13.21
Nitrite 150 ppm + Chitosan 0%	75.65	9.57	12.83	76.22	9.63	13.32	80.86	7.82	11.10	80.93	7.44	10.93	80.54	6.92	11.13
Nitrite 150 ppm + Chitosan(A)0.2%	71.77	10.96	12.65	71.83	10.93	13.72	72.53	11.03	13.57	72.55	10.93	13.49	72.27	10.82	13.27
Nitrite 150 ppm + Chitosan(B)0.2%	71.43	10.92	12.34	71.62	10.94	13.44	71.53	11.01	13.38	72.10	11.10	13.42	72.03	11.05	13.24
Nitrite 150 ppm + Chitosan(C)0.2%	71.09	10.96	12.16	71.56	10.99	12.33	71.28	11.03	13.35	71.17	11.09	13.34	71.78	11.21	13.55
Nitrite 150 ppm + Chitosan(D)0.2%	71.83	10.67	12.24	71.87	10.82	13.27	71.89	11.04	13.36	71.83	11.12	13.33	71.82	11.58	13.15

(A): M.W. 1 kDa (B): M.W. 5 kDa (C): M.W. 30 kDa (D): M.W. 120 kDa

은 키토산으로 대체하는 방법이 효과적인 것으로 사료된다.

소시지의 색도

아질산염의 가장 중요한 작용 중의 하나인 염지육색의 발현 정도는 적색도를 중심으로 관찰하였다. 분자량 약 30 kDa의 키토산을 0.00%, 0.20%, 0.35%, 0.50%의 농도로 각각 첨가하고 아질산염은 농도별로 1.5 ppm에서 75 ppm까지 첨가하여 제조한 소시지의 적색도를 살펴보면, 분자량 약 30 kDa의 키토산을 농도별로 첨가하였을 경우 아질산염을 15 ppm까지 줄여도 거의 안정한 적색도를 나타내었다. 그러나 아질산염을 7.5 ppm 이하로 첨가한 경우에는 키토산의 첨가량과는 상관없이 적색도가 급격히 떨어졌으며, 오히려 황색도가 증가하는 경향을 나타내어 제품의 품질이 크게 저하되었다. 따라서 분자량 약 30 kDa의 키토산을 농도별로 첨가할 경우 아질산염을 15 ppm까지 줄여도 적색도는 안정하게 유지되었다(Table 3). 아질산염의 첨가량을 15 ppm으로 고정하고 키토산을 분자량별로 0.20% 첨가하여 제조한 소시지를 10°C에서 35일간 저장하면서 색도의 변화를 관찰하였다. 그 결과

대체적으로 아질산염을 첨가한 소시지의 적색도에 비해 아질산염과 키토산을 함께 첨가한 소시지의 적색도가 약간 높게 나타났다. 또한 키토산을 전혀 첨가하지 않은 소시지는 키토산을 첨가하여 제조한 소시지에 비해 저장 14일째에는 적색도가 급격히 감소하는 반면 키토산을 첨가한 소시지의 적색도는 저장 전 기간 동안 안정하게 유지되었다(Table 4). 아질산염을 150 ppm 첨가하였을 때는 아질산염을 15 ppm 첨가한 것(Table 4 참조) 보다 전체적으로 높은 적색도를 나타내었고, 키토산을 첨가한 소시지의 경우 아질산염만 첨가한 소시지의 경우보다 적색도가 높았으며 저장기간 동안 안정한 것으로 나타났다(Table 5). 이로써 키토산의 첨가로 인해 소시지의 색에 있어서 적색도를 향상시키는 효과를 낼 뿐만 아니라, 아질산염의 첨가량을 15 ppm까지 줄여도 염지육색의 발현이 안정되었다. 그 이유로 생각되어지는 것은 아질산염은 미생물 또는 고기가 가진 환원력에 의하여 분해하여 일산화질소를 생성하고, 그것이 고기 중의 myoglobin과 반응하여 염지육색인 nitrosomyoglobin을 만드는데, 이 염지육색은 가열에 의해 담홍색의 nitrosyl hemochrome이 된다⁽³⁶⁾. 이

Table 6. Detection of residual nitrite in sausage with 15 ppm nitrite according to added various concentrations of 30 kDa and 120 kDa chitosans

Treatment	Concentration of residual nitrite (ppm)					
	0day	1days	7days	14days	21days	35days
Nitrite 15 ppm + Chitosan 0%	2.94	2.55	0.97	0.56	-	-
Nitrite 15 ppm + Chitosan(A)0.20%	2.95	2.01	0.85	0.39	-	-
Nitrite 15 ppm + Chitosan(A)0.35%	2.97	1.84	0.78	-	-	-
Nitrite 15 ppm + Chitosan(A)0.50%	3.01	1.65	0.53	-	-	-
Nitrite 15 ppm + Chitosan(B)0.20%	3.09	1.53	0.41	-	-	-
Nitrite 15 ppm + Chitosan(B)0.35%	2.93	1.37	-	-	-	-
Nitrite 15 ppm + Chitosan(B)0.50%	2.98	1.14	-	-	-	-

(A): M.W. 30 kDa (B): M.W. 120 kDa
 -: Not detected nitrite

Table 7. Detection of residual nitrite in sausage with 150 ppm nitrite according to added various chitosans

Treatment	Concentration of residual nitrite (ppm)					
	0day	1days	7days	14days	21days	35days
Nitrite 150 ppm + Chitosan 0%	54.05	51.07	36.59	24.67	10.68	8.07
Nitrite 150 ppm + Chitosan(A)0.20%	55.21	50.22	23.06	15.68	7.41	6.43
Nitrite 150 ppm + Chitosan(B)0.20%	53.18	48.65	21.72	14.38	5.75	4.86
Nitrite 150 ppm + Chitosan(C)0.20%	53.27	47.6	20.15	13.07	5.56	3.98
Nitrite 150 ppm + Chitosan(D)0.20%	54.72	44.8	20.06	12.89	3.41	2.32

(A): M.W. 1 kDa (B): M.W. 5 kDa (C): M.W. 30 kDa (D): M.W. 120 kDa

과정 중 가열에 의해 globin 단백질이 변성되는데, 이때 키토산이 작용하여 nitrosomyoglobin을 안정화시켜 가열하더라도 안정화시켜 가열 후에 지속적으로 안정화된 nitrosyl hemochrome을 생성하기 때문에 소시지의 적색도가 증가하는 것으로 사료된다.

아질산근 잔류량

아질산염을 15 ppm 첨가하고 분자량 약 30 kDa과 120 kDa의 키토산을 농도별로 첨가하여 제조한 소시지의 아질산근 잔류량을 10°C에서 35일간 저장하면서 측정하였다. 전반적으로 아질산근은 저장 1일째부터 감소하기 시작하였으며, 저장 14일째까지 급격히 감소하였다. 아질산염 15 ppm에 키토산을 첨가하지 않은 소시지의 경우 저장 1일째 아질산근의 감소량이 0.39 ppm이었으나, 아질산염 15 ppm에 분자량 약 120 kDa의 키토산을 0.5% 첨가한 소시지의 경우 저장 1일째 아질산근이 1.84 ppm 정도로 약 4배에 가까운 감소율을 보였다(Table 6). 아질산염 150 ppm에 키토산을 첨가하지 않은 소시지는 저장 1일째 아질산염이 2.98 ppm 정도 감소한 반면, 아질산염 150 ppm에 분자량 약 120 kDa의 키토산을 0.2% 첨가한 소시지는 저장 1일째 아질산염이 9.92 ppm 정도 감소하여 약 3배에 가까운 아질산근의 감소를 나타냈다(Table 7). 아질산근은 키토산을 첨가한 소시지에서 현저하게 감소하여, 아질산염을 15 ppm 첨가하고 키토산을 첨가한 소시지의 경우 저장 14일 이후에 아질산근이 전혀 검출되지 않았다. 그러므로 소시지 내 아질산근의 잔류량은 키토산을 첨가함으로써 감소량과 소실속도가 증가하였으며, 키토산의 분자량이 크고 첨가농도가 높을수록 그 감소정도는 더욱 빠른 것으로 나타났다.

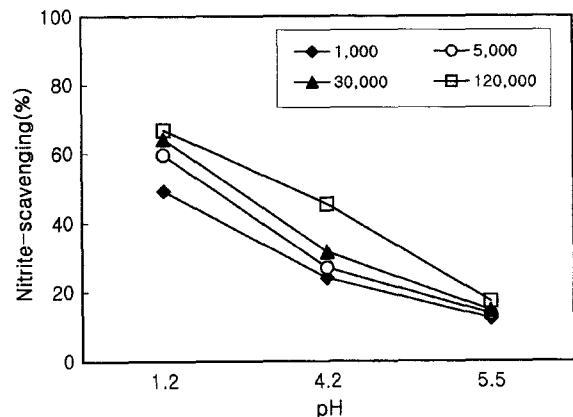


Fig. 6. Effect of nitrite-scavenging by various molecular weight of chitosans under different pH conditions.

아질산염 소거작용

키토산의 분자량에 따른 아질산염 소거능을 pH별로 측정 한 결과를 살펴보면, 아질산염 소거능은 pH의 의존성이 강하여 pH 1.2에서 가장 높은 아질산염 소거율을 나타내었고, 이때 분자량 30 kDa의 경우 64.2%, 분자량 120 kDa의 경우 66.2%의 아질산염이 소거되었다. 또한 pH 5.5에서의 아질산염 소거능은 pH 1.2에 비해 낮았지만 분자량 약 30 kDa의 경우 14.51%, 분자량 약 120 kDa의 경우 17.2%의 소거능이 있었다(Fig. 6). 이러한 결과는 Kim 등⁽²⁵⁾이 여러 가지 야채 추출물의 아질산염 분해작용이 pH 1.2에서 가장 효과가 좋았다는 연구결과와 일치하며 Kato 등⁽¹³⁾이 여러 가지 pH조건에서 nondialyzable melanoidins을 첨가하여 nitrosamine형성억제효과를 측정 한 결과 pH 1.2에서 99%로 가장 높은 억

제효과를 보였다는 보고와 일치한다. 또한 Kang 등⁽²⁴⁾은 각종 phenolic 화합물의 아질산염 소거능을 pH 1.2, 3.0, 4.2, 6.0에서 측정해본 결과 pH 1.2에서 gentisic acid 및 gallic acid 6 mM의 아질산염 소거능이 각각 82.0%, 42.0%였으며, pH 6.0에서는 거의 대부분의 phenolic acid의 아질산염 소거 작용은 약한 것으로 나타났다는 결과와 일치하였다. 키토산의 아질산염 소거기작에 대해서는 아직 밝혀지지 않았으나, 현재까지 발견된 아질산염 소거능을 지니는 천연 물질과는 다르게 키토산은 아질산염이 지니는 항균성과 염지육색 발현등을 부분적으로 대체하면서 아질산염 소거능도 지니기 때문에, 돈육 소시지에 있어 아질산염 대체효과가 아주 큰 물질로 중요한 의미를 나타내고 있다.

요 약

키토산을 돈육소시지에 첨가함으로써 축육가공제품에 필연적으로 첨가되고 있는 아질산염의 대체효과에 대해 조사했다. 키토산의 분자량에 따른 보존효과는 분자량 약 30 kDa 이상에서 강하게 나타났다. 분자량 약 30 kDa의 키토산을 농도 별로 첨가하여 제조한 소시지의 보존효과는 키토산을 0.20% 첨가하였을 경우 아질산염을 30 ppm, chitosan을 0.35% 첨가한 경우 아질산염을 15 ppm, chitosan을 0.50% 첨가하였을 경우에는 아질산염을 7.5 ppm으로 감량하여도 저장성이 유지됨을 알 수 있었다. 분자량 약 30 kDa의 키토산을 0.20%, 0.35%, 0.50%의 농도로 첨가하였을 경우, 아질산염의 첨가량이 15 ppm에서 저장성이 유지되는 키토산의 농도는 0.35% 이상이였다. 소시지의 부패에 관여하는 미생물에 대한 키토산의 생육억제효과는 분자량 약 30 kDa은 0.35%이상, 분자량 약 120 kDa의 키토산은 0.20%이상의 농도일 때 모든 균이 70%이상의 생육억제효과를 나타냈다. 또한 소시지의 색은 키토산을 첨가한 소시지의 경우 아질산염만 첨가한 소시지의 경우보다 적색도가 높았으며, 저장기간 동안 안정하여 키토산의 첨가로 인한 소시지의 색에 있어서도 적색도를 향상시키는 효과뿐만 아니라 아질산염의 첨가량을 15 ppm까지 절감 할 수 있었다. 또한 키토산을 첨가한 것이 첨가하지 않은 것에 비해 소시지내 아질산염의 잔류량이 현저하게 감소했으며, 키토산의 분자량이 크고 키토산의 첨가농도가 높을 수록 그 감소정도는 크게 나타났다. 키토산의 아질산염 소거능은 pH 의존성이 강하여 pH 1.2에서 가장 높게 나타났다. 또한 키토산의 분자량이 클수록 더 높게 나타났다. 따라서 본 실험의 결과로 키토산을 첨가함으로써 소시지의 저장성이나 색에 있어 영향을 주지 않고 아질산염의 첨가량을 대폭 절감할 수 있었으며, 키토산의 아질산염 소거능 또한 확인할 수 있었다.

감사의 글

본 연구에 사용된 키토산을 제공해 주신 (주)Biotech 및 명신화학(주)에 감사드립니다.

문 헌

1. The Agriculture, Fisheries and Livestock News, Korea Livestock

- Yearbook (1999)
- The Agriculture, Fisheries and Livestock News, Korea Food Yearbook (1999)
 - Gidding, G.G. The basic of color in muscle foods. *J. Food Sci.* 42: 288 (1977)
 - Lee, S.H. and Cassens. R.G. Nitrite binding sites on myoglobin. *J. Food Sci.* 41: 969 (1976)
 - Taradgis, B.G. Interpretation of the spectra of meat pigments. 2 Cured meat. The mechanism of color fading. *J. Sci. Food Agric.* 13: 485 (1962)
 - Duncan, C.L. and Foster, E.M. Effect of sodium nitrite, sodium chloride and sodium nitrite on germination and outgrowth of anaerobic spores. *Appl. Microbiol.* 16: 406-408 (1968)
 - Johnston, M.A., Privnick, H. and Samson, J.M. Inhibition of Clostridium botulinum by sodium nitrite in a bacteriological medium and in meat. *J. Can. Inst. Food Technol.* 2: 52-55 (1969)
 - Brooks J., Haines, R.B., Moran, T. and Pace, J. Inhibition of Clostridium botulinum by sodium nitrite in a bacteriological medium and in meat. *J. Can. Inst. Food Technol.* 2: 52 (1969)
 - Watts. B.M. Oxidative rancidity and discoloration in meat. *Adv. Food Res.* 5: 1 (1954)
 - Moon, B.S., Kim, B.S. and Woo, S.K. Studies on Nitrosamines in food(I) : Contents of nitrite and nitrite in various foods. Report of NIH Korea. 11: 277-283 (1973)
 - Moon, B.S., Kim, B.S. and Woo, S.K. Studies on Nitrosamine(II) : Contents of nitrate, nitrite and dimethylamine in various foods. Report of NIH Korea. 11: 181-189 (1974)
 - Woo, S.J. and Lee, H.J. Residual nitrite and nitrate in home-processed dry sausage and ham. *Korean J. Nut. Soc.* 15: 186-193 (1982)
 - Massey, R.C., Crews, C., Davies, R. and McWeeney, D.J. A study of the competitive nitrosations of pyrrolidine, ascorbic acid, cysteine and p-cresol in a protein based model system. *J. Sci. Food Agric.* 29: 815-816 (1978)
 - Witter, J.P., Gatley, S.J. and Balish, E. Distribution of nitrogen-13 from labeled nitrite in humans and rats. *Science* 204: 411-413 (1979)
 - Tannenbaum, S.R., Fett, D., Young, V.R. and Brauce, W.R. Nitrite and nitrate are formed by endogenous synthesis in the human intestine. *Science* 200: 1487-1489 (1978)
 - Tannenbaum, S.R., Sinskey, A.J., Weisman, M. and Bishop, W. Nitrite in human saliva. Its possible relationship to nitrosamine formation. *J. Natl. Cancer Inst.* 53: 79-80 (1974)
 - Official Book for Food. Korean Food and Drug Administration 200 (1999)
 - Bartsh, H., Ohshima, H. and Pignatell, B. Inhibition of endogenous nitrosation : Mechanism and implications in human cancer prevention. *Mutat. Res.* 202: 307-324 (1988)
 - Macrae, R., Robinson, R.K. and Sadler, M.J. Encyclopedia of Food Science, Food Technology and Nutrition. Academic Press, New York, USA. 5: 3240-3249 (1993)
 - Gray, J. and Dugan, J.R. Inhibition of N-nitrosamine formation in model food systems. *J. Food Sci.* 40: 981-985 (1975)
 - Kyrtopoulos, S.A. N-nitroso compound formation in human gastric juice. *Cancer Surveys* 8: 423-442 (1989)
 - Forman, D. Are nitrates a significant risk factor in human cancer. *Cancer Surveys* 8: 443-458 (1989)
 - Kato, H., Lee, I.E., Chuyen, N.V., Kim, S.B. and Hayase, F. Inhibition of nitrosamine formation by nondialyzable melanoidins. *Agric. Biol. Chem.* 51: 1333-1338 (1987)
 - Kang, Y.H., Park, Y.K. and Lee, G.D. The nitrite scavenging and electron donating ability of phenolic compounds. *Korean J. Food Sci. Technol.* 28: 232-239 (1996)
 - Kim, D.S., Ahn, B.W., Yeum, D.M., Lee, D.W., Kim, S.T. and Park, Y.H. Degradation of carcinogenic nitrosamine formation factor by natural food components. *Bull. Korean Fish Soc.* 20: 463-468 (1987)
 - Macrae, R.G., Robinson, R.K. and Sadler, M.J. Encyclopedia of

- Food Science, Food Technology and Nutrition. Academic Press, New York, USA. 1: 607-620 (1993)
27. Kurech, T., Kikugawa, K. and Fukuda, S. Nitrite reaction substances in Japanese radish juice and their inhibition of nitrosamine formation. *J. Agric. Food Chem.* 28: 1265-1269 (1980)
 28. Ning, Z.X., Zhang, S.H., Gao, J.H., Mo, L., Chen, H., Hang, Q.B. and Cai, Y.C. Elimination of active free radicals and nitrite by some fresh fruits and vegetables. *Food Ferment. Ind.* 2: 31-35 (1995)
 29. Daramadji, P. and Izumimoto, M. Effect of chitosan and nitrite on the properties of fermented meat. *Anim. Sci. Technol. (Jpn.)* 65: 639-646 (1994)
 30. Xue, C. Guangli, Y. Takashi, H. Junji, T. and Hong, L. Antioxidative activities of several marine polysaccharides evaluated in a phosphatidylcholine-liposomal suspension and organic solvents. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 62: 206-209 (1998)
 31. Knorr, D. The use of chitinous polymers in food. *Food Technol.* 38: 85-97 (1984)
 32. Brine, C.J., Sanford, P.A. and Zikakis, J.P. *Advances in chitin and chitosan.* Elsevier Applied Science, London, UK. 132-134 (1992)
 33. Deuchi, K., Knauchi, O., Shizukuishi, M. and Kobayashi, E. Decreasing effect of chitosan on the apparent fat digestibility by rat fed on a high-fat diet. *Biosci. Biotech. Biochem.* 57: 1211 (1994)
 34. Hernandez-Jover, T., Izquierdo-Pulido, M., Veciana-Nogues, M.T., and Vidal-Carou, M.C. Biogenic amine sources in cooked cured shoulder pork. *J. Agric. Food Chem.* 44: 3097-3101 (1996)
 35. Youn, S.K., Kim, Y.J. and Ahn, D.H. Antioxidative effect of chitosan in meat sausage. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 30: 477-481 (2001)
 36. Kim, M.S. and Kim, I.C. Some properties and curing effect of drip from frozen-thawed pork meat. *J. Korean Soc. Food Nutr.* 12: 370-374 (1999)
-
- (2001년 7월 26일 접수)