

(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구
국제사무국

(43) 국제공개일
2014년 1월 16일 (16.01.2014)



(10) 국제공개번호
WO 2014/010950 A1

- (51) 국제특허분류:
A23L 1/015 (2006.01) *A23L 1/237* (2006.01)
- (21) 국제출원번호: PCT/KR2013/006166
- (22) 국제출원일: 2013년 7월 10일 (10.07.2013)
- (25) 출원언어: 한국어
- (26) 공개언어: 한국어
- (30) 우선권정보:
10-2012-0074948 2012년 7월 10일 (10.07.2012) KR
10-2013-0023714 2013년 3월 6일 (06.03.2013) KR
- (71) 출원인: 주식회사 소룩스 (SOLUX LIGHTING FIX-
TURE) [KR/KR]; 420-806 경기도 부천시 원미구 도약
로 261, 대우테크노파크 A 동 1302호 (도당동),
Gyeonggi-do (KR).
- (72) 발명자: 겸
- (71) 출원인: 윤효석 (YOON, Hyo-Suk) [KR/KR]; 422-811
경기도 부천시 소사구 소사본 3동 159-43 2층 1호,
Gyeonggi-do (KR).

(74) 대리인: 한양특허법인 (HANYANG PATENT FIRM);
135-854 서울시 강남구 논현로 38길 12 (도곡동, 한양
빌딩), Seoul (KR).

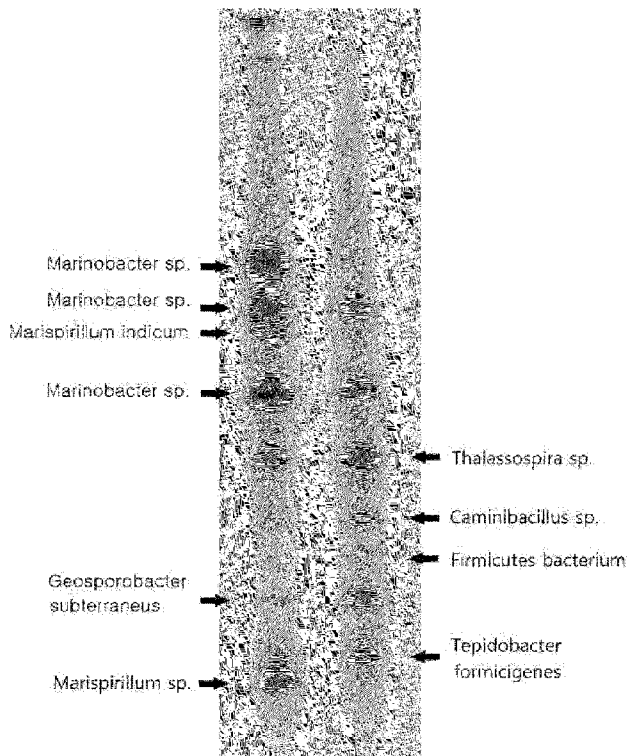
(81) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의
국내 권리의 보호를 위하여): AE, AG, AL, AM, AO,
AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ,
CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO,
DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN,
HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KZ, LA,
LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK,
MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA,
PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SC, SD, SE,
SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT,
TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의
역내 권리의 보호를 위하여): ARIPO (BW, GH, GM,
KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, UG,
ZM, ZW), 유라시아 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ,
TM), 유럽 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE,
ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC,
MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR),

[다음 쪽 계속]

(54) Title: METHOD FOR REMOVING NITRATE FROM SOLUTION COMPRISING SALT COMPONENT

(54) 발명의 명칭: 소금 성분을 포함하는 용액으로부터 질산염을 제거하는 방법



(57) Abstract: The present invention provides a method for removing nitrate from a solution comprising a salt component, wherein the method transplants sulfur bacteria to a sulfur-containing plant, and enables the sulfur-containing plant to which the sulfur bacteria is transplanted to contact a solution that comprises a salt component so as to remove nitrate from the solution comprising the salt component. The present invention also provides a solution comprising the salt component prepared by the method, and provides a salt comprising nitrate of 1.7mg or lower per 100g of salt.

(57) 요약서: 본 발명은 유향을 함유하는 식물에 황박테리아를 이식시키고, 상기 황박테리아가 이식된 유향을 함유하는 식물을 소금 성분을 포함하는 용액과 접촉시켜서, 소금 성분을 포함하는 용액으로부터 질산염을 제거하는 방법, 상기 방법에 의해 제조된 소금 성분을 포함하는 용액, 및 질산염이 소금 100g 당 1.7mg 이하로 포함된 소금을 제공한다.

WO 2014/010950 A1



OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

공개:
— 국제조사보고서와 함께 (조약 제 21 조(3))

규칙 4.17 에 의한 선언서:

- 특허출원 및 특허를 받을 수 있는 출원인의 자격에 관한 선언 (규칙 4.17(ii))

명세서

발명의 명칭: 소금 성분을 포함하는 용액으로부터 질산염을 제거하는 방법

기술분야

- [1] 본 발명은 소금 성분을 포함하는 용액으로부터 질산염을 제거하는 방법, 질산염의 함량이 최소화된 소금 성분을 포함하는 용액, 및 질산염의 함량이 최소화된 소금에 관한 것이다.

배경기술

- [2] 소금에 포함되어 있는 질산염은 위암과 각종 질병의 위험요인인 것으로 잘 알려져 있다. 즉, 질산염을 섭취하는 경우, 섭취된 질산염이 구강의 세균에 의해 아질산염(nitrite)이 되며, 이러한 아질산염은 생선, 돼지고기, 곡류, 맥주 등에 들어있는 2차아민(secondary amine)이나 알킬아민(alchylamine) 등의 물질과 반응하여 강력한 발암물질인 N-nitroso 화합물을 만든다. 따라서, 과량으로 섭취되는 경우 질산염은 위험한 암유발 요인으로 작용할 수 있다. 그러므로, 건강 유지를 위해서는 질산염을 적게 섭취하는 것이 필요하며, 이러한 목적을 위해서는 질산염이 적게 포함된 소금을 사용하는 것이 요구된다.
- [3] 그러나, 소금의 제조과정에서 필연적으로 질산염이 발생되기 때문에 질산염이 적게 포함된 소금을 제조하는 것은 쉬운 일이 아니다. 즉, 소금을 제조하기 위하여 바닷물을 증발시키는 경우, 그 용액에 존재하던 호기성박테리아가 사멸하거나 배설물이 썩게 되고, 그 과정에서 암모니아가 발생하며, 그 암모니아는 아질산을 형성하며, 그 아질산은 미생물에 의해 질산염 된다. 따라서, 소금 성분이 녹아 있는 용액 상태에서 질산염을 완전히 제거하더라도 그로부터 제조되는 소금에는 필연적으로 질산염이 포함되는 것이다. 이러한 이유로 사막의 소금, 암염 등 어떠한 소금이라도 마찬가지이다.
- [4] 따라서, 질산염을 적게 섭취하기 위해서는 식용 소금물을 사용하는 것이 바람직한 방법일 수 있다. 왜냐하면, 소금물 상태에서는 질산염을 완전히 제거하는 것이 가능하기 때문이다.
- [5] 한편, 바다 물고기, 산호 등의 바다 생물을 키우는 경우에도, 질산염은 바다 생물의 생존에 해로운 영향을 끼친다. 따라서, 해수로부터 질산염을 제거하는 방법은 관상용 바다 생물 및 양식용 바다 생물의 생존 및 성장에 매우 중요한 역할을 한다.
- [6] 현재까지 알려져 있는 소금물 또는 해수로부터 질산염을 제거하는 방법은 광물성 황을 사용하여 황박테리아를 증식시키고, 그 황박테리아에 의해 질산염을 질소나 황화수소로 분해하여 배출하는 방식으로 이루어진다(예: 일본 특개 제2002-273475호).
- [7] 그러나, 이러한 방법은 광물성황이 위험 요인으로 작용한다. 즉,

광물성황은인체 또는 다른 생명체에 매우 유해하다. 또한, 상기의 방법은 질산염의 제거에 약 2개월 가량이 소요되므로, 질산염의 제거 속도가 너무 느린 단점을 갖는다. 따라서, 종래의 기술을 그대로 식용 소금물의 제조에 사용하거나, 바다 생물의 생육하기 위한 해수로 사용하는 것은 한계가 있다.

발명의 상세한 설명

기술적 과제

- [8] 본 발명은 상기와 같은 종래기술의 문제점을 해결하기 위한 것으로서, 인체에 전혀 무해한 방법에 의해, 소금 성분을 포함하는 용액으로부터 질산염을 매우 빠른 속도로 제거하는 방법을 제공하는 것을 목적으로 한다.
- [9] 또한, 본 발명은 상기 방법에 의해 제조된 질산염이 제거된 소금 성분을 포함하는 용액을 제공하는 것을 목적으로 한다.
- [10] 또한, 본 발명은 질산염의 함량이 최소화된(1.7mg/100g 이하) 소금을 제공하는 것을 목적으로 한다.
- [11] 또한, 본 발명은 나트륨 함량이 최소화된 소금을 제공하는 것을 목적으로 한다.
- [12] 또한, 본 발명은 식물성 식이유황이 함유되어 짭맛이 획기적으로 강화된 소금을 제공하는 것을 목적으로 한다.
- [13] 또한, 본 발명은 식물 고유의 풍미를 포함하는 소금 성분을 포함하는 용액 및 소금을 제공하는 것을 목적으로 한다.

과제 해결 수단

- [14] 본 발명은,
- [15] 유황을 함유하는 식물에 황박테리아를 이식시키고, 상기 황박테리아가 이식된 유황을 함유하는 식물을 소금 성분을 포함하는 용액과 접촉시켜서, 소금 성분을 포함하는 용액으로부터 질산염을 제거하는 방법을 제공한다.
- [16] 또한, 본 발명은,
- [17] 상기의 방법으로 질산염이 제거된 것을 특징으로 하는 소금 성분을 포함하는 용액을 제공한다.
- [18] 또한, 본 발명은,
- [19] 상기 질산염이 제거된 소금 성분을 포함하는 용액을 가열하여 물을 증발시킴으로써 제조된, 질산염이 소금 100g 당 1.7mg 이하로 포함된 소금을 제공한다.
- [20] 또한, 본 발명은,
- [21] 식물성 식이유황이 포함된 소금을 제공한다.

발명의 효과

- [22] 본 발명의 질산염 제거 방법은 인체에 전혀 무해한 식이유황을 포함하는 식물을 황박테리아의 영양원으로 사용하므로 매우 안전하며, 소금 성분을 포함하는 용액으로부터 질산염을 매우 빠른 속도(시판 제품과 비교하여 약 2-5배의 속도)로 제거한다.

- [23] 따라서, 본 발명의 질산염 제거 방법에 의해 제조된 소금 성분을 포함하는 용액은 식용 또는 바다 생물의 생육에 매우 유용하게 사용될 수 있다.
- [24] 또한, 본 발명의 소금은 질산염 함량이 최소화되어 식용 또는 바다 생물의 생육에 매우 유용하게 사용될 수 있다.
- [25] 또한, 본 발명은 제조과정에서 황박테리아에 의해 나트륨이 소비되므로 나트륨 함량이 최소화된 소금을 제공할 수 있다.
- [26] 또한, 본 발명은 식물성 식이유황이 함유되어 짠맛이 획기적으로 강화된 소금을 제공함으로써 나트륨의 섭취를 획기적으로 줄일 수 있는 소금을 제공할 수 있다.
- [27] 또한, 본 발명은 식물 고유의 풍미를 포함하는 소금 성분을 포함하는 용액 및 소금을 제공할 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [28] 도 1은 신안지역 염전(서해바다)에서 퍼온 염도 3~9%의 소금물에 포함되어 있는 박테리아를 온도구배전기영동(temperature gradient gel electrophoresis (TGGE)) 방법으로 동정한 결과를 나타내는 사진이다.

발명의 실시를 위한 최선의 형태

- [29] 본 발명은,
- [30] 유황을 함유하는 식물에 황박테리아를 이식시키고, 상기 황박테리아가 이식된 유황을 함유하는 식물을 소금 성분을 포함하는 용액과 접촉시켜서, 소금 성분을 포함하는 용액으로부터 질산염을 제거하는 방법에 관한 것이다.
- [31] 본 발명에서 상기 황박테리아의 이식은 황박테리아가 이식된 후 증식된 상태도 포함하는 개념으로 사용된다.
- [32]
- [33] 황(원소기호 S, 원자번호 16, 원자량 32.066, 원소주기율표의 16(6B)족에 속하는 원소)은 모든 식물에 대한 필수영양원소이다. 황은 식물이나 미생물에 황산염의 형태로 이입되고, 식물의 체내에서는 황화수소로 환원되어 황함유 아미노산의 합성에 이용되기도 한다. 황은 또한 글루타티온과 같은 생물학적 항산화제나 여러 효소의 중요한 구성 원소이기도 하다. 그러므로 식물에는 황이 여러 가지 효소의 형태로 존재하기도 한다.
- [34] 본 발명은 식물에 이입된 식이유황을 사용하기 때문에 사용하는 식물이 함유하고 있는 황의 양에 따라 질산염 제거 효과가 다르게 나타난다. 식물들은 독성이 있는 토양의 광물성황을 식이유황으로 전환하여 흡수하기 때문에 이렇게 흡수된 식이유황은 인체에도 무해하다. 따라서, 식이유황은 영양제로 판매되고 있기도 하다(예, 현재 MSM 이라는 소나무 식이유황이 관절염 보조/영양제로 판매되고 있음).
- [35] 식이유황의 함량은 식물의 종에 따라 다른데, 화본과 식물, 콩과 식물, 십자화과(꽃잎이 4개) 식물 순으로 식이유황의 함량이 증가한다(화본과 식물 <

콩과 식물 < 십자화과 식물). 황은 단백질을 이루는 식물의 시스테인과 메티오닌에 많이 함유되어 있고 페레독신, 비오틴, 글루타티온, coenzyme A의 구성성분이기도 하다.

- [36] 상기 유향을 함유하며, 질산염 제거에 효과적으로 사용될 수 있는 식물의 구체적인 예로는 대나무과 식물, 감자, 마늘, 마늘쥌, 생강, 은행, 은행잎, 조, 기장, 서리태, 백태, 팥, 완두콩, 강낭콩, 녹두, 수수, 자몽열매 껍데기, 레몬열매 껍데기, 귤 껍데기, 한라봉 껍데기, 라임 껍데기, 오렌지 껍데기, 깽깽 껍데기, 인삼, 당근, 무, 무순, 도라지, 숙주나물, 콩나물, 땅콩, 쑥, 호박, 로즈마리, 장미허브, 소나무가지, 솔잎, 오가피, 근대, 삼채, 대파, 달래, 브로컬리, 켈들플렌트, 파인애플세이지, 레몬밤, 스피아민트, 애플민트, 파인애플민트, 녹차잎, 양배추, 적양배추 등을 들 수 있다. 상기 식물들은 1종 단독으로 또는 2종 이상을 조합하여 사용할 수 있다.
- [37] 상기 식물들의 뿌리, 줄기 및 잎도 모두 효과를 나타낸다.
- [38] 상기 식물들은 실험에 의해 그 효과가 확인된 종이지만, 상기 식물들 외에도 본 발명에는 다양한 종류의 유향을 함유하는 식물들이 사용될 수 있다. 특히, 질산염 제거에 효과가 없거나 부족한 경우에도, 식물 고유의 풍미를 갖는 경우에는 질산염 제거에 효과가 있는 다른 식물들과 조합하여 사용할 수 있다.
- [39] 즉, 질산염의 제거를 위한 기능은 질산염 제거에 효과가 있는 유향을 함유하는 식물에 의해서 이루어지도록 하고, 제조되는 소금물 또는 소금에 풍미를 부여하는 것은 질산염 제거에 효과가 없거나 부족한 식물에 의해 이루어지도록 할 수 있다. 따라서, 본 발명에는 식물 고유의 풍미를 제공하는 목적으로 유향을 함유하지 않는 식물도 사용될 수가 있다.
- [40] 상기와 같은 방법으로 질산염이 제거된 소금물 및 소금을 제조하는 경우 식물 고유의 풍미가 소금물 및 소금에 배기 때문에 식물 고유의 풍미(맛과 향)를 갖는 소금물 및 소금을 제조할 수 있다.
- [41] 예를 들어, 질산염 제거능이 뛰어난 대나무의 죽순과 질산염의 제거능이 미미한 솔잎을 소금 성분을 포함하는 용액에 함께 넣고 질산염을 제거하면 질산염이 거의 없는 솔향이 나는 소금물 및 소금을 만들 수 있다.
- [42] 또한, 죽순과 오렌지 껍질 또는 레몬 껍질을 이용하여 레몬향이나 오렌지 향이나 질산염이 거의 없는 소금물 및 소금도 만들 수도 있다. 이것은 단순히 레몬을 녹여 만든 레몬향의 질산염 함유 소금과는 다르다.
- [43] 또한, 콩(백태)과 죽순을 결합하여 칼륨을 강화하여 나트륨을 체내에서 다량으로 배출하게 하는 칼륨이 강화된 나트륨 배출 무질산염 소금도 만들 수 있다.
- [44]
- [45] 유향을 함유하는 식물 중 질산염을 가장 효과적으로 제거하는 식물 중의 하나는 대나무의 죽순이다. 상기에서 대나무는 대나무아과(Bambusoideae)에 속하는 여러해살이 식물을 총칭하는 것이다. 특히, 상기 대나무 중에서도

조릿대가 바람직하게 사용될 수 있다.

- [46] 상기 대나무는 식이유황을 포함하고 있어 잎, 줄기, 죽순 및 뿌리를 모두 사용할 수 있다. 특히, 대나무의 뿌리는 많은 기공이 존재하고 다량의 황성분이 함유되어 있어서 황박테리아의 이식 및 증식에 바람직하게 사용될 수 있다.
- [47] 상기 조릿대는 생산된 지역과 재배 및 수확된 계절과 건조 정도에 따라 함유한 황성분의 양에 차이가 있다. 즉, 여름에 생산된 논산 조릿대는 황성분의 함량이 낮으며, 화산지대에서 생산된 제주 조릿대는 황성분이 비교적 높다. 따라서, 황성분이 많이 함유된 대나무를 선택하여 사용하는 것이 바람직하다.
- [48]
- [49] 유황을 함유하는 식물의 질산염 제거능력을 나타내면 다음과 같다:
- [50] 죽순 > 콩과 식물 > 기장, 조 > 마늘, 마늘쭉 > 감자 생강 > 굴등, 위의 껍데기류... > 은행, 은행잎
- [51] 그러나 이와 같은 결과는 염도와 재배환경, 추수시기, 실험온도등 여러 조건에 따라 조금씩 다르게 나타날 수도 있다. 예컨대, 재배 과정에서 질소비료를 많이 사용한 식물의 경우 식물자체에 질산염이 많이 함유될 수 있어서 질산염의 제거를 위한 용도에 바람직한 효과를 내기 어려울 수 있다. 그러므로, 재배과정에서 질소비료를 많이 사용하지 않은 식물이 본 발명에 바람직하게 사용될 수 있다.
- [52]
- [53] 본 발명에서 황박테리아인 황세균[sulfur bacteria]은 황환원 박테리아 및 황산화 박테리아로 분류된다.
- [54] 상기 황세균은 황 또는 무기화합물을 산화함으로써 발육에 필요한 에너지를 얻는 세균으로 황천, 오수, 토양, 염전의 염수 중에 생육하며, 무색황세균(Leucothiobacteria)과 유색황세균(chromothiobacteria)이 있다.
- [55] 황세균은 황, 황화수소, 다른 황화물, 아황산염류 및 싸이오황산염 등을 산화하거나 탄산무수물을 동화하여 증식하며, 그 영양에 유기탄소화합물을 필요로 하지 않는 세균이다.
- [56] 무색황세균에는 베기아토아속(Beggiatoa), 싸이오스릭스속(Thiothrix) 등이 있고, 황화합물이나 황을 산화하여 탄소동화작용을 하는 것으로 체내에 황을 품는 것, 알칼리성을 좋아하는 것과 산성을 좋아하는 것 등이 있다.
- [57] 유색황세균에는 싸이오바실루스속(Thiobacillus)이 있으며, 체내에 박테리오프루린이라는 홍색 또는 녹색 색소를 품고 태양광선을 이용하여 광합성을 행하여 황립을 생성한다.
- [58] 상기 황환원균으로는 무산소 조건에서 황산염이나 황을 전자수용체로 사용하는 절대 혐기성균으로서, 황산염환원박테리아(sulfate reducing bacteria) 및 황환원 박테리아(sulfur reducing bacteria)가 사용될 수 있다.
- [59] 상기 황산염환원박테리아로는 Desulfovibrio, Desulfotomaculum등을 들 수 있으며, 황환원 박테리아로는 Desulfuromonas 등을 들 수 있다.

- [60]
- [61] 또한, 본 발명에는 하기와 같은 황산화 박테리아 등이 사용될 수 있다.
- [62] (1) 마리너 박터(*Marinobacter* sp. GenBank accession number JQ618280)
- [63] 마리너박터 속 세균은 그람음성에 속하는 종속영양형의 호염 또는 내염성 세균이다. 염도 3-6%의 소금농도에서 가장 높은 탈질효과를 발휘한다. 최적의 탈질효과를 나타내는 소금의 농도는 3%이다. pH는 중성이 적합하다. 숙신산을 에너지원으로 이용하여 질산염을 기체상의 분자형 질소(N₂)로 환원하여 제거하는 기능이 있다. 산소가 없는 혐기적인 조건에서 탈질효과를 나타내기 때문에 산소가 없는 바다 바닥의 퇴적물 또는 침전물에서 서식이 가능하다(관련논문: Miyo Nakano, Tadashi Inagaki, Suguru Okunishi, Reiji Tanaka and Hiroto Maeda, "Effect of salinity on denitrification under limited single carbon source by *Marinobacter* sp. isolated from marine sediment". *Journal of Basic Microbiology*, 2010, 50, pp. 285-289;
- [64] Bo-Ram Choi, Vinh Hoa Pham, Soo-Je Park, So-Jeong Kim, Dong-Hyun Roh, Sung-Keun Rhee, "Characterization of facultative sulfur-oxidizing *Marinobacter* sp. BR13 isolated from marine sediment of yellow sea, Korea", *Journal of Korean Society for Applied Biological Chemistry*, 2009, 52, pp. 309-314)
- [65] 상기 두 번째 논문 중 황해의 해양침전물에서 분리한 마리너박터 속에 속하는 세균종은 소금 0.5-9%, 온도 7-37°C의 범위에서 생장이 가능하며, 당, 유기산 등을 탄소원으로 이용한다. 농화배양하는 과정에서 유기물질이 없는 조건에서 티오황산을 에너지원으로 성장하였기 때문에 선택적 황산화 박테리아로 명명한다.
- [66] (2) 마리스피릴룸인디쿰(*Marispirillum indicum*, GenBank accession number NR044545)
- [67] 마리스피릴룸인디쿰은 0.5-12%의 소금농도, 10-41°C에서 성장하며 탈질기능을 가지고 있다(관련논문: Lai Q, Yuan J, Gu L and Shao Z., "*Marispirillum indicum* gen. nov., sp. nov., isolated from a deep-sea environment", *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2009, 59, pp. 1278-1281).
- [68] (3) 탈라소스피라(*Thalassospira* sp. GenBank accession number AB373113)
- [69] 방향족탄화수소화합물을 이용하는 *Thalassospira* 속에 속하는 세균은 2-14%의 소금농도에서 성장하지만 성장을 위한 최적의 소금농도는 해수와 같은 3%이다. 8-45°C의 범위에서 성장하지만 성장을 위한 최적온도는 43°C이다. 포도당을 기질로 이용할 수 있으며 질산염을 환원하는 기능이 있다(관련논문: Yumiko Kodama, Lies Indah Stiknowati, Atsuko Ueki, Katsuji Ueki and Kazuya Watanabe, "*Thalassospira tepidiphila* sp. nov., a polycyclic aromatic hydrocarbon-degrading bacterium isolated from seawater", *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2008, 58, pp. 711-715)
- [70] (4) 카미니 바실러스(*Caminibacillus* sp. GenBank accession number AB752312)

- [71] 45-65°C에서 성장하고 최적온도는 55-60°C이다. 심해의 열수분출구 주변에서 성장한다. 열수분출구에서는 황이 분출되므로 황을 산화하여 에너지원으로 이용할 수 있다. 2-6%의 소금농도에서 생장이 가능하다. 혐기성 조건에서 질산염을 환원하는 기능이 있다(관련논문: Alain K, Pignet P, Zbinden M, Quillevere M, Duchiron F, Donval JP, Lesongeur F, Raguenees G, Crassous P, Querellou J, and Cambon-Bonavita MA. "*Caminicella(Caminibacillus) sporogenes* gen. nov., sp. nov., a novel thermophilic spore-forming bacterium isolated from an East-Pacific Rise hydrothermal vent", *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2002, 52, pp. 1621-1628).
- [72] (5) 테피디박터포미키제니스(*Tepidibacterformicigenes*, GenBank accession number JQ670743)
- [73] 포자형성 화학종속영양세균이다. 소금농도 2-6%에서 생장이 가능하지만 최적농도는 3%이다. 성장을 위한 pH 범위는 5-8이고 유기물(당, 유기산)을 영양물질로 이용하여 성장한다(관련논문: Urios L, Cueff V, Pignet P, and Barbier G. "*Tepidibacterformicigenes* sp. nov., a novel spore-forming bacterium isolated from a Mid-Atlantic Ridge hydrothermal vent", *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2004, 54, pp. 439-443).
- [74]
- [75] 또한, 본 발명의 방법에서는 상기 황박테리아와 함께 하기와 같은 탈질화 박테리아들을 사용할 수 있다.
- [76] (6) 지오스포러박터셉터레니우스 (*Geosporobactersubterraneus*, GenBank accession number DQ643978)
- [77] 심해에서 서식하기 때문에 절대혐기성 조건에서 유기물질을 기질로 이용한다. 성장온도는 30-55°C 최적온도는 42°C, 소금의 농도는 4%가 성장을 위해 최적이며, pH는 5.6-8.4의 범위이고 최적은 7.3이다(관련논문: Klouche N, Fardeau ML, Lascourreges JF, Cayol JL, Hacene H, Thomas P, and Magot M., "Geosporobactersubterraneus gen. nov., sp. nov., a spore-forming bacterium isolated from a deep subsurface aquifer", *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2007, 57, pp. 1757-1761).
- [78] (7) 퍼미쿠테스 박테리아(*Firmicutesbacterium*, GenBank accession number JX240960)
- [79] 퍼미쿠테스(*Firmicutes*)는 호염성은 아니지만 염도 3% 이하의 저염도에서 탈질화를 담당할수 있다(관련논문: Young-Woon Lim, Soon-Ae Lee, Seung Bum Kim3, Hae-Young Yong2, Seon-HeeYeon, Yong-Keun Park, Dong-Woo Jeong, and Jin-Sook Park, "Diversity of Denitrifying bacteria isolated from Daejeon sewage treatment plant", *The Journal of Microbiology*, 2005, 43, pp. 383-390).
- [80] 상기 세균들 중, *Marinobacter* 속, *Marispirillum* 속, *Thalassospira* 속, *Caminobacillus* 속에 속하는 세균 종이 염분이 높은 환경에서 탈질을 담당하는

세균들이다. 상기의 세균들 중 황산화 박테리아인 1, 2, 3, 4 및 5번은 황을 주로 산화하여 생화학적 에너지를 생산하고, 탈질세균들은(5, 6 및 7번)은 다른 세균들에 의해서 생산된 에너지원을 이용하여 질산염을 환원하므로, 상기 황산화 박테리아와 탈질세균들을 함께 사용할 경우 공영양 구조에 의한 황산화와 질산염의 환원반응이 이루어 질 수 있다.

[81] 상기 세균들 중 5번의 경우는 황의 함량이 많은 곳에 서식하는 박테리아이며 동시에 유기물도 영양소로 사용한다.

[82] 상기 세균들은 완전히 유기물이 배제된 조건에서 황의 생화학적 산화과정만으로 생산되는 에너지원으로 질산염을 환원하는 것이 아니고 물속에 존재하는 다양한 유기물과 황을 에너지원으로 이용하고, 혐기성 조건에서 산소대신 질산염을 전자수용체로 이용하여 생화학적 에너지를 생산함으로써 탈질반응에 의해 질산염을 제거한다.

[83] 위의 1,2,3,4 및 5번의 황산화 박테리아와 6,7 번의 탈질화 박테리아는 고염도(3%이상)에서도 공영양 구조를 이루며 식이유황과 유기물을 에너지원으로 질산염을 적절히 제거한다.

[84] 상기 1 내지 7번의 박테리아는 염도가 3~27%(w/v)인 염전의 염수로부터 추출할 수 있으며, 추출방법은 예컨대, 3~27%(w/v)인 심해의 바닷물이나, 염전의 염수에 유황을 함유하는 식물을 넣고 박테리아를 이식시킴으로써 이루어질 수 있다.

[85] 그러므로, 염도가 3~27%(w/v)인 염전의 염수로부터 추출한 박테리아를 사용하는 경우, 유황을 함유하는 식물로부터 황, 유기물 등 세균의 생장에 필요한 모든 영양물질이 공급되므로, 효율적으로 질산염을 제거할 수 있다.

[86] 상기 박테리아들은 5°C 내지 70°C(심해의 열수구에도 존재)의 온도에서도 잘 번식하고 질산염도 잘 흡수한다.

[87]

[88] 본 발명에서 소금 성분을 포함하는 용액은 소금 성분 즉, NaCl이 용해되어 있는 용액을 의미하며, 더욱 구체적으로는 소금을 물에 용해시킨 소금물 또는 해수 등을 의미한다.

[89]

[90] 본 발명의 방법은, 상기 박테리아가 이식된 유황을 함유하는 식물을 질산염을 제거하고자 하는 소금 성분을 포함하는 용액과 접촉시키는 단계에서 박테리아 이식되지 않은 유황을 함유하는 식물을 추가로 더 담그는 방식으로 수행될 수도 있다.

[91] 또한, 본 발명의 방법은, 상기 황박테리아가 이식된 유황을 함유하는 식물을 소금 성분을 포함하는 용액과 접촉시키는 단계에서, 상기 황박테리아가 이식된 유황을 함유하는 식물과 함께 유황을 함유하지 않는 식물도 소금 성분을 포함하는 용액과 접촉시키는 방법으로 수행될 수도 있다. 이 경우, 추가로 넣어주는 식물이 유황을 함유하지 않아서 질산염의 제거에 도움이 되지 않는

않지만, 식물 고유의 풍미를 소금물에 제공할 수 있다.

[92] 또한, 본 발명의 방법은, 상기 박테리아가 이식된 유황을 함유하는 식물을 질산염을 제거하고자 하는 소금 성분을 포함하는 용액과 접촉시키는 단계에서 박테리아가 이식되지 않은 유황을 함유하는 식물과 함께 유황을 함유하지 않는 식물을 추가로 더 담그는 방식으로 수행될 수도 있다.

[93] 또한, 본 발명의 방법은, 상기 박테리아가 이식된 유황을 함유하는 식물을 질산염을 제거하고자 하는 소금 성분을 포함하는 용액과 접촉시키는 단계에서 유황을 함유하는 식물로부터 추출한 식이유황 추출물을 추가로 넣는 방식으로 수행될 수 있다.

[94] 또한, 본 발명의 모든 과정은 유황을 함유하는 식물로부터 식이유황을 추출하여 수행할 수도 있다. 이 경우, 식이유황의 추출은 이 분야에서 통상적으로 사용되는 방법에 의해 수행될 수 있다. 예컨대, 유황을 함유하는 식물을 50~120°C의 물에 넣고 끓여서 식이유황을 추출할 수 있다.

[95] 그러나, 일부 박테리아들은 유기물을 분해하여 질산염을 제거하기 때문에 식이유황만을 추출하여 사용하는 것보다 식물이 가지고 있는 섬유질 속에 포함된 고유의 유기물을 함께 사용할 수 있도록, 유황을 함유하는 식물을 직접 사용하는 것이 더욱 바람직하다.

[96] 본 발명의 방법에서 상기에서 박테리아를 이식시키는 단계는 전체적으로 사용할 유황을 함유하는 식물 중 소량의 식물로 수행하고, 나머지 유황을 함유하는 식물은 나중에 질산염을 제거하고자 하는 소금 성분을 포함하는 용액에 추가로 더 담그는 것이 바람직할 수 있다. 왜냐하면, 유황을 함유하는 식물중 황박테리아를 이식하기 좋은 식물과 직접 이식하기 어려운 식물들이 있기 때문이다. 그래서, 대나무와 조릿대와 같이 조직이 단단한 식물은 초기 황박테리아를 이식하기 유리한 조건이 되기 때문에 조릿대에 이식을 먼저 한 후 이식한 조릿대의 조각을 다른 식이유황이 많은 식물에 넣어 질산염을 제거하면 더 효과적이다.

[97] 상기 박테리아가 이식된 유황을 함유하는 식물과 박테리아가 이식되지 않은 유황을 함유하는 식물은 동일한 식물이거나 다른 식물일 수 있다.

[98]

[99] 본 발명의 질산염을 제거하는 방법은 혐기적인 조건에서 수행되는 것이 바람직하다. 왜냐하면, 황박테리아는 혐기적인 조건에서 산소대신 질산염을 전자수용체로 이용하여 생화학적 에너지를 생산함으로써 탈질반응에 의해 질산염을 제거하기 때문이다. 즉, 호기적인 조건에서 황박테리아는 산소를 전자수용체로 이용하므로 질산염 제거 효과를 기대하기 어렵다.

[100]

[101] 또한, 본 발명은

[102] 상기 본 발명의 방법, 즉 소금 성분을 포함하는 용액으로부터 질산염을 제거하는 방법으로 질산염이 제거된 것을 특징으로 하는 소금 성분을 포함하는

용액에 관한 것이다.

[103] 상기 소금 성분을 포함하는 용액으로는 식용 소금물, 해수 등을 들 수 있다.

[104] 상기 식용 소금물은 음식물을 제조하는 과정에서 사용하는 소금물을 포함한다. 상기 식용 소금물은 소금의 대용품으로 매우 유용하게 사용될 수 있다. 예컨대, 각종 음식의 간을 맞추는 용도, 두부의 제조시 응고제로서의 용도, 김치의 제조시 절임수로서의 용도 등으로 매우 유용하게 사용될 수 있다.

[105]

[106] 또한, 본 발명은

[107] 본 발명에서 제조된 소금 성분을 포함하는 용액으로부터 물을 증발시켜 제조되는, 질산염이 소금 100g 당 1.7mg 이하로 포함된 소금에 관한 것이다.

[108] 상기에서 질산염은 소금 100g 당 1mg 이하로 포함되는 것이 더욱 바람직하다.

[109] 질산염이 완전히 제거된 고염도(25% 이상의)의 염수는 그 내부에 황박테리아가 함께 존재한다. 그러나 이들의 활동은 고염도 상태에서 둔해지며, 물이 증발하여 소금이 되는 과정에서 다시 사멸하여 질산염을 발생시킨다. 따라서 질산염 함량이 극소량인 소금을 제조하는 것은 통상적인 방법으로는 불가능하다.

[110] 그러나 본 발명의 방법으로 질산염을 제거하여 제조한 염수를 90~120°C에서 급속 가열하거나, 전자레인지로 급속히 가열하거나, 강한 빛을 조사하여 물을 급속히 증발시키거나, 동결건조시키는 경우, 질산염이 1.7mg/100g 이하인 소금을 얻을 수 있다. 특히, 동결건조의 경우, 동결건조된 소금에 존재하는 박테리아가 부패하지 않고 건조되므로 질산염의 함량이 거의 증가하지 않는 장점이 있다.

[111] 상기에서 급속가열은 1~30분, 더욱 바람직하게는 1~10분 동안 건조를 완료하는 것을 의미한다.

[112] 현재 시중에 유통되는 천일염의 경우는 약 4.3~6.7mg/100g, 화학염의 경우는 약 3.7mg/100g 정도의 질산염을 포함하며, 질산염의 함량을 그 이하로 낮춘 소금은 알려져 있지 않다. 그리고, 그러한 소금의 제조는 매우 어려운 것으로 인식되고 있다.

[113] 따라서, 이러한 사정을 고려하면, 질산염이 5 mg/g 이하로 포함되는 본 발명의 소금은 매우 획기적인 것이라 할 수 있다.

[114] 본 발명은 초고염도로 만들어진 염수로부터 급속히 물을 증발시킴으로써 박테리아를 소금 내의 핵산과 같은 형태로 남게 하여 질산염이 최소화된 소금을 생산한다.

[115] 본 발명은 또한, 나트륨의 함량이 최소화된 소금을 제공한다.

[116] 몇몇 박테리아의 대사에는 미량의 나트륨이 요구된다. 나트륨은 진핵세포에서 전하를 띤 물질의 이동에 중요한 역할을 한다. 호염성 박테리아는 물질의 이동을 위해 나트륨(Na+)을 필요로 한다(생물공정공학 2판, MICHAEL L. SHULER, 59쪽). 본 발명에서는 호염성 황박테리아들을 사용하며, 이러한 호염성

박테리아들은 나트륨을 미량 소모한다. 따라서, 본 발명은 나트륨의 함량이 최소화된 소금을 제공할 수 있다.

[117]

[118] 본 발명은 또한, 식물성 식이유황이 포함된 소금을 제공한다. 상기 식물성 식이유황은 소금의 짠맛을 크게 강화하는 기능을 수행한다.

[119] 황박테리아에 의해 질산염이 제거된 소금은 기존 제재염에 비해 2배 이상의 짠맛을 낸다. 그 이유는 죽순이나 콩과 식물 등에 포함된 식이유황과 칼륨이 쓴맛을 내기 때문이다. 보통 식물에 함유된 칼륨과 식이유황은 쓴맛을 내는데 이들은 소금을 더 짜게 느끼도록 만드는 효과를 제공한다. 즉, 본 발명에 의해 식이유황과 황박테리아를 사용하여 제조된 소금은 황박테리아가 소금에 식이유황이 남게 하므로 짠맛이 크게 강화된다. 현재 칼륨의 쓴맛을 이용해 짠맛을 강화하여 나트륨을 섭취를 줄이도록 한 소금들이 판매되고 있지만, 본 발명에서는 몸에 좀 더 안전한 식이유황의 쓴맛을 이용하여 소금의 짠맛을 강화시킴으로써 나트륨의 섭취를 줄일 수 있다.

[120] 소금에 포함된 식이유황은 소금 50g을 기준으로 500mg 이상 포함되는 경우, 짠맛이 강화된 것을 느끼게 하며, 1500mg 정도 포함되는 경우 2배 이상의 짠맛을 느낄 수 있게 하는 것으로 확인되었다. 상기 소금에 포함된 식이유황의 함량은 식물의 종류 및 사용된 황박테리아의 개체수에 따라 다르게 나타날 수 있다

[121] 본 발명에서 황박테리아에 의해 얻은 고염도의 염수와 소금은 채소나 식품의 자연적 질산염 증가속도를 늦추는 데도 효과가 있으므로 매우 유용하다.

발명의 실시를 위한 형태

[122] 이하에서, 실시예를 통하여 본 발명을 보다 상세히 설명한다. 그러나, 하기의 실시예는 본 발명을 더욱 구체적으로 설명하기 위한 것으로서, 본 발명의 범위가 하기의 실시예에 의하여 한정되는 것은 아니다. 하기의 실시예는 본 발명의 범위 내에서 당업자에 의해 적절히 수정, 변경될 수 있다.

[123]

[124] **비교예 1: 질산염이 없는 소금물의 제조**

[125] 시중에서 판매되고 있는 질산염 제거제(광물성황 사용)(상품명: LSM, 제조사명: 카리브씨 carib-sea)를 구입하여 소금물에 포함된 질산염을 제거하였다. 먼저, 원통형의 용기에 염도 9%의 소금물 1 L를 넣고, 질산염 제거제를 제품에 표시된 사용량에 따라 첨가하였다. 질산염이 어느 정도 제거될 때를 기다려 질산염 측정키트로 질산염의 농도를 체크하였다. 그 결과 60일이 지난 시점에서 질산염의 농도가 0 mg/L가 되는 것을 확인하였다.

[126]

[127] **실시예 1: 질산염이 없는 소금물의 제조(황환원 박테리아 사용)**

[128] 질산염을 포함하는, 염도 9%의 소금물 10 L를 원통형 용기에 넣었다. 조릿대의

뿌리를 1cm - 2cm 정도의 크기로 잘라 황환원 박테리아(CaribSea사의 LSM 을 구입하여 추출함, 박테리아 명칭은 sulfur reducing bacteria, 'Desulfuromonas'임)를 이식하고, 황환원 박테리아가 이식된 조릿대의 뿌리를 상기 원통형 용기의 바닥으로부터 수면까지 가득차도록 채웠다. 온도는 상온으로 유지하고, 원통형 용기의 뚜껑을 덮어 외기를 차단하였다. 질산염 제거를 시작한 날부터 6일째 되는 날 질산염 측정키트로 질산염의 농도를 측정한 결과, 질산염의 농도가 0 mg/L인 것을 확인하고, 조릿대 조각들을 원통형 용기로부터 꺼냈다. 원통형 용기에 남은 소금물을 여과필터를 통과시켜 별도의 용기에 옮겨 담아 질산염이 없는 소금물을 제조하였다.

[129]

[130] 상기 실험에서 확인되는 바와 같이, 본 발명의 질산염 제거 방법은 시중에서 판매 중인 제품과 비교하여 현저히 빨리(약 2~3배) 소금물 중의 질산염을 제거하였다.

[131]

[132] 실시예 2: 질산염이 없는 소금물의 제조

[133] (1) 염전의 염수로부터 박테리아의 추출

[134] 1) 사용할 식물에 직접 박테리아를 이식하는 방법

[135] 서해안의 신안지역 염전에서 퍼온 염도 9%의 소금물에 길이 1~2cm로 절단한 유향을 함유하는 식물(조릿대의 뿌리 조각)을 넣고 20-35°C의 온도에서 3일간 숙성시켜 조릿대에 박테리아를 이식시켰다.

[136]

[137] 2) 별도의 식물을 이용하여 박테리아 이식편을 제조하는 방법

[138] 서해안의 신안지역 염전에서 퍼온 염도 9%의 소금물에 길이 1~2cm로 절단한 이식조각(조릿대의 뿌리 조각)을 300g을 넣고 20-35°C의 온도에서 15일 숙성시켜 조릿대에 황산화 박테리아를 이식 및 증식시켰다.

[139]

[140] (2) 소금물로부터 질산염의 제거(황산화 박테리아 등의 사용)

[141] 다른 박테리아들이 들어가지 않도록 실험에 사용할 180ml 용량의 유리용기와 천일염을 녹인 염도 9%(염도는 3-28%까지 가능하다)의 염수를 화씨(°F) 90도에서 소독하고, 사용할 식물들도 흙에서 묻어오는 다른 박테리아의 유입을 막기 위해 끓는 물에 5초 정도 담가 살균처리 하였다.

[142]

상기 유리용기에 염수를 담고 질산염의 농도를 분광광도계의 흡광법과 테트라(Tetra)사 또는 셀리퍼트사(Salifert)의 NO₃ profi test 키트 색 측정법으로 측정하였다. 그 다음 하기 표1에 기재된 각각의 식물 30g을 염수가 넘치지 않게 유리용기에 넣고 상기 2)에서 황산화 박테리아 등을 증식시킨 조릿대 뿌리 조각(1~2cm) 하나를 식물 속에 넣고 거품이 안나도록 살짝 흔들어 주었다.

[143]

상기 실험 용기를 20-35°C의 온도에서 숙성시키면서 분광광도계의 흡광법과 테트라(Tetra)사 또는 셀리퍼트사(Salifert)의 NO₃ profi test 키트 색 측정법으로

질산염의 제거 정도를 평가하였다.

- [144] 상기에서 식물들을 씻은 후 1-2cm 정도로 잘라서 사용하였다. 콩류나 녹두, 기장, 조, 은행과 같은 열매는 껍질만 간채로 그대로 사용하였다. 그 밖의 나뭇가지나 부피가 큰 것들은 1-2cm 정도로 잘라서 사용하였다. 식물을 잘게 자르는 이유는 식물내부의 식이유향과 황 박테리아와의 접촉과 번식을 용이하게 하기 위함이다.

- [145] 표 1

[Table 1]

	식물의 종류	질산염 함량(mg/l)	숙정일(숙 성기간)(질 산염 제거가 많이 되는 시기)	비고
1	죽순	1mg/l 이하	4-6일	0 mg/l까지 질산염 제거 가능
2	조릿대 뿌리	2mg/l 이하	5-9일	1-3일 초기에 질산염의 농도 상승 후 4일 부터 질산염이 제거됨
3	감자	2mg/l 이하	3-6일	0 mg/l까지 질산염의 제거가 가능 하지만, 장기숙성시 질산염 농도 상승
4	마늘	2mg/l 이하	3-4일	12일 이상 숙성시 질산염 농도 재상승/거품발생/소금제 조시 마늘향 강함
5	마늘쫑	2mg/l 이하	4일-12일	마늘 보다는 오래 숙성되면서 질산염이제거됨
6	생강	2mg/l 이하	7-14일	1-6일 초기에 질산염의 농도가 약간 상승한 후 질산염이 제거됨
7	은행열매	2mg/l 이하	4-5일	0 mg/l까지 질산염 제거 가능
8	은행잎	2mg/l 이하	10일-15	효과 있으나 15일 이상 되면 상한 냄새가 날수 있음
9	조	2mg/l 이하	3일-20일	한달간 숙성하여도 질산염 재상승이 일어나지 않음 0 mg/l까지 질산염 제거

				가능
10	기장	2mg/l 이하	3일-20일	한달간 숙성하여도 질산염 재상승이 일어나지 않음 0 mg/l까지 질산염 제거 가능
11	서리태	2mg/l 이하	4일-20일	한달간 숙성하여도 질산염 재상승이 일어나지 않음
12	백태	2mg/l 이하	4일-20일	한달간 숙성하여도 질산염 재상승이 일어나지 않음
13	팥	3mg/l 이하	4일-15일	한달간 숙성하여도 질산염 재상승이 일어나지 않음
14	완두콩	3mg/l 이하	4일-20일	한달간 숙성하여도 질산염 재상승이 일어나지 않음
15	강낭콩	3mg/l 이하	4일-20일	한달간 숙성하여도 질산염 재상승이 일어나지 않음
16	녹두	2mg/l 이하	4일-25일	한달간 숙성하여도 질산염 재상승이 일어나지 않음 0 mg/l까지 질산염 제거 가능
17	수수	4mg/l 이하	4일-15일	
18	자몽열매 껍데기	3mg/l 이하	4-8일	20일 이상 장기숙성시 질산염 농도 약간 재상승
19	레몬열매 껍데기	3mg/l 이하	4-15일	25일까지 질산염 농도 재상승 없음
20	귤 껍데기	3mg/l 이하	4-15일	25일까지 질산염 농도 재상승 없음
21	한라봉 껍데기	3mg/l 이하	4-10일	25일까지 질산염 농도

				재상승 없음
22	라임 껍테기	3mg/l 이하	4-12일	한달까지 질산염 농도 재상승 없음
23	오렌지 껍테기	3mg/l 이하	4-15일	한달까지 질산염 농도 재상승 없음
24	깻짱 껍테기	3mg/l 이하	4-12일	한달까지 질산염 농도 재상승 없음
25	석류 껍테기	3mg/l 이하	4-12일	한달까지 질산염 농도 재상승 없음
26	인삼	4mg/l 이하	5-25일	15일 이상 숙성시 질산염 제거 효과가 나타남
27	당근	4mg/l 이하	5일-20일	10일 이상 숙성시 질산염 제거 효과가 좋음
28	무순(새싹무)	7mg/l 이하	4-6일	장기숙성시 질산염 상승할 수 있음
29	무	5mg/l 이하	8-15일	10일 이상 숙성시 효과가 나타남
30	순무	5mg/l 이하	8-17일	10일 이상 숙성시 효과가 나타남
31	도라지	6mg/l 이하	8-17일	12일 이상 숙성시 효과가 잘 나타남
32	숙주나물	7mg/l 이하	5-15일	장기 숙성시상할 수 있음(줄기부분)
33	콩나물	7mg/l 이하	5-15일	장기 숙성시상할수 있음(줄기부분)
34	땅콩	5mg/l 이하	4-15일	15일간 숙성하여도 질산염 재상승이 일어나지 않음
35	쭈	8mg/l 이하	8-17일	10일 이상 장기 숙성시 질산염 제거효과가 나타남
36	호박(늙은호박)	6mg/l 이하	7-15일	
37	로즈마리	8mg/l 이하	8-17일	질산염 제거력은 크지 않으나 소금 제조시

				향첨가 기능을 제공함
38	장미허브	6mg/l 이하	8-17일	실험 허브식물중 가장 질산염 제거효과 좋음
39	소나무가지	8mg/l 이하	15-30일	장기숙성시 질산염 제거효과가 나타남
40	솔잎	8mg/l 이하	15-40일	장기숙성시 질산염 제거효과가 나타남
41	오가피	8-7mg/l	8-30일	장기간 숙성시 질산염 제거/ 다른식물과 혼합하여 색소제거에 용이함
42	근대	10mg/l 이하	8-17일	초기 1-3일까지 질산염 농도 상승후 7일 이후 미량 제거
43	삼채	10mg/l 이하	5-10일	식이유효 함량 많으나 상하기 쉬움
44	대파(줄기 및 뿌리)	8mg/l 이하	8-17일	식이유효 함량 많으나 상하기 쉬움
45	달래잎	9mg/l 이하	3-7일	10이상 숙성시 질산염 상승
46	달래뿌리	9mg/l 이하	3-7일	10이상 숙성시 질산염 상승
47	브로컬리	6mg/l 이하	3-10일	25일이상 장기 숙성시 질산염 상승할수 있음
48	캔들플랜트	8-6mg/l	3-20일	질산염 제거력은 크지 않으나 소금 제조시 향첨가 기능을 제공함
49	파인애플세이지	8-5mg/l	3-20일	질산염 제거력은 크지 않으나 소금 제조시 향첨가 기능을 제공함
50	레몬밤	8-6mg/l	3-20일	질산염 제거력은 크지 않으나 소금 제조시 향첨가 기능을 제공함
51	파인애플 민트	8-5mg/l	3-20일	질산염 제거력은 크지

				않으나 소금 제조시 향첨가 기능을 제공함
52	스피아민트	8-5mg/l	3-20일	질산염 제거력은 크지 않으나 소금 제조시 향첨가 기능을 제공함
53	에플민트	8-6mg/l	3-20일	질산염 제거력은 크지 않으나 소금 제조시 향첨가 기능을 제공함
54	겨자잎	9-6mg/l	5-15일	십자화과식물이지만 질산염 소량제거
55	녹차잎	8-6mg/l	3-15일	
56	양배추	3mg/l 이하	10일	
57	적양배추	2mg/l 이하	10일	

[146] 상기 표2에서 확인되는 바와 같이,

[147] 상기 실험 식물군들은 모두 질산염의 제거 능력을 나타냈다. 따라서 이러한 식물군을 이용하여 질산염을 제거하는 경우, 질산염이 최소화된 소금물 및 소금을 제조할 수 있다. 또한, 식물 고유의 풍미(맛과 향)를 갖는 소금물 및 소금을 제조할 수 있다.

[148]

[149] **실시예 3: 질산염이 최소화된 소금의 제조**

[150] 상기 실시예 2의 1(식이유황 함유 식물로서 죽순 사용)에서 제조된 소금물을 90~100°C로 가열하여 2분 내에 물을 증발시켜서 고운 소금을 제조하였다. 상기 제조된 소금에 포함된 질산염의 양을 측정하기 위하여, 제조된 소금 1 g을 다시 증류수 300 ml에 녹이고, Tetra 사(독일, www.tetra.net)의 Test No3 측정킷을 사용하여 질산염의 함량을 측정하였다. 측정결과 질산염의 함량은 1.3 mg/100g 이었다.

[151]

[152] **실시예 4: 제조된 소금의 나트륨 함량 및 식이유황 함량 측정**

[153] **(1) 나트륨 함량 측정**

[154] 상기 실시예 3에서 제조된 소금에 포함된 나트륨 함량을 나트륨 전극이온 측정법에 의해 측정하였다. 즉, 시중에서 구입한 천일염 100mg과 실시예 3에서 제조된 소금 100mg을 각각 증류수 100ml에 녹여 소금용액을 제조하고, 나트륨 전극이온 측정법에 의해 실온에서 각각의 소금용액에 포함된 나트륨의 함량을 측정하였다.

[155] 상기 실험결과, 실시예 3에서 제조된 소금으로 제조된 소금용액에는 시중에서 구입한 천일염으로 제조된 소금용액과 비교하여 나트륨이 평균 13mg~15mg/L

덜 포함된 것이 확인되었다. 이는 본 발명의 소금 제조 과정에서 나트륨이 호염성 박테리아에 의해 소비되었음을 나타낸다.

[156] **(2) 식이유황 함량 측정**

[157] 상기 실시예 3에서 제조된 소금에 포함된 식이유황의 함량을 황이온 전극 측정법에 의해 측정하였다. 그 결과, 소금 50g 기준 식이유황 1000mg이 포함된 것을 확인하였다.

[158] **(3) 식이유황 함량과 짠맛의 관계 확인**

[159] 소금에 포함된 식이유황의 함량과 짠맛의 상관 관계를 20명의 피험자를 대상으로 확인하였다. 상기 피험자는 30대 여성 13명 및 40대 남자 7명으로 구성되었다. 상기 피험자를 대상으로 다양한 식이유황의 함량을 갖는 소금의 맛을 보게 하고 짠맛의 정도를 평가하여 기록하게 하였다.

[160] 상기 실험결과 소금 50g 기준 식이유황 500mg 이상에서 짠맛이 강화된 것을 피험자 12명이 느낀 것으로 확인되었으며, 1500mg에서는 피험자 16명이 식이유황이 포함되지 않은 소금과 비교하여 2배 이상의 짠맛을 느낀 것으로 확인되었다.

[161]

[162] **실시예 5: 황산화 박테리아의 동정**

[163] 실시예 2의 (1)의 2)에서 박테리아가 이식된 조릿대의 뿌리 조각에 포함되어 있는 박테리아를 온도구배전기영동(temperature gradient gel electrophoresis (TGGE)) 방법으로 동정하고, TGGE 결과 사진을 도 1에 나타내었다. 또한, 각 DNA band를 잘라내어 추출 및 정제한 후 PCR을 이용하여 증폭하여 전문회사에 의뢰하여 염기서열을 분석하고 그 결과를 이용하여 GenBank의 Database에 근거하여 동정하였다.

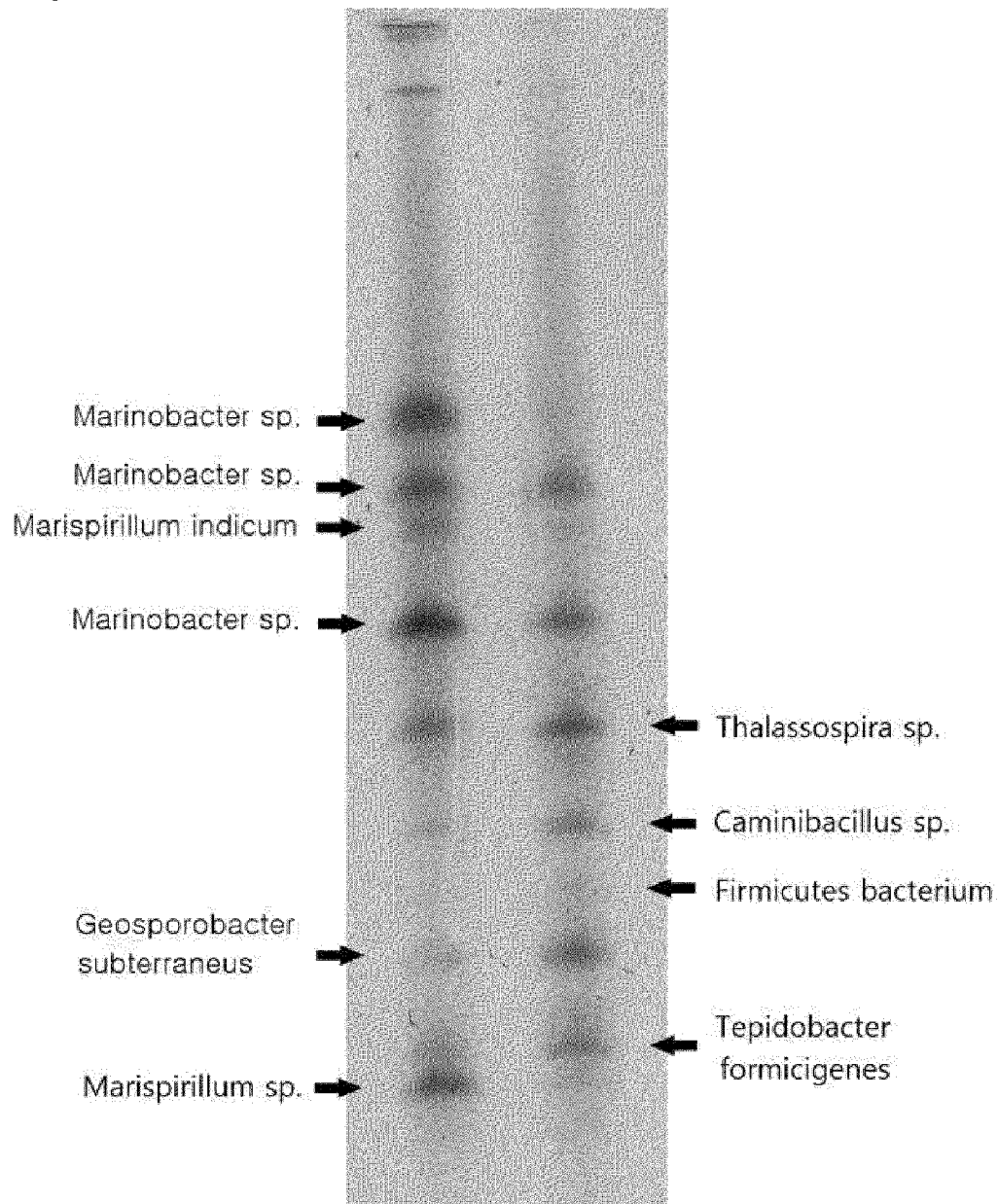
[164] 상기 동정 결과, 상기 소금물에는 *Marinobacter* sp.(GenBank accession number JQ618280), *Marispirillumindicum*(GenBank accession number NR044545), *Thalassospira* sp.(GenBank accession number AB373113), *Caminibacillus*(GenBank accession number AB752312), *Tepidibacterformicigenes*(GenBank accession number JQ670743), *Geosporobactersubterraneus*(GenBank accession number DQ643978), 및 *Firmicutesbacterium*(GenBank accession number JX240960)가 포함되어 있는 것을 확인하였다.

청구범위

- [청구항 1] 유황을 함유하는 식물에 황박테리아를 이식시키고, 상기 황박테리아가 이식된 유황을 함유하는 식물을 소금 성분을 포함하는 용액과 접촉시켜서, 소금 성분을 포함하는 용액으로부터 질산염을 제거하는 방법.
- [청구항 2] 청구항 1에 있어서, 상기 유황을 함유하는 식물이 대나무과 식물, 감자, 마늘, 마늘쫑, 생강, 은행잎, 조, 기장, 서리태, 백태, 팥, 완두콩, 강낭콩, 녹두, 수수, 자몽열매 껍데기, 레몬열매 껍데기, 귤 껍데기, 한라봉 껍데기, 라임 껍데기, 오렌지 껍데기, 깻짱 껍데기, 인삼, 당근, 무, 무순, 도라지, 숙주나물, 콩나물, 땅콩, 쭉, 호박, 로즈마리, 장미허브, 소나무가지, 솔잎, 오가피, 근대, 삼채, 대파, 달래, 브로콜리, 캔들플랜트, 파인애플세이지, 레몬밤, 스피아민트, 애플민트, 파인애플민트, 녹차잎, 양배추 및 적양배추로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상인 것을 특징으로 하는 소금 성분을 포함하는 용액으로부터 질산염을 제거하는 방법.
- [청구항 3] 청구항 1에 있어서, 상기 황박테리아는 황산화 박테리아 또는 황환원 박테리아인 것을 특징으로 하는 소금 성분을 포함하는 용액으로부터 질산염을 제거하는 방법.
- [청구항 4] 청구항 1에 있어서, 상기 황박테리아가 이식된 유황을 함유하는 식물을 소금 성분을 포함하는 용액과 접촉시키는 단계에서, 상기 황박테리아가 이식된 유황을 함유하는 식물과 함께 유황을 함유하지 않는 식물도 소금 성분을 포함하는 용액과 접촉시키는 것을 특징으로 하는 소금 성분을 포함하는 용액으로부터 질산염을 제거하는 방법.
- [청구항 5] 청구항 1의 방법으로 질산염이 제거된 것을 특징으로 하는 소금 성분을 포함하는 용액.
- [청구항 6] 청구항 5에 있어서, 상기 소금 성분을 포함하는 용액이 식용 소금물 또는 해수인 것을 특징으로 하는 소금 성분을 포함하는 용액.
- [청구항 7] 청구항 5의 소금 성분을 포함하는 용액을 가열하여 물을 증발시키거나 동결건조시킴으로써 제조된, 질산염이 소금 100g 당 1.7mg 이하로 포함된 소금.
- [청구항 8] 청구항 8에 있어서, 질산염이 소금 100g 당 1mg 이하로 포함된 소금.
- [청구항 9] 청구항 5의 소금 성분을 포함하는 용액을 가열하여 물을

증발시키거나 동결건조시켜서 제조된 식물성 식이유허이 포함된
소금.

[Fig. 1]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2013/006166**A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER*****A23L 1/015(2006.01)i, A23L 1/237(2006.01)i***

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A23L 1/015; C02F 3/32; C02F 3/30; C02F 3/34; A01K 63/04; C02F 3/10; A23L 1/237

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Korean Utility models and applications for Utility models: IPC as above

Japanese Utility models and applications for Utility models: IPC as above

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

eKOMPASS (KIPO internal) & Keywords: sulfur, sulfur bacteria, sulfur bacteria, plant, nitric acid, ammonia, nitrogen, denitrification, salt, sea water

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP 2002-273475 A (NIPPON STEEL CHEM CO LTD) 24 September 2002 See abstract, columns 0010, 0011 and claims 1-3.	1-9
A	KR 10-0668598 B1 (BAYTECH KOREA INC) 19 January 2007 See abstract and pages 3-5.	1-9
A	US 2007-0163952 A1 (SCHREIER, Harold J. et al.) 19 July 2007 See abstract and columns 0049, 0071-0073.	1-9
A	JP 2007-307538 A (FUJITA, Takuro) 29 November 2007 See abstract and claims 1-3.	1-9



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

27 SEPTEMBER 2013 (27.09.2013)

Date of mailing of the international search report

27 SEPTEMBER 2013 (27.09.2013)

Name and mailing address of the ISA/KR



Korean Intellectual Property Office
Government Complex-Daejeon, 189 Seonsa-ro, Daejeon 302-701,
Republic of Korea

Facsimile No. 82-42-472-7140

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/KR2013/006166

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member	Publication date
JP 2002-273475 A	24/09/2002	JP 4562935 B2	13/10/2010
KR 10-0668598 B1	19/01/2007	NONE	
US 2007-0163952 A1	19/07/2007	AU 2005-210477 A1	18/08/2005
		AU 2005-210477 B2	20/01/2011
		CA 2554958 A1	18/08/2005
		CA 2554958 C	08/01/2013
		EP 1718570 A1	08/11/2006
		EP 1718570 A4	14/04/2010
		EP 1718570 B1	03/10/2012
		MX PA06008671A	16/02/2007
		US 7462284 B2	09/12/2008
		WO 2005-075366 A1	18/08/2005
JP 2007-307538 A	29/11/2007	NONE	

A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC))

A23L 1/015(2006.01)i, A23L 1/237(2006.01)i

B. 조사된 분야

조사된 최소문헌(국제특허분류를 기재)

A23L 1/015; C02F 3/32; C02F 3/30; C02F 3/34; A01K 63/04; C02F 3/10; A23L 1/237

조사된 기술분야에 속하는 최소문헌 이외의 문헌

한국등록실용신안공보 및 한국공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC

일본등록실용신안공보 및 일본공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC

국제조사에 이용된 전산 데이터베이스(데이터베이스의 명칭 및 검색어(해당하는 경우))

eKOMPASS(특허청 내부 검색시스템) & 키워드: 유황, 황박테리아, 황세균, 식물, 질산, 암모니아, 질소, 탈질, 소금, 해수

C. 관련 문헌

카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
A	JP 2002-273475 A (NIPPON STEEL CHEM CO LTD) 2002.09.24 요약, 칼럼 0010, 0011 및 청구항 1-3 참조.	1-9
A	KR 10-0668598 B1 ((주)바이텍코리아) 2007.01.19 요약 및 페이지 3-5 참조.	1-9
A	US 2007-0163952 A1 (HAROLD J. SCHREIER et al.) 2007.07.19 요약 및 칼럼 0049, 0071-0073 참조.	1-9
A	JP 2007-307538 A (FUJITA TAKURO) 2007.11.29 요약 및 청구항 1-3 참조.	1-9

☐ 추가 문헌이 C(계속)에 기재되어 있습니다.

☒ 대응특허에 관한 별지를 참조하십시오.

* 인용된 문헌의 특별 카테고리:

“A” 특별히 관련이 없는 것으로 보이는 일반적인 기술수준을 정의한 문헌

“T” 국제출원일 또는 우선일 후에 공개된 문헌으로, 출원과 상충하지 않으며 발명의 기초가 되는 원리나 이론을 이해하기 위해 인용된 문헌

“E” 국제출원일보다 빠른 출원일 또는 우선일을 가지나 국제출원일 이후에 공개된 선출원 또는 특허 문헌

“X” 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌 하나만으로 청구된 발명의 신규성 또는 진보성이 없는 것으로 본다.

“L” 우선권 주장에 의문을 제기하는 문헌 또는 다른 인용문헌의 공개일 또는 다른 특별한 이유(이유를 명시)를 밝히기 위하여 인용된 문헌

“Y” 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌이 하나 이상의 다른 문헌과 조합하는 경우로 그 조합이 당업자에게 자명한 경우 청구된 발명은 진보성이 없는 것으로 본다.

“O” 구두 개시, 사용, 전시 또는 기타 수단을 언급하고 있는 문헌

“&” 동일한 대응특허문헌에 속하는 문헌

“P” 우선일 이후에 공개되었으나 국제출원일 이전에 공개된 문헌

국제조사의 실제 완료일

2013년 09월 27일 (27.09.2013)

국제조사보고서 발송일

2013년 09월 27일 (27.09.2013)

ISA/KR의 명칭 및 우편주소

 대한민국 특허청
(302-701) 대전광역시 서구 청사로 189,
4동 (둔산동, 정부대전청사)

팩스 번호 +82-42-472-7140

심사관

장낙용

전화번호 +82-42-481-8151



국제조사보고서에서 인용된 특허문헌	공개일	대응특허문헌	공개일
JP 2002-273475 A	2002/09/24	JP 4562935 B2	2010/10/13
KR 10-0668598 B1	2007/01/19	없음	
US 2007-0163952 A1	2007/07/19	AU 2005-210477 A1	2005/08/18
		AU 2005-210477 B2	2011/01/20
		CA 2554958 A1	2005/08/18
		CA 2554958 C	2013/01/08
		EP 1718570 A1	2006/11/08
		EP 1718570 A4	2010/04/14
		EP 1718570 B1	2012/10/03
		MX PA06008671A	2007/02/16
		US 7462284 B2	2008/12/09
		WO 2005-075366 A1	2005/08/18
JP 2007-307538 A	2007/11/29	없음	