

코코아빈 허스크 분말 첨가가 냉장보관에 따른 소시지의 저장성에 미치는 영향

최진희¹ · 김명현¹ · 한영실^{1,*}
¹숙명여자대학교 식품영양학과

Effect of cocoa bean husk powder on the shelf life of sausages during refrigerated storage

JinHee Choi¹, MyungHyun Kim¹, and Young-Sil Han^{1*}

¹Department of Food and Nutrition, Sookmyung Women's University

Abstract Cocoa bean husk is an important by-product of the cocoa industry. This study was conducted to measure the changes in the quality characteristics of sausage with added cacao bean husk powder (0, 0.25, 0.5, 1, 1.5, and 2%; ascorbic acid 0.2%) at 4°C for 15 days. The total polyphenol, total flavonoid, DPPH, and ABTS⁺ radical scavenging activity of sausages increased with the addition of cocoa bean husk powder ($p < 0.001$). As the amount of added cocoa bean husk powder increased, quality deterioration characteristics such as pH increase, redness discoloration, lipid oxidation, protein degradation, and texture change during storage were decreased ($p < 0.05$). In particular, 1% sausage was shown to inhibit TBARS and VBN, similar to ascorbic acid-added sausage. In terms of sensory characteristics, the 0.5 and 1% sausages received the highest score for overall preference. Therefore, we concluded that addition of 1% cocoa bean husks to sausages improved their storage characteristics and palatability.

Keywords: cocoa bean husk, sausages, refrigerated storage, antioxidant, shelf life

서 론

코코아빈 허스크(cocoa bean husks)는 코코아 가공과정에서 발생하는 부산물로, 로스팅한 코코아빈(bean)에서 코코아넵(nip)은 코코아 제품 원료로 사용되는 반면 껍질(husk)은 폐기된다(Kim 등, 2021). Okiyama 등(2018)에 따르면 코코아빈 허스크는 세계적으로 매년 4×10^5 톤이 배출되고 있는 것으로 추산된다. 코코아는 와인, 홍차와 함께 3대 향산화식품으로 알려져 있는데, 혈중 HDL 향상, 인슐린 저항성 향상, 항균성, 항염증, 항알레르기 항고혈압 등 생리활성기능이 있다고 보고 되었다(Djoussé 등, 2011). 이는 코코아의 페놀화합물들 중에서 flavan-3-ol의 단량체인 catechin과 epicatechin, 이량체인 procyanidin B가 높은 생리활성을 나타내기 때문이며 코코아빈 허스크 역시 코코아빈 못지 않게 이러한 페놀화합물들이 풍부하다고 보고되었다(Okiyama 등, 2018; Hernández-Hernández, 2019). 코코아빈 허스크는 총 식이섬유 50% (불용성 식이섬유 35-45%, 수용성 식이섬유 14-17%)로 구성되어 있으며 flavanol 외에도 caffeine 및 theobromine 등이 함유되어 있다(Hu 등, 2016). 코코아빈에 대한 기능성 연구와 식품소재로써 선행연구는 오래전부터 국내·외에서 다양하게 이루어져 그 기능

성과 활용성이 이미 입증되었다(Djoussé 등, 2011). 그러나, 코코아빈 허스크의 관한 선행 연구로는 항산화활성과 폴리페놀 조성 분석에 관한 연구가 대부분으로, 특히 코코아빈 허스크를 식품소재로써 활용한 연구는 미비한 실정이다(Kim 등, 2004; Kim 등, 2021).

육류와 육제품은 양질의 단백질과 비타민이 풍부해서 영양학적 가치가 매우 우수한 식품으로, 고소한 맛과 향미를 가지고 있어서 육류의 소비는 꾸준히 증가해왔다(Joo와 Choi, 2014). 그러나 소비자들이 건강에 대한 관심이 커짐에 따라, 방부제와 같은 첨가제가 식육 가공식품에 함유되어 있는 것에 대하여 우려하고 있으며, 합성 향산화제 대한 건강상의 우려는 향산화 특성을 가진 천연 식품 소재 사용을 촉진하였다(Ribeiro 등, 2019). 이에 대한 연구로 페놀화합물이 풍부한 식품소재의 첨가는 육류제품의 유통기한을 연장시키고 품질을 향상시켜 왔다(Mancini 등, 2015). 그 연구 사례를 살펴보면 로즈마리 추출물과 녹차 추출물을 첨가한 소시지(Schilling 등, 2018) 홍국 분말을 첨가한 유태형 소시지(Kim과 Kim, 2017), 잇꽃나무 씨 분말을 첨가한 돈육패티(Cuong과 Chin, 2016), 심황분말을 첨가한 토끼고기패티(Mancini 등, 2015), 울피분말을 첨가한 돈육패티(Joo와 Choi, 2014), 차의 카테킨과 비타민을 첨가한 소고기와 닭고기 패티(Mitsumoto 등, 2005), 감잎분말을 첨가한 소시지(Lee 등, 2003) 연구, 코코아와 청포도 씨앗 추출물을 첨가한 발효 소시지(Ribas-Agusti 등, 2014), 등이 있다. 그러나 코코아빈 허스크를 식품소재로 사용한 육류제품에 대한 연구는 부족하며 특히 저장성을 연구한 논문은 미비하다.

따라서 본 연구에서는 코코아빈 허스크를 이용한 식품부가가치 창출과 새로운 식품소재활용을 위한 식품모델로써 돈육 소시

*Corresponding author: Young-Sil Han, Dep. of Food and Nutrition, Sookmyung Women's University, Seoul 04310, Korea
Tel: +82-2-710-9764
Fax: +82-2-710-9479
E-mail: yshan@sookmyung.ac.kr
Received July 20, 2021; revised August 20, 2021;
accepted August 30, 2021

지를 선정하였다. 코코아빈 허스크 첨가량을 달리하여 돈육 소시지를 제조하고 15일간 냉장 저장하면서 품질변화를 측정함으로써, 코코아빈 허스크가 소시지의 저장성을 향상시킬 수 있는 지 살펴보고자 한다.

재료 및 방법

코코아빈 허스크 분말 제조 및 추출물의 제조

본 연구에 사용한 코코아는 에콰도르 팔토산토 농장에서 생산된 코코아빈(ASSS 등급)을 2020년 5월에 TreeToBar Co. (Namyangju, Korea)에서 구입하였다. 코코아빈 허스크를 얻기 위하여 생 코코아 원두를 120°C에서 15분간 로스터기(CNR-101A, Genesis, Ansan, Korea)로 로스팅 한 후, 코코아빈에서 벗겨낸 허스크를 분류하였다. 분류한 코코아빈 허스크는 초미세분쇄기(JP5063-1, MHK, Osaka, Japan)로 분쇄하여 분말을 제조하였다.

코코아빈 허스크 분말에 중량 10배의 70% ethanol 용매를 가하고 상온교반추출 방법으로 24시간 추출하였다. 추출물을 감압 농축(N-1200A, EYELA Co., Shanghai, China)하여 추출물을 제조하였다 시료는 -40°C deep freezer (SF-53-U, NIHON, Tokyo, Japan)에 보관하면서 이를 희석하여 각 실험에 사용하였다.

소시지 및 소시지 추출물 제조

소시지의 배합 비율은 Table 1에 제시하였다. 실험에 사용된 돈육은 도살한 지 24시간 후에 냉장된 후지(Hongju Meat Co., Hongseong, Korea)를 사용하였다. 후지와 등지방(Back fat)은 그 라인딩 머신(PA-82, Mainca, Barcelona, Spain)에 3 mm plate를 이용하여 분쇄하였다. 볼커터(K-30, Talsa, Valencia, Spain)를 이용하여 후지, 등지방, 그리고 얼음을 교반하였다. 첨가물과 코코아빈 허스크 분말은 주요 재료인 후지, 등지방, 얼음의 중량을 기준으로 비율을 설정하여 설탕, nitrite pickling salt와 mixed spice를 넣었다. 코코아빈 허스크 분말은 0, 0.25, 0.5, 1, 1.5, 2%로 각각 달리 하였고, 상업적 항산화제 첨가물인 ascorbic acid 0.2%를 첨가하여 함께 제조하였다. 볼 커터로 emulsions을 형성시킨 후, 혼합물을 천연 돈장에 filling machine (EM-12, Mainca, Barcelona,

Spain)을 이용하여 충전하였다. 소시지를 80°C의 항온수조(10.10ESI/SK, Alto Shaam, Menomonee Falls, WI, USA)에서 30분간 가열하였다. 익힌 소시지를 10°C에서 30 분간 냉각시키고 냉장 저장 기간 동안 품질특성 변화를 측정하기 위하여 냉장 저장은 4°C에서 총 15일간 저장하면서 0, 5, 10, 15일 간격으로 변화를 살펴 보았다.

코코아빈 소시지의 항산화활성 측정을 위하여 소시지를 5g에 10배의 70% ethanol을 가하여 25°C shaking incubator에서 150 rpm으로 24시간 추출하여 여과하였다. 소시지 추출물에 실험에 적합한 용매를 10배 희석하여 시료액으로 사용하였다.

총 폴리페놀 함량 측정

추출물을 희석한 sample 0.15 mL에 증류수 2.4 mL과 0.25 N folin-ciocalteu 시약 0.15 mL을 첨가한 후 3분간 반응시켰다. 그리고 이 용액에 1 N Na₂CO₃ 0.3 mL을 가하여 2시간 동안 암소에서 방치한 후 725 nm에서 spectro-photometer (Libra S22, Biochrom, Nottingham, England)로 측정하였다. tannic acid를 사용하여 검량선을 작성한 후, 코코아빈 허스크 추출물의 총 폴리페놀 함량은 mg tannic acid equivalents/g (mg TAE/g), 소시지의 총 폴리페놀 함량은 소시지 mg TAE/100 g으로 표시하였다.

총 플라보노이드 함량 측정

90% Diethylenglycol 10 mL과 1 N NaOH 용액 1 mL을 추출물을 희석한 sample 1 mL에 가하여 충분히 vortex한 후 37°C 항온수조(10.10ESI/SK; Alto Shaam)에서 1시간 동안 반응시킨 후 420 nm에서 흡광도를 측정하였다. Quercetin을 사용하여 검량선을 작성한 후 코코아빈 허스크 추출물의 총 플라보노이드 함량은 mg quercetin acid equivalents/g (mg QAE/g), 소시지의 총 플라보노이드 함량은 mg QAE/100 g으로 표시하였다.

DPPH 라디칼 소거활성 측정

코코아빈 허스크 추출물과 소시지 추출물을 희석한 sample 1.5 mL에 4×10⁻⁴ M DPPH 솔루션 0.5 mL를 가하여 충분히 vortex한 후 암소에서 30분간 방치하였다. 이어서 517 nm에서 흡광도를 측

Table 1. Formulation of various sausages formulated with different amounts of cocoa bean husk powder

Ingredients	Treatment ¹⁾						
	CON	0.25	0.5	1	1.5	2	ASC
Main (%)	Meat	60	60	60	60	60	60
	Back Fat	20	20	20	20	20	20
	Ice	20	20	20	20	20	20
	Total	100	100	100	100	100	100
Additive (%)	Nitrite pickling salt.	1.2	1.2	1.2	1.2	1.2	1.2
	Sugar	1	1	1	1	1	1
	Mixed spice	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6
	Cocoa bean husk powder	-	0.25	0.5	1	1.5	2
	Ascorbic acid	-	-	-	-	-	-

¹⁾CON, pork sausages without CBH (cocoa bean husk powder)

0.25, pork sausages with added 0.25% CBH

0.5, pork sausages with added 0.5% CBH

1, pork sausages with added 1% CBH

1.5, pork sausages with added 1.5% CBH

2, pork sausages with added 2% CBH

ASC, pork sausages with added 0.2% ascorbic acid.

정하고 다음 식에 의하여 DPPH radical 소거활성을 계산하였다. 코코아빈 허스크 추출물의 라디칼 소거활성은 IC_{50} (Inhibitory concentration 50%)으로 나타냈다

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

ABTS⁺ 라디칼 소거활성 측정

2,2-Azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS⁺) radical에 대한 소거활성은 Siddhuraju와 Becker (2007)의 방법에 의거하여 측정하였다. 각각 증류수를 용매로 제조한 7.0 mM ABTS⁺ solution과 2.45 mM K₂O₈S₂ solution을 혼합하여 20시간 동안 암소에서 반응시켜 라디칼을 생성시켰다. 이 용액을 734 nm에서 흡광도 값이 0.700±0.02가 되도록 ethanol로 희석하였다. 희석한 용액 0.9 mL에 추출물을 희석한 sample 0.1 mL을 가한 후 30°C에서 1분 간격으로 6회 흡광도를 측정하여 평균값을 사용하였으며, 다음 식에 의하여 ABTS⁺ radical 소거활성을 계산하였다. 코코아빈 허스크 추출물의 라디칼 소거활성은 IC_{50} (Inhibitory concentration 50%)으로 나타냈다

$$\text{ABTS}^+ \text{ scavenging activity (\%)} \\ = [1 - (\text{sample absorbance} / \text{control absorbance})] \times 100$$

pH

소시지의 pH는 시료 5 g에 증류수 20 mL을 가하여 60초 동안 homogenizer (PT 2500 E, Mettler Toledo AG, Kusnacht, Switzerland)로 균질화 하였다. 균질액을 pH meter (Corning 340, Mettler Toledo AG)를 사용하여 1분 동안 측정하였으며, 5번 이상 반복 측정하였다. 코코아빈 허스크 분말의 pH는 시료 5 g에 45 mL 증류수를 가하고 교반한 여과액을 pH meter를 이용하여 소시지 pH와 동일한 방법으로 측정하였다.

색도

코코아빈 허스크 분말과 첨가 소시지 단면의 색도는 Hunter color reader (CR-400, Minolta, Osaka, Japan)를 이용하여 측정하였다. 측정결과는 L값, a값, 그리고 b값으로 나타냈으며, 백색표준 플레이트(lightness +94.65, redness -0.43, yellowness +4.12)를 기준으로 사용하였다.

지방산패도 측정(TBARS)

소시지 10 g을 2분간 homogenizer (AM-5, Nihonseiki kasha, Osaka, Japan)로 균질화시킨 후, TBA instrument에 담아서 증류수 47.5 mL과 HCl 2.5 mL을 가하였다. 3-4개 boiling stone과 소포제 1 mL를 첨가하여 distiller (MS-E102, MTOPS, Seoul, Korea)에서 10분 동안 증류하여 증류액을 수집하였다. 수집된 5 mL 증류액과 TBA reagent를 혼합하고 100°C 항온수조(JSWB-30T, JSR, Seoul, Korea)에서 35분간 가열하였다. 상온에서 10분 동안 냉각시킨 후 538 nm에서 spectro-photometer (Libra S22, Biochrom)으로 측정하였다. TBARS values는 측정된 흡광도(O.D)에 7.8의 계수를 곱하여 mg MDA/kg (mg malonaldehyde/kg meat)으로 나타냈다.

휘발성 염기질소 측정(VBN)

코코아빈 허스크 소시지의 휘발성 염기질소 함량(VBN, Volatile basic nitrogen)은 Gomes 등(2003)의 방법을 변형하여 측정하였다. 시료 10 g에 10배가 되게 7% trichloroacetic acid 용액을 가하여

균질화 하였다. 균질액 1 mL을 취하여 conway-unit에 넣고 0.01 N 염산으로 적정하여 휘발되는 염기질소의 양을 다음 식으로 계산하였다.

$$\text{VBN (mg}\% \text{)} = \{ (\text{sample titration} - \text{Blank titration}) \\ \times 0.01 \text{ N HCl factor} \times 0.14 \} / \text{sample weight} \times 20 \times 100$$

생균수

소시지 10 g에 멸균된 0.1% peptone water (Difco, Franklin Lake, NJ, USA)를 90 mL 가하고 stomacher bag에 담았다. 이를 normal speed에서 5분간 stomacher (HG300V, MAYO, Milano, Italy)를 이용하여 균질화 하였다. 균질액을 멸균된 0.1% peptone water로 연속 희석하였다. 각 샘플을 연속 희석한 후 1 mL의 액체 양을 aerobic count petrifilm (AC petrifilm, 3M Health Care, St. Paul, MN, USA)에 도포하였다. 도포된 petrifilm을 37°C에서 24-48시간 동안 배양하여 계수하였으며 생균수는 log CFU/g으로 나타내었다.

조직감(Texture profile analysis)

코코아빈 허스크 분말 첨가 소시지의 조직감은 round probe (75-mm diameter)가 장착된 Texture analyzer (TA-XT2, Stable Micro System Ltd., Haslemere, UK)로 측정하였다. 소시지를 중앙 부분에서 절단하여 지름 2.5 cm, 높이 2 cm로 측정하였다. 텍스처 분석조건은 test speed test speed 3.0 mm/s, post-test speed 5.0 mm/s, pre-test speed 5.0 mm/s, trigger force 5 g, test distance 7.0 mm으로 설정했으며, 10회 이상 측정하여 평균값으로 나타내었다.

관능검사

소시지의 관능검사는 숙명여자대학교 식품영양학과 대학원에 재학 중인 20명을 선정하였다. 검사 전에 관능검사에 대한 충분한 지식과 용어, 평가기준을 숙지한 후 평가에 응하도록 하였다. 관능검사는 제조 당일 0일차에 수행하였으며, 소시지 제조 후 실온에서 1시간 방랭하여 시료로 제공하였다. 시료번호는 난수표를 이용하여 3자리 숫자로 표시하였다. 모든 시료는 동시에 제공하였고, 기호도 평가항목은 외관(Appearance), 향미(Flavor), 질감(Texture), 다즙성(Juiciness), 전반적인 기호도(Overall acceptability)로 7점 척도법으로 평가하도록 하였으며, 매우 좋지 않다 1점, 매우 좋다 7점을 나타냈다. 관능평가에 대한 생명윤리심의위원회 승인(IRB)은 숙명여자대학교 생명윤리심의위원회에서 승인 받았다(승인번호, SMMU-1909-HR-076).

통계처리

통계 분석은 IBM SPSS Statistics ver. 25를 이용하여 평균과 표준편차로 나타내었으며, 각 실험군 간의 유의성 검증을 위하여 일원배치분산분석(One-way ANOVA)와 이원배치분산분석(two way ANOVA)을 실시하였다. 사후 검증으로 Tukey HSD (Honestly Significant Difference) test를 실시하여 5% 수준에서 각 실험군의 유의성을 검증하였다.

결과 및 고찰

코코아빈 허스크 추출물과 첨가 소시지의 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량

코코아빈 허스크 분말을 첨가한 소시지의 총 폴리페놀 함량과

플라보노이드 함량은 Fig. 1에 나타났다. Fig. 1에 별도로 제시하지는 않았지만 코코아빈 허스크 추출물(수율 6.2%)의 총 폴리페놀과 플라보노이드 함량은 각각 126.6 mg TAE/g와 80.19 mg QUE/g으로 측정되었다. 페놀화합물은 다양한 생리활성을 가진 식물의 2차 대사산물로 피토케미칼 중 가장 많은 양을 차지하고 있으며, 플라보노이드는 식물성 페놀화합물 중 하나로 높은 항산화활성을 가진다(Kim 등, 2021). 코코아빈 허스크는 플라보노이드 중 탄닌인 flavan-3-ol 단량체인 catechin과 epicatechin, flavan-3-ol 이량체인 procyanidin B 등을 다량 함유하고 있다고 보고되었다(Okiyama 등, 2018; Hernández-Hernández, 2019).

코코아빈 허스크 분말을 첨가하지 않은 CON 소시지의 총 페놀 함량은 25.20 mg TAE/100 g이었으며, 코코아빈 허스크 첨가군은 32.71-75.73 mg TAE/100 g으로 첨가량이 증가할수록 페놀함량도 증가하였다($p < 0.001$). 총 플라보노이드 함량은 CON 소시지가 20.73 mg QUE/100 g이었으며, 코코아빈 허스크 첨가량에 따라 23.89-50.44 mg QUE/100 g의 범위를 나타냈으며, 코코아빈 허스크 첨가량과 소시지의 플라보노이드 함량은 비례하여 증가하였다($p < 0.001$). Ribas-Agusti 등(2014)은 코코아닙 추출물을 첨가한 소시지가 catechin, procyanidin, quercetin 등의 페놀화합물들이 증가되었다고 보고하여 본 연구와 유사한 결과를 나타냈다. 폴리페놀과 플라보노이드는 항산화활성에 중요한 인자로 작용하므로(Joo와 Choi, 2016), 소시지에 코코아빈 허스크를 첨가하는 것은 소시지의 항산화활성을 향상시킨다고 생각된다.

코코아빈 허스크 추출물과 첨가 소시지의 DPPH 및 ABTS⁺ 라디칼 소거활성

코코아빈 허스크 분말 첨가 소시지의 DPPH 및 ABTS⁺ 라디칼 소거활성은 Fig. 2에 나타났다. Fig. 2에 제시하지는 않았지만 코코아빈 허스크 추출물의 DPPH 라디칼 소거활성의 IC₅₀은 44.28 µg/mL, ABTS⁺ 라디칼 소거활성의 IC₅₀은 112.26 µg/mL이었다. 코코아빈 허스크 분말을 첨가하지 않은 CON 소시지의 DPPH 및 ABTS⁺ 라디칼 소거활성은 각각 25.43%과 20.41% 인데 비해 코코아빈 허스크 첨가 소시지의 DPPH 및 ABTS⁺ 라디칼 소거활성은 각각 34.53-68.24%와 29.68-64.76%로 나타났으며, 첨가량에

따라 항산화활성이 높아졌다($p < 0.001$). 페놀화합물은 DPPH 및 ABTS⁺ 라디칼 소거활성과 높은 상관관계가 있으며, 이는 페놀성 화합물이 hydroxyl기를 갖는 방향족 고리가 phenoxyl radical을 형성함으로써 라디칼을 제거하기 때문이다(Kim 등, 2021). 따라서 코코아빈 허스크의 다량의 catechin, epicatechin, procyanidin 등이 이와 같은 항산화활성을 보였다고 생각된다(Okiyama 등, 2018). 또한 Tackahata 등(2001)은 procyanidin이 풍부한 대두추출물을 첨가한 육제품의 DPPH 소거활성이 대조군보다 높았다고 보고했으며, Ribas-Agusti 등(2014)는 코코아와 청포도 씨앗 추출물을 첨가한 발효소시지의 항산화활성도 대조군보다 높았다고 보고하여 본 연구와 유사하였다.

pH

4°C 냉장 저장 기간에 따른 코코아빈 허스크 분말 소시지의 pH 변화는 Table 2에 나타났다. 냉장기간이 경과하면서 모든 소시지의 pH가 서서히 증가하는 경향을 보였다($p < 0.05$). 이는 저장 기간 중 육류의 박테리아 작용과 단백질의 탈아미노반응(deamination)에 의한 암모니아, 아민 및 기타 염기성 물질 생성이 소시지를 알칼리화 시킨 것이라 판단된다(Nychas 등, 1998). 본 연구와 유사하게 Mancini 등(2015) 연구에서 저장 기간이 경과함에 따라 육제품의 pH가 증가하는 경향을 나타냈다. 반면 코코아빈 허스크 실험군들의 pH는 저장 기간 동안 코코아빈 허스크 분말 첨가량에 따라 감소하는 경향을 나타냈으며 ASC가 모든 저장 기간 중 가장 낮은 pH 값을 나타냈다($p < 0.05$). Mancini 등(2015)에 따르면 육제품의 pH는 원료육과 첨가물의 배합비율에 따라 차이가 있으며, 신선도, 보수력, 육색 조직감 등 품질 변화에 영향을 미친다고 하였다. 코코아빈 허스크 분말(pH 5.17)의 pH 값이 대조군 반죽과 소시지의 pH보다 더 낮기 때문에 냉장 저장 기간에도 소시지의 pH에 영향을 미친 것이라 생각된다.

색도

4°C 냉장 저장 기간에 따른 코코아빈 허스크 분말 소시지의 색도 변화는 Table 3에 나타났다. 저장 0일차에는 코코아빈 허스크 분말 첨가량에 따라 소시지의 L값과 b값은 감소하고 a값은 증가하였다. 이는 코코아빈 허스크 분말의 색도(lightness, 34.52;

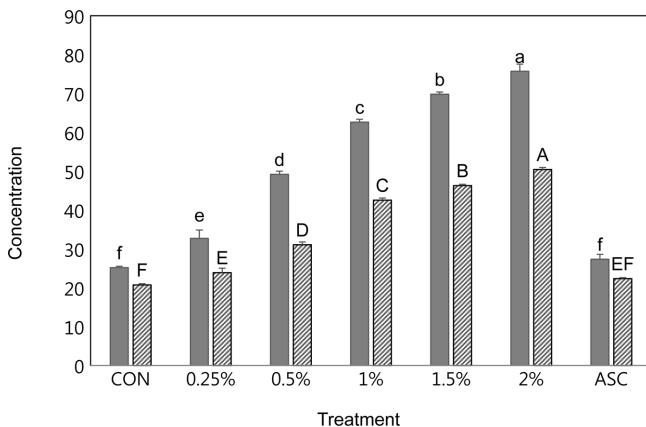


Fig. 1. Total polyphenol and total flavonoid contents of sausages formulated with different amounts of cocoa bean husk powder. Treatment: See the legend of Table 1. (^{a-d}): Mean in the total polyphenols contents with different letter are significantly different by Tukey HSD ($p < 0.001$). (^{A-F}): Mean in the total flavonoids contents with different letter are significantly different by Tukey HSD ($p < 0.001$).

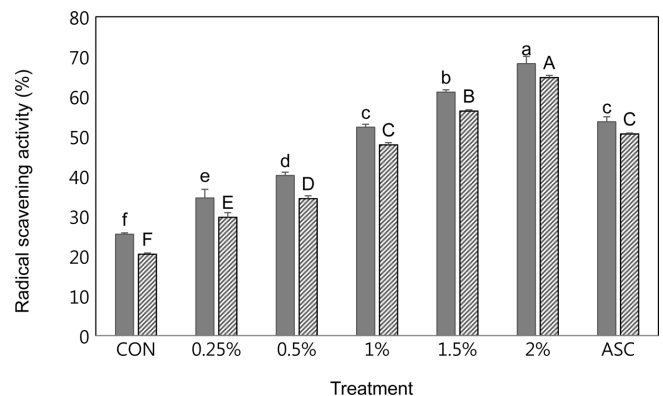


Fig. 2. DPPH and ABTS⁺ radical scavenging activity of sausages formulated with different amounts of cocoa bean husk powder. Treatment: See the legend of Table 1. (^{a-d}): Mean in the DPPH radical scavenging activity with different letter are significantly different by Tukey HSD ($p < 0.001$). (^{A-F}): Mean in the ABTS⁺ radical scavenging activity with different letter are significantly different by Tukey HSD ($p < 0.001$).

redness, 10.01; yellowness, 14.24)가 돈육 패티에 영향을 미친 것이라 사료된다. 한편, 냉장 저장 기간 경과함에 따라 모든 실험군의 색도는 L값과 b값은 증가한 반면에 a값은 감소하는 경향을 보였다($p<0.05$). 그러나 a값은 소시지의 코코아빈 허스크 분말 첨가량이 높을수록 감소의 폭이 적었는데, CON의 a값은 0일차에 3.25에서 15일차 2.68으로 감소했지만, 2% 소시지는 a값 5.15 (0일)에서 4.99 (15일)으로 감소하였다. 저장 15일차에는 ASC의 a값이 가장 높았으며, 그 다음으로 2% 소시지가 높았고 대조구가

가장 낮은 값을 나타냈다. Choi 등(2019)는 저장 기간에 따른 육질의 붉은 색이 감소하는 것은 Myoglobin의 산화로 생성된 갈색의 Metmyoglobin 때문이라고 보고했으며, Mitsumoto 등(2005)은 천연 항산화제와 ascorbic acid가 분쇄한 돼지고기 또는 분쇄한 소고기의 색소 산화를 효율적으로 지연시킨다고 보고하였다. 본 연구결과와 유사하게 Cuong과 Chin (2016)은 저장 기간이 경과함에 따라 잇꽃나무 씨앗분말과 ascorbic acid를 첨가한 돈육패티의 a값 변화가 대조구보다 적었다고 보고했으며, Schilling 등(2018)

Table 2. Changes in pH and values of sausages formulated with different amounts of cocoa bean husk powder during cold storage (4°C)

Treatment ¹⁾	Storage periods (days)				
	0 day	5 days	10 days	15 days	
pH	CON	6.09±0.04 ^{Ac}	6.09±0.03 ^{Abc}	6.13±0.01 ^{Ab}	6.22±0.02 ^{Aa}
	0.25%	6.09±0.01 ^{Ac}	6.10±0.01 ^{Abc}	6.11±0.02 ^{Ab}	6.20±0.04 ^{Aa}
	0.5%	6.07±0.02 ^{ABc}	6.08±0.02 ^{ABbc}	6.10±0.01 ^{ABb}	6.18±0.02 ^{ABa}
	1%	6.08±0.04 ^{ABc}	6.09±0.03 ^{ABbc}	6.09±0.03 ^{ABb}	6.16±0.03 ^{ABa}
	1.5%	6.05±0.05 ^{Bc}	6.08±0.03 ^{Bbc}	6.07±0.04 ^{Bb}	6.13±0.02 ^{Ba}
	2%	6.05±0.01 ^{Bc}	6.06±0.02 ^{Bbc}	6.07±0.02 ^{Bb}	6.15±0.03 ^{Ba}
	ASC	5.68±0.05 ^{Cc}	5.72±0.03 ^{Cbc}	5.71±0.04 ^{Cb}	5.80±0.04 ^{Ca}

¹⁾See the legend of Table 1.

^{A-C}Mean in the same line with different letter are significantly different by Tukey HSD ($p<0.05$).

^{a-c}Mean in the same row with different letter are significantly different by Tukey HSD ($p<0.05$).

Table 3. Changes in color of sausages formulated with different amounts of cocoa bean husk powder during cold storage (4°C)

Treatment ¹⁾	Storage periods (days)				
	0 day	5 days	10 days	15 days	
L*	CON	76.75±0.68 ^{Ad}	77.21±0.71 ^{Ac}	78.34±0.68 ^{Ab}	79.06±0.78 ^{Aa}
	0.25%	74.77±1.02 ^{Bd}	75.52±0.98 ^{Bc}	76.64±0.97 ^{Bb}	77.25±1.05 ^{Ba}
	0.5%	72.25±1.25 ^{Cd}	73.01±0.94 ^{Cc}	74.16±0.87 ^{Cb}	74.67±1.31 ^{Ca}
	1%	70.47±1.35 ^{Dd}	71.02±1.27 ^{Dc}	72.16±1.23 ^{Db}	72.89±1.34 ^{Da}
	1.5%	68.99±1.16 ^{Ed}	69.56±1.12 ^{Ec}	70.69±1.15 ^{Eb}	71.35±1.20 ^{Ea}
	2%	66.75±1.24 ^{Fd}	67.19±1.06 ^{Fc}	68.31±1.10 ^{Fb}	69.17±1.23 ^{Fa}
	ASC	76.11±3.67 ^{Ad}	76.65±0.56 ^{Ac}	77.74±0.56 ^{Ab}	78.42±0.66 ^{Aa}
a*	CON	3.25±0.16 ^{Ga}	2.96±0.13 ^{Gb}	2.69±0.37 ^{Gc}	2.68±0.59 ^{Gd}
	0.25%	3.43±0.19 ^{Fa}	3.12±0.20 ^{Fb}	2.82±0.14 ^{Fc}	2.93±0.45 ^{Fd}
	0.5%	3.73±0.33 ^{Ea}	3.44±0.31 ^{Eb}	3.01±0.29 ^{Ec}	3.29±0.41 ^{Ed}
	1%	4.07±0.19 ^{Da}	3.89±0.17 ^{Db}	3.57±0.17 ^{Dc}	3.72±0.33 ^{Dd}
	1.5%	4.67±0.26 ^{Ca}	4.62±0.18 ^{Cb}	4.41±0.16 ^{Cc}	4.47±0.29 ^{Cd}
	2%	5.15±0.34 ^{Ba}	5.05±0.35 ^{Bb}	4.92±0.34 ^{Bc}	4.99±0.35 ^{Bd}
	ASC	8.53±0.21 ^{Aa}	8.17±0.22 ^{Ab}	7.34±0.21 ^{Ac}	6.97±0.26 ^{Ad}
b*	CON	16.68±0.25 ^{Ab}	16.65±0.63 ^{Ab}	17.49±0.70 ^{Aa}	17.68±0.74 ^{Aa}
	0.25%	16.39±0.22 ^{ABb}	16.36±0.37 ^{ABb}	17.19±0.22 ^{ABa}	17.38±0.23 ^{ABa}
	0.5%	16.18±0.75 ^{Bb}	16.30±0.74 ^{Bb}	16.99±0.76 ^{Ba}	17.16±0.78 ^{Ba}
	1%	15.33±0.41 ^{Cb}	15.30±0.28 ^{Cb}	16.14±0.39 ^{Ca}	16.15±0.75 ^{Ca}
	1.5%	14.96±0.42 ^{Cb}	15.11±1.08 ^{Cb}	15.98±0.74 ^{Ca}	15.71±0.20 ^{Ca}
	2%	14.69±0.19 ^{Db}	14.69±0.49 ^{Db}	15.49±0.19 ^{Da}	15.13±0.44 ^{Da}
	ASC	14.15±0.40 ^{Eb}	13.82±0.40 ^{Eb}	14.96±0.41 ^{Ea}	16.50±1.02 ^{Ea}

¹⁾See the legend of Table 1.

^{a-c}Mean in the same row with different letter are significantly different by Tukey HSD ($p<0.05$).

^{A-G}Mean in the same line with different letter are significantly different by Tukey HSD ($p<0.05$).

Table 4. Changes in TBARS (mg MDA/kg), VBN (mg%) and total plate counts (log CFU/g) of sausages formulated with different amounts of cocoa bean husk powder during cold storage (4°C)

Treatment ¹⁾	Storage periods (days)			
	0 day	5 days	10 days	15 days
TBARS (mg MDA/kg)				
CON	0.80±0.01 ^{Ad}	1.15±0.06 ^{Ac}	2.71±0.05 ^{Ab}	2.98±0.01 ^{Aa}
0.25%	0.41±0.03 ^{Bd}	0.47±0.01 ^{Bc}	1.56±0.03 ^{Bb}	1.69±0.09 ^{Ba}
0.5%	0.34±0.03 ^{Cd}	0.38±0.03 ^{Cc}	0.53±0.01 ^{Cb}	0.91±0.06 ^{Ca}
1%	0.22±0.01 ^{Dd}	0.25±0.02 ^{Dc}	0.31±0.02 ^{Db}	0.34±0.02 ^{Da}
1.5%	0.20±0.01 ^{DEd}	0.22±0.01 ^{DEc}	0.28±0.02 ^{DEb}	0.35±0.01 ^{DEa}
2%	0.19±0.01 ^{Ed}	0.19±0.01 ^{Ec}	0.25±0.02 ^{Eb}	0.28±0.01 ^{Ea}
ASC	0.25±0.02 ^{Dd}	0.26±0.03 ^{Dc}	0.30±0.01 ^{Db}	0.32±0.01 ^{Da}
VBN (mg%)				
CON	3.81±0.01 ^{Ad}	4.46±0.06 ^{Ac}	6.31±0.23 ^{Ab}	6.85±0.17 ^{Aa}
0.25%	3.41±0.04 ^{Bd}	3.77±0.01 ^{Bc}	4.76±0.03 ^{Bb}	5.49±0.17 ^{Ba}
0.5%	3.34±0.03 ^{Cd}	3.48±0.03 ^{Cc}	4.03±0.02 ^{Cb}	4.71±0.06 ^{Ca}
1%	3.06±0.28 ^{Dd}	3.55±0.01 ^{Dc}	3.81±0.03 ^{Db}	4.14±0.02 ^{Da}
1.5%	3.21±0.03 ^{DEd}	3.52±0.01 ^{DEc}	3.68±0.02 ^{DEb}	4.15±0.01 ^{DEa}
2%	3.19±0.01 ^{DEd}	3.49±0.01 ^{DEc}	3.65±0.02 ^{DEb}	4.08±0.01 ^{DEa}
ASC	3.25±0.24 ^{Ed}	3.56±0.02 ^{Ec}	3.91±0.01 ^{Eb}	4.13±0.02 ^{Ea}
Total plate counts (log CFU/g)				
CON	3.17±0.11 ^{Ad}	4.00±0.17 ^{Ac}	4.19±0.09 ^{Ab}	5.45±0.21 ^{Aa}
0.25%	3.23±0.17 ^{Ad}	4.01±0.27 ^{Ac}	4.23±0.17 ^{Ab}	5.50±0.08 ^{Aa}
0.5%	3.25±0.21 ^{Ad}	3.99±0.34 ^{Ac}	4.24±0.21 ^{Ab}	5.43±0.15 ^{Aa}
1%	3.24±0.05 ^{Ad}	3.45±0.29 ^{Ac}	4.16±0.08 ^{Ab}	5.49±0.21 ^{Aa}
1.5%	3.23±0.14 ^{Ad}	4.10±0.24 ^{Ac}	4.29±0.13 ^{Ab}	5.44±0.09 ^{Aa}
2%	3.28±0.21 ^{Ad}	4.21±0.04 ^{Ac}	4.34±0.14 ^{Ab}	5.39±0.09 ^{Aa}
ASC	3.27±0.13 ^{Ad}	4.02±0.04 ^{Ac}	4.35±0.11 ^{Ab}	5.40±0.25 ^{Aa}

¹⁾See the legend of Table 1.

^{A-D}Mean in the same line with different letter are significantly different by Tukey HSD ($p < 0.05$).

^{a-d}Mean in the same row with different letter are significantly different by Tukey HSD ($p < 0.05$).

은 로즈마리 추출물과 녹차 추출물의 항산화 효과가 미오글로빈의 산화를 촉진하는 1차와 2차 지질 산화 생성물의 형성을 억제함으로써 소시지의 붉은색을 보존하였다고 하였다. 따라서 코코아빈 허스크가 가지고 있는 페놀화합물들이 소시지의 지질 산화를 억제하여 저장 기간 동안 소시지의 변색을 억제하였다고 판단된다.

지방산패도(TBARS) 변화

코코아빈 허스크 분말을 첨가한 소시지의 냉장(4°C) 저장 기간 동안 Thio-barbituric acid substances (TBARS) 측정 결과를 Table 4에 나타내었다. TBARS은 다가불포화지방산이 산화과정에서 생성되는 lipid hydroperoxides와 이것의 분해산물 중 하나인 malonaldehyde 함량을 반영한 것이다(Gomes 등, 2003). 저장 초기 0일차에 코코아빈 허스크 첨가 소시지의 TBARS 함량의 범위는 0.19-0.41 mg MDA/kg로 CON (0.80 mg MDA/kg) 소시지에 비해 낮았다. Min과 Ahn (2005)는 저장 초기에 육류의 분쇄 및 조리 과정에서 지질 산화가 촉진 될 수 있다고 보고하였는데, 본 연구의 CON 소시지의 TBARS가 높게 측정된 것은 제조 과정에서 지질 산화가 일어났음을 의미하며, 실험군 소시지에서는 코코

아빈 허스크 분말의 폴리페놀과 플라보노이드와 같은 항산화물질이 소시지의 지질산화를 억제했다고 판단된다.

본 실험에서 저장 기간이 경과함에 따라 TBARS 값이 증가하였는데($p < 0.05$), 이는 냉장 저장 기간 중에도 소시지의 지방이 자동 산화가 일어났음을 의미한다(Wenjiao 등, 2014). 모든 저장 기간에서 코코아빈 허스크 첨가량이 증가함에 따라 소시지의 TBARS 값이 유의적으로 낮았다($p < 0.05$). 저장 기간이 경과함에 따라 대조구 소시지의 TBARS 함량이 5일차에 1.15 mg MDA/kg에서 15일차 2.98 mg MDA/kg으로 매우 크게 증가했으나, 코코아빈 허스크 첨가 실험군들의 5일차 TBARS 값의 범위는 0.19-0.47 mg MDA/kg으로 유의미한 차이가 없었다. 10일차에 TBARS의 범위가 2.25-2.71 mg MDA/kg으로 증가하는 경향을 보였다($p < 0.05$). Ascorbic acid 상업적인 육제품의 지질산화방지를 위해 첨가물로 사용되고 있는데(Ribeiro 등, 2019), 냉장 저장 기간 동안 1% 소시지는 ASC 소시지의 TBARS 값이 유사했으며, 특히 1.5%와 2% 소시지는 15일차에도 가장 낮은 TBARS 값을 나타냈다($p < 0.05$).

코코아빈 허스크는 천연 항산화제인 다량의 페놀화합물, catechin, epicatechin, procyanidin를 함유하고 있다(Hernández-Hernández, 2019), Mitumoto 등(2005)은 녹차에서 추출한 catechin이 소고기

Table 5. Changes in Texture profile analysis of sausages formulated with different amounts of cocoa bean husk powder during cold storage (4°C)

Treatment ¹⁾	Storage periods (days)				
	0 day	5 days	10 days	15 days	
Hardness (kg)	CON	3.31±0.21 ^{Bc}	3.64±0.17 ^{Ab}	4.09±0.28 ^{Aab}	4.15±0.40 ^{Aa}
	0.25%	3.34±0.11 ^{Bc}	3.56±0.43 ^{ABb}	3.79±0.37 ^{ABab}	3.81±0.23 ^{ABa}
	0.5%	3.40±0.08 ^{ABc}	3.45±1.69 ^{ABb}	3.64±0.37 ^{Bab}	3.66±0.35 ^{Ba}
	1%	3.44±0.16 ^{ABc}	3.56±0.17 ^{ABb}	3.59±0.25 ^{Bab}	3.64±0.25 ^{Ba}
	1.5%	3.52±0.19 ^{ABc}	3.59±0.44 ^{Ab}	3.60±0.31 ^{Bab}	3.63±0.54 ^{Ba}
	2%	3.65±0.20 ^{Ac}	3.61±0.25 ^{Ab}	3.64±0.22 ^{Bab}	3.67±0.30 ^{Ba}
	ASC	3.44±0.24 ^{ABc}	3.49±0.15 ^{ABb}	3.56±0.26 ^{BCab}	3.65±0.16 ^{Ba}
Chewiness (kg)	CON	1.28±0.14 ^{BCa}	1.26±0.15 ^{ABa}	1.15±0.15 ^{ABb}	1.18±0.14 ^{BCb}
	0.25%	1.26±0.19 ^{BCa}	1.29±0.18 ^{ABa}	1.16±0.25 ^{ABb}	1.14±0.14 ^{BCb}
	0.5%	1.29±0.33 ^{BCa}	1.24±0.23 ^{ABab}	1.19±0.19 ^{ABb}	1.15±0.19 ^{BCc}
	1%	1.38±0.13 ^{ABa}	1.22±0.09 ^{ABb}	1.21±0.25 ^{ABb}	1.16±0.19 ^{BCc}
	1.5%	1.48±0.19 ^{ABa}	1.38±0.23 ^{Ab}	1.33±0.14 ^{Abc}	1.29±0.06 ^{ABc}
	2%	1.64±0.20 ^{Aa}	1.56±0.24 ^{Ab}	1.54±0.16 ^{Ab}	1.52±0.10 ^{Ab}
	ASC	1.10±0.14 ^{Ca}	1.09±0.13 ^{Ca}	0.99±0.16 ^{Cab}	1.00±0.49 ^{Cab}
Cohesiveness (ratio)	CON	0.47±0.04 ^{CDa}	0.48±0.05 ^{Ba}	0.47±0.04 ^{ABa}	0.42±0.08 ^{ABb}
	0.25%	0.48±0.04 ^{CDa}	0.47±0.03 ^{Ba}	0.45±0.06 ^{ABb}	0.43±0.04 ^{ABc}
	0.5%	0.49±0.02 ^{CDa}	0.45±0.08 ^{BCa}	0.46±0.09 ^{ABab}	0.46±0.05 ^{ABab}
	1%	0.52±0.03 ^{BCa}	0.52±0.07 ^{ABa}	0.49±0.05 ^{ABb}	0.47±0.08 ^{ABb}
	1.5%	0.55±0.03 ^{Ba}	0.54±0.09 ^{ABa}	0.52±0.09 ^{Ab}	0.50±0.01 ^{Ab}
	2%	0.60±0.02 ^{Aa}	0.56±0.05 ^{Ab}	0.55±0.08 ^{Ab}	0.54±0.03 ^{Ab}
	ASC	0.46±0.02 ^{Da}	0.41±0.05 ^{Cb}	0.39±0.07 ^{Cb}	0.40±0.01 ^{Cb}
Springiness (cm)	CON	0.73±0.02 ^{Ca}	0.72±0.03 ^{Ca}	0.73±0.03 ^{BCa}	0.74±0.03 ^{Ca}
	0.25%	0.74±0.02 ^{Ca}	0.71±0.01 ^{Cb}	0.74±0.03 ^{BCa}	0.73±0.01 ^{Cab}
	0.5%	0.75±0.01 ^{BCb}	0.76±0.03 ^{Bab}	0.77±0.03 ^{Ba}	0.73±0.01 ^{Cc}
	1%	0.75±0.02 ^{BCb}	0.77±0.01 ^{Ba}	0.74±0.03 ^{BCb}	0.75±0.01 ^{Cb}
	1.5%	0.78±0.03 ^{ABb}	0.79±0.02 ^{ABab}	0.80±0.02 ^{ABa}	0.77±0.05 ^{Bc}
	2%	0.79±0.02 ^{Ab}	0.80±0.05 ^{Aab}	0.81±0.05 ^{Aa}	0.80±0.03 ^{Ab}
	ASC	0.73±0.02 ^{Cc}	0.74±0.01 ^{Bb}	0.76±0.01 ^{Ba}	0.76±0.02 ^{Ba}
Gumminess (kg)	CON	1.55±0.27 ^{BCa}	1.57±0.15 ^{BCa}	1.32±0.29 ^{Cb}	1.27±0.46 ^{Cb}
	0.25%	1.59±0.26 ^{BCa}	1.45±0.29 ^{BCb}	1.39±0.30 ^{Cbc}	1.35±0.20 ^{Cc}
	0.5%	1.72±0.23 ^{BCa}	1.66±0.13 ^{ABab}	1.54±0.22 ^{BCb}	1.44±0.30 ^{BCc}
	1%	1.79±0.31 ^{ABa}	1.78±0.16 ^{ABa}	1.77±0.12 ^{Bab}	1.68±0.10 ^{ABb}
	1.5%	1.97±0.35 ^{ABa}	1.93±0.20 ^{Ab}	1.90±0.22 ^{Ac}	1.80±0.67 ^{Ad}
	2%	2.01±0.24 ^{Aa}	1.99±0.24 ^{Aa}	1.89±0.16 ^{Ab}	1.79±0.12 ^{Ab}
	ASC	1.34±0.14 ^{Ca}	1.32±0.13 ^{Ca}	1.29±0.11 ^{Cb}	1.33±0.08 ^{Ca}

¹⁾See the legend of Table 1.^{A-D}Mean in the same line with different letter are significantly different by Tukey HSD ($p<0.05$).^{a-d}Mean in the same row with different letter are significantly different by Tukey HSD ($p<0.05$).

패티와 닭고기패티의 지질산화 억제효과를 나타냈다고 보고했으며, Tackahata 등(2001)은 procyanidin을 함유한 대두추출물이 육제품의 MDA 생성을 지연하였다고 보고했으며 보고하였다. 따라서 이러한 결과는 코코아빈 허스크의 항산화제인 페놀화합물과 플라보노이드가 냉장 저장 중 일어나는 소시지의 지질산화를 효과적으로 억제하였다고 생각한다.

휘발성 염기질소(VBN) 변화

휘발성 염기질소(VBN, Volatile Basic Nitrogen)법은 단백질의 변패 정도를 측정하는 방법으로, 코코아빈 허스크 소시지의 냉장 저장 기간에 따른 VBN 변화는 Table 4에 제시하였다. 저장 기간 동안 CON 소시지의 VBN 함량은 3.81-6.86 범위로 가장 높은 값을 나타냈으며, 코코아빈 허스크 분말 첨가량이 증가할수록 VBN

Table 6. Sensory quality of cooked sausages formulated with different amounts of cocoa bean husk powder (N=20, 0 day)

	Treatment ¹⁾						
	CON	0.25%	0.5%	1%	1.5%	2%	ASC
Appearance	5.21±1.32 ^{ab}	4.10±1.62 ^{bc}	4.42±1.71 ^{bc}	5.42±1.53 ^a	4.72±1.82 ^{abc}	4.02±1.90 ^{bc}	3.71±2.04 ^c
Flavor	3.43±1.53 ^c	4.58±0.79 ^{ab}	5.02±1.62 ^a	5.14±1.23 ^a	5.12±1.43 ^a	5.42±0.93 ^a	3.79±2.02 ^{bc}
Taste	4.14±2.09 ^{ab}	3.63±1.32 ^{bc}	5.34±1.33 ^a	5.14±1.39 ^a	3.76±2.08 ^{bc}	2.88±1.24 ^c	3.29±1.93 ^{bc}
Texture	5.22±1.64 ^{abc}	5.64±0.83 ^{ab}	5.16±1.44 ^{bc}	6.10±0.92 ^a	4.62±1.51 ^{bcd}	4.27±3.82 ^{cd}	3.82±1.63 ^d
Juiciness	4.73±1.42 ^{bc}	5.36±1.02 ^b	5.34±1.50 ^b	5.61±1.12 ^a	3.74±1.71 ^c	3.91±1.91 ^c	3.74±1.91 ^c
Overall acceptability	4.04±2.10 ^{bc}	4.92±0.97 ^{ab}	5.29±1.02 ^a	5.51±0.94 ^a	4.43±2.12 ^{abc}	3.63±1.42 ^c	3.52±2.24 ^c

¹⁾See the legend of Table 1.

^{a-d}Mean in the same row with different letter are significantly different by Tukey HSD ($p < 0.05$).

함량은 낮아지는 경향을 보였다($p < 0.05$). 특히 코코아빈 허스크 분말을 1% 이상 첨가한 소시지의 VBN 함량은 저장 기간 동안 ASC보다 유의적으로 낮은 값을 보여, 본 연구의 TBARS 결과와 유사하였다. 저장 기간이 경과함에 따라 VBN 함량이 증가하는 것은 단백질 체인 일부가 절단되면서 아미노산, 아민, 암모니아, 핵산, 크레아틴 등 비단백체 질소화합물이 증가하기 때문인데, 이는 육류 및 육제품의 독특한 맛과 향을 내지만 동시에 이취를 발생시킨다(Gomes 등, 2003). 실험군의 VBN이 대조군과 비교하여 감소한 것 역시 TBARS 결과와 마찬가지로, 코코아빈 허스크의 페놀화합물 때문이라고 생각되며, catechin을 많이 함유하고 있는 빵잎과 감잎 분말을 첨가한 첨가한 소시지 연구(Lee 등, 2003)와 솔잎과 녹차추출물을 이용한 소시지 연구(Kim 등, 2002)에서도 본 연구와 유사한 결과를 보였다.

생균수

코코아빈 허스크 소시지는 냉장 저장 기간이 경과함에 따라 모든 균의 총균수가 증가하였으나($p < 0.05$), 코코아빈 허스크 분말 첨가량에 따른 소시지의 총균수는 유의적인 차이가 없었다(Table 4). 저장 0일차에 대조군과 실험군 모두 유의적인 차이는 없었으며, 총균수는 3.17-3.28 log CFU/g 범위의 총균수를 나타내어 양호한 미생물 값을 나타냈다. 저장 5일차에는 3.45-4.21 log CFU/g, 저장 10일과 15일차에는 각각 4.19-4.35 log CFU/g과 5.39-5.49 log CFU/g 범위를 나타내었으며 실험군 간에 유의적인 차이가 없었다.

코코아의 항균성에 관한 선행연구에서 코코아는 충치를 유발하는 *Streptococcus mutans*와 암을 유발하는 균인 *S. sanguinis* 및 *Helicobacter pylori* 에 항균작용을 하는 것으로 보고했다(Percival 등, 2006). Tsai 등(2019)은 코코아파우더가 보관되는 수분활성도에 따라 *Listeria monocytogenes*에 대한 저항성을 확인할 수 있다고 보고 했으나, 적은 양의 코코아 분말이나 낮은 농도 추출물의 *Listeria monocytogenes* 저항성은 확인할 수 없었다. Takahashi 등(1999)은 8% 코코아 추출물에서 enterohemorrhagic *Escherichia coli*의 항균성을 확인하였다고 보고하였다. 따라서 코코아빈 허스크 분말이 소시지에 항균성을 발휘하기엔 첨가량이 부족하였다고 판단되며, 2% 이하의 코코아 허스크분말 첨가는 소시지의 생균수에 영향을 미치지 못하는 것으로 사료된다.

조직감

코코아빈 소시지의 냉장 저장 기간에 따른 조직감의 변화는 Table 5에 나타났다. 저장 기간이 경과함에 따라 모든 실험군의 hardness는 증가하는 경향을 나타냈으나, 코코아빈 허스크 실험군

들과 ASC의 hardness의 증가는 대조군과 비교할 때 변화의 폭이 적었다($p < 0.05$). 특히, CON의 hardness 값이 0일차에 3.31 kg/cm²에서 15일차 4.15 kg/cm²로 크게 증가한 반면에 2% 소시지는 hardness가 1일차 3.65 kg/cm²에서 15일차 3.67 kg/cm²로 소폭 상승하였다. Mitsumoto 등(2005)은 육제품에서 단백질과 지질이 산화되면서 유화안정성과 근육막이 손실되면서 근육 섬유의 수분 손실로 조직감이 변화한다고 보고 하였는데, 항산화제를 육류 제품에 적용하면 단백질과 지질산화로부터 근육막을 보호하여 조직감 변화를 억제할 수 있다고 하였다. Zhang 등(2013) 연구에서 세이지를 첨가한 소시지의 hardness가 냉장 저장 기간에 따라 증가하였으나, hardness 변화량이 대조군 소시지와 비교할 때 클로브 추출물 첨가량이 증가할수록 적었다. 또한 냉장 저장 중 클로브 추출물을 함유한 소시지 연구(Zhang 등, 2017)에서도 hardness, chewiness, gumminess의 변화가 본 실험결과와 유사하였다. 따라서 코코아빈 허스크의 항산화활성이 냉장 저장 중 소시지의 지질산화와 단백질산화를 억제함으로써 hardness가 증가하는 것을 저하시킨다고 생각된다.

관능검사

코코아빈 허스크 소시지의 제조 당일 0일차에 수행한 관능적 특성은 Table 6에 나타냈으며, 모든 관능적 특성 항목에서 차이가 나타났다($p < 0.05$). 외관(appearance)의 기호도는 1% 소시지가 5.42로 가장 높았으며, 향미(flavor)의 기호도는 2% 소시지가 5.42로 가장 높았으며 코코아빈 허스크 첨가량이 증가할수록 향미기호도는 증가하였다($p < 0.05$). 맛(taste)의 기호도는 0.5% (5.34)와 1% (5.14) 소시지가 가장 높았다. 조직감과 다즙성의 기호도는 1% 소시지가 각각 6.10과 5.61으로 가장 높았으며, 코코아빈 허스크 1.5% 이상 첨가 시 조직감과 다즙성의 기호도는 낮아졌다. 전반적인 기호도는 0.5%와 1% 소시지가 가장 높은 점수를 나타냈다. 코코아의 로스팅과정에서 amino-carbonyl 반응으로 생성되는 melanoidin은 특유의 코코아의 풍미를 형성하여 코코아의 색, 맛, 풍미를 향상시킨다(Oliviero 등, 2009). 코코아빈 허스크가 가지고 있는 특유의 색과 향미가 소시지의 품질특성을 향상시켰으며, 코코아빈 허스크 분말을 0.5-1% 첨가하는 것은 소시지의 관능적 품질특성에 긍정적인 영향을 미치는 것으로 생각된다.

요 약

본 연구는 코코아빈 가공과정에서 발생하는 부산물(by-product)인 코코아빈 허스크의 기능성식품소재로써 가능성과, 소시지의 냉장보관 중 저장성에 미치는 영향을 살펴보고자 하였다. 코코아

빈 허스크 분말 추출물의 항산화활성을 알아보고, 코코아빈 허스크 분말을 첨가한 소시지(0, 0.25, 0.5, 1, 1.5, 2%, ascorbic acid 0.2%)를 제조하여 15일간(0, 5, 10, 15 일) 품질특성 변화를 살펴 보았다. 카카오빈 허스크 분말 추출물의 총 폴리페놀과 총 플라보노이드 함량은 126.6 mg TAE/g와 80.19 mg QUE/g으로 측정되었으며, DPPH 라디칼 소거활성 IC_{50} 은 44.28 $\mu\text{g/mL}$, ABTS⁺ 라디칼 소거활성 IC_{50} 은 112.26 $\mu\text{g/mL}$ 으로 높은 항산화활성을 확인했다. 소시지의 총 폴리페놀 함량, 총 플라보노이드 함량, DPPH 및 ABTS⁺ 라디칼 소거활성은 코코아빈 허스크 첨가량에 따라 높아졌다($p < 0.001$). 저장 기간 동안 코코아빈 허스크 분말 첨가량이 증가할수록 pH 상승, redness 변색, 지질산화, 단백질변패, 조직감 변화 등과 같은 품질저하에 대한 억제효과를 나타냈다($p < 0.05$). 특히 1% 소시지는 ascorbic acid 소시지와 유사한 지방산패(TBARS) 및 단백질변패(VBN)를 억제하는 것으로 나타났다. 그러나, 생균수 측정에서는 실험군 간 유의적인 차이가 없었다. 관능적 특성에서는 향미기호도와 전반적인 기호도를 증가시켜 0.5%와 1% 첨가 소시지가 가장 높은 점수를 받았다. 결론적으로 코코아빈 허스크를 소시지에 1% 첨가할 경우 페놀화합물 함량, 항산화활성, 지질산화 및 단백질 변패 억제 효과를 향상시킴으로써 소시지의 가치를 높일 수 있으며, 코코아빈 허스크는 기능성식품 소재로써 이용 가능성이 높다고 생각된다.

References

- Choi JH, Kim NM, Kim GW, Choi HY. Effect of cocoa nip extracts on quality characteristics of pork patties during cold storage period. *Food Sci. Anim. Resour.* 39: 918-933 (2019)
- Cuong TV, Chin KB. Effects of Annatto (*Bixa orellana* L.) Seeds powder on physicochemical properties, antioxidant and antimicrobial activities of pork patties during refrigerated storage. *Food Sci. Anim. Resour.* 36: 476-486 (2016)
- Djoussé L, Hopkins PN, North KE, Pankow JS, Arnett DK, Ellison RC. Chocolate consumption is inversely associated with prevalent coronary heart disease: The national heart, lung, and blood institute family heart study. *Clin. Nutr.* 30: 182-187 (2011)
- Gomes HA, Da Silva EN, Do Nascimento MRL, Fukuma HT. Evaluation of the 2-thiobarbituric acid method for the measurement of lipid oxidation in mechanically deboned gamma irradiated chicken meat. *Food Chem.* 80: 433-437 (2003)
- Hernández-Hernández C, Morales-Sillero A, Fernández-Bolaños J, Bermúdez-Oria A, Azpeitia Morales A, Rodríguez-Gutiérrez G. Cocoa bean husk industrial source of antioxidant phenolic extract. *J. Sci. Food Agr.* 99: 325-333 (2019)
- Hu SJ, Kim BY, Baik MY. Physicochemical properties and antioxidant capacity of raw, roasted and puffed cocoa beans. *Food Chem.* 194:1089-1094 (2016)
- Joo SY, Choi HY. Effects of chestnut inner shell powder on antioxidant activities and quality characteristics of pork patties. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 43: 698-704 (2014)
- Kim NM, Choi JH, Choi HY. Antioxidant activity and quality characteristics of cookies prepared with cacao bean husk powder. *J. Korean Soc. Food. Sci. Nutr.* 50: 45-53 (2021)
- Kim SM, Cho YS, Sung SK, Lee IG, Lee SH, Kim DG. Developments of functional sausage using plant extracts from pine needle and green tea. *Food Sci. Anim. Resour.* 22: 20-29 (2002)
- Kim CS, Kim HY. Physicochemical properties of emulsion-type sausage added red yeast rice powder. *Korean J. Food Sci. Technol.* 49: 369-400 (2017)
- Kim KH, Lee KW, Kim DY, Park HH, Kwon IB, Lee HJ. Extraction and fractionation of glucosyltransferase inhibitors from cocoa bean husk. *Process Biochem.* 39: 2043-2046 (2004)
- Lee JR, Jung JD, Lee JI, Song YM, Jin SK, Kim IS, Kim HY, Lee JH. The effects of emulsion type sausages containing mulberry leaf and persimmon leaf powder on lipid oxidation, nitrate, VBN and fatty acid composition. *Food Sci. Anim. Resour.* 23: 1-8 (2003)
- Mancini S, Preziuso G, Dal Bosco A, Roscini V, Szendrő Z, Fratini F, Paci G. Effect of turmeric powder (*Curcuma longa* L.) and ascorbic acid on physical characteristics and oxidative status of fresh and stored rabbit burgers. *Meat Sci.* 110: 93-100 (2015)
- Min B, Ahn DU. Mechanism of lipid peroxidation in meat and meat product-A review. *Food Sci. Biotechnol.* 14: 152-163 (2005)
- Mitsumoto M, O'Grady MN, Kerry JP, Buckley DJ. Addition of tea catechins and vitamin C on sensory evaluation, colour and lipid stability during chilled storage in cooked or raw beef and chicken patties. *Meat Sci.* 69: 773-779 (2005)
- Nychas GJE, Drosinos EH, Board RG. The microbiology of meat and poultry. 1st ed. Blackie Academic and Professional, London, UK. pp. 288-326 (1998)
- Okiyama DCG, Soares ID, Cuevas MS, Crevelin EJ, Moraes LAB, Melo MP, Oliveira AL, Rodrigues CEC. Pressurized liquid extraction of flavanols and alkaloids from cocoa bean shell using ethanol as solvent. *Food Res. Int.* 114: 20-29 (2018)
- Oliviero T, Capuano E, Cammerer B, Fogliano V. Influence of roasting on the antioxidant activity and hmf formation of a cocoa bean model systems. *J. Agr. Food Chem.* 57: 142-152 (2009)
- Percival RS, Devine DA, Duggal MS, Chartron S, Marsh PD. The effect of cocoa polyphenols on the growth, metabolism, and biofilm formation by *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sanguinis*. *Eur. J. Oral Sci.* 114: 343-348 (2006)
- Ribas-Agustí A, Gratacós-Cuvarsi M, Sárraga C, Guàrdia MD, García-Regueiro JA, Castellari M. Stability of phenolic compounds in dry fermented sausages added with cocoa and grape seed extracts. *LWT-Food Sci. Technol.* 57: 329-336 (2014)
- Ribeiro JS, Santos MJMC, Silva LKR, Pereira LCL, Santos IA, da Silva Lannes SC, da Silva MV. Natural antioxidants used in meat products: A brief review. *Meat Sci.* 148: 181-188 (2019)
- Schilling MW, Pham AJ, Williams JB, Xiong YL, Dhowlaghar N, Tolentino AC, Kin S. Changes in the physicochemical, microbial, and sensory characteristics of fresh pork sausage containing rosemary and green tea extracts during retail display. *Meat Sci.* 143: 199-209 (2018)
- Siddhuraju P, Becker K. The antioxidant and free radical scavenging activities of processed cowpea seed extracts. *Food Chem.* 101: 10-19 (2007)
- Takahata Y, Ohnishi-kameyama M, Furuta S, Takahashi M, Suda I. Highly polymerized procyanidins in brown soybean seed coat with a high radical-scavenging activity. *J. Agr. Food Chem.* 49: 5843-5847 (2001)
- Takahashi T, Taguchi H, Yamaguchi H, Osaki T, Sato S, Kamei M, Hashizume S, Kamiya S. Antibacterial effects of cocoa mass on enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157: H7. *Jpn. J. Assoc. Infect. Dis.* 73: 694-701 (1999)
- Tsai HC, Taylor MH, Song X, Sheng L, Tang J, Zhu MJ. Thermal resistance of *Listeria monocytogenes* in natural unsweetened cocoa powder under different water activity. *Food Control.* 102: 22-28 (2019)
- Wenjiao F, Yongkui Z, Yunchuan C, Junxiu S, Yuwen Y. TBARS predictive models of pork sausages stored at different temperatures. *Meat Sci.* 96: 1-4 (2014)
- Zhang L, Lin YH, Leng XJ, Huang M, Zhou GH. Effect of sage (*Salvia officinalis*) on the oxidative stability of Chinese-style sausage during refrigerated storage. *Meat Sci.* 95:145-50 (2013)
- Zhang H, Peng X, Li X, Wu J, Guo Z. The application of clove extract protects chinese style sausages against oxidation and quality deterioration. *Food Sci. Anim. Resour.* 37: 114-122 (2017)