

로즈마리 분말의 항산화 활성 평가와 냉장 저장 중 돈육 패티에 이용

남유진 · 진구복

전남대학교 동물자원학부

Evaluation of the Antioxidant Activity of Rosemary Powder and Its Application to Pork Patties as an Antioxidant during Refrigerated Storage

Yu Jin Nam and Koo Bok Chin

Department of Animal Science, Chonnam National University

ABSTRACT This study was performed to assess the antioxidant activity of rosemary powders (RP) and powders of a 50% ethanol rosemary extract (REP) of particle size of $<500\ \mu\text{m}$. In addition, we evaluated the physicochemical properties and antioxidant activities of pork patties containing RP or REP. RP and REP had DPPH radical scavenging activities similar to ascorbic acid. The reducing power of REP was similar to that of ascorbic acid and greater than that of RP ($P<0.05$). Iron chelating abilities didn't differ at concentrations higher than 0.5% in the treatment groups, however the total phenolic compound content of REP was higher than that of RP ($P<0.05$). The additions of RP or REP into pork patties reduced lightness (L^*) and redness (a^*) values but increased yellowness (b^*). TBARS and VBN values of pork patties containing RP or REP were lower than those of non-added controls ($P<0.05$). However, additions of RP or REP did not affect microbial counts during storage ($P>0.05$). This study shows rosemary powder could be used as a natural antioxidant to retard lipid oxidation in meat products during refrigerated storage and that the powder prepared by the ethanol extract has a more potent antioxidant activity than the regular powder.

Key words: rosemary powder, pork patty, lipid oxidation, physicochemical properties, antioxidant activity

서 론

경제가 발전함에 따라 먹거리 선택에 있어 소비자들은 건강을 고려하는 현명한 소비를 지향하고 있다(Kim과 Chin, 2018). 육류 및 육제품은 높은 수분 함량과 함께 고품질 영양소의 풍부한 공급원으로써 지질 과산화 및 미생물 성장으로 인한 부패에 취약하다(Kumar 등, 2018). 특히 패티와 같은 육류 제품에서는 고기 분쇄 과정에서 인지질이 산소에 노출되어 막이 파열되어 산화성 산패가 가속되기 때문에 지질 산화가 증가할 수 있다(Bellucci 등, 2022). 식품의 지질 산화는 변색, 이취, 향미, 조직감 변화 등 품질 저하의 주요 원인 중 하나이다(Jia 등, 2012). 이러한 지질 산화 생성물은 식품의 품질 저하뿐만 아니라 인체 내에서 독성 작용을 한다고 알려져 항산화제는 필수적으로 첨가되고 있다(Yagi, 1987). 식품에서 합성 항산화제로 butylated hydroxy anisole(BHA), butylated hydroxytoluene(BHT), tertiary butylhydroquinone, 또한 propyl gallate가 주로 이용되고

있지만, 이에 대한 발암성, 세포 독성, 산화 스트레스 유발 및 내분비 교란 효과 등 합성 항산화제의 위험성에 관한 연구 결과가 보고되면서(Xu 등, 2021) 이를 대체하기 위해 천연 항산화제 개발에 관한 연구가 활발히 수행되고 있다. Passos 등(2022)은 치킨 패티에 녹차 추출물을 첨가하여 저장 기간 중 페놀성 화합물 및 플라보노이드에 의한 지질 산화의 지연을 확인하였고 닭고기 패티에서 녹차 추출물의 생물 방부제의 대안 가능성을 보고하였으며, Naveena 등(2008)은 닭고기 패티의 석류 껍질 분말의 첨가가 비타민 C보다 지질 산화 억제에 효과적이라고 보고하였다.

허브류 중 하나인 로즈마리(*Rosmarinus officinalis* L.)는 꿀꿀과에 속하는 지중해 기원의 식물로, 향신료와 약용으로 오랫동안 식품에 다양하게 이용되고 있다(Borrás-Linares 등, 2014). 로즈마리는 carnosic acid, carnosol, abietanes diterpenes, rosmarinic acid, hydroxycinnamic acid ester 등 여러 항산화 성분의 풍부한 공급원이다(Almela 등, 2006). Inatani 등(1983)은 로즈마리 핵산 추출물에서 얻은

Received 4 December 2023; Revised 23 January 2024; Accepted 2 February 2024

Corresponding author: Koo Bok Chin, Department of Animal Bioindustry, Chonnam National University, 77, Yongbong-ro, Buk-gu, Gwangju 61186, Korea, E-mail: kbchin@chonnam.ac.kr

© 2024 The Korean Society of Food Science and Nutrition.

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

화합물 중 rosmanol이 BHA, BHT 등 합성 항산화제보다 약 4배 더 높은 항산화 활성을 보였다고 보고하였고, Madsen 등(1996)은 로즈마리를 첨가한 미트볼에서 지방산패도를 측정하는 값인 thiobabitoric acid reactive substance (TBARS)의 값이 28% 감소하였다는 연구 결과를 보고하였다. 로즈마리의 항산화력을 갖는 페놀 화합물을 최적으로 추출하기 위해 추출 효율은 사용된 페놀원과 추출 용매에 따라 달라진다(Jia 등, 2012). 추출 효율 및 생리활성 효과를 증가시키기 위해 화합물의 용해도를 고려하여 용매를 선정해야 하며, 시료에 함유된 물질의 용해도는 용질과 용매의 극성에 의해 결정된다(Li 등, 2019). 극성 용매는 식물의 매트릭스에서 폴리페놀을 회수하는 데 자주 사용되며, 물과 유기용매를 함께 사용하면 물 또는 유기용매에 용해되는 화학 물질의 추출이 용이해진다(Shah 등, 2014). 일반적으로 천연물의 추출 용매로 물과 알코올의 혼합물이 다양한 극성의 조절이 가능하기 때문에 가장 좋은 것으로 보고되고 있다(Li 등, 2019). Lee 등(2013)은 로즈마리의 항산화력에 따른 최적의 추출조건을 조사한 결과, 에탄올의 경우 50% 에탄올에 의해 70°C에서 10분 추출한 경우가 다른 에탄올 농도보다 높은 항산화력과 총 페놀 함량을 보였다고 보고하였다. 따라서 로즈마리의 항산화 물질을 추출하기 위한 용매로 로즈마리 페놀 화합물의 극성 특성과 식품 산업에서 수용 가능성에 따라 에탄올과 물의 혼합물이 선택되었다. 이러한 항산화력을 갖는 로즈마리는 냉장 저장 중 돈육 패티의 산화 안전성을 향상시키기 위한 육제품의 합성 화합물에 대한 대안이 될 수 있다. 따라서 본 연구는 냉장 저장 중 육제품의 품질을 향상시키고 유통기한을 연장하기 위한 첨가제로서 분말화한 로즈마리와 물과 에탄올 혼합액(50%)으로 추출한 로즈마리 분말의 항산화 활성을 비교 및 평가하고, 이를 돈육 패티에 적용하여 냉장 저장 중 돈육 패티의 이화학적 성상 및 미생물의 변화를 평가하기 위해 수행하였다.

재료 및 방법

실험 재료

본 연구에 사용된 로즈마리는 (주)신영에프에스에서 구매하여 완전히 건조된 것을 사용하였다. 로즈마리는 분쇄기(HMF-3260S, 한일전기주식회사)를 이용하여 30초 동안 분쇄 후 얻은 분말을 500 µm 체에 걸러 사용하였다. 용매 추출은 분쇄된 로즈마리 분말을 50% 에탄올(v/v)로 24시간 추출한 후 여과지(Whatman #41, GE Healthcare)를 이용해 여과하였다. 이후 진공 회전 농축기(VE-11, Jeio Tech)로 60°C에서 약 24시간 동안 농축시킨 후 -50°C, 7 mm Torr에서 동결건조하여 얻은 분말은 실험에 이용하기 전까지 -70°C에서 보관하였다.

로즈마리 항산화 활성 측정

총 페놀성 화합물: 로즈마리 분말의 항산화 활성을 측정

하기 위해 총 페놀성 화합물 함량은 Lin과 Tang(2007)의 방법에 따라 측정하였다. 로즈마리 분말과 로즈마리 50% 에탄올 추출 분말을 증류수에 1% 농도로 희석한 시료 용액 0.1 mL와 증류수 2.8 mL를 혼합하고 2% Na₂CO₃ 2 mL와 50% Folin-Ciocalteu phenol reagent 0.1 mL를 첨가하여 상온에서 30분간 방치한 후 750 nm에서 흡광도를 측정하였다. 그 결과를 gallic acid를 기준으로 작성한 standard curve에 대입하여 각 처리구의 총 페놀성 화합물 함량을 계산하였다.

1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH) 라디칼 소거능: DPPH 라디칼 소거능 실험은 Huang 등(2006)의 방법에 따라 측정하였다. 메탄올에 일정한 농도(0.1, 0.25, 0.5, 1.0%)로 희석한 시료 1 mL와 0.2 mM DPPH 용액 0.25 mL를 혼합한 후 상온에서 30분 동안 암실 보관한 후 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조구로 ascorbic acid를 이용하여 시료와 동일한 방법으로 측정하였다.

$$\text{DPPH radical scavenging activity (\%)} = \left(1 - \frac{A}{B}\right) \times 100$$

A: 시료 첨가 시의 흡광도, B: 시료 무첨가 시의 흡광도

철이온 흡착력: 로즈마리 분말의 철이온 흡착력은 Le 등(2007)의 방법에 따라 측정하였다. 증류수에 일정한 농도(0.1, 0.25, 0.5, 1.0%)로 희석한 시료 0.5 mL와 0.6 mM FeCl₂ 0.1 mL, 메탄올 0.9 mL를 혼합한 후 상온에서 5분 동안 반응시켰다. 5 mM ferrozine 0.1 mL를 넣은 후 10분 동안 상온에서 반응시킨 후 562 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조구는 ethylenediaminetetraacetic acid(EDTA)를 이용하여 시료와 동일한 조건으로 측정하였다.

$$\text{Iron chelating ability (\%)} = \left(1 - \frac{A}{B}\right) \times 100$$

A: 시료 첨가 시의 흡광도, B: 시료 무첨가 시의 흡광도

환원력: 환원력은 Huang 등(2006)의 방법에 따라 측정하였다. 로즈마리 분말과 로즈마리 50% 에탄올 추출 분말을 증류수에 농도별(0.1, 0.25, 0.5, 1.0%)로 희석한 시료 2.5 mL와 200 mM sodium phosphate buffer(pH 6.6) 2.5 mL, potassium ferricyanide(10 mg/mL) 2.5 mL를 혼합한 후 50°C 오븐에서 20분 동안 배양하였다. 배양 후 trichloroacetic acid(TCA, 100 mg/mL) 시약 2.5 mL를 넣고 737×g에서 10분간 원심분리(VS-5000N, 비전과학)하였다. Test tube에 원심분리한 시료 2.5 mL와 증류수 2.5 mL, ferric chloride(1 mg/mL)를 넣어 혼합한 후 상온에서 10분간 반응시킨 후 700 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조구는 ascorbic acid를 이용하여 시료와 동일한 방법으로 측정하였다.

로즈마리 분말을 첨가한 돈육 패티의 이화학적 성상 및 미생물 변화

로즈마리를 첨가한 돈육 패티 제조를 위해 광주 소재 식육

Table 1. The formulation of pork patties added with different rosemary powders

Ingredients ²⁾ (%)	Treatments ¹⁾				
	Control	REF	RP1.0	REP0.5	REP1.0
Raw meat	78.5	78.5	78.5	78.5	78.5
Fat	20.0	20.0	20.0	20.0	20.0
Salt	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
Ascorbic acid	—	0.1	—	—	—
RP	—	—	1.0	—	—
REP	—	—	—	0.5	1.0
Total	100.0	100.1	101.0	100.5	101.0

¹⁾Control, pork patty without antioxidant; REF, pork patty added with ascorbic acid 0.1%; RP1.0, pork patty added with rosemary powder 1.0%; REP0.5, pork patty added with 50% ethanol extracted rosemary powder 0.5%; REP1.0, pork patty added with 50% ethanol extracted rosemary powder 1.0%.

²⁾RP, rosemary powder; REP, 50% ethanol extracted rosemary powder.

도매점에서 도축한 후 1일 지난 국내산 후지(1⁺ 등급)를 사용하였다. 결체 조직과 지방을 제거한 후지와 껍질을 제거한 등지방은 각각 만육기(meat chopper; M-12S, 한국후지공업주식회사)를 이용하여 분쇄하였다. 분쇄된 시료와 첨가물들은 Table 1의 제조배합비로 로즈마리 분말(RP) 0.5%와 50% 에탄올(v/v)로 추출한 로즈마리 분말(REP) 0.5%, 1.0%를 각각 첨가하였고 참조구는 ascorbic acid(AA) 0.1%를 첨가하여 혼합기(EF20, Crypto Peerless)를 이용하여 혼합한 후 재만육하였다. 재만육된 시료를 50 g씩 분할하고 Petri dish를 이용하여 정형한 후 4°C에서 저장 기간(0, 3, 7, 10, 14, 17일) 동안 보관하며 이화학적 성상 및 미생물 검사 실험을 시행하였다.

pH 및 육색도

돈육 패티의 pH는 고체 pH-meter(Model 340, Mettler-Toledo)를 이용했으며, 패티의 표면을 5회 반복 측정하여 평균값을 나타내었다. 색도는 color reader(CR-10, Minolta Co., Ltd.)를 이용하여 측정하였다. 패티 표면의 명도(L*, lightness), 적색도(a*, redness) 및 황색도(b*, yellowness) 값을 측정했으며 6회 반복 측정하여 평균값으로 나타내었다.

지방산패도(TBARS)

돈육 패티의 지방산패도는 Shinnhuber와 Yu(1977)의 방법에 따라 측정하였다. 유리 튜브에 균질화된 시료 2 g을 넣은 후 실험 중 산화를 방지하기 위해 항산화 용액(BHA + BHT + propylene glycol + warm tween) 3방울을 첨가하였다. 그다음 thiobarbituric acid 용액 3 mL와 TCA 용액 17 mL를 넣고 항온수조 90°C에서 30분간 가열하였다. 가열 완료된 반응물은 상온에서 냉각시킨 후 시험관에 chloroform 5 mL와 시료의 상층액 5 mL를 넣고 737×g에서 5분간 원심분리하였다. 그 후 petroleum ether 3 mL와 원

심분리한 시료의 상층액 3 mL를 넣고 737×g에서 10분간 원심분리한 후 532 nm에서 흡광도를 측정하였다. 결괏값은 다음 식에 대입하여 나타내었다.

$$\text{TBARS value (mg of MDA/kg of sample)} = \frac{\text{O.D. 값} \times 9.48}{\text{시료 무게(g)}}$$

휘발성 염기태 질소 화합물 함량

단백질 변패 정도를 확인하기 위해 Conway(1962)의 미량 확산법에 따라 휘발성 염기태 질소 화합물[volatile basic nitrogen, VBN(mg%)]의 함량을 측정하였다. 시험관에 시료 1 g과 증류수 9 mL를 넣고 30초 동안 균질화하였다. 그 후 여과지를 이용해 여과한 후 Conway dish의 외실에는 여과된 시료 1 mL와 50% K₂CO₃ 1 mL를 넣고 내실에는 0.01 N boric acid 1 mL와 VBN 지시약(0.066% bromoresol in 100% ethanol + 0.066% methyl red in 100% ethanol)을 넣고 37°C에서 120분간 반응시켰다. 반응 후 0.01 N HCl로 적정하였고 그 값을 다음 식에 대입하여 결괏값을 나타내었다.

$$\text{VBN (mg\%)} = \frac{\text{HCl} \times 0.14 \times 100 \times 10}{\text{시료 무게(g)}}$$

HCl: 적정량(mL)

0.14: 0.01 N HCl 용액의 1 mL에 상응하는 휘발성 염기 질소량

100: 퍼센트 환산

10: 희석 배율

미생물 검사(microbial counts)

냉장 저장 기간에 로즈마리 분말을 첨가한 돈육 패티의 미생물 검사를 하기 위해 총균수는 total plate count(TPC)-agar를 이용하였고 대장균균수는 violet red bile(VRB)-agar를 이용하였다. 균질화된 시료 10 g과 멸균 증류수 90 mL를 혼합시킨 후 일정 비율로 희석해 배지에 접종하였다. 그 후 37°C에서 48시간 동안 배양한 후 균락의 수를 세어 그 값을 log CFU/g으로 나타내었다.

일반성분 검사

로즈마리를 첨가한 돈육 패티의 일반성분 분석은 AOAC 법(1995)을 이용하여 측정하였다. 수분 함량은 dry-oven 법, 단백질 함량은 Kjeldahl법, 지방 함량은 Soxhlet법을 이용하여 측정하였다.

통계 분석

본 연구의 통계 분석은 SPSS software program(ver. 26.0, SPSS Inc.)을 이용하였다. 로즈마리 분말의 항산화 실험은 각 처리구와 농도를 요인으로 하는 이원배치 분산분석(two-way ANOVA)을 진행하였고 로즈마리 분말을 첨가한 돈육 패티의 실험은 저장 기간과 처리구들을 요인으로 하는 이원배치 분산분석을 진행하였다. 사후분석은 Dun-

can's multiple range test로 $P < 0.05$ 유의 수준에서 나타내었고 모든 실험은 각 3회 반복하여 실시하였다.

결과 및 고찰

로즈마리의 항산화 활성 평가

페놀 화합물(phenolic compounds)은 2차 식물 대사산물 중 하나로 다양한 구조와 분자량을 가지며, phenolic hydroxyl(-OH)기를 통해 수소를 공여하여 활성 산소종을 제거하고 페놀 고리 구조의 안정화에 의해 항산화 활성을 가지는 것으로 알려져 있다(Cha 등, 1999; Shin 등, 2014). 로즈마리 분말(RP)과 50% 에탄올 추출물(REP)의 총 페놀성 화합물 함량 측정 결과는 Fig. 1A와 같이 건조 분말인 RP의 함량이 5.76 g/100 g이었고, 50% 에탄올로 추출한 REP의 경우 10.13 g/100 g으로 50% 에탄올 추출물이 유의적으로 높은 총 페놀성 화합물 함량을 나타내었다($P < 0.05$). 페놀 화합물의 함량은 추출 용매별 차이를 보이는데 폴리페놀의 극성이 다르기 때문에 이원 용매 시스템이 단일 용매 시스템보다 더 효율적인 추출 방법이다(Efenberger-Szmechtyk

등, 2021). 특히 에탄올은 폴리페놀 추출에 좋은 용매로 알려져 있으며(Shah 등, 2014), 로즈마리의 주요 구성 성분인 rosmarinic acid, chlorogenic acid, rutin 및 caffeine acid는 수용성 항산화 물질이기 때문에(Li 등, 2019) 증류수와 에탄올이 혼합된 50% 에탄올 용매 추출에서 높은 총 페놀성 함량을 보인 것으로 사료된다. Lee 등(2013)은 열수 추출에 비해 에탄올과 메탄올로 추출한 추출물에서 더 높은 페놀성 화합물 함량을 보였는데, 이는 알코올과 물을 혼합한 경우 추출 용매의 극성을 변화시키며 폴리페놀의 hydroxyl group, 분자량, 탄화수소의 길이에 따라 차이가 있지만, 일반적으로 추출 용매에 대한 폴리페놀의 용해도를 증가시키기 때문이라고 보고하였다.

로즈마리 분말과 로즈마리 50% 에탄올 추출 분말의 DPPH 라디칼 소거 활성에 대한 결과는 Fig. 1B에 나타난 바와 같이 RP와 REP의 소거능이 참조구인 AA와 유의적인 차이가 없었다($P > 0.05$). 또한 0.1% 낮은 농도에서 80% 이상의 라디칼 소거능을 보였으나 농도 간 유의차를 보이지 않았다($P > 0.05$). Almela 등(2006)은 라디칼의 50%를 중화시키는 추출물의 등가량(EC_{50})을 측정하였는데 신선한 야생 로즈

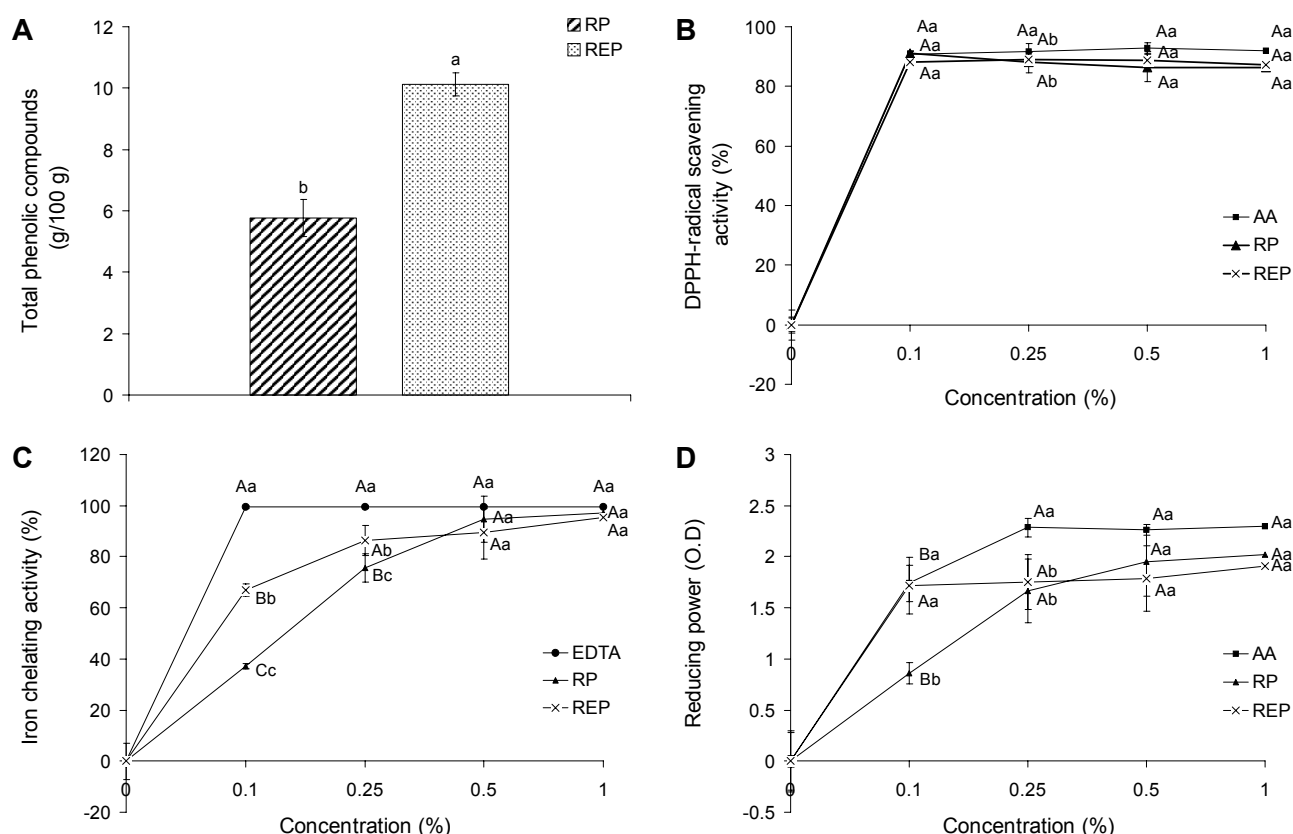


Fig. 1. Total phenolic compounds of rosemary powder and freeze-drying rosemary powder (A). DPPH-radical scavenging activity (%) of AA, rosemary powder and rosemary 50% ethanol extract powder (B). Iron chelating ability of EDTA, rosemary powder and rosemary 50% ethanol extracted powder (C). Reducing power of AA, rosemary powder and rosemary 50% ethanol extract powder (D). RP, treatment rosemary powder; REP, treatment 50% ethanol extracted rosemary powder; AA, reference ascorbic acid; EDTA, reference Na_2 ethylenediaminetetraacetic acid $\cdot 2H_2O$. Means (A-D) having same letters within the same treatment are not different ($P > 0.05$). Means (a-d) having same letters within the same concentration are not different ($P > 0.05$).

마리 추출물의 EC₅₀이 δ -tocopherol과 거의 동일한 효과를 보였다고 보고하였다. 본 실험에서도 REP와 RP에서 참조구인 AA와 거의 동일한 수준의 DPPH 라디칼 소거 활성을 확인할 수 있었다. 또한, Jin 등(2016)은 로즈마리 분말을 첨가한 소시지 시료의 DPPH 라디칼 소거 능력이 대조구에 비해 증가하였는데 이는 로즈마리의 페놀성 성분이 라디칼의 반응을 저해하여 나타난 결과로 보고하였다.

많은 식물성 페놀 화합물은 철 이온 흡착력으로 인해 항산화제로 설명된다. 철이온 흡착력은 지질 과산화에서 촉매 전이 금속의 농도를 감소시키기 때문에 중요하다(El-Beltagi와 Badawi, 2013). 로즈마리 분말과 로즈마리의 50% 에탄올 추출 분말의 철이온 흡착력 측정 결과는 Fig. 1C와 같다. RP는 0.5% 농도까지 증가하다 이후 농도에서 농도별 유의차를 보이지 않았고, REP는 0.25% 농도까지 증가하다 이후 농도에서 농도별 유의차를 보이지 않았다($P>0.05$). 0.5% 이전 농도까지 REP가 RP에 비해 높은 철이온 흡착력을 보였으나($P<0.05$), 0.5% 이후에서 대조구인 EDTA를 포함하여 처리구 간 유의차를 보이지 않았다($P>0.05$).

이러한 결과는 에탄올로 추출한 경우 0.25%가 가장 적당하지만, 로즈마리 건조 분말은 0.5%까지 첨가하여야 최고의 항산화 활성을 얻을 수 있음을 시사한다. Tariq 등(2013)은 로즈마리와 녹차의 열수 추출과 에탄올 추출물을 EDTA와 비교하여 철이온 흡착력을 나타내었는데, 8 mg/mL 이후 농도에서 열수 추출보다 에탄올 추출이 더 높은 흡착력을 보였다고 보고하였다. Cervato 등(2000)은 로즈마리와 같은 꿀풀과에 속하는 오레가노의 폴리페놀이 transferrin보다 철분해에 대한 친화력이 큰 것으로 보이고 소량에서 같은 양의 transferrin에 비해 높은 활성을 보였다고 보고하였다.

로즈마리 분말과 로즈마리 50% 에탄올 추출 분말의 환원력 측정 결과는 Fig. 1D와 같다. RP는 0.25%까지 환원력이 증가하다가 이후 농도에서는 농도별 유의적인 차이를 보이지 않았고($P<0.05$), 대조구인 AA와도 유사한 환원력을 보였다($P>0.05$). REP는 농도별 유의차를 보이지 않았으나($P>0.05$), 0.1%에서 AA와 유사한 환원력을 확인하였다. Pérez 등(2007)은 로즈마리 추출물의 환원력이 0.5에서 15 mg/mL 사이의 농도에서 증가하다 그 이상의 농도에서 최댓값 근처에서 일정하게 유지되었다고 보고하였다. 이와 같은 결과는 본 실험의 결과와 유사한 경향을 보였다.

로즈마리 분말 첨가가 돈육 패티의 품질에 미치는 효과

pH 및 육색도: RP와 REP를 첨가한 돈육 패티의 pH 측정 결과는 Table 2와 같다. RP와 REP를 첨가한 패티의 pH는 로즈마리를 첨가하지 않은 대조구 패티(Control)와 AA를 첨가한 참조구 패티(REF)의 pH와 차이가 없었다($P>0.05$). 처리구 간 pH의 유의적인 차이는 없었지만($P>0.05$), 저장 기간이 지남에 따라 pH가 유의적으로 감소하다가 다시 증가하는 경향을 보였다($P<0.05$). 이는 식육 내 세균 성장에 영향을 받을 수 있으며, 그람 양성균에 의해 생성된 유기산은 식육 제품의 pH를 감소시키는 반면, 그람 음성균에 의해 생성된 암모니아는 pH를 증가시키는데(Hwang 등, 2013), 저장 기간 중의 pH 변화는 우세균의 변화에 의한 것으로 추측된다. 저장 기간 초반에 그람 양성균의 성장으로 pH가 감소하는 반면, 14일 이후부터 대장균군과 같은 그람 음성균의 우세로 pH가 증가한 것으로 추측된다. 이는 미생물 검사 중 VRB 결과, 저장 기간이 증가함에 따라 대장균군수가 증가하는 결과와 일치한다.

Table 2. pH and color values (L, a, b) of pork patties with different rosemary powder during storage at 4°C

Treatments ¹⁾	Parameters ²⁾			
	pH	L*	a*	b*
Treatments × Storage days	NS	NS	NS	NS
Treatments	NS	*	*	*
Storage days	*	NS	*	*
Control	6.11±0.26 ^a	57.35±2.57 ^a	7.55±1.75 ^a	11.13±0.98 ^d
REF	6.00±0.21 ^a	57.00±2.35 ^a	7.73±1.07 ^a	11.15±1.20 ^d
RP1.0	6.02±0.25 ^a	53.47±2.42 ^b	3.38±1.43 ^c	12.92±1.64 ^c
REP0.5	6.06±0.21 ^a	53.32±1.84 ^{bc}	5.62±2.06 ^b	14.02±1.92 ^b
REP1.0	6.10±0.22 ^a	51.87±1.56 ^c	4.96±1.70 ^b	15.28±1.69 ^a
Storage (d)				
0	6.17±0.22 ^{ab}	54.73±2.44 ^a	7.59±1.64 ^a	13.69±2.36 ^{ab}
3	6.02±0.18 ^{bc}	54.90±3.20 ^a	6.80±2.07 ^a	12.42±1.77 ^c
7	5.91±0.17 ^c	53.81±3.29 ^a	5.80±2.53 ^b	11.98±1.98 ^c
10	5.97±0.24 ^c	54.57±2.80 ^a	5.67±2.22 ^b	12.42±2.49 ^c
14	6.05±0.23 ^{bc}	54.67±3.44 ^a	4.57±1.82 ^c	12.70±1.80 ^{bc}
17	6.22±0.25 ^a	54.93±3.52 ^a	4.64±2.06 ^c	14.18±2.24 ^a

* $P<0.05$. NS means no significant.

Means having same superscripts (a-d) within the same column are not different ($P>0.05$).

¹⁾Treatments are described in Table 1.

²⁾L*, lightness; a*, redness; b*, yellowness.

로즈마리 분말을 첨가한 돈육 패티의 육색도 결과는 Table 2와 같다. RP와 REP를 첨가한 돈육 패티의 명도(L*) 값과 적색도(a*) 값은 대조군 및 참조군과 비교하여 유의적으로 감소하였고($P<0.05$), 황색도(b*) 값은 유의적으로 증가하였다($P<0.05$). REP1.0 처리구가 가장 낮은 명도와 가장 높은 황색도를 보였고, 이는 로즈마리 추출 분말의 갈색빛을 띠는 본래의 색상 때문이라고 사료된다. 또한 RP1.0에서 가장 낮은 적색도를 확인했는데, 이는 로즈마리 분말의 연두색이 돈육 패티의 색도에 영향을 미친것으로 사료된다. 또한 저장 기간이 지남에 따라 적색도는 감소하였고, 황색도는 증가하는 경향을 보였다. Jin 등(2016)은 로즈마리 분말을 첨가한 소시지의 명도(L*)와 황색도(b*)는 저장 기간에 따라 증가했지만, 적색도(a*)와 백색도(W)는 감소하는 결과를 보였는데, 이는 로즈마리가 갖는 고유한 색상의 영향이라고 고찰하였다. 따라서 로즈마리의 탈색이나 표백은 저장 초기의 육색이나 감각적 특성의 변화를 방지하기 위한 전제조건이 되어야 한다고 보고하였다. 한편, Liu 등(2009)은 첨가된 로즈마리에서 발생하는 갈변 반응도 이러한 색상변화에 기여할 수 있다고 보고하였는데, 식물에 널리 퍼져있는 효소인 polyphenol oxidase(PPO)는 식물의 갈변을 담당하는 산소가 존재하는 경우, 이러한 PPO가 식물 페놀성 화합물을 quinon 형태로 산화시켜 중합되어 멜라닌이 형성되어 소시지의 색상에 영향을 미칠 수 있다고 설명하였다.

지방산패도: TBARS는 육제품 지방 산화의 주요 지표로 사용된다. TBARS 값의 증가는 육제품의 지방 산화 증가에 따른 2차 대사산물 생성으로 인한 제품의 품질 저하와 TBARS 값이 1 mg/kg을 초과하면 지방 산화에 의해 제품이 부패하여 식용 가치가 상실되었음을 나타낸다(Zhou 등, 2021). 로즈마리 분말을 첨가한 돈육 패티의 저장 기간에 따른 지방의 산패도를 측정한 결과는 Fig. 2A와 같다. 대조군은 시간이 지남에 따라 지방산패도가 증가하는 경향을 보였지만, 나머

지 처리구는 저장 기간에 유의적인 차이를 보이지 않았다($P>0.05$). 이는 로즈마리를 첨가한 처리구가 대조군에 비해 항산화 활성을 가지고 있음을 시사한다. Hernández-Hernández 등(2009)은 에탄올로 추출한 로즈마리 추출물을 첨가한 고기 반죽의 TBARS가 유의적으로 낮은 값을 보였다고 보고하였다. 또한 Yu 등(2002)은 수용성 로즈마리 추출물이 대조군에 비해 4°C에서 13일 동안 보관 중 조리된 칠면조의 TBARS 값을 크게 감소시켰으며, 이는 로즈마리 추출물의 자유 라디칼 소거 및 전이 금속 킬레이트화 활동이 조리된 샘플에서 지질 과산화에 대한 억제 효과에 기여할 수 있다고 강조하였다. 본 연구에서 로즈마리 추출 분말을 0.5% 첨가한 패티가 로즈마리 분말을 1.0% 첨가한 패티와는 유의차가 없었는데($P>0.05$), 이는 에탄올로 추출한 로즈마리 분말을 0.5% 낮은 농도의 첨가로도 지질 산화 억제에 효과적인 것으로 사료된다. 로즈마리의 주요 항산화 물질인 카르노솔, 카르노식산, 로스마놀 및 로즈마리디페놀과 같은 일부 페놀성 디테르펜은 수소 원자를 공여하여 자유 라디칼 연쇄 반응을 깨뜨리고 로즈마리 추출물의 항산화 활성을 나타내며 이는 지질의 산화를 지연시키는 것으로 보고되었다(Aruoma 등, 1992).

휘발성 염기태 질소 화합물 함량: VBN 값은 식육 및 육제품의 신선도를 반영하는 중요한 지표이다. 주로 육류에 함유된 각종 단백질 및 비단백질 물질이 저분자 물질로 분해되는 정도를 반영한다(Zhou 등, 2021). 로즈마리 분말과 에탄올 혼합액으로 추출한 분말을 첨가한 돈육 패티의 VBN 결과는 Fig. 2B와 같다. 모든 처리구가 저장 기간이 지남에 따라 VBN 값이 증가하는 경향을 보였다($P<0.05$). 저장 3일까지는 처리구별 유의차를 보이지 않았지만($P>0.05$), 7일 차부터 RP와 REP를 첨가한 처리구가 대조군보다 유의적으로 낮은 값을 보였다($P<0.05$). Zhou 등(2021)은 저장 중 0.2~0.5% 로즈마리를 첨가한 처리구가 대조군에 비해 현저히

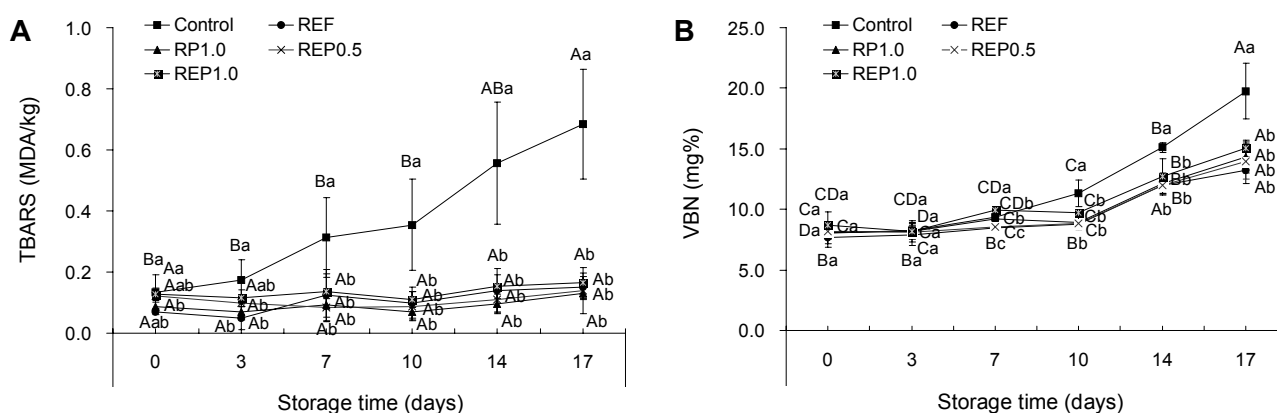


Fig. 2. TBARS values (A) and VBN values (B) of pork patties containing rosemary powder and rosemary 50% ethanol extract powder during refrigerated storage. Control, pork patty without antioxidant; REF, pork patty added with ascorbic acid 0.1%; RP1.0, pork patty added with rosemary powder 1.0%; REP0.5, pork patty added with 50% ethanol extracted rosemary powder 0.5%; REP1.0, pork patty added with 50% ethanol extracted rosemary powder 1.0%. Means (A-D) having same letters within the same treatment are not different ($P>0.05$). Means (a-d) having same letters within the same concentration are not different ($P>0.05$).

Table 3. Microbial counts of pork patties with different rosemary powder during storage at 4°C

Treatments ¹⁾	Parameters ²⁾	
	TPC	VRB
Treatments × Storage days	NS	NS
Treatments	NS	NS
Storage days	*	*
Control	5.23±1.84 ^a	4.21±2.05 ^a
REF	5.10±1.32 ^a	4.35±1.25 ^a
RP1.0	4.86±1.38 ^a	4.38±1.27 ^a
REP0.5	5.34±1.26 ^a	4.69±1.43 ^a
REP1.0	5.37±1.62 ^a	4.76±1.79 ^a
Storage (d)		
0	3.38±0.83 ^c	2.69±1.46 ^c
3	4.04±0.87 ^d	3.64±1.17 ^d
7	4.99±0.74 ^c	4.27±1.38 ^{cd}
10	5.44±0.77 ^c	4.93±0.68 ^{bc}
14	6.27±0.90 ^b	5.25±0.90 ^{ab}
17	6.95±0.92 ^a	6.08±1.08 ^a

* $P < 0.05$. NS means no significant.

Means having same superscripts (a-e) within the same column are not different ($P > 0.05$).

¹⁾Treatments are described in Table 1.

²⁾TPC, total plate counts; VRB, volatile basic nitrogen.

낮은 VBN 값을 나타내었고 저장 기간이 길어질수록 VBN 값이 증가하는 것으로 나타났다. Liu 등(2009)은 로즈마리를 첨가한 소시지 샘플의 VBN 값이 대조군 샘플에 비해 상당히 낮은 값을 보였다고 보고하였는데, 이런 VBN 값의 감소는 로즈마리에 일부 항균 화합물이 포함되어 있기 때문으로 추측하였다. 따라서 소시지에 로즈마리의 첨가가 미생물의 성장을 억제하여 단백질 분해가 적어 VBN 값이 감소하였다고 보고하였다.

미생물 검사: 로즈마리 분말을 첨가한 패티의 냉장 저장 중 미생물 검사 결과는 Table 3과 같다. 총균수 및 대장균수는 처리구별 유의적 차이가 나타나지 않았지만($P > 0.05$), 저장 기간이 지남에 따라 증가하는 경향을 보였다($P < 0.05$). 이전 연구에서 로즈마리의 항균 활성을 입증하였고 일부 보고서에서는 로즈마리 추출물 대부분의 페놀성 디테르펜과 같은 일부 비극성 성분이 항균 활성을 담당하였는데, 그람 양성균이 일반적으로 그람 음성균보다 비극성 페놀성 화합물에 더 민감하다고 보고하였다(Fernandez-Lopez 등, 2005; Liu 등, 2009). 본 연구에서 저장 기간에 따른 pH의 변화가 우세균의 그람 양성균에서 그람 음성균으로의 변화

때문이라고 가정하였는데, 따라서 돈육 패티의 우세균 변화에 의해 로즈마리 추출물의 그람 음성균에 대한 항균 효과는 미비했다고 사료된다.

일반성분 검사: Table 4는 로즈마리 분말과 로즈마리 에탄올 추출 분말을 첨가한 돈육 패티의 일반성분 분석 결과를 나타낸 것이다. 수분, 지방, 단백질 함량 모두 모든 처리구에서 유의차를 보이지 않았다($P > 0.05$). 이는 로즈마리의 첨가가 패티의 일반성분 구성에는 영향을 주지 않는 것을 확인하였다. Mohamed와 Mansour(2012)는 천연 향산화제로 로즈마리 오일을 첨가한 소고기 패티가 mechanically deboned poultry meat 유무와 관계없이 일반성분 분석에 유의적인 차이가 없다고($P > 0.05$) 보고하였고 이러한 결과는 본 연구 결과와 동일하였다.

요 약

본 연구는 로즈마리의 분말(RP)과 50% 에탄올 추출 분말(REP)의 항산화 활성을 평가하고 이를 농도별로 적용한 돈육 패티의 냉장 저장 중 이화학적 성상 및 미생물 변화를 평가하기 위해 실시하였다. 로즈마리의 두 가지 분말의 총 페놀성 화합물 함량은 건조 분말 RP가 5.76 g/100 g, 에탄올로 추출한 REP가 10.13 g/100 g으로 REP가 유의적으로 높은 함량을 보였다($P < 0.05$). 환원력은 REP의 모든 농도에서 농도별 유의차가 없었으며($P > 0.05$), 0.1%에서 ascorbic acid와 유의차를 보이지 않아($P > 0.05$) 낮은 농도에서도 높은 환원력을 보였다. 철이온 흡착력은 0.5% 이하에서 REP가 RP보다 유의적으로 높은 흡착력을 보였고($P < 0.05$), 0.5% 이상에서는 모든 처리구 간 유의차를 보이지 않았다($P > 0.05$). DPPH 라디칼 소거 활성은 RP와 REP 모두 대조구인 ascorbic acid와 모든 농도에서 유의차를 보이지 않았다($P > 0.05$). RP를 1.0%, REP를 0.5%, 1.0% 첨가한 돈육 패티에서 pH의 변화는 없었으며 색도는 로즈마리 처리구가 대조구보다 명도와 적색도가 감소하였고 황색도는 증가하는 경향을 보였다. 미생물은 모든 처리구에서 유의적인 차이를 보이지 않았다($P > 0.05$). VBN의 값은 7일 차부터 RP와 REP를 첨가한 처리구가 대조구보다 유의적으로 낮은 값을 보였고($P < 0.05$), 모든 처리구가 저장 기간이 지남에 따라 VBN 값이 증가하는 경향을 보였다($P < 0.05$). 지방산패를 측정하는 TBARS의 결과로 로즈마리 처리구가 대조구보다 유의적으로 낮은 결과를 나타내었다($P < 0.05$). 이러한 결과를

Table 4. Proximate composition of pork patties with different rosemary powder

Proximate analysis	Treatments ¹⁾				
	Control	REF	RP1.0	REP0.5	REP1.0
Moisture	61.60±2.05 ^A	61.83±1.54 ^A	61.93±0.23 ^A	62.03±0.58 ^A	62.03±1.12 ^A
Fat	17.50±0.87 ^A	18.40±0.75 ^A	17.20±0.61 ^A	18.40±0.79 ^A	18.90±0.10 ^A
Protein	16.17±0.84 ^A	16.73±1.42 ^A	16.43±0.47 ^A	16.73±0.29 ^A	16.63±0.64 ^A

Means having same superscripts within the same row are not different ($P > 0.05$).

¹⁾Treatments are described in Table 1.

종합하여 로즈마리 50% 에탄올 추출 분말이 로즈마리 분말에 비해 높은 항산화 활성을 보였고 이를 적용한 돈육 패티에서 낮은 농도의 REP 첨가로도 RP1.0과 유사한 항산화 효과를 보여 천연 항산화제로써 육제품에 이용 가능하다고 평가된다. 하지만 로즈마리 분말의 첨가는 항산화 활성을 높이지만 돈육 패티의 색도를 변화시키므로 이에 관한 보완 연구가 필요할 것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구는 본 결과물은 농림축산식품부의 재원으로 농림식품기술기획평가원의 고부가가치식품기술개발사업의 지원을 받아 연구되었음(#122024-02-1-HD02).

REFERENCES

- Almela L, Sánchez-Muñoz B, Fernández-López JA, et al. Liquid chromatographic-mass spectrometric analysis of phenolics and free radical scavenging activity of rosemary extract from different raw material. *J Chromatogr A*. 2006. 1120:221-229.
- AOAC. Official method of analysis. 16th ed. Association of Official Analytical Chemists. 1995. p 1-8.
- Aruoma OI, Halliwell B, Aeschbach R, et al. Antioxidant and pro-oxidant properties of active rosemary constituents: carnosol and carnosic acid. *Xenobiotica*. 1992. 22:257-268.
- Bellucci ERB, dos Santos JM, Carvalho LT, et al. Açaí extract powder as natural antioxidant on pork patties during the refrigerated storage. *Meat Sci*. 2022. 184:108667. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2021.108667>
- Borrás-Linares I, Stojanović Z, Quirantes-Piné R, et al. *Rosmarinus officinalis* leaves as a natural source of bioactive compounds. *Int J Mol Sci*. 2014. 15:20585-20606.
- Cervato G, Carabelli M, Gervasio S, et al. Antioxidant properties of oregano (*Origanum vulgare*) leaf extracts. *J Food Biochem*. 2000. 24:453-465.
- Cha JY, Kim HJ, Chung CH, et al. Antioxidative activities and contents of polyphenolic compound of *Cudrania tricuspidata*. *J Korean Soc Food Sci Nutr*. 1999. 28:1310-1315.
- Conway EJ. Determination of volatile amines. In: *Microdiffusion Analysis and Volumetric Error*. 5th ed. Crosby Lockwood. 1962. p 195-200.
- Efenberger-Szmeczyk M, Nowak A, Czyzowska A. Plant extracts rich in polyphenols: antibacterial agents and natural preservatives for meat and meat products. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2021. 61:149-178.
- El-Beltagi HS, Badawi MH. Comparison of antioxidant and antimicrobial properties for *Ginkgo biloba* and rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) from Egypt. *Not Bot Horti Agrobo*. 2013. 41:126-135.
- Fernandez-Lopez J, Zhi N, Aleson-Carbonell L, et al. Antioxidant and antibacterial activities of natural extracts: application in beef meatballs. *Meat Sci*. 2005. 69:371-380.
- Hernández-Hernández E, Ponce-Alquicira E, Jaramillo-Flores ME, et al. Antioxidant effect rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) and oregano (*Origanum vulgare* L.) extracts on TBARS and colour of model raw pork batters. *Meat Sci*. 2009. 81: 410-417.
- Huang SJ, Tsai SY, Mau JL. Antioxidant properties of methanolic extracts from *Agrocybe cylindracea*. *LWT—Food Sci Technol*. 2006. 39:379-387.
- Hwang KE, Choi YS, Choi SM, et al. Antioxidant action of *ganghwayakssuk* (*Artemisia princeps* Pamp.) in combination with ascorbic acid to increase the shelf life in raw and deep fried chicken nuggets. *Meat Sci*. 2013. 95:593-602.
- Inatani R, Nakatani N, Fuwa H. Antioxidative effect of the constituents of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) and their derivatives. *Agric Biol Chem*. 1983. 47:521-528.
- Jia N, Kong B, Liu Q, et al. Antioxidant activity of black currant (*Ribes nigrum* L.) extract and its inhibitory effect on lipid and protein oxidation of pork patties during chilled storage. *Meat Sci*. 2012. 91:533-539.
- Jin SK, Choi JS, Lee SJ, et al. Effect of thyme and rosemary on the quality characteristics, shelf-life, and residual nitrite content of sausages during cold storage. *Korean J Food Sci Anim Resour*. 2016. 36:656-664.
- Kim HE, Chin KB. Antioxidant activities of brussels sprouts powder and its application to pork patties on the physico-chemical properties and antioxidant activity during refrigerated storage. *J Korean Soc Food Sci Nutr*. 2018. 47:733-741.
- Kumar P, Mehta N, Malav OP, et al. Antioxidant and antimicrobial efficacy of watermelon rind extract (WMRE) in aerobically packaged pork patties stored under refrigeration temperature (4±1°C). *J Food Process Preserv*. 2018. 42:e13757. <https://doi.org/10.1111/jfpp.13757>
- Le K, Chiu F, Ng K. Identification and quantification of antioxidants in *Fructus lycii*. *Food Chem*. 2007. 105:353-363.
- Lee CY, Kim KM, Son HS. Optimal extraction conditions to produce rosemary extracts with higher phenolic content and antioxidant activity. *Korean J Food Sci Technol*. 2013. 45:501-507.
- Li K, Yang KH, Guo L, et al. Evaluation of the biological activity affected by extracting solvents of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.). *J Life Sci*. 2019. 29:69-75.
- Lin JY, Tang CY. Determination of total phenolic and flavonoid contents in selected fruits and vegetables, as well as their stimulatory effects on mouse splenocyte proliferation. *Food Chem*. 2007. 101:140-147.
- Liu DC, Tsau RT, Lin YC, et al. Effect of various levels of rosemary or Chinese mahogany on the quality of fresh chicken sausage during refrigerated storage. *Food Chem*. 2009. 117: 106-113.
- Madsen HL, Andersen L, Christiansen L, et al. Antioxidative activity of summer savory (*Satureja hortensis* L.) and rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) in minced, cooked pork meat. *Z Lebensm Unters Forsch*. 1996. 203:333-338.
- Mohamed HMH, Mansour HA. Incorporating essential oils of marjoram and rosemary in the formulation of beef patties manufactured with mechanically deboned poultry meat to improve the lipid stability and sensory attributes. *LWT—Food Sci Technol*. 2012. 45:79-87.
- Naveena BM, Sen AR, Kingsly RP, et al. Antioxidant activity of pomegranate rind powder extract in cooked chicken patties. *Int J Food Sci Technol*. 2008. 43:1807-1812.
- Passos RSFT, Barreto BG, Leite JSF, et al. Green tea extract as natural preservative in chicken patties: Effects on physico-chemical, microbiological, and sensory properties. *J Food Process Preserv*. 2022. 46:e16224. <https://doi.org/10.1111/jfpp.16224>
- Pérez MB, Calderón NL, Croci CA, et al. Radiation-induced enhancement of antioxidant activity in extracts of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.). *Food Chem*. 2007. 104:585-592.
- Shah MA, Bosco SJD, Mir SA. Plant extracts as natural antioxidants in meat and meat products. *Meat Sci*. 2014. 98:21-33.

- Shin GH, Lee YJ, Kim JH, et al. Antioxidant activities of commonly used *Brassica* spp. sprout vegetables in Korea. Korean J Food Preserv. 2014. 21:587-592.
- Sinnhuber RO, Yu TC. The 2-thiobarbituric acid reaction, an objective measure of the oxidative deterioration occurring in fats and oils. J Jpn Oil Chem Soc. 1977. 26:259-267.
- Tariq NM, Wisam SU, Faik HM, et al. The antioxidative activity of aqueous and ethanolic extracts of rosemary and green tea leaves: A comparative study. Pak J Chem. 2013. 3:1-7.
- Xu X, Liu A, Hu S, et al. Synthetic phenolic antioxidants: Metabolism, hazards and mechanism of action. Food Chem. 2021. 353:129488. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129488>
- Yagi K. Lipid peroxides and human diseases. Chem Phys Lipids. 1987. 45:337-351.
- Yu L, Scanlin L, Wilson J, et al. Rosemary extracts as inhibitors of lipid oxidation and color change in cooked turkey products during refrigerated storage. J Food Sci. 2002. 67:582-585.
- Zhou Y, Li Z, Chen Y, et al. Effects of rosemary and ginger on the storage quality of western-style smoked sausage. J Food Process Preserv. 2021. 45:e15634. <https://doi.org/10.1111/jfpp.15634>