

ANIMAL

Fermentation properties of fermented milk with added cacao nibs (*Theobroma cacao* L.)

Nu-Ri Jeong, Woo Jin Ki, Min Ju Kim, Myoung Soo Nam*

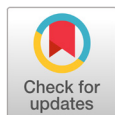
Division of Animal Resources Science, College of Agriculture and Life Sciences, Chungnam National University, Daejeon 34134, Korea

*Corresponding author: namssoo@cnu.ac.kr

Abstract

Cacao, a major ingredient for making chocolate, has been shown to have potent antioxidant effects. The consumption of raw cacao has beneficial effects on health. This study determined the fermentation properties of yoghurt that was manufactured with cacao nibs (*Theobroma cacao* L.). The pH of the yogurt containing the cacao nibs was lower than that of the control, and this reduction was both concentration and fermentation time-dependent. Furthermore, the number of lactic acid bacteria in the yogurt made with cacao and its viscosity increased in a cacao nibs dependent manner. In particular, the yoghurt with 5% cacao nibs added had the highest number of lactic acid bacteria at 48 hours at the end point of the fermentation. Whey protein degradation in yogurt containing cacao nibs increased with the fermentation time, and the organic acid production, especially lactic acid, in the yogurt containing cacao nibs increased significantly after 16 hours of fermentation. In addition, the total polyphenol content of the yogurt containing cacao nibs increased, which was proportional to the amount added. Sensory evaluations of the yogurts indicated that overall taste was less desirable as cacao nib loadings increased from 1 to 5% compared with controls. This result is due to the excessive acidity, which was strongly perceived in the absence of added sugar. The development of yogurts with cacao nibs is expected to contribute much to the appeal of fermented milk.

Key words: cacao nibs, fermented milk, lactic acid bacteria, organic acid, polyphenol



 OPEN ACCESS

Citation: Jeong NR, Ki WJ, Kim MJ, Nam MS. Fermentation properties of fermented milk with added cacao nibs (*Theobroma cacao* L.). Korean Journal of Agricultural Science 49:571-582. <https://doi.org/10.7744/kjoas.20220052>

Received: June 03, 2022

Revised: July 18, 2022

Accepted: August 08, 2022

Copyright: © 2022 Korean Journal of Agricultural Science



This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://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.

Introduction

국민소득의 향상과 사회문화의 발달로 건강에 대한 관심이 높아지면서 식품의 기능성이 강조되는 2차적 기능으로 발전되었다(Kim et al., 2004). 또한 코로나 19 팬데믹 이후 건강에 도움이 되는 음식 섭취와 면역력 강화에 관한 관심이 한층 더 높아지고 있으며, 면역력을 높이는 식품으로 발효 요구르트가 소개되고 있다. 발효유는 유제품 중에서 가장 역사가 긴 제품 중의 하나로서 BC 5,000년경 메소포타미아지역에서 자연히 발생한 것으로 추정하고 있고, 일반적으로 우유, 산양유, 마유 등과 같은 포유 동물류의 젖을 원료로 유산균이나 효모 혹은 이 두 가지 미생물을 스타터로 하여 발효시킨 제품을 말하며, 여기에 향료 과즙 등을 첨가하여 음용하기 적합하게 만든 것을 말한다(Chandan et al., 2013). 발효유는 pH가 낮아 다른 병

원성 세균들의 발육을 억제하고, 칼슘흡수율도 높으며, 발효시키는 동안 유산균들이 유단백질을 부분적으로 펩타이드와 아미노산으로 분해하기 때문에 장내 소화율을 높인다(Chandan et al., 2013). 발효유는 우유 성분 외에 유산균에 의해 생성된 유기산, 아미노산, 펩티드, 유산균 균체 등 식품으로 영양(Gilliland, 1990; Sánchez-Segarra et al., 2000)뿐만 아니라, 장내 유해 세균의 억제 및 유용균의 증진(Adolfsson et al., 2004), 면역계의 자극에 의한 항암 작용(Meydani and Ha, 2000; Isolauri et al., 2001), 혈중 콜레스테롤의 저하 효과(Jassim et al., 2020) 등 현대인의 성인병 예방과 건강 증진에 탁월한 기능을 나타내는 것으로 보고되고 있다. 요구르트 제조에 천연식재료를 첨가한 연구는 오디 첨가요구르트(Kim et al., 2003), 쌀의 저장이 쌀 첨가요구르트에 미치는 영향(Paik and Ko, 1992), 돼지감자 첨가요구르트(Park et al., 2019), 녹색홀그레인 보리, 밀, 찹쌀, 멥쌀 분말을 첨가한 발효유의 특성(Bae et al., 2011)과 홍삼 추출물 첨가가 미생물의 생육에 미치는 영향(Bae et al., 2005) 등이 있다.

건강에 대한 관심과 천연 원재료들의 각종 생리활성 물질에 대한 학문적, 산업적인 연구가 다양해짐에 따라 초콜릿 또한 그 원재료인 cacao nibs (*Theobroma cacao* L.)의 유효성분에 대한 관심이 높아지고 있다. 초콜릿을 만드는 기본재료이자 각 초콜릿의 특징을 결정하는 것은 cacao nibs 이다. Cacao nibs는 벽오동 나무과(*Sterculiaceae*)에 속하는 다년생 식물인 카카오나무의 열매로, 남미의 아마존 지역이 원산지이고 자라는 지역이나 품종에 따라 다를 수 있지만 보통 심은 후 5년 정도가 되면 열매를 맺기 시작해서 수령 10 - 25년에 가장 많은 열매를 맺는다(Afoakwa, 2016). 카카오는 아메리카 대륙의 적도 지역으로 퍼져나가 약 4,000년 전부터 재배되어 왔으며, A.D. 600년경 멕시코 남부지역의 재배 기록이 가장 오래된 기록이라고 보여 지지만, 많은 학자들은 중남미 인디언들이 그보다 더 이전부터 재배했을 것으로 추정하고 있다(Afoakwa, 2016). 국내에서 다양한 cacao nibs 가공 상품들이 출시되고 있으며, 카카오의 영양학적인 가치와 생리적 기능성이 재인식되면서 원재료 및 관련 가공 식품의 섭취가 건강에 유익한 영향을 준다고 보고하였다(Afoakwa, 2016).

Cacao bean은 건물로 약 12%의 다당류를 함유하고 있고 유리당은 건물로 2 - 4% 이하이다(Biehl and Ziegler, 2003). 매우 높게 함유하고 있는 당은 sucrose, fructose, 그리고 glucose (Afoakwa, 2016)로 이중 총 당의 약 90%를 차지하는 sucrose가 주된 당이고, fructose와 glucose가 약 6%, 기타 mannitol과 inositol이다(Biehl and Ziegler, 2003; Afoakwa, 2016). Cacao의 발효 동안 sucrose는 거의 모든 bean에 존재하는 invertase에 의해 fructose와 glucose로 가수분해된다(Puziah et al., 1998). 또한 cacao nibs에 함유된 단백질 함량은 약 10 - 15%로 albumin과 globulin이 주된 성분이다(Voigt et al., 1993; Bertazzo et al., 2011). Cacao nibs에 함유되어 있는 유리당과 단백질 성분들이 발효를 촉진시키고 이에 의해 생성된 대사산물들이 생리활성 기능을 발휘하는 효과를 기대해 볼 수 있다. 이와 같이 영양학적으로 우수한 cacao nibs 분말을 요구르트에 첨가하여 발효유를 제조하고 발효특성을 밝혀 신기능 발효유 제조에 기초 자료를 제공하기 위해 수행하였다.

Materials and Methods

실험재료

본 실험에 사용된 탈지분유는 (주)서울우유(Yangju, Korea)에서 제조한 것으로 재료의 화학적 조성은 수분 7.12%, 단백질 31.84%, 지방 0.09%, 회분 7.82%, 유당 51.13%이며, 10% 환원 탈지유를 90°C에서 10분간 살균하여 사용하였다.

Cacao nibs 발효유 제조에 사용하는 starter는 혼합 균주(ABT-4: *LactoBacillus acidophilus*, *Streptococcus thermophilus*, *Bifidobacterium* sp. CHR HANSEN Co., Hørsholm, Denmark)를 환원유에 접종하여 37°C에서 48시간, 3번 계대배양 후 유산균의 수를 3.85×10^5 CFU·mL⁻¹로 설정해, 희석하여 시료의 3%씩 접종하였다.

실험에서 사용된 100% cacao nibs powder는 이마트 노브랜드 제품인 Cacao Nibs (The one B&F, Gwangju, Korea)를 구매하여 사용하였다. Cacao nibs 분말의 성분은 충남대학교 사료분석센터에 의뢰하여 분석하였고 Table 1에 나타낸 바와 같다.

Table 1. Composition of cacao nibs.

Material	Composition (%)				
	Water	Protein	Fat	Fiber	Ash
Cacao nibs	4.29	12.20	36.64	32.98	2.46

Cacao nibs 분말을 첨가한 발효유 제조

10% 환원탈지유 500 mL에 cacao nibs 분말을 각각 1, 3, 5% 혼합한 다음 starter를 3% 접종하고 0, 4, 8, 16, 24, 48시간으로 배양하였다. 배양이 끝난 후 4°C 냉장고에서 24시간 숙성을 실시하였다. 제조방법은 Fig. 1과 같다.

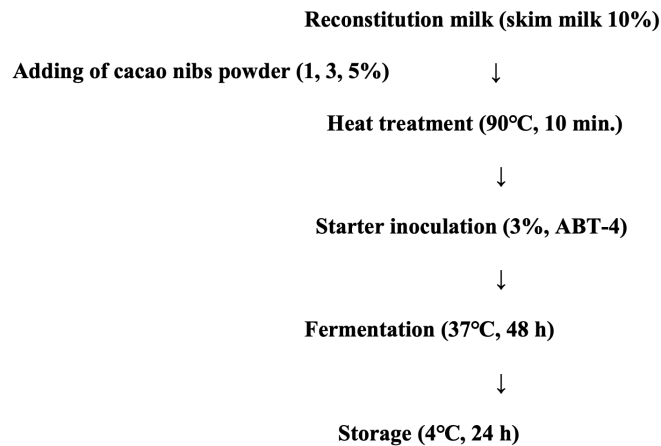


Fig. 1. Manufacturing process of fermented milk added cacao nibs powder.

pH 측정

Cacao nibs 발효유를 0, 4, 8, 16, 24, 48시간 배양 후 pH변화를 측정하였다. pH측정은 pH측정기(S20 Seven Easy™ pH, Mettler Toledo AG, Schwerzenbach, Switzerland)로 측정하였다.

생균수 측정

생균수는 0, 4, 8, 16, 24, 48시간동안 배양한 발효액을 10진 희석법으로 희석한 후 BCP agar (Eiken Chemical Co., Ltd., Tochigi, Japan)에 분주하여 48시간 배양 후 colony 수가 50 - 500개 범위로 나타난 평판을 선별하여 계수하였다.

점도 검사

Cacao nibs 발효유의 점도는 점도계(BM type, Tokimec Inc., Tokyo, Japan)를 이용하여 0, 4, 8, 16, 24, 48시간 배양 후 측정하였으며, spindle No. 1 - 3을 이용하여 60 rpm으로 1분 동안 측정하여 centipoise (CP)값으로 나타냈다. 실험은 3회 반복하여 평균값으로 나타냈다.

유청단백질 분해 조사

Cacao nibs 첨가 발효유를 원심분리기(Mega 17R, Hanil Science Industrial, Kimpo, Korea)를 사용하여 $3,700 \times g$ 에서 10 min 동안 원심분리 하였다. 분리된 상징액은 유청단백질 시료로 침전된 시료는 Casein으로 분리하여 각각 투석막에 넣어 24시간 동안 투석 시킨 후 채취해 동결 건조 후 시료로 사용하였다. Sodium Dodecyl Sulfate-Polyacrylamide Gel Electrophoresis (SDS-PAGE)는 12% acrylamide gel, 10% SDS를 함유한 1.5 M Tris (pH8.8)와 0.5 M Tris (pH6.8), 10% ammonium persulfate (APS)를 조제하여 사용하였다. Gel은 0.2% (w/v) comassie brilliant blue R-250 (Sigma Co, Louis, MO, USA)을 함유한 acetic acid/methanol/water(1 : 5 : 5, v/v/v) 용액으로 염색하였으며, 탈색은 acetic acid/methanol/water(1 : 3 : 6, v/v/v) 용액으로 하였다. Standard marker로는 Precision plus protein™ standards (Bio-Red, Hercules, California, USA)를 사용하였다.

유당 분해 및 유기산 측정

0, 4, 8, 16, 24, 48시간 발효한 cacao nibs 첨가 발효유를 원심분리기(Mega 17R, Hanil Science Industrial, Kimpo, Korea)를 사용하여 $3,700 \times g$ 에서 10 min 동안 원심분리 하였다. 분리된 상징액을 채취하여 0.2 μ m membrane filter로 여과한 후 HPLC system (600E Multi-solvent Delivery System, Waters, Waters, Milford, MA, USA)을 사용하여 유기산 및 당 분석을 하였다. 시료는 7725 injector (Rheodyne™, Thermo Fisher, Waltham, MA, USA)를 사용하여 20 μ L를 주입하였고, 유기산 측정은 2487 UV detector (Waters, Milford, MA, USA), 당은 Refractive Index Detector (2410 RI Detector, Waters, Milford, MA, USA)를 사용하였다. 유기산과 당 전환 분석은SUPELCOGEL C-610H column (38 cm \times 7.8 mm) (Sigma-Aldrich Co., Albany, NY, USA)을 사용하였고, Column Heater Module (serial #F98CHM095M, Waters, Milford, MA, USA)을 사용하여 40°C를 유지하였다. 이동상은 유기산과 당 전환 검사는 HPLC용 Water (TEDIA Company Inc., Fairfield, OH, USA)와 0.1% Phosphoric acid를 사용하여 1.0 mL·min⁻¹의 유속으로 40분간 분석하였다. 실험에 사용된 표준물질은 Sigma-Aldrich Co. (Darmstadt, Germany)에서 구입하여 분석에 사용하였다.

총 polyphenol 함량

총 phenolics 함량은 Folin Denis법(Singleton and Rossi, 1965)으로 측정하였다. 각 시료를 원심분리기는 Mega 17R (Hanil Science Industrial, Gimpo, Korea)를 사용하여 $3,700 \times g$ 에서 10 min 동안 원심분리한 후 분리된 상징액을 채취하여 Diameter 90 mm 100 Circles Filter Paper로 여과 후 10배 희석한 시료 0.5 mL를 시험관에 분주하고 25% Na₂CO₃ 용액 0.5 mL를 첨가하여 3분간 정치 후, 2 N Folin-Ciocalteu phenol 시약 0.25 mL를 첨가하여 혼합한 다음 30°C에서 1시간 동안 정치하였다. 정치된 시료를 750 nm에서 분광광도계(Spectronic 2D, Thermo Spectronic, Rochester, NY, USA)를 사용하여 흡광도를 측정하였다. 이때 총 phenolics 함량은 gallic acid 검량곡선을 이용하여 총 폴리페놀 함량을 환산하였다. 각 실험은 3회 반복하여 평균값으로 나타냈다.

관능 평가

충남대학교 동물자원과학부 학생 40명을 대상으로 실시하였다. 관능 평가에 사용한 요구르트는 대조구와 cacao nibs 1, 3, 5% 첨가구를 24 시간 발효한 후 4°C에서 12 시간 동안 숙성하여 사용 하였다. 평가방법은 색상(color), 조직감 (mouthfeel), 산미(sourness), 감미(sweetness), 전체적인 기호도(overall acceptability)의 5가지 항목을 7점척도법으로 진행하였다. “1점은 매우 나쁘다, 7점은 매우 좋다” 로 평가하였다.

Results and Discussion

pH 변화

유산균 starter ABT-4로 배양한 cacao nibs 첨가 요구르트의 pH를 Fig. 2에 나타냈다. pH는 배양 0, 4, 8, 16, 24, 48시간 경과됨에 따라 유산균 수 증가에 의한 유산 생산의 증가로 pH가 낮아졌다. 특히 8시간과 16시간 사이의 pH 변화가 급격하게 낮아지는 것을 확인할 수 있는데, 이는 유산균이 8-16시간 사이에 가장 많이 대사 활동이 이루어져 대사산물인 유산이 다량 생성되어 pH가 급격히 낮아졌기 때문이다. 발효 중 pH의 변화는 대조구와 cacao nibs 분말 첨가구를 비교하였을 때 시료의 첨가 농도가 높을수록, 발효 시간이 길어질수록 pH가 더 낮아지는 것을 확인했다. 발효 종점인 48시간 경과 후 모든 처리구의 pH는 3.5 - 3.8 사이로 나타나 발효가 잘 진행되었다. 한편 pulp pre-conditioned cocoa (*Theobroma cacao*) beans의 발효가 진행되는 동안 껍질을 벗기고 쌓아둔 시료의 pH는 시작 3일 이내에 감소되었고, 발효 말기에는 증가하였다(Afoakwa et al., 2013). 본 연구에서도 cacao nibs의 첨가량이 높을수록 pH가 감소된 결과와는 일치하였지만, cocoa (*Theobroma cacao*) beans의 과육에서 자란 초산균에 의해 생산된 초산에 기인한 것이라는 보고(Afoakwa et al., 2013)와는 차이가 있었다. 이는 cocoa (*Theobroma cacao*) beans의 자연 발효와 cacao nibs를 첨가한 우유에 starter를 접종하여 발효한 차이로 사료된다.

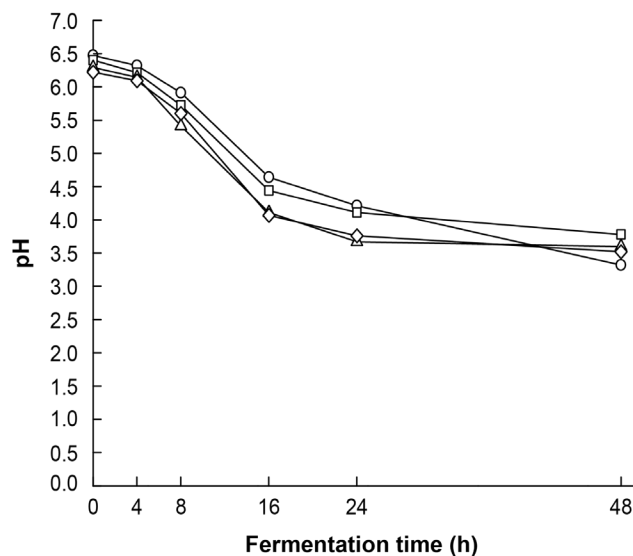


Fig. 2. Changes pH in yoghurt added cacao nibs powder by fermentation for 48 h at 37°C. ○, control; □, 1.0% cacao nibs; △, 3.0% cacao nibs; ◇, 5.0% cacao nibs.

유산균 수

대조구와 cacao nibs 첨가구의 유산균 수의 변화는 Fig. 3에 나타난 바와 같다. 발효 시간이 길어질수록 유산균 수가 증가되는데 이는 유산균이 에너지원인 유당을 분해하여 glucose를 이용하므로 유산균 수가 더 증가함을 알 수 있다. 대조구와 1% 첨가구는 발효 24시간 경과 시 유산균 수가 점차 정체하여 발효 종점인 48시간까지 지속되었다. 그러나 3% 첨가구는 발효 24시간부터 발효 종점인 48시간까지 지속적으로 증가하였고, 5% 첨가구는 발효 8시간부터 다른 처리구에 비해 유산균 수가 증가하기 시작하였고 16, 24시간, 발효 종점인 48시간까지 지속적으로 증가하여 처리구 중 가장 높게 나타났다. 이는 cacao bean에 함유되어 있는 유리당 성분의 영향으로 유산균 성장을 촉진하는 것으로 사료된다.

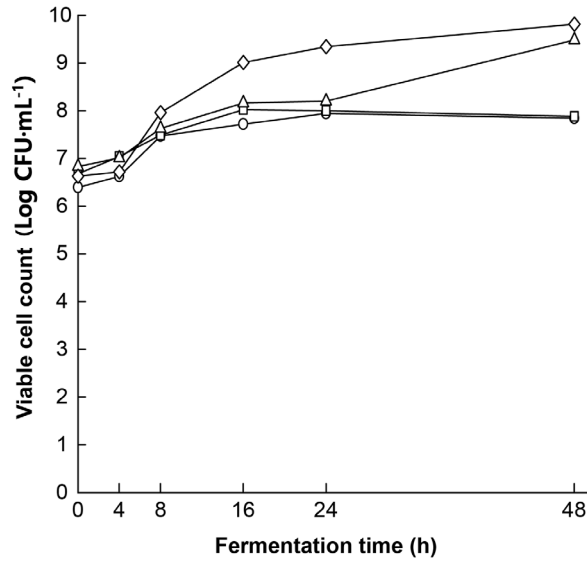


Fig. 3. Changes of the number of lactic acid bacteria in yogurt added cacao nibs powder by fermentation for 48 h at 37°C. ○, control; □, 1.0% cacao nibs; △, 3.0% cacao nibs; ◇, 5.0% cacao nibs.

점도

Cacao nibs 첨가 요구르트의 점도는 Fig. 4에 나타난 바와 같다. 배양 시간이 길어질수록, cacao nibs 첨가량이 높은 처리구 일수록 점도가 높아졌다. 특히 3, 5% 처리구에서는 4시간 이후부터 점도가 급격히 높아짐을 확인할 수 있다. 이는 유산균의 수가 증가함과 동시에 유산균으로부터 생성되는 대사물질들이 증가함에 따라 점도에 영향을 준 것이라고 사료된다. 일반적으로 점성의 원인이 되는 curd는 유산 발효 시 우유 단백질의 등전점 침전, protease에 의한 분해 응고 및 유산균에 의한 polysaccharide의 생성 등에 의해 복합적으로 일어난다고 보고하였다(Jung and Ju, 1997). 발효유의 점도는 대조구, 1, 3, 5% 첨가구 순으로 증가함을 보였다. 이는 cacao nibs가 유산균 증식에 도움을 주는 당 성분에 의해 유산 생성을 촉진하여 pH가 낮아짐에 따라 점도에도 영향을 미치는 것으로 사료된다.

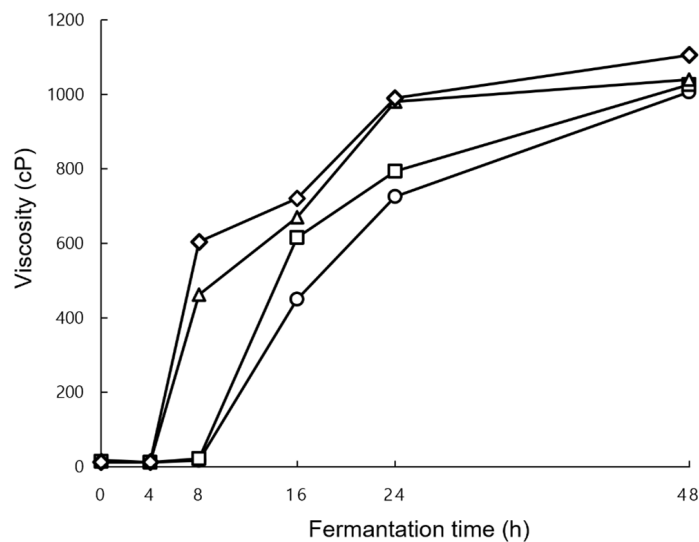


Fig. 4. Changes of viscosity in yoghurt added cacao nibs powder by fermentation for 48 h at 37°C. ○, control; □, 1.0% cacao nibs; △, 3.0% cacao nibs; ◇, 5.0% cacao nibs.

유청단백질 분해

Cacao nibs 첨가 요구르트의 유청단백질 분해는 Fig. 5에 나타난 바와 같다. 발효 0시간인 Line 2, 4, 6, 8에서 20 kDa 부근의 β -lactoglobulin이 확인되었지만, 발효 48시간 시료인 Line 3, 5, 7, 9에서는 이를 확인할 수 없었다. 이러한 결과는 발효과정에서 유산균이 생성한 효소가 유청단백질을 분해했음을 알 수 있었다. 또한 Line. 3, 5, 7, 9에서 50 kDa부근에 생성된 단백질을 확인할 수 있으나 Line. 2, 4, 6, 8에서는 이를 확인할 수 없는데 이는 발효과정에서 유산균이 생성한 효소에 의해 고분자 단백질이 분해되어 생성된 것으로 사료된다.

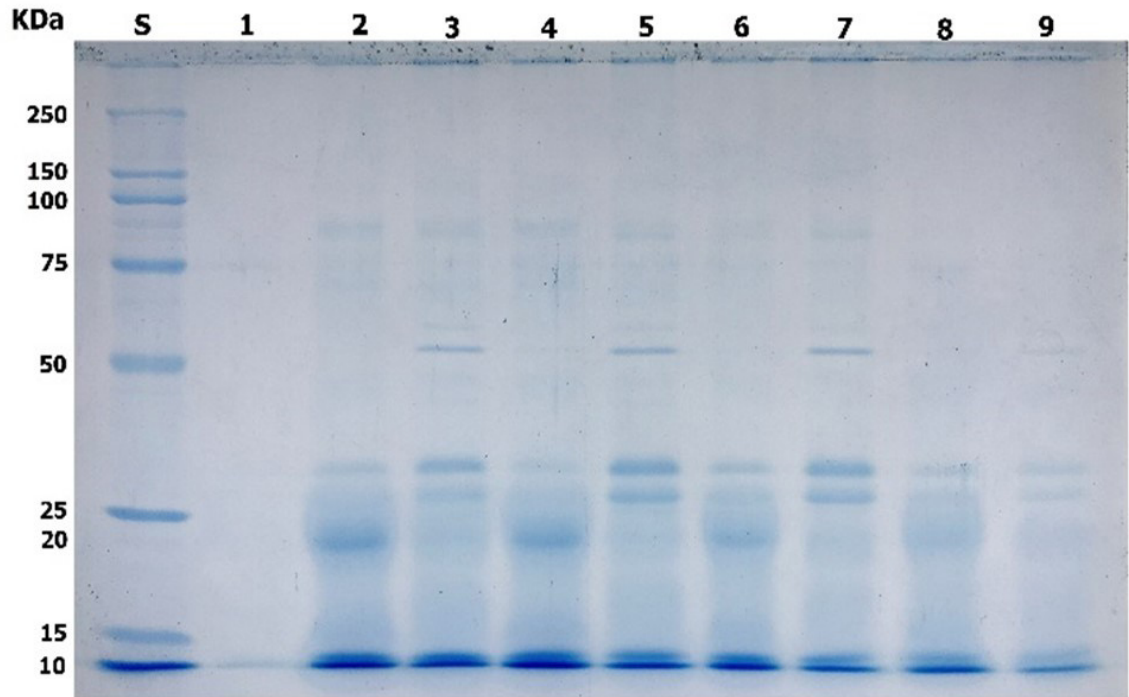


Fig. 5. Polyacrylamide gel electrophoretic pattern of whey protein in yogurt added cacao nibs powder by fermentation for 48 h at 37°C. S, standard molecular marker; 1, 5% cacao nibs; 2, yogurt (0 h); 3, yogurt (48 h); 4, yogurt with 1% cacao nibs (0 h); 5, yogurt with 1% cacao nibs (48 h); 6, yogurt with 3% cacao nibs (0 h); 7, yogurt with 3% cacao nibs (48 h); 8, yogurt with 5% cacao nibs (0 h); 9, yogurt with 5% cacao nibs (48 h).

유기산 생성

유기산은 유제품에 존재하는 유지방의 가수분해, 젖소의 생화학적 대사 과정 및 유산균의 대사산물로부터 생성되며, 요구르트에 있어서도 유기산은 향기와 영양적 측면 이외에도 유산균 생육활성의 지표로써 아주 중요하다 (Lee et al., 2002). 대조구와 cacao nibs 1, 3, 5% 첨가구의 유기산 변화는 Fig. 6과 같다. 0, 4, 8, 16, 24, 48시간 발효가 경과됨에 따라 8시간까지 모든 시료에서 비슷한 수준으로 1번 peak oxalic acid, 2번 peak citric acid, 3번 peak lactic acid가 증가되는 경향을 보였다. 특히 3번 peak의 lactic acid는 16시간부터 크게 증가하는 경향을 보였는데 이는 돼지감자 첨가 발효유 제조 특성을 보고한 결과와 동일하다(Park et al., 2019). 이러한 결과는 유산균이 8 - 16시간 사이에 가장 왕성한 대사 활동을 하여 대사산물인 유산이 다량으로 생성한 것으로 사료된다.

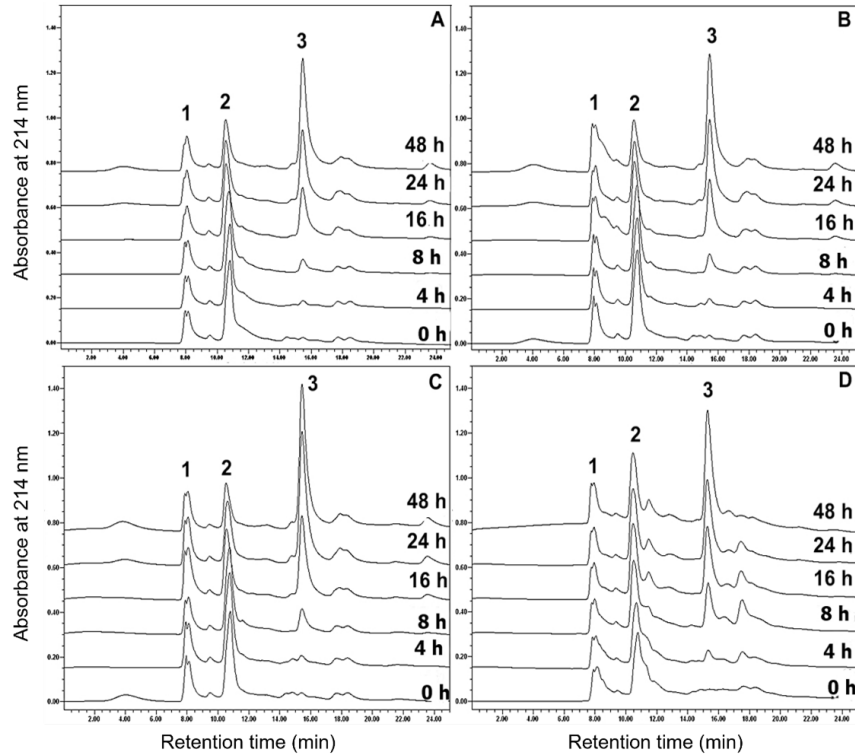


Fig. 6. Production of organic acid in yogurt added cacao nibs powder by fermentation for 48 h at 37°C. (A) Control. (B) Yogurt with 1% cacao nibs. (C) Yogurt with 3% cacao nibs. (D) Yogurt with 5% cacao nibs. 1, oxalic acid; 2, citric acid; 3, lactic acid.

유당 분해

대조구와 cacao nibs 1, 3, 5% 첨가구의 당 성분의 변화는 Fig. 7과 같다. 요구르트의 유리당은 주로 lactose로 이루어져 있으며, 발효시간 동안 lactose가 glucose와 galactose로 분해되었고, 발효 초기에 나타난 lactose는 발효 시간이 지남에 따라 점차 감소되었다. 유산균이 lactose를 분해하여 glucose와 galactose를 생성하였고, 발효 시간이 경과함에 따라 glucose는 유산균이 이용하므로 감소하고 galactose가 증가하였다.

총 Polyphenol 함량

Polyphenol은 생리활성 화합물로서 항산화 및 자유라디칼 소거능력이 뛰어나 관상동맥질환 및 암, 염증질환 등을 예방해 주는 물질로 많이 알려져 있으며(Bravo and Saura-Calixto, 1998), 주요한 폴리페놀 화합물에는 flavone 및 isoflavone, flavanone, anthocyanin, catechin 등이 존재하며 이러한 화합물들은 radical 소거활성과 강력한 항산화능을 포함한 폭 넓은 생물학적 활성을 가지는 것으로 알려져 있다(Guo and Wang, 2007; Ronald-Ross et al., 2012). 발효유 중 총 polyphenol 함량은 Fig. 8과 같다. 48시간 발효된 처리구를 대표로 설정하여 실험하였으며, 대조구 $0.15 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$, 1% 첨가구 $0.22 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$, 3% 첨가구 $0.35 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$, 5% 첨가구 $0.6 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 순으로 총 Polyphenol 함량이 증가함을 보였다. 이는 cacao bean의 catechin유래 성분들의 효능에 대한 보고(Payne et al., 2010), 폴리페놀 함량에 관한 연구(Kim and Keeney, 1984; Gu et al., 2006) 등에서도 볼 수 있듯이 cacao nibs에 일정량의 polyphenol이 함유되어 있어, cacao nibs 첨가량이 총 polyphenol 함량에 영향을 주는 것으로 사료된다.

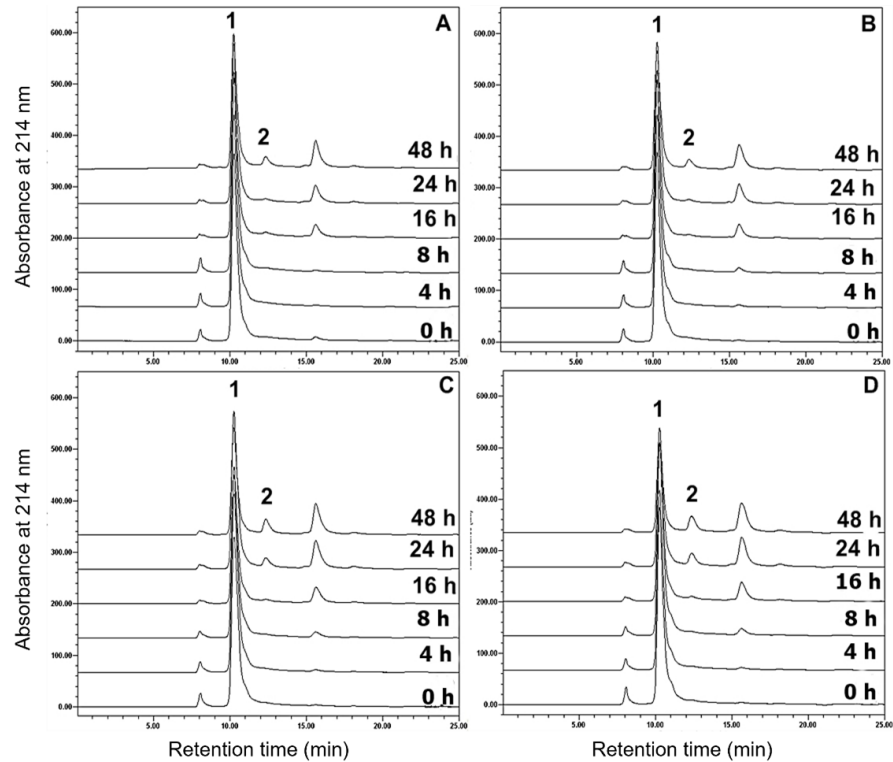


Fig. 7. Changes of carbohydrate in yoghurt added cacao nibs powder by fermentation for 48 h at 37°C. (A) Control. (B) Yogurt with 1% cacao nibs. (C) Yogurt with 3% cacao nibs. (D) Yogurt with 5% cacao nibs. 1, lactose; 2, glucose, galactose.

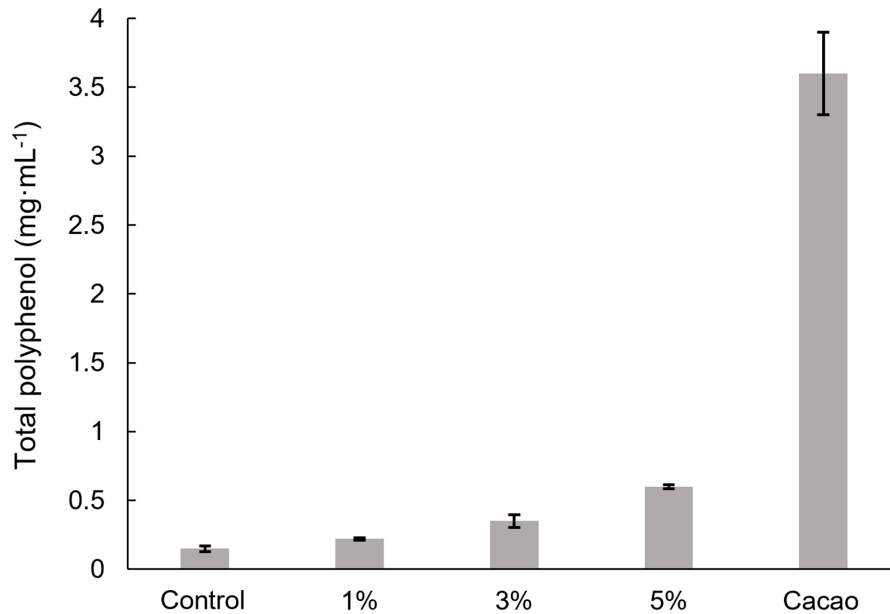


Fig. 8. Change of total phenolics in yoghurt added cacao nibs powder by fermentation for 48 h at 37°C. Control, yogurt; 1%, yogurt with 1% cacao nibs; 3%, yogurt with 3% cacao nibs; 5%, yogurt with 5% cacao nibs.

관능 평가

과학적 기술의 발달로 인해 식품이나 물질의 많은 특성들이 밝혀지고 있지만, 식품 품질에 대한 최종 판단은 결국 소비자들에 의해 이루어지기 때문에 사람에 의해 평가되는 부분들이 매우 중요하다. 또한 식품과 물질의 특성을 측정하고 해당 물질이 기호에 미치는 영향을 결정하는 관능검사는 소비자가 원하는 제품을 개발하고 판매하는데 중요한 역할을 한다. Cacao nibs 첨가 요구르트의 관능 평가는 Fig. 9와 같다. 감미에 대한 평가는 대조구 2.28, 1% 2.6, 3% 2.6, 5% 2.53로 대조구와 첨가구 모두 당을 첨가하지 않고 발효하였기 때문에 비슷한 값을 보였으며, 산미는 위의 pH결과와 동일하게 대조구는 3.88, 1% 첨가구는 4.33, 3% 첨가구는 4.95, 5% 첨가구는 5.3으로 cacao nibs 농도가 높을수록 산미가 높다고 평가하였다. 전체적인 기호도는 발효 시간을 24시간으로 설정하여 pH농도가 급격히 낮아지고, 당을 첨가하지 않아 산미가 강하게 느껴졌기 때문에 대조구에 비하여 1, 3, 5% 첨가 순서로 낮은 결과를 보이는 것으로 사료된다.

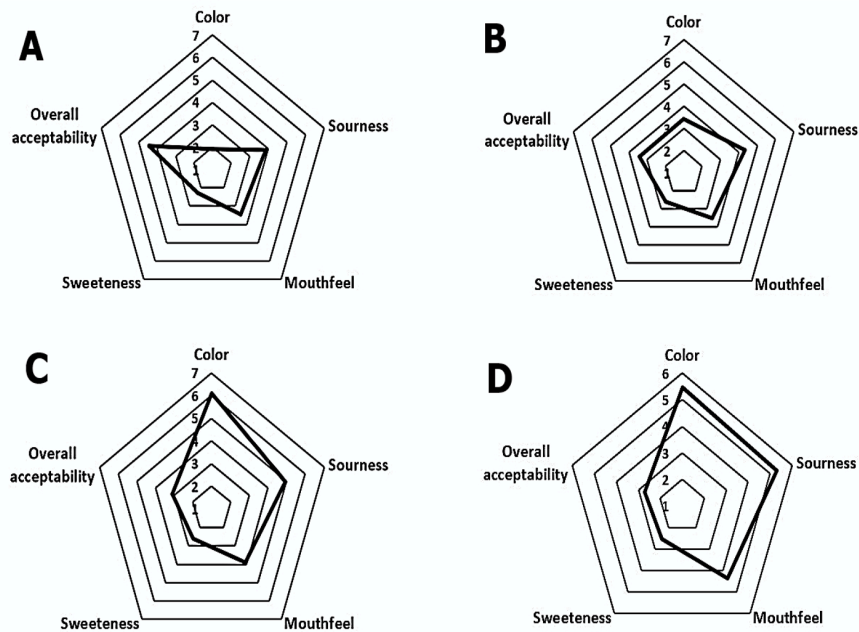


Fig. 9. Sensory evaluation in yogurt added cacao nibs powder by fermentation for 24 h at 37°C. (A) Yoghurt. (B) Yogurt with 1% cacao nibs. (C) Yogurt with 3% cacao nibs. (D) Yogurt with 5% cacao nibs.

Conclusion

Cacao nibs를 첨가한 요구르트의 발효 특성은 유산균의 성장을 촉진하여 유산 생성을 촉진하고, 발효 기간 동안 우유단백질의 분해가 활발하게 일어났다. 총 polyphenol 함량은 첨가량이 많을수록 증가하였다. 이와 같이 cacao nibs를 첨가한 요구르트는 발효 특성이 대조구에 비해 우수한 점이 많았다. 영양학적으로 우수한 우유와 생리활성 가치가 높은 cacao nibs를 첨가한 요구르트 개발은 신기능성 발효유 연구에 크게 기여할 것으로 기대한다.

Conflict of Interests

No potential conflict of interest relevant to this article was reported.

Authors Information

Nu-Ri Jeong, Chungnam National University, Researcher

Woo Jin Ki, Chungnam National University, Master Course

Min Ju Kim, Chungnam National University, Master Course

Myoung Soo Nam, <https://orcid.org/0000-0003-0866-1041>

References

- Adolfsson O, Meydani SN, Russell RM. 2004. Yogurt and gut function. *The American Journal of Clinical Nutrition* 80:245-256. DOI:10.1093/ajcn/80.2.245.
- Afoakwa EO. 2016. *Chocolate science and technology. History, origin and taxonomy of cocoa* (2nd). pp. 1-15. Wiley Blackwell, York, UK.
- Afoakwa EO, Kongor JE, Takrama J, Budu AS. 2013. Changes in nib acidification and biochemical composition during fermentation of pulp pre-conditioned cocoa (*Theobroma cacao*) beans. *International Food Research Journal* 20:1843-1853.
- Bae HC, Lee JY, Nam MS. 2005. Effect of red ginseng extract on growth of *Lactobacillus* sp., *Escherichia coli* and *Listeria monocytogenes* in pH control medium. *Food Science of Animal Resources* 25:257-264. [in Korean]
- Bae HC, Renchinkhand G, Ku JH, Nam MS. 2011. Characterization of fermented milk added with green whole grains of barley, wheat, glutinous rice and common rice powders. *Korean Journal of Agricultural Science* 38:485-491. [in Korean]
- Bertazzo A, Comai S, Brunato I, Zancato M, Costa CVL. 2011. The content of protein and non-protein (free and protein-bound) tryptophan in *Theobroma cacao* beans. *Food Chemistry* 124:93-96.
- Biehl B, Ziegler G. 2003. *Cocoa: Chemistry of processing. Encyclopedia of food sciences and nutrition* (2nd). pp. 1436-1448. Academic Press, New York, USA.
- Bravo L, Saura-Calixto F. 1998. Characterization of the dietary fiber and the *in vitro* digestible fraction of grape pomace. *American Journal of Enology and Viticulture* 49:135-141.
- Chandan RC, White CH, Kilara A, Hui YH. 2013. *Manufacturing yogurt and fermented milks. Part I: Basic background. Chapter 1. History and consumption trends, Chapter 2. Milk composition, physical and processing characteristics.* pp. 1-48. John Wiley & Sons Ltd., Hoboken, NJ, USA. DOI:10.1002/9781118481301.
- Gilliland SE. 1990. Health and nutritional benefits from lactic acid bacteria. *FEMS Microbiology Reviews* 7:175-188. DOI:10.1111/j.1574-6968.1990.tb04887.x.
- Gu L, House SE, Wu X, Ou B, Prior RL. 2006. Procyanidin and catechin contents and antioxidant capacity of cocoa and chocolate products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54:4057-4061.
- Guo J, Wang MH. 2007. Antioxidant and antidiabetic activities of ulmus davidiana extracts. *Food Science and Biotechnology* 16:55-61.
- Isolauri E, Sutas Y, Kankaanpaa P, Arvilommi H, Salminen S. 2001. Probiotics: Effects on immunity. *American Journal of Clinical Nutrition* 73:444S-450S. DOI:10.1093/ajcn/73.2.444s.
- Jassim MA, Ayed HS, Saleh HM. 2020. Effect of some fermented milk on blood picture of hypercholesterolemic rats. *International Journal of Interdisciplinary Environmental Studied* 11:1257-1260. DOI:10.13140/RG.2.2.34834.40640.

- Jung GT, Ju IO. 1997. Studies on the preparation of yogurt from milk added with purple sweet potato. Korean Journal of Food and Nutrition 10:458-461. [in Korean]
- Kim H, Keeney PG. 1984. (-)-Epicatechin contents in fermented and unfermented cocoa beans. Journal of Food Science 49:1090-1092.
- Kim HK, Bae HC, Nam MS. 2003. Fermentation properties of mulberry yoghurt. Korean Journal of Agricultural Science 30:66-75. [in Korean]
- Kim SY, Park MK, Lee JE, Park JY. 2004. Quality characteristics of soy yogurt formulated with L-carnitine, L-methionine and saccharified rice solution. Korea Soybean Digest 21:6-14. [in Korean]
- Lee IS, Lee SO, Kim HS. 2002. Preparation and quality characteristics of yogurt added with *Saururus chinensis* (Lour.) bail. Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition 31:411-416. [in Korean]
- Meydani SN, Ha WK. 2000. Immunologic effects of yogurt. The American Journal of Clinical Nutrition 71:861-872.
- Paik JH, Ko YT. 1992. Effect of storage period of rice on quality of rice added yogurt. Korean Journal of Food Science and Technology 24:470-476. [in Korean]
- Park BB, Renschinkhand G, Nam MS. 2019. Physicochemical properties of fermented milk supplemented with *Helianthus tuberosus* powder. Journal of Milk Science and Biotechnology 37:196-205.
- Payne MJ, Hurst WJ, Miller KB, Rank C, Stuart DA. 2010. Impact of fermentation, drying, roasting, and dutch processing on epicatechin and catechin content of cacao beans and cocoa ingredients. Journal of Agricultural and Food Chemistry 58:10518-10527. DOI:10.1021/jf102391q.
- Puziah H, Jinap S, Sharifah KSM, Asbi A. 1998. Changes in free amino acid, peptide-N, sugar and pyrazine concentration during cocoa fermentation. Journal of the Science of Food Agriculture 78:535-542.
- Ronald-Ross W, Victor RP, Lamuela-Raventos S, Rosa MSLR, María IP, Ramón E. 2012. Chocolate in health and nutrition. Industrial and home processing of cocoa polyphenols. In Nutrition and health edited by Lamuela-Raventos RM, Izquierdo-Pulido M, Estruch R. pp. 119-124. Springer, AG, Switzerland.
- Sánchez-Segarra PJ, Garcia-Marinez M, Gordillo-Otero MJ, Diaz-Valverde A, Maro-Lopez MA, Moreno-Rojas R. 2000. Influence of the addition of fruit on the mineral content of yoghurts: Nutritional assessment. Food Chemistry 71:85-89.
- Singleton VL, Rossi JA. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. American Journal of Enology and Viticulture 16:144-158.
- Voigt J, Biehl B, Kamaruddin S. 1993. The major seed proteins of *Theobroma cacao* L. Food Chemistry 47:145-151.